

Evolução de características sexuais secundárias
no género *Serinus* (Aves, Fringillidae):
canto e coloração.

Gonçalo Canelas Cardoso

**Evolução de características sexuais
secundárias no género *Serinus* (Aves,
Fringillidae): canto e coloração**

Dissertação de Doutoramento apresentada à Faculdade de
Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Coimbra, 2005

Conteúdos

	pp.
Sumário	vii
Agradecimentos	ix
Capítulo 1	
Contexto teórico e sinopse	1
Capítulo 2	
Organização das canções e padrões de variação no serino	17
Capítulo 3	
Respostas de fêmeas a duas características derivadas no canto de serino: frequência e velocidade	35
Capítulo 4	
Respostas de fêmeas de serino não favorecem a sintaxe predominante no canto da espécie	49
Capítulo 5	
Respostas comportamentais de machos de serino a canções conspecíficas e heterospecíficas e a variação em características do canto	59
Capítulo 6	
Função inter-sexual da frequência do canto e função agonística da velocidade do canto no serino: um teste experimental	65
Capítulo 7	
Evolução da complexidade de canto e adaptação vocal no género <i>Serinus</i>	75
Capítulo 8	
Evolução correlacionada da coloração de machos e fêmeas no género <i>Serinus</i>	97
Capítulo 9	
Evolução correlacionada de ornamentos múltiplos no género <i>Serinus</i> : coloração e complexidade do canto	121
Conclusões	131
Referências	135
Apêndices	155

Sumário

Estudámos a dinâmica evolutiva e aspectos selectivos das duas características sexuais secundárias mais proeminentes em passeriformes – canto e coloração – por meio de experimentação no serino (*Serinus serinus*) e de análises comparativas ao nível do género *Serinus*. A velocidade e frequência aguda das canções de serino são extremas quando comparadas com as restantes espécies do género, ou com a generalidade dos passeriformes, o que sugere evolução por selecção sexual. Em experiências comportamentais as fêmeas de serino manifestaram uma preferência por canções agudas; canções rápidas, pelo contrário, inibiram as respostas das fêmeas. Os machos de serino não discriminaram quanto à frequência das canções mas, como as fêmeas, foram inibidos por canções rápidas. Estes padrões de resposta implicam pressões selectivas distintas para a evolução da frequência e velocidade do canto no serino: enquanto que a evolução da frequência de canto é compatível com um processo de selecção inter-sexual, a velocidade das canções parece ser um sinal agonístico que é, portanto, passível de selecção intra-sexual. Os nossos resultados expandem a teoria existente sobre evolução do canto, uma vez que estas características não foram anteriormente estudadas no contexto de selecção sexual. Documentamos um padrão de diversificação evolutiva intensa do canto no género *Serinus*, que se sobrepõe a constrangimentos vocais importantes. A evolução do canto neste género foi apenas parcialmente acompanhada por adaptação vocal às características das canções nas diferentes espécies. Tal deveu-se, pelo menos em parte, ao facto de várias espