



Universidade de Brasília

Instituto de Biologia
Departamento de Ecologia

Variação hormonal em função do
grupo social no tiziu (*Volatinia
jacarina*, Aves: Emberizidae)

Roberto Victor Lacava e Silva

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 Biologia
Departamento de Ecologia

Variação hormonal em função do grupo social no tiziu (*Volatinia jacarina*, Aves: Emberizidae)

Roberto Victor Lacava e Silva

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

ROBERTO VICTOR LACAVA E SILVA

Variação hormonal em função do grupo social no tiziu (*Volatinia jacarina*
Aves: Emberizidae)

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

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Regina H.F. Macedo
Orientador – UnB

Profa. Dra. Maria Alice dos Santos Alves
Membro Titular – UERJ

Prof. Dr. Glauco Machado
Membro Titular – USP

Prof. Dr. Miguel Marini
Suplente – UnB

Brasília, março de 2009

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	1
RESUMO.....	4
ABSTRACT.....	6
INTRODUÇÃO GERAL.....	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13
CAPÍTULO 1. Onde há mais machos há mais testosterona.....	15
RESUMO.....	15
ABSTRACT.....	17
INTRODUÇÃO.....	18
METODOLOGIA.....	21
DESENHO EXPERIMENTAL.....	21
ANÁLISES HORMONAIAS.....	23
ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	25
RESULTADOS.....	27
DISCUSSÃO.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
CAPÍTULO 2. Reavaliando o contexto de dominância: testosterona, características morfológicas e atributos ornamentais em <i>Volatinia jacarina</i>.....	38
RESUMO.....	38
ABSTRACT.....	40
INTRODUÇÃO.....	41
METODOLOGIA.....	43
DOMINÂNCIA.....	44
MORFOMETRIA, ORNAMENTOS E ANÁLISE HORMONAL.....	46
ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	47
RESULTADOS.....	48
DISCUSSÃO.....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
CONCLUSÃO GERAL.....	57

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha esposa Barbara, que foi a pessoa que me incentivou a começar o mestrado numa etapa da minha vida em que estava me afastando do meio acadêmico. Apoiou-me nos momentos mais difíceis dessa jornada. Mais que isso, ajudou diretamente no trabalho indo ao campo comigo, ajudando a cuidar dos tizius e contribuindo com boas idéias. Sem você eu não teria chegado aqui. Obrigado!

Agradeço aos meus pais por estarem sempre presentes e por todo apoio em todas as etapas da minha vida. Certamente sem o apoio de vocês eu não chegaria até aqui.

Ao Paulo por ter ajudado a reformar o aviário e melhorar a qualidade de vida dos tizius. À Dilma por ter ido ao campo e ajudado a cuidar dos passarinhos. Obrigado por estarem sempre presentes.

À Luiza Brasileiro que esteve comigo durante todo o projeto. Sou muito grato por tê-la como companheira para realizar esta dissertação. Os frutos deste trabalho são tão meus quanto seus.

Ao Rafael Maia por toda consultoria estatística e idéias brilhantes. Sua participação neste trabalho foi fundamental.

À Universidade de Brasília e ao Departamento de Ecologia pelo apoio logístico.

Ao CNPq pela bolsa concedida no começo do mestrado.

À Animal Behavior Society pelo apoio financeiro ao projeto e à viagem ao congresso.

Ao IBAMA por conceder o afastamento para a viagem para Portugal.

Aos meus chefe e ex-chefe, João Pessoa e Francisco Oliveira, pela flexibilidade de horários e compreensão.

Aos amigos do laboratório, Raphael Igor, Eduardo Santos, Alexandre Dias, Marcos Robalinho e Paulo Henrique, pelas contribuições e ajudas. Aos demais integrantes do Laboratório de Comportamento Animal.

Aos novos amigos que fiz no laboratório do ISPA, Fábio, Margarida, Sofia, Eliane, Olinda e Silvia, que certamente fizeram minha estadia em Portugal mais prazerosa. Em especial, a Sara Gutiérrez pela amizade e revisão da dissertação.

À Tânia Oliveira pela paciência de me ensinar as “viragens”. Certamente sua ajuda foi essencial para realização deste projeto.

Aos Jú's pela amizade, companheirismo, paciência e amizade durante esses dois anos. Aos meus grandes amigos do meu semestre na biologia. O tempo passa e vamos nos afastando, mas as ótimas lembranças de curso permanecem. Certamente nosso semestre foi o “melhor”.

Aos membros da banca examinadora, Dr. Glauco Machado e Dr^a. Maria Alice, por dedicarem seu tempo para corrigir esta dissertação e viajarem de tão longe para participar da defesa com sugestões tão importantes.

Ao Rui Oliveira pelo acolhimento e oportunidade de trabalhar em seu laboratório. É uma pessoa certamente brilhante e que me contagiou pelo interesse pela testosterona.

Uma pessoa não poderia ser mais importante para realização deste trabalho. Essa pessoa foi minha orientadora Regina Macedo. Já faz quase sete anos que eu a conheci e que comecei a trabalhar com ela. A paixão com que ela ministra as aulas de comportamento animal me fez abrir os olhos para essa linda área da biologia. Muito obrigado por todas as

oportunidades e por me orientar após tanto tempo afastado e mesmo sabendo que eu teria que trabalhar concomitantemente ao mestrado.

RESUMO

A testosterona é o hormônio que está ligado diretamente com a reprodução dos machos em praticamente todas as espécies de vertebrados. Os principais efeitos desse hormônio no organismo são a maturação dos testículos e espermatogênese. Alguns efeitos no comportamento também já foram descritos, tais como aumentar a agressividade, o tempo de guarda da parceira e intensidade na defesa do território. O padrão de secreção da testosterona no organismo depende de estímulos ambientais, tais como o fotoperíodo, presença de fêmeas e disputas entre machos. Utilizando o tiziu, *Volatinia jacarina* (Emberizidae), como objeto de estudo, esta dissertação teve como objetivo responder as seguintes questões: (1) meios sociais de densidades e razões sexuais diferentes têm influencia na concentração de testosterona dos machos ao longo do ano? (2) Existe alguma característica morfológica ou ornamental que possa sinalizar dominância em machos dessa espécie? (3) A testosterona tem algum papel importante no estabelecimento da dominância entre machos? Para responder tais questões as aves foram mantidas em cativeiro em três tratamentos distintos: tratamento com seis machos, tratamento com três machos e três fêmeas e tratamento com um macho e uma fêmea. A dominância dentro dos grupos foi estabelecida através de disputa entre machos à fonte alimentar. A concentração de testosterona variou de forma diferente entre os tratamentos ao longo do tempo, sugerindo que a densidade de possíveis competidores possa servir como sinalizador para aumento ou diminuição a secreção da testosterona. A proporção de plumagem negra no corpo dos machos é inversamente relacionada com a dominância. Dentre as características utilizadas (peso, comprimento do tarso, asas, bico, cauda e tamanho da mancha branca subaxilar) a

proporção de plumagem negra foi a única característica correlacionada com a dominância, de forma que os machos que possuíam menor proporção de plumagem negra eram dominantes. Sugerimos que os machos com menor proporção de plumagem negra estavam em pior condição e, portanto, mais dispostos a lutar pelo recurso alimentar. A concentração de testosterona não teve correlação com a dominância ou com a proporção de plumagem negra, sugerindo que não teve influência no status social.

Palavras-chave: testosterona, grupo social, dominância, hierarquia, hipótese do desafio.

ABSTRACT

Testosterone is the hormone directly related with male reproduction in almost every vertebrate species. The main effects of this hormone in the organism are the testis maturation and spermatogenesis. Some behavioral effects have also been described, such as increase in aggressiveness, in time on mate guarding and territory defense intensity. The patterns of testosterone secretion in the organism depend on environmental stimuli, including photoperiod, female presence and male-male interaction. We used the blue-black grassquit, *Volatinia jacarina* (Emberizidae), as a study subject to investigate the following issues: (1) Whether social environment density and sexual ratio influences male testosterone levels throughout the year? (2) Whether males have morphological or ornamental traits that may signal dominance? (3) Whether testosterone plays a role in establishing dominance among males? To answer these questions the birds were kept in captivity within three distinct treatments: a treatment with six males, a treatment with three males and three females and a treatment with one male and one female. The dominance was established over a contest among males for food. The males testosterone concentration varied differently among treatments throughout the year, suggesting that the density of possible competitors may act as a signal to increase or decrease the secretion of testosterone. The proportion of black plumage in the male's body was inversely related with dominance. Among all traits used (weight, tarsus, wing, beak, and tail lengths and size of the white underwing patch), this was the only trait correlated with dominance, showing that males with lower coverage of black plumage were dominant during food access contests. We suggest that males with less black plumage coverage were in worse condition

and more willing to fight for food. The testosterone concentration had no correlation with dominance or the proportion of black plumage, suggesting it did not influence male social status.

Keywords: testosterone; social group; dominance, hierarchy, challenge hypothesis.

INTRODUÇÃO GERAL

Hormônios são mensageiros químicos secretados por células endócrinas, transportados pelo sistema sanguíneo para interagir com células distantes e causando uma resposta biológica (Nelson 2000). A endocrinologia comportamental estuda a influência dos hormônios no comportamento. Essa área começou a ser estudada por Arnold Adolph Berthold em 1849, com experimentos de castração em galos. Berthold observou que a remoção das gônadas de jovens machos causava a redução de algumas características sexuais secundárias e ausência de agressividade perante outros machos. Quando as gônadas eram re-implantadas os machos apresentavam comportamento agressivo e tentavam copular com as fêmeas (Nelson 2000). Hoje é crescente o número de trabalhos investigando como ocorre a ação dos hormônios no cérebro.

Apesar de todos os efeitos conhecidos dos hormônios no comportamento, é consenso entre os endocrinologistas comportamentais que os hormônios em si não causam alteração no comportamento, na verdade eles alteram a probabilidade de um comportamento ocorrer em um contexto social ou comportamental apropriado (Nelson 2000; Adkins-Regan 2005).

A testosterona é um hormônio produzido principalmente pelos testículos, portanto, conhecido como andrógeno. Esse hormônio é um esteróide, ou seja, tem uma estrutura química com três anéis de seis carbonos e um anel de cinco carbonos, assim como a maioria dos hormônios produzidos pelas gônadas. Seu precursor é um colesterol, assim como todos os hormônios esteróides de todos vertebrados. Sua estrutura química o torna solúvel em gordura, facilitando seu movimento através das membranas celulares. Dessa

forma, esse tipo de hormônio não pode ser armazenado, sendo liberado na corrente sanguínea quase que imediatamente após sua produção, ou seja, costuma agir rapidamente no organismo depois de um estímulo apropriado (Nelson 2000).

A produção da testosterona é estimulada por outro hormônio, um tipo de gonadotrofina, produzido na glândula pituitária anterior e conhecido como hormônio luteinizante (LH) (Ketterson & Nolan Jr. 1992). Diversos estímulos, ambientais ou sociais, podem aumentar a liberação de testosterona, como duração do dia (Dawson 2008), encontros agonísticos com outros machos (Landys *et al.* 2007) ou comportamento sexual da fêmea (Moore 1983).

Apesar de comumente se pensar que a testosterona é um hormônio especificamente masculino, também é produzido por fêmeas e em algumas espécies de peixes, répteis e anfíbios as fêmeas podem possuir maior concentração de testosterona do que os machos (Staub & Beer 1997). No cérebro dos machos, a testosterona sofre um processo de aromatização, sendo transformada em estradiol que, apesar de ser considerado um hormônio feminino, é fundamental no desenvolvimento do centro de controle do canto no córtex frontal do mandarim macho, por exemplo (Holloway & Clayton 2001).

John Wingfield foi um dos pioneiros no estudo da função da testosterona na reprodução. Wingfield *et al.* (1990) propuseram a hipótese do desafio (*challenge hypothesis*) que tenta explicar como o padrão de secreção da testosterona está relacionado com o sistema de acasalamento e com a estratégia reprodutiva. A hipótese do desafio é o pilar do presente trabalho e todas as perguntas feitas aqui estão de forma direta ou indireta tentando testar algumas de suas previsões. Descreverei essa hipótese nos próximos parágrafos.

Os vertebrados apresentam três níveis de concentração de testosterona importantes (Fig. 1). O primeiro nível é o não reprodutivo “a”, no qual o indivíduo não apresenta características sexuais secundárias, comportamento reprodutivo e espermatogênese. O indivíduo permanece nesse nível durante a estação não reprodutiva (geralmente inverno e outono, no caso das aves) ou quando é privado de qualquer estímulo fundamental para reprodução. Ao atingir o segundo nível “b”, o indivíduo irá apresentar maturação completa das gônadas, características sexuais secundárias e comportamento sexual. Para atingir esse nível, o indivíduo tem que ser apresentado a pelo menos algum estímulo que sinalize o início da produção de testosterona. Porém o nível de testosterona pode subir muito acima do nível “b” até chegar ao nível máximo suportado pelo organismo “c” (Wingfield *et al.* 1990).

Observando a Figura 1 é possível perceber que a variação entre o nível “a” e “b” é relativamente baixa quando comparado com a variação entre o nível “b” e “c”, então por que essa grande variação? Essa variação está associada com estímulos sociais como, por exemplo, competição com outro macho ou interação com fêmeas receptivas (Goymann *et al.* 2007). Como a testosterona aumenta a agressividade, seria vantajoso para um macho ter sua concentração de testosterona aumentada durante uma disputa. Sabe-se que peixes, répteis, mamíferos e aves apresentam variação na concentração de testosterona frente a uma disputa social (Oliveira *et al.* 2001; Hirschenhauser & Oliveira 2006; Landys *et al.* 2007). Também é possível que o aumento no cuidado parental esteja associado com a queda na concentração da testosterona (Silverin 1980). Porém, existem desvantagens em manter alta concentração da testosterona por longo período, tais como o aumento no consumo de

energia, risco de ferimentos e predação, atraso no próximo ciclo reprodutivo e repressão do sistema imunológico (Wingfield *et al.* 2001).

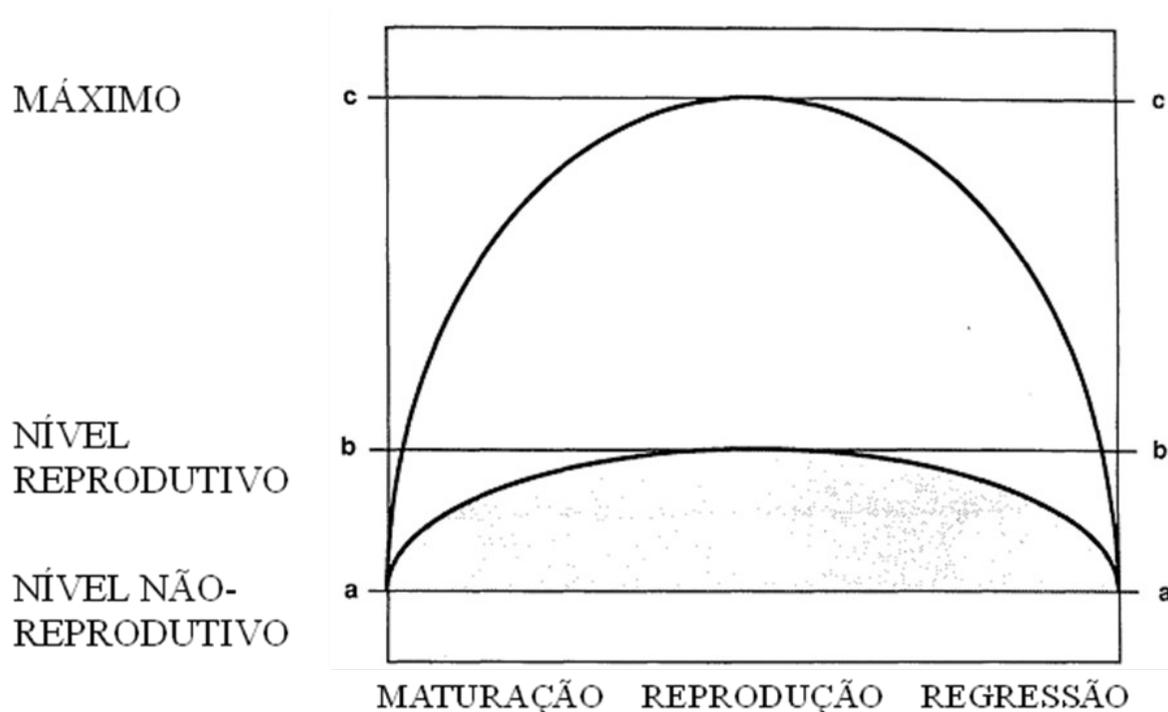


Figura 1. Padrão geral da secreção de testosterona em machos durante a maturação das gônadas, reprodução e regressão das gônadas. Nível “a” (Nível Não-reprodutivo) é a concentração de testosterona dos machos durante a estação não reprodutiva (geralmente próxima de zero). Nível “b” (Nível Reprodutivo) é a concentração de testosterona necessária para aquisição das características sexuais secundárias, maturação completa das gônadas e comportamento sexual. Nível “c” (Máximo) é a concentração de testosterona máxima que geralmente é obtida por estímulos sociais relacionados com a reprodução (e.g., interação entre machos e fêmeas receptivas). A curva menor representa o padrão de secreção apresentada por um macho quando estimulado somente por estímulos ambientais (e.g., foto-período). A curva maior representa o padrão de secreção de um macho quando estimulado pela simulação da invasão de seu território (modificado de Wingfield *et al.* 1990).

Wingfield *et al.* (1990), com base nessa relação da testosterona com comportamento, idealizaram uma hipótese que correlaciona o padrão temporal de testosterona e a estratégia reprodutiva dos machos. Os machos de espécies poligâmicas possuem alta concentração de testosterona durante a estação reprodutiva. Esses machos ficam quase toda estação reprodutiva a procura de fêmeas e comumente estão disputando-as

com outros machos. Já os machos de espécies monogâmicas possuem alta concentração de testosterona somente no começo da estação reprodutiva, pois coincide com o período em que estão procurando fêmeas ou disputando território. Após a formação do casal o macho geralmente apresenta cuidado parental, o que coincide com a queda na concentração da testosterona. Porém esse modelo não é tão simples, pois existem variações na história de vida de cada espécie. Os machos podem apresentar maior ou menor cuidado parental, pode haver múltiplas ninhadas na mesma estação reprodutiva, em espécies monogâmicas pode haver maior taxa de cópula extrapair e um mesmo macho pode apresentar diferentes estratégias reprodutivas ao longo de sua vida.

O objetivo do presente trabalho é estudar a influência dos estímulos sociais na concentração de testosterona dos machos e a influência deste hormônio em seu comportamento e características morfológicas e ornamentais. O tiziu, *Volatinia jacarina*, foi escolhido como modelo para realizar tal estudo. Esta ave é relativamente abundante no cerrado e de fácil captura, é possível criá-las em cativeiro e reproduzi-las, possuem dimorfismo sexual e os machos possuem uma plumagem nupcial distinta (Sick 1997). Esta dissertação foi dividida em dois capítulos e uma conclusão geral. O primeiro capítulo trata da manipulação de grupos sociais e sua influencia na concentração da testosterona ao longo do ano. O segundo capítulo trata da influência de características morfológicas na hierarquia social e a possível influência da testosterona neste contexto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adkins-Regan, E.** 2005. *Hormones and animal social behavior*. 1ª ed. Princeton: Princeton University Press.
- Dawson, A.** 2008. Control of the annual cycle in birds: endocrine constraints and plasticity in response to ecological variability. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **363**:1621-1633.
- Goymann, W., Landys, M. M. & Wingfield, J. C.** 2007. Distinguishing seasonal androgen responses from male-male androgen responsiveness—Revisiting the challenge hypothesis. *Hormones and Behavior* **51**:463–476.
- Hirschenhauser, K. & Oliveira, R. F.** 2006. Social modulation of androgens in male vertebrates: meta-analyses of the challenge hypothesis. *Animal Behaviour* **71**:265-277.
- Holloway, C. C. & Clayton, D. F.** 2001. Estrogen synthesis in the male brain triggers development of the avian song control pathway in vitro. *Nature Neuroscience* **4**:170-175.
- Ketterson, E. D. & Nolan Jr., V.** 1992. Hormones and life histories: an integrative approach. *The American Naturalist* **140**:S33-S62.
- Landys, M. M., Goymann, W., Raess, M. & Slagsvold, T.** 2007. Hormonal responses to male-male social challenge in the Blue Tit *Cyanistes caeruleus*: single-broodedness as an explanatory variable. *Physiological and Biochemical Zoology* **80**:228-240.
- Moore, M. C.** 1983. Effects of female displays on the endocrine physiology and behaviour of male White-crowned sparrows, *Zonotrichia leucophrys*. *Journal of Zoology* **199**:137-148.

- Nelson, R. J.** 2000. *An introduction to behavioral endocrinology*. 2^a ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
- Oliveira, R. F., Lopes, M., Carneiro, L. A. & Canário, A. V. M.** 2001. Watching fights raises fish hormone levels. *Nature* **409**:475.
- Sick, H.** 1997. *Ornitologia brasileira*. 2^a ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.
- Silverin, B.** 1980. Effects of long-acting testosterone treatment on free-living pied flycatchers, *Ficedula hypoleuca*, during the breeding period. *Animal Behaviour* **28**:906-912.
- Staub, N. L. & Beer, M. D.** 1997. The role of androgens in female vertebrates. *General and Comparative Endocrinology* **108**:1-24.
- Wingfield, J. C., Hegner, R. E., Dufty, A. M. & Ball, G. F.** 1990. The "Challenge Hypothesis": theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *The American Naturalist* **136**:826-846.
- 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.

Onde há mais machos há mais testosterona

RESUMO

Fatores ambientais, sociais e fisiológicos são importantes sinalizadores para reprodução. A testosterona é um dos sinalizadores fisiológicos para o começo da reprodução e sua concentração no organismo está relacionada com o investimento de cada macho durante a estação reprodutiva. Ademais, sabe-se que a secreção de testosterona pode ser influenciada por fatores sociais como disputas entre machos e presença de fêmeas. O objetivo deste trabalho é verificar se diferentes meios sociais mantidos juntos durante um ano influenciam a concentração de testosterona dos machos. Separamos indivíduos da espécie *Volatinia jacarina* em três tratamentos distintos: tratamento só de machos (seis machos), tratamento misto (três machos e três fêmeas), e tratamento pareado (um macho e uma fêmea). Foi observado que houve uma variação significativa da concentração de testosterona ao longo do tempo, porém essa variação ocorreu de forma diferente entre os tratamentos. O tratamento de machos apresentou maior concentração nos primeiros meses da fase de acasalamento e apresentou menor concentração ao sair do período reprodutivo. Os resultados demonstram que o meio social influenciou a concentração de testosterona dos machos, possivelmente porque a maior densidade de machos em um dos tratamentos

sinalizou uma situação de maior competitividade. Isso pode ter levado os machos a investir mais na reprodução no período que seria o começo da formação dos casais, mesmo sem a presença de fêmeas.

Palavras-chave: testosterona; hipótese da competição; grupo social; investimento reprodutivo

ABSTRACT

Environmental, social and physiological factors are important cues for reproduction. Testosterone is one of the physiological signals that initiates reproduction and its concentration in the organism is associated with each male's investment during the reproductive period. Testosterone secretion can be influenced by social stimuli such as male-male interactions and female presence. The objective of this study was to test whether different social environments kept together during one year could influence the levels of circulating testosterone in males. We maintained male *Volatinia jacarina* in three treatments: only males (six males), mixed sexes (three males and three females), and paired (one male and one female). We observed a significant variation of testosterone through time, however the variation was different among the treatments. In the treatment of six males individuals had higher testosterone during the first months of the reproductive period and lower just after this period. The results show that the social environment influenced the male's blood testosterone levels, possibly because the higher density of males in one treatment represents a more competitive situation. This may lead to higher male investment associated with reproduction during this period, which corresponds with pair formation in the wild.

Keywords: testosterone, challenge hypothesis, social group, reproductive investment.

INTRODUÇÃO

Fatores ambientais, sociais e fisiológicos são importantes sinalizadores para iniciar a reprodução, não só para indicar o começo de uma estação reprodutiva, mas também o começo da vida reprodutiva (Moore 1983; Nelson *et al.* 1995; Dawson 2008). Em quase todos os vertebrados machos a testosterona serve como sinalizador para todo organismo que é o momento de investir em reprodução (Adkins-Regan 2005). Esse hormônio está relacionado com a espermatogênese, maturação das gônadas, desenvolvimento das características sexuais secundárias, hipertrofia muscular e comportamentos sexuais típicos de cada espécie (Wingfield *et al.* 2001).

Nas aves as gônadas dos machos permanecem retraídas fora do período reprodutivo, secretando uma quantidade de testosterona que pode ser quase indetectável. Quando chega a estação reprodutiva as gônadas aumentam de tamanho e ocorre um pico de produção de testosterona (Wingfield & Hann 1994; Rödl *et al.* 2004). Tendo em vista o papel que a testosterona tem na vida sexual, Wingfield *et al.* (1990) propuseram a hipótese do desafio (*challenge hypothesis*) que apresenta uma explicação para a grande variação entre o nível de testosterona necessário para reprodução e o nível de testosterona tão elevado que é encontrado em alguns machos. De acordo com os autores, a variação na concentração de testosterona entre o nível reprodutivo e seu nível máximo no organismo está relacionada com estímulos sociais.

Machos mantidos em presença de fêmeas receptivas apresentam concentração de testosterona mais elevada do que machos mantidos isolados (Moore 1983). A concentração de testosterona também aumenta rapidamente durante disputas intrassexuais (Harding

1981; Wingfield & Hann 1994) e até mesmo em simplesmente observar disputas entre outros machos (Oliveira *et al.* 2001). Sabe-se que a testosterona pode aumentar a agressividade em machos, porém somente a agressividade relacionada com a reprodução, como por exemplo, disputas territoriais e guarda da fêmea (Wingfield *et al.* 1990). Dessa forma, seria vantajoso para um macho ter sua concentração de testosterona elevada durante uma disputa. A grande variação na concentração de testosterona existente entre as espécies também está relacionada com estratégia reprodutiva e o sistema de acasalamento (Hirschenhauser *et al.* 2003; Steiger *et al.* 2006).

Entretanto, poucos estudos testaram a influência de meios sociais com diferentes razões sexuais ou densidades populacionais na concentração de testosterona. Greives *et al.* (2007) sugere que a razão sexual durante a estação reprodutiva influenciaria a concentração de testosterona dos machos, principalmente em espécies de aves migratórias em que os machos chegam antes das fêmeas. Porém, ao testar esta hipótese, usando a espécie de ave *Junco hyemali* em cativeiro, não observou influência da razão sexual na concentração de testosterona. Smith *et al.* (2005) observou que na espécie de ave colonial, *Petrochelidon pyrrhonota*, a concentração de testosterona dos machos e fêmeas é mais elevada em colônias maiores, provavelmente devido a uma maior competição intrasexual.

A hipótese testada no presente trabalho é de que o meio social influencia a concentração de testosterona dos machos ao longo do tempo. Tendo em vista a presença de uma possível parceira sexual (Moore 1983) ou um possível competidor (Wingfield & Hann 1994) podem estimular o aumento da concentração de testosterona, suas diferentes densidades poderão alterar o padrão de secreção da testosterona nos machos.

Foi usado o tiziu, *Volatinia jacarina* (Emberizidae), como modelo de estudo para testar esta hipótese. O tiziu é uma ave granívora que pesa, em média, 10 g e com ocorrência do México até o Chile (Sick 1997). É encontrado em áreas abertas geralmente dominada por gramíneas (Carvalho *et al.* 2007). O macho apresenta uma plumagem nupcial negro-azulada brilhante e uma mancha branca na parte subaxilar das asas. Próximo ao final da estação reprodutiva começa a perder parte da plumagem negra, surgindo penas de cor parda. Às vezes os machos podem apresentar plumagem quase toda parda, ficando semelhante às fêmeas e aos imaturos, mas, em geral, permanece com uma plumagem mista durante o período não-reprodutivo (Aguilar *et al.* 2008). No mês de outubro migram para o Brasil Central para reproduzir (Carvalho *et al.* 2007). No início da estação reprodutiva são encontrados em bandos, que se dispersam subsequentemente para que machos ocupem e defendam pequenos territórios (Carvalho *et al.* 2007). Os machos demarcam território através de um *display* (exibição comportamental) bem característico, no qual saltam verticalmente de um poleiro, batendo as asas, exibindo a mancha branca subaxilar e emitindo uma vocalização. Costumam manter uma frequência de saltos entre 12 e 14 por minuto (Sick 1997). São socialmente monogâmicos, porém apresentam alta taxa de fertilização extrapar, com aproximadamente 63% dos ninhos contendo filhotes que são fruto de paternidade extrapar (Carvalho *et al.* 2006). Os territórios dos machos são aglomerados, com tamanhos variando entre 13 e 72 m² (Almeida & Macedo 2001). As fêmeas nidificam dentro dos territórios dos machos e ambos apresentam cuidado parental (Carvalho *et al.* 2007).

METODOLOGIA

Entre os meses de fevereiro e março de 2007 foram capturados 46 machos e 22 fêmeas, totalizando 68 indivíduos, com auxílio de três redes de neblina. As capturas ocorreram na área localizada atrás da Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos (15° 45' S, 47° 52' W), onde existe uma vegetação predominante de gramíneas com arbustos espaçados. Após a captura as aves foram trazidas e mantidas no aviário localizado atrás do Instituto Central de Ciências da Universidade de Brasília, em Brasília, Distrito Federal (15° 45' S, 47° 52' W). O aviário tem uma área de 50 m², com 3 m de altura. Os machos foram mantidos separados das fêmeas, sem contato visual, até o início dos experimentos, em junho de 2007.

Os indivíduos tinham acesso *ad libitum* à comida e água. A água era trocada a cada dois dias e seus recipientes lavados e colocados em suspensão em uma solução antibactericida. Os recipientes com comida eram completados com igual frequência. Sua alimentação consistiu de uma mistura de painços (amarelo, vermelho e verde), senha, alpiste e ração. Na água era adicionado um complexo vitamínico (Vitagold). Antes do início do experimento as aves foram tratadas com vermífugo (Avitrin) e um quimioterápico (Afectrim) para evitar infestação de parasitas intestinais ou outras doenças. Também foram tratados com Piolhaves para eliminar ectoparasitos.

DESENHO EXPERIMENTAL

No mês de junho de 2007 as aves foram separadas em três tratamentos: um primeiro tratamento só com machos, o segundo tratamento com machos e fêmeas (misto) e um terceiro com pares reprodutivos. Os tratamentos de machos e mistos possuíam três réplicas e mais uma réplica de reserva que seria utilizada na necessidade de eliminar uma das réplicas principais. O tratamento de pares possuía nove réplicas e mais uma réplica reserva (Fig. 1.1).

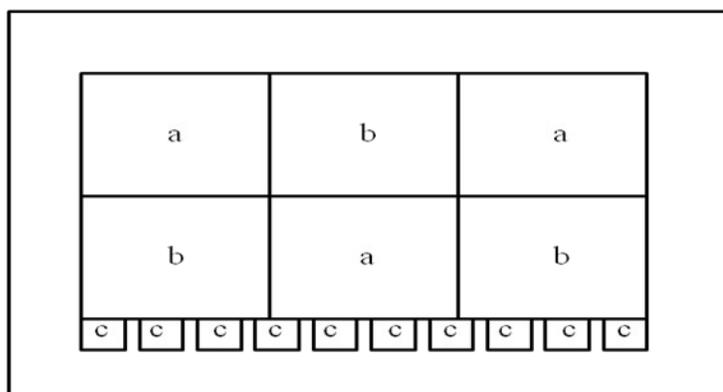


Figura 1.1. Representação esquemática da visão superior do aviário. As réplicas do tratamento com seis machos estão representadas por “a”. As réplicas do tratamento com três machos e três fêmeas estão representadas por “b”. As réplicas do tratamento com um macho e uma fêmea estão representadas por “c”.

Cada réplica do tratamento só de machos foi composta por seis indivíduos machos e mantida em um viveiro de 2,6 x 1,5 m com 2 metros de altura. Cada viveiro possuía três poleiros, duas plantas, dois recipientes com água e dois recipientes com comida. As réplicas do tratamento misto foram compostas por três machos e três fêmeas, e mantidas em condições iguais ao tratamento de machos. O tratamento de pares reprodutivos era formado por réplicas compostas por um macho e uma fêmea. As réplicas eram mantidas em gaiolas

com dimensões 55 x 30 x 38 cm. Em cada gaiola havia três poleiros, um bebedouro, duas fontes de alimento e um recipiente com água, de forma que as aves pudessem banhar-se.

A partir de 1º de julho de 2007 foram coletadas amostras de sangue mensalmente de cada macho. As coletas ocorriam preferencialmente na primeira semana de cada mês e em cada dia da semana de coleta, que começava pontualmente às 0600 h (0700 h no horário de verão), eram retirados os seis machos de suas réplicas, colocados em sacos individuais e transportados para uma sala. Para o procedimento de coleta de sangue foi usada uma agulha, marca BD Precision Glide (0,33 x 0,13 mm), e um capilar de vidro heparinizado, marca Perfecta (comprimento 75 mm, diâmetro interno 1,0 mm, diâmetro externo 1,5 mm). Tentou-se coletar sempre 150 µl de sangue da veia alar, entretanto nem sempre era possível devido ao pequeno calibre da veia e a dificuldade de sangrar os animais. As coletas ocorriam da forma mais rápida possível para evitar que os últimos animais ficassem muito tempo dentro dos sacos e por consequência mais estressados. Logo após a coleta os capilares com sangue eram centrifugados por 10 minutos a 11.500 RPM. Em seguida, as células sanguíneas eram separadas e o plasma sanguíneo era armazenado a -20 °C até serem efetivamente analisados.

ANÁLISES HORMONAIAS

As análises hormonais foram conduzidas entre os meses de setembro e novembro de 2008, em Lisboa, no Laboratório de Biologia do Instituto Superior de Psicologia Aplicada (ISPA), sob a orientação do Dr Rui F. Oliveira. A técnica empregada para quantificação hormonal foi o radioimunoensaio, que é baseada no princípio da competição por ligação

entre anticorpo e antígeno. Para tanto, é adicionado à amostra a ser mensurada um anticorpo que se liga especificamente ao hormônio desejado e uma quantidade sabida do mesmo hormônio marcado com uma substância radioativa. O hormônio marcado e o hormônio não marcado irão competir para se ligar ao anticorpo, porém o anticorpo é mais seletivo para o hormônio não marcado. Portanto quanto mais hormônio tiver uma amostra, menos sítios de ligação irão sobrar para os hormônios radioativos. Depois é preciso precipitar os hormônios ligados aos anticorpos e medir a radioatividade emitida (Nelson 2000).

Primeiramente foi necessário fazer a extração dos esteróides do plasma sanguíneo. A extração foi feita utilizando éter dietílico (Merk Referência: 1.00921) como solvente, que posteriormente era evaporado. Após a extração os esteróides eram diluídos em um tampão fosfato e congelados até que fossem analisados. Cada amostra foi analisada em duplicata de forma que era obtida a média para estimar a quantidade de testosterona. As amostras que tinham erro padrão superior a 10% entre as duplicatas foram re-analisadas. A estimativa da quantidade de testosterona de cada amostra foi feita por uma aproximação a uma curva padrão com doze pontos (Figura 1.2). O anticorpo para testosterona (referência: #RDI-TRK2T2) foi comprado da Research Diagnostics Inc. (Flanders, USA). No total, foram analisadas 388 amostras, tendo sido necessário repetir a análise de 39 amostras. As amostras foram divididas em sete ensaios, com uma variação média entre a primeira amostra controle e a última (variação intraensaio) foi de 2,3%. Já a variação entre os sete ensaios (variação interensaio) foi de 9,9%.

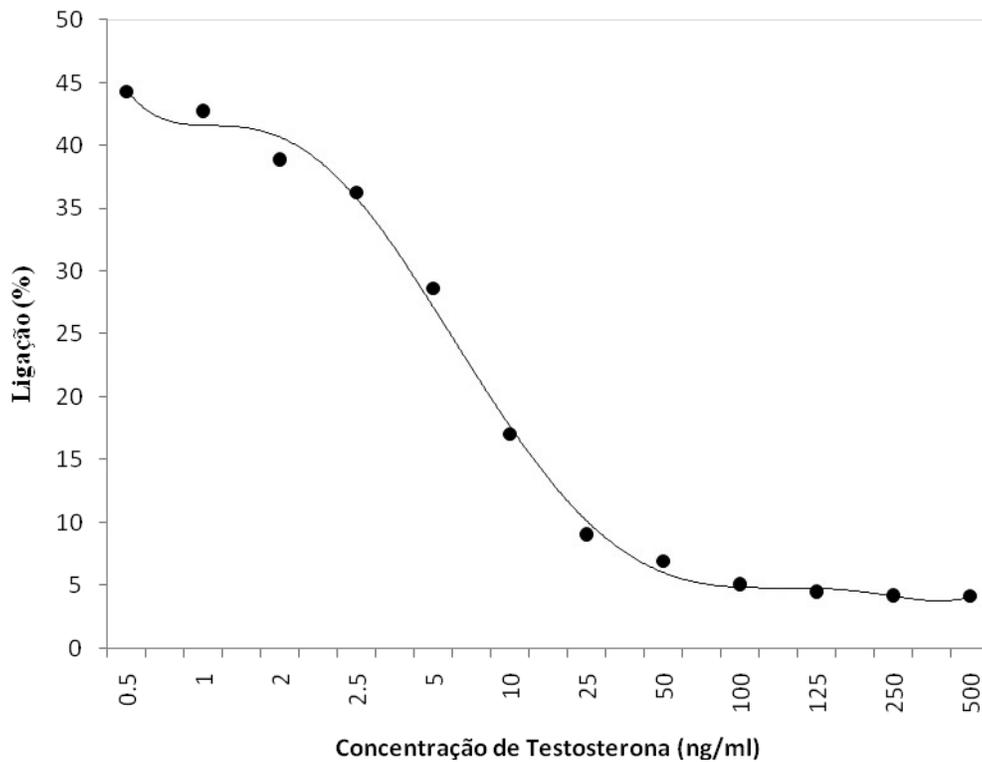


Figura 1.2. Exemplo de curva padrão utilizada para estimar a concentração de testosterona na amostras de plasma sanguíneo de *Volatinia jacarina*.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para testar se houve variação significativa ao longo do tempo e entre os tratamentos foi usado um modelo linear misto generalizado (*generalized linear mixed model*, GLMM, *lmer* no R pacote *lme4*). A concentração de testosterona (ng/ml) foi transformada para função logarítmica para normalizar a variável. O tempo e o tratamento foram considerados os fatores fixos. Para controlar a repetição de cada réplica de tratamento ao longo do tempo, a identidade dos indivíduos foi incluída como fator randômico. O modelo parcimonioso foi obtido calculando a máxima verossimilhança dos modelos removendo sequencialmente os fatores fixos e a interação e comparando-os ao modelo completo. A diferença de aderência

dos modelos aos dados foi estimada através de testes de razão de verossimilhança (*likelihood ratio test*; LRT), usando a diferença em desvio (*deviance*) como uma aproximação de qui-quadrado com graus de liberdade igual à diferença no número de parâmetros estimados (Quinn & Keough 2002). O valor de *deviance* pode ser considerado uma medida de adequação do modelo, de forma os que valores mais baixos significam uma melhor aderência do modelo aos dados. Se a remoção do fator não causasse redução significativa no poder explicativo do modelo ele era escolhido por ser o mais simples.

Devido ao desenho experimental utilizado, outras fontes de não-independência dos dados foram consideradas. Primeiramente, devido às medidas repetidas tomadas ao longo do tempo, poderia haver uma variação interindividual não só nos valores absolutos de concentração de testosterona, mas também no grau de resposta desta variável ao longo do tempo (Schielzeth & Forstmeier 2009). Segundo, no caso dos tratamentos “machos” e “mistos”, como os indivíduos foram mantidos em conjunto nos aviários, eles poderiam estar sujeitos a condições similares que afetassem as variáveis medidas, tornando machos no mesmo viveiro pontos não-independentes. O efeito dessas estimativas na independência dos dados foi testado comparando modelos que incluíam a variação individual na resposta ao longo do tempo (modelo de coeficientes randômicos; *random slopes model*: (Pol & Wright 2009; Schielzeth & Forstmeier 2009) e a variação de indivíduos em cada grupo, com o modelo incluindo apenas a variação individual na concentração de testosterona (descrito acima). Visto que em ambos os casos a dependência dos dados não foi significativa (LRT, ambos $p > 0,9$), os dados foram considerados estatisticamente independentes para esses fatores e o modelo com menos fatores randômicos foi considerado.

Para realizar as análises estatísticas foi utilizado o programa estatístico R (versão 2.7.1, R Development Core Team 2008). Todos os testes foram bi-caudais e os dados reportados na forma de média \pm erro padrão.

RESULTADOS

No total, foram analisadas amostras de sangue de 40 machos ao longo de 12 meses, com uma amostra por mês. A média da concentração de testosterona no plasma sanguíneo foi $0,60 \pm 0,01$ ng/mL, sendo que fora da estação reprodutiva (agosto e setembro de 2007 junho e julho de 2008) a média foi $0,54 \pm 0,02$ ng/mL e na estação reprodutiva (outubro de 2007 a maio de 2008) foi $0,62 \pm 0,01$ ng/mL. A maior concentração de testosterona encontrada foi 2,33 ng/mL de um macho do tratamento de machos e a menor concentração foi 0,19 ng/mL de um indivíduo do tratamento misto. No mês de outubro de 2007, observou-se um pequeno aumento na concentração de testosterona, seguido por uma queda nos meses de novembro e dezembro. No mês de janeiro de 2008, ocorreu um grande aumento na secreção da testosterona que se manteve até o mês de maio (Fig. 1.3).

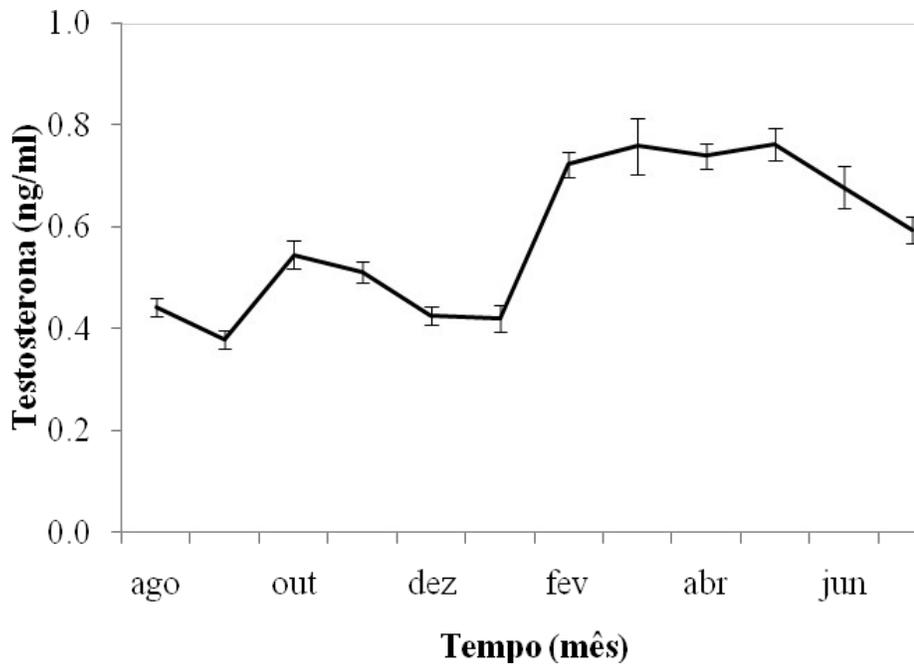


Figura 1.3. Linha contínua representa a concentração de testosterona no plasma sanguíneo de *Volatinia jacarina* entre os meses de agosto de 2007 a julho de 2008. As barras representam o erro padrão.

Para o teste da hipótese foram excluídos da análise dez machos que morreram nos três primeiros meses de causa desconhecida e o modelo misto incluiu somente os meses de novembro de 2007 a julho de 2008. Dessa forma o total de machos no modelo foi 30, ao longo de nove meses. Houve uma variação significativa na concentração de testosterona ao longo do tempo ($\chi^2 = 169,44$, gl= 8, $p < 0,0001$). Todos os tratamentos apresentaram um grande aumento na concentração de testosterona em fevereiro de 2008 e queda no mês de julho de 2008 (Fig. 1.4).

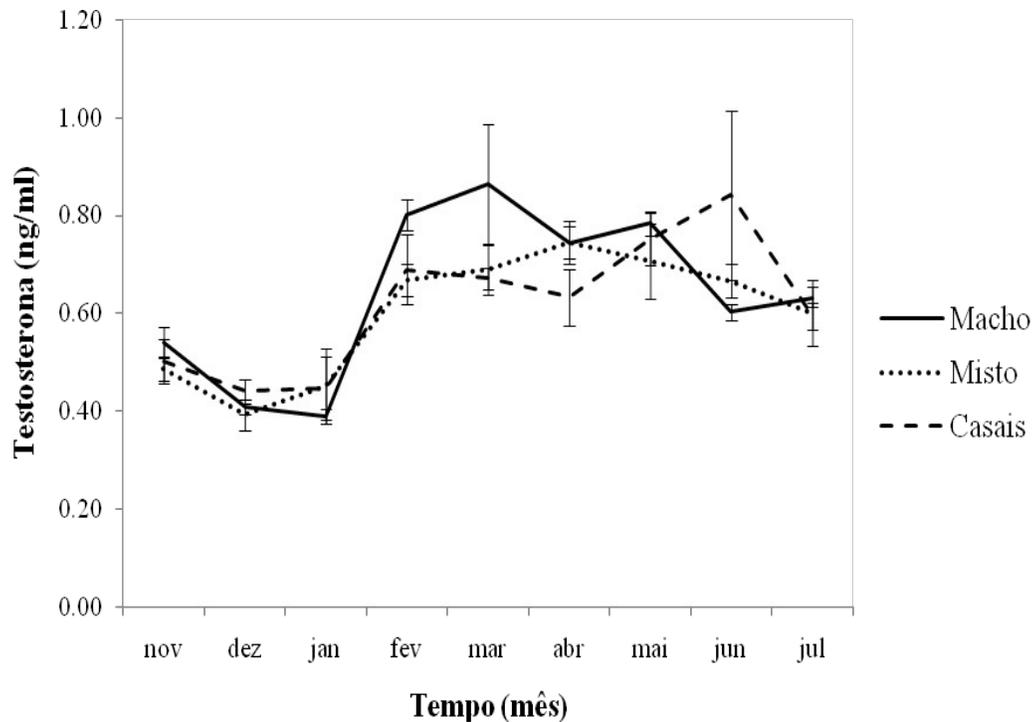


Figura 1.4. Variação da concentração de testosterona no plasma sanguíneo de *Volatinia jacarina* dividida em três tratamentos: tratamento só com machos, tratamento com machos e fêmeas e tratamento com casais. As barras verticais representam o erro padrão.

Apesar de não haver diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 4,18$, gl = 2, p = 0,12), a concentração de testosterona variou de forma significativamente diferente entre os tratamentos ao longo do tempo ($\chi^2 = 28,40$, gl = 16, p = 0,028). O tratamento de machos apresentou uma concentração de testosterona superior aos tratamentos misto e de casais nos meses de fevereiro e março de 2008 e uma menor concentração no mês de junho (Fig. 1.4). Já o tratamento de casais apresentou a menor concentração no mês de abril quando comparado com os outros tratamentos.

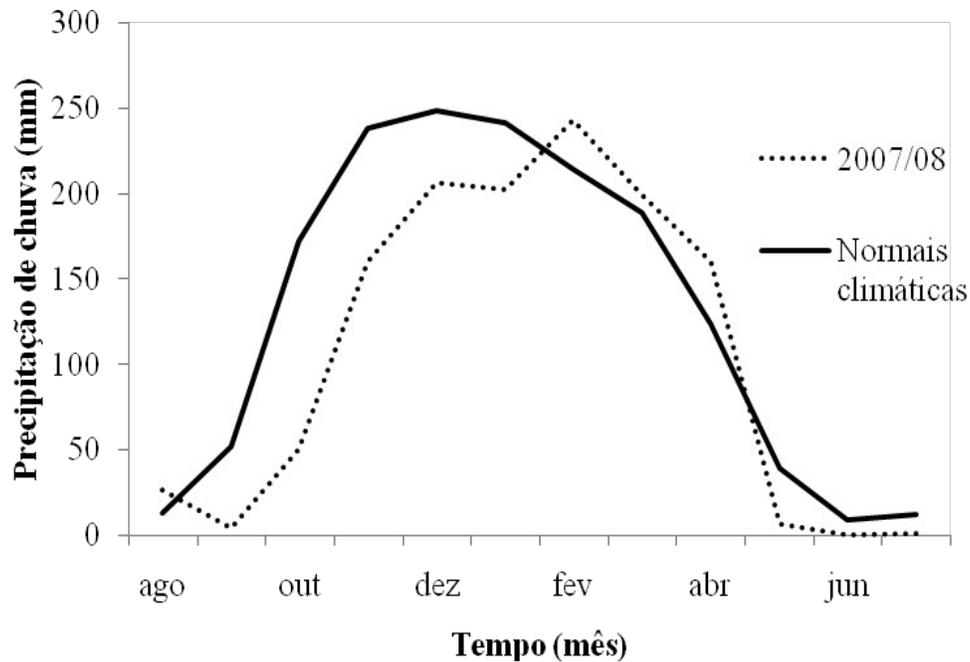


Figura 1.5. Precipitação de chuva mensal no Distrito Federal. As normais climáticas foram obtidas entre os anos de 1961 a 1990 (DNMET 1992). A precipitação mensal para o período 2007/08 foi obtida em CPTEC (2009).

DISCUSSÃO

O padrão de concentração de testosterona no plasma sanguíneo de machos de *Volatinia jacarina* durante o período de um ano, mesmo mantidos em cativeiro, apresentou uma grande variação ao longo do tempo. No mês de outubro os machos apresentaram um aumento na concentração de testosterona. Almeida & Macedo (2001) estudaram o tiziu na mesma área em que foi conduzido este estudo e notaram sua presença pela primeira vez no final do mês de setembro, porém, Carvalho *et al.* (2007), que também estudaram o tiziu nesta região em anos diferentes, observaram a presença do tiziu pela primeira vez em novembro. O começo do período chuvoso no Distrito Federal normalmente ocorre no mês de outubro (Fig. 1.5) e coincide com o aparecimento desta espécie no Cerrado.

O pequeno aumento na concentração de testosterona no mês de outubro pode estar relacionado com a chegada dos machos aos locais de reprodução e começo do estabelecimento dos territórios. Os primeiros machos realizam *displays* no mês de dezembro (Almeida & Macedo 2001; Carvalho *et al.* 2007) e o acasalamento e postura dos ovos começam em janeiro (Carvalho *et al.* 2007), coincidindo com os picos de chuva no Distrito Federal (Fig. 1.5). O pico na concentração de testosterona dos machos ocorreu somente em fevereiro de 2008, podendo este atraso ter ocorrido devido ao tarde começo da estação chuvosa no Distrito Federal no período 2007/08 (Fig.1.5).

O tiziu é uma espécie socialmente monogâmica e tanto o macho como a fêmea apresentam cuidado parental (Carvalho *et al.* 2007). Wingfield *et al.* (1990) propuseram que os machos de espécies monogâmicas apresentam um pico na concentração de testosterona somente no começo da estação reprodutiva, seguido por uma queda quando o cuidado com a prole começa. Já as espécies poligínicas devem apresentar uma alta concentração de testosterona durante toda estação reprodutiva. No presente estudo os machos mantidos em cativeiro apresentaram uma variação na concentração de testosterona semelhante ao padrão sugerido para machos poligínicos, possivelmente devido ao fato de não terem ninhada durante a estação reprodutiva e, portanto, não apresentaram cuidado parental.

Outra possível explicação para semelhança com espécies poligínicas é que o macho de *Volatinia jacarina*, por apresentar uma taxa de fertilização extrapar em torno de 63%, bem acima da taxa de 11% encontrada em espécies de aves monogâmicas (Carvalho *et al.* 2006); continua com a concentração de testosterona elevada para conseguir mais cópulas. Trabalhos anteriores mostraram que os machos dessa espécie continuam realizando *display*

mesmo após terem acasalado com sucesso e durante a fase de cuidado com a prole. É possível que os machos continuem realizando *displays* durante a estação reprodutiva para demarcar seus territórios e para conseguir fertilizações extrapar, e para tal seria necessário uma alta concentração de testosterona durante toda estação reprodutiva.

Os três tratamentos deste trabalho (machos, misto e casais) apresentaram variação na concentração de testosterona significativa ao longo do tempo. Porém o tratamento só com machos apresentou uma concentração maior do que os demais tratamentos nos meses de fevereiro e março, período que aparentemente foi o início real da reprodução, demonstrando que o meio social teve influência na concentração de testosterona.

No presente trabalho foi manipulado o meio social fora da estação reprodutiva e os mesmos indivíduos foram mantidos juntos durante o período de um ano. A ausência de fêmeas no grupo e o elevado número de machos possivelmente causaram a elevação da concentração de testosterona dos indivíduos desse tratamento. Sabe-se que disputas sociais entre machos pode levar a um aumento na concentração de testosterona (Goymann *et al.* 2007), portanto, é possível que neste tratamento, que possui maior densidade de machos, ocorressem mais disputas sociais e isso elevasse o nível de testosterona nos machos. Porém, isso não explica porque tal fato tenha ocorrido somente nos meses de fevereiro e março.

Admitindo que a concentração de testosterona possa ser interpretada como investimento do macho na reprodução, pois está intimamente relacionada à aquisição de características sexuais secundárias, hipertrofia muscular, espermatogênese e comportamento agressivo e sexual (Wingfield *et al.* 2001), é possível que a maior densidade de machos no tratamento só de machos sinaliza-se uma situação de maior competitividade. Isso pode ter levado os machos a investir mais na reprodução no período

que seria o começo da formação dos casais, mesmo sem a presença de fêmeas. No caso da espécie de ave colonial *Petrochelidon pyrrhonota* foi observado que os machos de colônias mais numerosas apresentavam maior concentração de testosterona do que machos de colônias menores, possivelmente devido a diferença na taxa de competição intrasexual (Smith *et al.* 2005). Em tal trabalho foi observado que a diferença na concentração de testosterona entre as colônias de diferentes tamanhos ocorreu principalmente no começo do período de cópulas, semelhante ao padrão entrado com *Volatinia jacarina*. Greives *et al* (2007) não encontraram diferença na concentração de testosterona de machos mantidos em meios sociais com diferentes razões sexuais e uma possível razão foi que em tal trabalho não foi feito uma repetição temporal, ao contrário do que foi feito no trabalho com *Petrochelidon pyrrhonota* e neste trabalho.

É importante ressaltar que manter alta concentração de testosterona pode ser custoso para um macho, pois esse hormônio pode suprimir o sistema imunológico, aumentar a taxa metabólica e conseqüentemente aumentar o gasto energético e reduzir as reservas de gordura e, por último, por tornar o macho mais agressivo e mais disposto a lutar com outros macho, aumenta a probabilidade de se machucar e de ser morto (Wingfield *et al.* 2001). Dessa forma isto pode explicar o fato de dos machos do tratamento de machos, que teve maior concentração de testosterona nos meses de fevereiro e março, apresentaram a menor concentração quando saíram do período reprodutivo. Já os machos no tratamento de pares reprodutivos apresentaram menor concentração de testosterona em um dos meses da estação reprodutiva e isso pode ser um reflexo da falta de competidores, já que não foram expostos à presença de outros machos ao longo do ano. Os indivíduos do tratamento de pares reprodutivos foram mantidos em gaiolas de menor tamanho proporcionalmente, e tal

fato pode ter deixado os indivíduos mais estressados e conseqüentemente reduzido a secreção de testosterona.

Foi demonstrado que os machos de diferentes meios sociais possuem diferentes perfis de secreção de testosterona ao longo do ano. A hipótese do desafio propõe que a alteração na concentração de testosterona é uma resposta hormonal adaptativa à alteração na taxa de competição intrasexual por recursos ou por parceiros sexuais (Wingfield *et al.* 1990), dessa forma, é possível que a percepção que o macho tem de seu ambiente social pode alterar seu investimento durante a reprodução, e no caso do tiziu, poderá modificar sua estratégia reprodutiva, uma vez que em tal espécie o macho pode ou não procurar cópulas extras. Porém, não foi feito um acompanhamento de indivíduos *in situ* para saber se machos podem modificar sua estratégia reprodutiva em função do meio social. Além disso, foi observado que para um macho atingir o estado reprodutivo não é necessária a presença de fêmeas, já que em todos os tratamentos os machos apresentaram uma elevação na concentração de testosterona durante o período reprodutivo. Estudos futuros devem focar os machos *in situ*, tanto para comparar com o padrão encontrado em cativeiro, como para saber quais os fatores ambientais que influenciam na estratégia reprodutiva e a influência desses fatores na concentração de testosterona.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adkins-Regan, E. 2005. *Hormones and animal social behavior*. 1ª ed. Princeton: Princeton University Press.

- Aguilar, T. M., Maia, R., Santos, E. S. A. & Macedo, R. H.** 2008. Parasite levels in blue-black grassquits correlate with male displays but not female mate preference. *Behavioral Ecology* **19**:292-301.
- Almeida, J. B. & Macedo, R. H.** 2001. Lek-like mating system of the monogamous blue-black grassquit. *The Auk* **118**:404-411.
- Carvalho, C. B. V., Macedo, R. H. & Graves, J. A.** 2006. Breeding strategies of a socially monogamous neotropical passerine: extra-pair fertilizations, behavior, and morphology. *The Condor* **108**:579-590.
- Carvalho, C. B. V., Macedo, R. H. & Graves, J. A.** 2007. Reproduction of Blue-black Grassquits in central Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **67**:275-281.
- CPTEC.** 2009. Previsão climática. Disponível na internet em <http://clima1.cptec.inpe.br/>. Acessado em 18 de abril de 2009. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais.
- Dawson, A.** 2008. Control of the annual cycle in birds: endocrine constraints and plasticity in response to ecological variability. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **363**:1621-1633.
- DNMET.** 1992. *Normais Climatológicas (1961-1990)*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília
- Goymann, W., Schwabl, I., Trappschuh, M. & Hau, M.** 2007. Use of ethanol for preserving steroid and indoleamine hormones in bird plasma. *General and Comparative Endocrinology* **150**:191-195.
- Greives, T. J., Casto, J. M. & Ketterson, E. D.** 2007. Relative abundance of males to females affects behaviour, condition and immune function in a captive population of dark-eyed juncos *Junco hyemalis*. *Journal of Avian Biology* **38**:255-260.

- Harding, C.** 1981. Social modulation of circulating hormone levels in the male. *American Zoologist* **21**:223-231.
- Hirschenhauser, K., Winkler, H. & Oliveira, R. F.** 2003. Comparative analysis of male androgen responsiveness to social environment in birds: the effects of mating system and paternal incubation. *Hormones and Behavior* **43**:508-519.
- Moore, M. C.** 1983. Effects of female displays on the endocrine physiology and behaviour of male White-crowned sparrows, *Zonotrichia leucophrys*. *Journal of Zoology* **199**:137-148.
- Nelson, R. J., Gubernick, D. J. & Blom, J. M. C.** 1995. Influence of photoperiod, green food, and water availability on reproduction in male California mice (*Peromyscus californicus*). *Physiology & Behavior* **57**:1175-1180.
- Nelson, R. J.** 2000. *An introduction to behavioral endocrinology*. 2^a ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
- Oliveira, R. F., Lopes, M., Carneiro, L. A. & Canário, A. V. M.** 2001. Watching fights raises fish hormone levels. *Nature* **409**:475.
- Pol, M. V. & Wright, J.** 2009. A simple method for distinguishing within- versus between-subject effects using mixed models. *Animal Behaviour* **77**:753-758.
- Quinn, G. P. & Keough, M. J.** 2002. *Experimental design and data analysis for biologists*. 1^a ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Rödl, T., Goymann, W., Schwabl, I. & Gwinner, E.** 2004. Excremental androgen metabolite concentrations and gonad sizes in temperate zone vs. tropical Stonechats (*Saxicola torquata* ssp.). *General and Comparative Endocrinology* **139**:124-130.

- Schielzeth, H. & Forstmeier, W.** 2009. Conclusions beyond support: overconfident estimates in mixed models. *Behavioral Ecology* **20**:416-420.
- Sick, H.** 1997. *Ornitologia brasileira*. 2^a ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.
- Smith, L. C., Raouf, S. A., Brown, M. B., Wingfield, J. C. & Brown, C. R.** 2005. Testosterone and group size in cliff swallows: testing the "challenge hypothesis" in a colonial bird. *Animal Behaviour* **47**:76-80.
- Steiger, S. S., Goymann, W. & Kempenaers, B.** 2006. Plasma steroid hormones in two Arctic-breeding shorebirds: Monogamy versus polygyny. *General and Comparative Endocrinology* **147**:133-140.
- Wingfield, J. C., Hegner, R. E., Dufty, A. M. & Ball, G. F.** 1990. The "Challenge Hypothesis": theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *The American Naturalist* **136**:826-846.
- Wingfield, J. C. & Hann, T. P.** 1994. Testosterone and territorial behaviour in sedentary and migratory birds. *Animal Behaviour* **47**:77-89.
- 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.

Reavaliando o contexto de dominância: testosterona, características morfológicas e atributos ornamentais em *Volatinia jacarina*

RESUMO

A existência de características que possam ser importantes na seleção de parceiros e disputas intrassexuais já foi observada em muitas taxa. Em aves é possível que a plumagem possa representar um sinal honesto de qualidade dos machos. O objetivo deste trabalho é investigar a existência de alguma característica morfológica ou ornamental que possa sinalizar dominância na espécie *Volatinia jacarina*. Também foram objetivos testar se tais características estão relacionadas com a concentração de testosterona e se a dominância está relacionada com a concentração deste hormônio. Os testes de dominância foram feitos através de disputas agonísticas por acesso a um recurso alimentar. Os resultados mostram que a proporção de plumagem negra dos machos é inversamente relacionada com a dominância, de forma que os indivíduos com menor proporção do corpo coberto pela plumagem negra são dominantes. Não foi encontrada relação da testosterona com a dominância nem a expressão da plumagem negra nos machos. Uma possível explicação para a plumagem negra estar inversamente correlacionada com a dominância é que a primeira possa estar associada a uma baixa condição imunológica, corporal ou fisiológica. Dessa forma os indivíduos com menor porcentagem de plumagem negra no corpo estão em

pior condição de forma geral, e mais dispostos a lutar por um recurso alimentar que lhes é muito importante. A falta aparente de influência da testosterona com a dominância pode indicar que o estabelecimento da dominância não tem um contexto sexual, e sim alimentar.

Palavras-chave: Dominância, testosterona, hierarquia social, sinais honestos, competição intrassexual.

ABSTRACT

The existence of morphological and ornamental traits that play an important role in mate choice and intra-sexual contest is observed in many taxa. Plumage in birds may be an honest sign of male quality. One objective of this study was to test whether blue-black grassquit males exhibit some trait that could signalize dominance. A second objective was to test if such traits are associated with testosterone and, finally, whether this hormone is related directly with dominance. Dominance was established by contests over access to a food resource. The results show that the proportion of black plumage of males is negatively correlated with dominance, so that males with less black plumage are dominant. Testosterone shows no correlation with dominance or the expression of black plumage. One possible explanation for the inverse relationship between dominance and the proportion of black plumage is that this trait is associated with lower immunological, body or physiological condition, so that males with less black plumage are in worse condition and are more willing to fight for food because it is more important to them. The lack of relationship between testosterone and dominance suggests that the hierarchy established occurred in a non-sexual context.

Keywords: Dominance, testosterone, social hierarchy, honest signal, intra-sexual competition.

INTRODUÇÃO

A teoria da seleção sexual (Dawin 1871) explica como evoluíram características fenotípicas ornamentais conspícuas que aparentemente não tem função para sobrevivência, mas que apresentam vantagens reprodutivas ao indivíduo que as possui. Tais características potencialmente serviriam como sinalizadores honestos da qualidade do indivíduo e só evoluiriam no caso de serem custosas de produzir ou manter, de forma que somente os indivíduos com melhor condição pudessem desenvolvê-las (Zahavi 1977). Alguns trabalhos demonstraram a importância desses sinais honestos na seleção de parceiros (Møller 1988; Woodcock *et al.* 2005; Rick *et al.* 2006; Bitton *et al.* 2007). Porém, um sinal honesto também pode ser útil em uma disputa entre indivíduos do mesmo sexo (Rohwer 1982).

Em muitos animais, características morfológicas conspícuas podem sinalizar estado fisiológico, idade, habilidade em lutas, status social e até mesmo tamanho das gônadas. O dorso de pelo prateado em gorilas é um sinal de dominância, assim como a face negra e tamanho do chifre no carneiro-de-dall (Loehr *et al.* 2008) e a coloração vermelha da face do mandril (Setchell *et al.* 2008). A juba do leão pode ser um bom indicador da habilidade em lutas (West & Packer 2002). Nas aves, a mancha preta presente no pescoço dos machos do pardal, *Passer domesticus*, comumente chamada de babador, está fortemente e positivamente relacionada com a habilidade em lutas e mais fracamente com a idade e condição corporal (Nakagawa *et al.* 2007). Adicionalmente, outros estudos indicam que o tamanho do babador está positivamente correlacionado com o tamanho das gônadas e com qualidade do território (Møller 1988; Møller & Erritzøe 1988).

Dentro do contexto de um grupo social com uma hierarquia estabelecida, pode ser vantajoso, tanto para o dominante como para o subordinado, a existência de um sinal honesto que possa indicar dominância, diminuindo a frequência de interações agonísticas que demandam energia e aumentam o risco de ferimentos. Mesmo para os subordinados, que estão numa posição desvantajosa, há a vantagem de evitar um confronto no qual terá grande possibilidade de perder (Rohwer 1982). É possível que o hormônio testosterona tenha papel duplo no estabelecimento da dominância, aumentando a agressividade e também ressaltando algumas características morfológicas que sinalize a dominância de um macho. De fato, em uma população silvestre de chimpanzé (*Pan troglodytes*), foi observado que a concentração de testosterona estava positivamente correlacionada com o nível de agressividade e também a dominância social dos machos (Muller & Wrangham 2004). No lêmur (*Lemur catta*) a concentração de testosterona nas fezes está correlacionada com os níveis de agressão entre machos durante o período reprodutivo (Cavigelli & Pereira 2000). Além disso, foi observado que a concentração de testosterona está positivamente correlacionada com a coloração avermelhada na face e com a posição hierárquica dos machos de mandril, *Mandrillus sphinx* (Setchell *et al.* 2008). Quando um macho assume o papel de dominante, seu nível de testosterona sobe e sua face fica mais avermelhada (Setchell *et al.* 2008).

Analogamente à elevação do nível de testosterona frente a interações agonísticas em primatas, em aves a simulação da vocalização de um macho intruso dentro do território de outro macho leva a uma rápida elevação no nível de testosterona do macho residente (Wingfield & Hann 1994), mostrando que a secreção desse hormônio pode ser rápida, assim como a da adrenalina e do cortisol diante de uma situação de estresse. Outros estudos

com aves (Holberton *et al.* 1989; Belthoff *et al.* 1994) não encontraram evidências de que a testosterona possa influenciar a dominância ou alguma característica morfológica que sinalize o status social dos machos.

A hipótese a ser testada no presente trabalho é se existe alguma característica morfológica que possa indicar dominância social no tiziu, *Volatinia jacarina*. Também serão testadas as hipóteses de que a concentração de testosterona está relacionada com dominância e se esse hormônio está relacionado com alguma característica morfológica indicadora de dominância.

O tiziu, *Volatinia jacarina* (Emberizidae), é uma ave neotropical, granívora e socialmente monogâmica (Almeida & Macedo 2001). No começo da estação reprodutiva (outubro) são comumente vistos em bandos, porém nesse período os machos começam a estabelecer os territórios (Carvalho *et al.* 2007). Os machos defendem ativamente os territórios, demarcando-os com um comportamento estereotipado que consiste de repetidos saltos em um poleiro elevado, exibindo sua mancha branca subaxilar e emitindo uma vocalização característica que dá o nome a espécie (Sick 1997). Durante a estação reprodutiva os machos adquirem uma plumagem nupcial preto-azulada, enquanto que as fêmeas permanecem com uma plumagem parda. Próximo do fim da estação reprodutiva os machos começam a perder parte da plumagem negra, surgindo penas de cor parda, podendo ficar semelhante às fêmeas (Aguilar *et al.* 2008).

METODOLOGIA

As aves usadas neste estudo foram mantidas em um aviário localizado no Instituto Central de Ciências da Universidade de Brasília, Distrito Federal, Brasil (15° 45' S, 47° 52'

W), entre os meses de junho de 2007 a julho de 2008. Os indivíduos utilizados no experimento foram os mesmos utilizados em outro experimento (*vide* Capítulo 1) e o estudo ocorreu simultaneamente. As aves foram mantidas no mesmo aviário e submetidas às mesmas condições. Para o presente trabalho, foram utilizadas as aves separadas em dois tratamentos distintos: um composto apenas por machos (três réplicas, cada uma com seis machos) e um tratamento misto (três réplicas, cada uma com três machos e três fêmeas).

DOMINÂNCIA

Mensalmente, a partir do mês de setembro de 2007, cada grupo foi submetido a um experimento com objetivo de determinar a dominância. O experimento consistia em colocar os indivíduos de cada grupo em uma gaiola e privá-los de alimento na noite anterior. Cada indivíduo era identificado com duas anilhas coloridas. No caso do grupo misto eram separados somente os machos, e as fêmeas não participavam do experimento. Às 0600 h da manhã seguinte era disponibilizada aos indivíduos uma fonte de alimento de forma que somente um indivíduo pudesse se alimentar por vez. A seguir, usava-se uma filmadora para gravar as interações que ocorriam nos 20 minutos subsequentes. Para análise, eram considerados somente os 15 min após o primeiro indivíduo tentar acessar a fonte de alimento ou após a ocorrência de alguma interação agonística. Durante as filmagens eram identificados todos os indivíduos que participaram de interações agonísticas e o tempo de permanência de cada indivíduo na fonte de alimento. Para cada interação agonística era estipulado um vencedor e um perdedor. O critério utilizado para determinar o ganhador de cada interação era o indivíduo que conseguisse deslocar o oponente de lugar. Nos raros

casos em que ambos os indivíduos ficavam parados era considerado vencedor o indivíduo que permaneceu sobre a de fonte de alimento.

Antes do primeiro experimento, ocorrido em setembro de 2007, dois indivíduos morreram, sendo ambos do tratamento só de machos, porém de grupos distintos. Após o primeiro mês mais um indivíduo do tratamento só de machos morreu e, no mês seguinte, outro indivíduo desse tratamento e outro do tratamento misto morreram. Portanto, a partir do mês de novembro de 2007, haviam dois grupos do tratamento de machos com quatro indivíduos e um grupo do tratamento misto com dois machos. A partir do mês de fevereiro de 2008, foram adicionados novos indivíduos machos aos grupos onde ocorreram óbitos, de forma que todos os grupos tinham mesmo número de indivíduos.

Para determinar a hierarquia linear dentro de cada grupo foi usado o método conhecido como David's Score (David 1987), utilizando modificações propostas por Vries *et al.* (2006). Esse método foi escolhido devido ao uso de interações repetidas e de um peso para cada indivíduo baseado no seu número de vitórias e derrotas. Já a modificação foi utilizada por normalizar o índice de dominância, levando em conta o tamanho do grupo analisado. A fórmula para calcular o índice de dominância (DS) para cada indivíduo é:

$$DS = w + w_2 - l - l_2$$

onde “w” é a soma da proporção de vitórias sobre cada um dos outros indivíduos do grupo, “w₂” é a soma dos valores de “w” dos outros indivíduos do grupo, “l” é a soma da proporção de derrotas sobre cada indivíduo e “l₂” é a soma dos valores de “l” dos outros indivíduos.

A fórmula para normalizar o índice de dominância (NormDS) de cada indivíduo é:

$$\text{NormDS} = \{DS + N(N-1)/2\}/N$$

onde “N” é o número de indivíduos do grupo.

MORFOMETRIA, ORNAMENTOS E ANÁLISE HORMONAL

Além do peso, as medidas morfométricas de cada indivíduo foram tomadas no dia anterior ao experimento e incluíram o comprimento do tarso direito, comprimento da asa direita, comprimento do bico e comprimento da cauda. O peso foi aferido com uma balança de mola com precisão de 0,1 g, as demais medidas com um paquímetro digital com precisão de 0,02 mm. O índice de condição corporal foi estimado dividindo a massa pelo comprimento do tarso. Esse índice já foi usado anteriormente e mostrou-se negativamente correlacionado com infestação de parasitas (Costa & Macedo 2005).

A mancha branca subaxilar foi medida abrindo a asa esquerda e colocando-a sobre uma superfície plana para poder desenhar o contorno da asa e da mancha em uma transparência de acetato. Os desenhos do contorno da asa e da mancha foram digitalizadas e as áreas medidas usando o programa ImageJ (Rasband 1997-2008). A proporção da mancha branca foi obtida dividindo sua área pela área total da asa.

A estimativa da cobertura de plumagem negra foi feita usando um disco transparente com 3 cm de diâmetro e com 37 pontos distantes 0,5 cm entre si. O disco era colocado sobre a ave e eram contados quantos pontos sobrepunham penas negras e quantos

sobrepunham penas não negras. Dividindo a contagem de pontos sobre as penas negras pelo total de pontos obtinha-se a porcentagem de penas negras. Essa técnica era utilizada em três regiões da ave (cabeça, peito e dorso) e calculava-se a média aritmética para estimar a cobertura de todo corpo.

Amostras de sangue de aproximadamente 150 µl foram coletadas no dia anterior ao experimento para mensuração da concentração de testosterona, de acordo com a metodologia indicada no capítulo 1. O sangue era imediatamente centrifugado por 10 minutos a 11.500 rpm e o plasma sanguíneo armazenado à -20 °C até o início das análises. As análises ocorreram entre os meses de setembro e novembro de 2008 em Lisboa, no Laboratório de Biologia do Instituto Superior de Psicologia Aplicada. A técnica empregada para mensuração da concentração da testosterona foi o radioimunoensaio. O anticorpo utilizado (referência: #RDI-TRK2T2) foi comprado da Research Diagnostics Inc. (Flanders, USA). A variação média intraensaio foi de 2,3% e a variação interensaio (total de sete ensaios) foi de 9,9%.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O programa estatístico SPSS 13,0 (SPSS Inc., 2004) foi utilizado para todas as análises. Todos os testes foram bicaudais e a hipótese nula rejeitada quando $p < 0,05$. A normalidade das variáveis foi testada usando o teste Shapiro-Wilk. As variáveis de porcentagem foram normalizadas transformando-as pela função arcoseno. A concentração de testosterona e o comprimento da cauda não puderam ser normalizados, portanto foi

utilizado teste não-paramétrico (correlação de Spearman) para testar sua relação com outras variáveis.

Foi feita uma regressão múltipla passo a passo (*stepwise*) para determinar se o índice de dominância normalizado estava associado com alguma característica morfométrica ou ornamentos de plumagem. As variáveis eram removidas do modelo no final caso não atingissem a significância. Como todos os indivíduos tiveram suas medidas tiradas mensalmente, entre os meses de fevereiro a julho de 2008, foi utilizado no modelo a média aritmética das variáveis nesse período. Depois do modelo final ser selecionado os resíduos padronizados da regressão foram salvos e os indivíduos com valor maior que 1,5 e menor que -1,5 foram removidos, com intuito de remover os *outliers*.

RESULTADOS

No total, foram utilizados 31 machos que tiveram amostras de sangue coletadas a partir de agosto de 2007. Devido à morte de alguns indivíduos nos primeiros meses e substituições por outros machos, foram considerados os dados a partir do mês de fevereiro de 2008, quando todos os grupos estavam com mesmo número de indivíduos e não ocorreram mais óbitos até o final dos experimentos em julho de 2008. Nas análises foram considerados os dados de 27 indivíduos divididos em seis grupos ao longo de seis meses. Em cinco ocasiões não ocorreram interações agonísticas, todas elas em tratamento misto.

O modelo obtido, quando se testou quais variáveis estavam correlacionadas com a dominância, foi o que levava em conta a porcentagem de plumagem, controlando o grupo dos indivíduos e o número de indivíduos dentro do grupo ($F_{(3,22)} = 24,35$; $p < 0,001$; $R^2 =$

0,77; $n = 26$). Dessa forma, a porcentagem de plumagem negra, dentre todas variáveis morfométricas e ornamentos utilizados (Tab. 2.1), foi a única variável correlacionada com o índice de dominância, de forma inversa ($\beta = -0,23$; $t = -2,28$, $p = 0,03$; Fig. 2.1).

Tabela 2.1. Regressão linear múltipla passo a passo do índice de dominância em relação à média das medidas morfométrica e características ornamentais dos machos de *Volatinia jacarina*, usados em manipulação experimental entre os meses de fevereiro e julho de 2008.

	Média	EP ^a	β^b	F	gl ^c	p	R ²
Modelo				24,35	3;22	>0,001	0,77
Peso (g)	10,1	0,12	-0,14			0,23	
Asa (mm)	43,41	0,18	0,16			0,15	
Bico (mm)	7,71	0,06	>-0,01			0,99	
Tarso (mm)	18,64	0,96	-0,03			0,81	
Cauda (mm)	46,34	0,61	-0,15			0,23	
Proporção da mancha branca (%)	24,7	1,3	-0,07			0,49	
Proporção de plumagem Negra (%)	87,4	2,1	-0,23			0,03	

^a Erro padrão

^b Coeficiente padronizado

^c Grau de liberdade

A concentração de testosterona não foi correlacionada com a dominância ($r_s = 0,24$; $n = 27$; $p = 0,23$) ou com a porcentagem de plumagem negra ($r_s = 0,06$; $n = 27$; $p = 0,78$). O índice de condição corporal não teve correlação com a testosterona ($r_s = -0,27$; $n = 27$; $p = 0,18$) ou com a porcentagem de plumagem negra ($r = -0,32$; $n = 27$; $p = 0,11$).

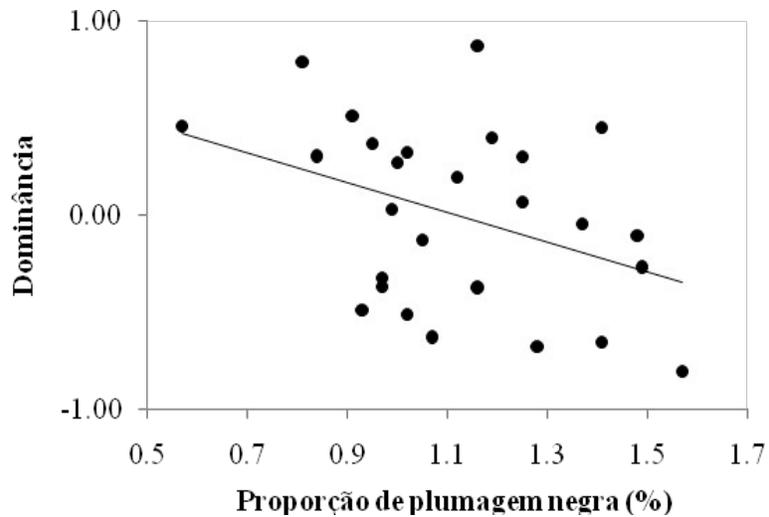


Figura 2.1. Correlação entre o índice de dominância (resíduo da dominância controlando para o número de machos no grupo e identificação do grupo) e a proporção da plumagem negra que cobre o corpo do macho de *Volatinia jacarina* (arco seno transformado).

DISCUSSÃO

Neste capítulo foi avaliada a existência de característica morfométrica ou ornamental que pudesse sinalizar dominância em um contexto de disputa alimentar. A única característica que mostrou algum padrão foi a porcentagem de plumagem negra nos machos que estava inversamente correlacionada com o índice de dominância, ou seja, os machos dominantes no acesso ao recurso alimentar possuem menor porcentagem de plumagem negra.

Trabalhos anteriores demonstram a importância da plumagem de aves em seleção de parceiros e competições intrassexuais (Doucet & Montgomerie 2003; Nakagawa *et al.* 2007; Reudink *et al.* 2009). Uma vez que o tiziu macho adquire uma plumagem nupcial negro-azulada brilhante durante a estação reprodutiva, tendendo a ficar completamente coberto por essa plumagem, supunha-se que os machos que tivessem a maior parte de seu

corpo coberto pela plumagem negra seriam os dominantes, porém foi observado o contrário. Uma possível explicação para esse resultado é que os machos com menor porcentagem de plumagem negra estavam em pior condição corporal, portanto, eles estariam mais dispostos a disputar o recurso alimentar após o período de privação. Alternativamente, os machos com maior porcentagem de plumagem negra estavam em melhor condição corporal e não se empenhariam em lutar pelo alimento. Quando foi testada a relação do índice de condição corporal com a porcentagem de plumagem negra observou-se que não há correlação. Porém, pode haver outro fator que não foi analisado nesse trabalho que pode influenciar a expressão da plumagem negra e conseqüentemente o status social (*e.g.*, condição imunológica, tamanho da reserva de gordura e idade).

Costa e Macedo (2005) mostraram que a porcentagem de plumagem negra está inversamente correlacionada com a infestação por coccídeos em *Volatinia jacarina*, porém, não encontraram relação entre a condição corporal e a plumagem. Em outro trabalho com o tiziu, encontrou-se uma relação significativa entre condição corporal e plumagem, porém foi utilizada a taxa de crescimento das penas como indicador de condição nutricional (Doucet 2002). Em um trabalho semelhante com *Volatinia jacarina*, no qual o índice de dominância também foi estabelecido através de disputas alimentares (Santos *et al.* No prelo), objetivou-se testar a existência de alguma característica que servisse como sinalizador de dominância. Os resultados desse trabalho mostram que o índice de condição corporal, estimado da mesma forma que no presente estudo, está inversamente correlacionado com a dominância, corroborando com a hipótese levantada acima.

A porcentagem de plumagem negra não estava correlacionada com a concentração de testosterona, portanto, os resultados obtidos não sustentam a hipótese de que a

testosterona poderia mediar a expressão da plumagem negra como uma característica morfológica indicadora de dominância. Porém, para testar de forma definitiva essa hipótese, ou seja, se a aquisição da plumagem negra é realmente dependente da testosterona, seria necessário realizar experimentos de castração nos machos.

Por último testou-se a relação do status social dos machos com a concentração de testosterona. As correlações novamente mostraram que o índice de dominância não está correlacionado com a concentração de testosterona. Trabalhos anteriores feitos com passeriformes também não encontraram relação da testosterona com o status social (Holberton *et al.* 1989; Belthoff *et al.* 1994). A revisão feita por Hirschenhauser e Oliveira (2006) mostra que essa relação só foi encontrada em peixes e mamíferos, enquanto que em aves esse efeito é praticamente inexistente. Trabalhos com primatas sugerem que os dominantes possuem maior concentração de testosterona (Muller & Wrangham 2004; Setchell *et al.* 2008), porém a maioria dos primatas possui uma estrutura hierárquica muito bem definida e os dominantes têm mais acesso às fêmeas. Nesse contexto social em que a dominância hierárquica influencia diretamente o sucesso reprodutivo dos machos, pode ser que a testosterona tenha um papel fundamental, principalmente mediando o nível de agressividade. A falta de correlação da concentração de testosterona com a dominância no presente trabalho pode ser explicado por não haver um contexto de disputa por acesso às fêmeas. A hierarquia foi estabelecida por disputas para acessar uma fonte alimentar.

Para concluir, foi demonstrado que a porcentagem de plumagem negra apresentada pelo macho da espécie *Volatinia jacarina* pode predizer a hierarquia estabelecida em competições por alimento. Essa correlação não ocorreu da forma prevista, pois os resultados mostram que os machos mais dominantes possuem menor porcentagem de

plumagem negra. É importante ressaltar que os machos eram mantidos em cativeiro e o contexto em que a hierarquia foi estabelecida foi disputa por alimentos, portanto não podemos extrapolar esses resultados para um contexto diferente, como por exemplo, seleção de parceiros. Sugerimos que os machos com menor porcentagem de plumagem negra poderiam estar em pior condição de forma geral, portanto estariam mais dispostos a lutar pelo alimento. A concentração de testosterona não influenciou diretamente o estabelecimento dessa hierarquia, nem se relacionou com a aquisição da plumagem negra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, T. M., Maia, R., Santos, E. S. A. & Macedo, R. H.** 2008. Parasite levels in blue-black grassquits correlate with male displays but not female mate preference. *Behavioral Ecology* **19**:292-301.
- Almeida, J. B. & Macedo, R. H.** 2001. Lek-like mating system of the monogamous blue-black grassquit. *The Auk* **118**:404-411.
- Belthoff, J. R., Dufty, A. M. & Gauthreaux, S. A.** 1994. Plumage Variation, Plasma Steroids and Social Dominance in Male House Finches. *The Condor* **96**:614-625.
- Bitton, P.-P., O'Brien, E. L. & Dawson, R. D.** 2007. Plumage brightness and age predict extrapair fertilization success of male tree swallows, *Tachycineta bicolor*. *Animal Behaviour* **74**:1777-1784.
- Carvalho, C. B. V., Macedo, R. H. & Graves, J. A.** 2007. Reproduction of Blue-black Grassquits in central Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **67**:275-281.

- Cavigelli, S. A. & Pereira, M. E.** 2000. Mating season aggression and fecal testosterone levels in male ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). *Hormones and Behavior* **37**:246–255.
- 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.
- David, H. A.** 1987. Ranking from unbalanced paired-comparison data. *Biometrika* **74**:432-436.
- Dawin, C.** 1871. *A origem do homem e a seleção sexual*. Belo Horizonte: Editora Itatiaia.
- Doucet, S. M.** 2002. Structural plumage coloration, male body size, and condition in the blue-black grassquit. *The 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.
- Hirschenhauser, K. & Oliveira, R. F.** 2006. Social modulation of androgens in male vertebrates: meta-analyses of the challenge hypothesis. *Animal Behaviour* **71**:265-277.
- Holberton, R. L., Able, K. P. & Wingfield, J. C.** 1989. Status signaling in dark-eyed juncos, *Junco hyemalis*: plumage manipulations and hormonal correlates of dominance. *Animal Behaviour* **37**:681-689.
- Loehr, J., Carey, J., Ylönen, H. & Suhonen, J.** 2008. Coat darkness is associated with social dominance and mating behaviour in a mountain sheep hybrid lineage. *Aggressive Behavior* **76**:1545-1553.
- Møller, A. P.** 1988. Badge size in the house sparrow *Passer domesticus* : Effects of intra- and intersexual selection. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **22**:373-378.

- Møller, A. P. & Erritzøe, J.** 1988. Badge, body and testes size in House Sparrows *Passer domesticus*. *Ornis Scandinavica* **19**:72-73.
- Muller, M. N. & Wrangham, R. W.** 2004. Dominance, aggression and testosterone in wild chimpanzees: a test of the 'challenge hypothesis'. *Animal Behaviour* **67**:113-123.
- Nakagawa, S., Ockendon, N., Gillespie, D. O. S., Hatchwell, B. J. & Burke, T.** 2007. Assessing the function of house sparrows' bib size using a flexible meta-analysis method. *Behavioral Ecology* **18**:831-840.
- Rasband, W. S.** 1997-2008. ImageJ 1.38x. U. S. National Institutes of Health. Maryland. <http://rsb.info.nih.gov/ij/>
- Reudink, M. W., Marra, P. P., Boag, P. T. & Ratcliffe, L. M.** 2009. Plumage coloration predicts paternity and polygyny in the American redstart. *Animal Behaviour* **77**:495-501.
- Rick, I. P., Modarressie, R. & Bakker, T. C. M.** 2006. UV wavelengths affect female mate choice in three-spined sticklebacks. *Animal Behaviour* **71**:307-313.
- Rohwer, S.** 1982. The evolution of reliable and unreliable badges of fighting ability. *American Zoologist* **22**:531-546.
- Santos, E., Maia, R. & Macedo, R. H.** No prelo. Condition dependent resource-value affects male-male competition in the blue-black grassquit, *Behavioral Ecology*.
- Setchell, J. M., Smith, T., Wickings, E. J. & Knapp, L. A.** 2008. Social correlates of testosterone and ornamentation in male mandrills. *Hormones and Behavior* **54**:365-372.
- Sick, H.** 1997. *Ornitologia brasileira*. 2^a ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.

- Vries, H., Stevens, J. M. G. & Vervaecke, H.** 2006. Measuring and testing the steepness of dominance hierarchies. *Animal Behaviour* **71**:585–592.
- West, P. M. & Packer, C.** 2002. Sexual selection, temperature, and the lion's mane. *Science* **297**:1339-1343.
- Wingfield, J. C. & Hann, T. P.** 1994. Testosterone and territorial behaviour in sedentary and migratory birds. *Animal Behaviour* **47**:77-89.
- Woodcock, E. A., Rathburn, M. K. & Ratcliffe, L. M.** 2005. Achromatic Plumage Reflectance, Social Dominance and Female Mate Preference in Black-Capped Chickadees (*Poecile atricapillus*). *Ethology* **111**:891-900.
- Zahavi, A.** 1977. The cost of honesty (further remarks on the handicap principle). *Journal of Theoretical Biology* **67**:603-605.

CONCLUSÃO GERAL

Há um pouco mais de um século e meio vem se estudando o efeito do hormônio testosterona. Sabe-se que esse hormônio tem efeitos morfológicos e comportamentais em praticamente todos os vertebrados machos, porém o efeito não é similar em cada espécie. No presente trabalho foi mostrado alguns dos efeitos que o ambiente social pode ter na secreção de testosterona do tiziu e como esse hormônio pode influenciar o comportamento e a morfologia dessa espécie.

No primeiro capítulo testou-se a influência de diferentes ambientes sociais no padrão de secreção de testosterona dentro e fora do período reprodutivo. Nossa hipótese era que a ausência ou a presença de fêmeas e a ausência ou presença de machos para competir fosse influenciar a concentração de testosterona dos machos e, por conseguinte alterar seu investimento na estação reprodutiva. O tratamento com seis machos e nenhuma fêmea, e que foram mantidos juntos desde a estação não reprodutiva, apresentou uma concentração de testosterona maior do que os demais tratamentos nos meses de fevereiro e março, período que corresponde ao começo da reprodução e incubação dos ovos no campo. Posteriormente, esse mesmo tratamento apresentou a menor concentração de testosterona ao sair do período reprodutivo.

O primeiro ponto interessante é que a presença de fêmeas não foi necessária para que os machos elevassem sua concentração de testosterona durante o período reprodutivo. Esse fato não surpreende, pois já foi observado em trabalhos anteriores que somente o foto-período é suficiente para elevar a testosterona durante a reprodução. O segundo ponto é que o tratamento com vários machos apresentou maior concentração de testosterona dentro da

estação reprodutiva e menor ao sair dela. Uma possível explicação para isso é que a maior concentração de machos mantidos juntos fez com que houvesse uma maior competição nesse tratamento. É possível que essa maior competição fizesse com que os machos aumentassem sua secreção de testosterona e, conseqüentemente, seu investimento na reprodução. A principal conclusão do primeiro capítulo é que diferentes grupos sociais influenciam a secreção de testosterona dos machos e podem alterar seu investimento na reprodução.

No segundo capítulo, testou-se a influência da testosterona no estabelecimento da hierarquia social, além de procurar a existência de alguma característica morfológica dos machos que pudesse sinalizar dominância. A hipótese era que, caso existisse uma característica que sinalizasse dominância, essa seria influenciada pela concentração de testosterona. Encontrou-se que a plumagem foi a única característica analisada que podia sinalizar a dominância. Os machos de *Volatinia jacarina* realizam uma muda de plumagem logo no começo da estação reprodutiva, tendendo a ficar completamente negro, porém alguns indivíduos podem apresentar algumas partes do corpo cobertas por uma plumagem parda. Com base em três partes do corpo (cabeça, peito e dorso) estimamos a proporção de plumagem negra dos machos. Observou-se que os machos dominantes tendiam a apresentar menor proporção do corpo coberto pela plumagem preta. Tal resultado é interessante porque se esperava que a plumagem preta pudesse ser um sinalizador da qualidade do macho, porém a forma que ela foi estimada neste trabalho teve um efeito oposto. Uma possível explicação para esse resultado é que os machos com menor porcentagem do corpo coberto pela plumagem negra estariam em pior condição, corporal, imunológica ou fisiológica, e, portanto, estavam mais dispostos a disputar o alimento. Finalmente,

esperava-se que a proporção de plumagem negra dos machos estivesse diretamente relacionada com a concentração de testosterona, pois a plumagem negra, por ser a plumagem nupcial, deveria influenciar a reprodução. Não foi encontrada relação da testosterona com a dominância social ou com a proporção de plumagem negra.

A importância da testosterona na reprodução, principalmente seu efeito nos machos, já foi descrito em várias espécies. No presente trabalho observou-se que sua secreção pode ser alterada em função do grupo social. Entretanto, não observamos seu efeito sobre a plumagem do tiziu e nem em relação à dominância social. Os próximos estudos deveriam focar em indivíduos *in situ* e testar a relação da testosterona na taxa de *display* dessa espécie, vocalização, defesa de território e guarda de parceiros. Também seria interessante investigar a influência da testosterona na seleção de parceiros, sistema imunológico, infestação por parasitas e cuidado parental.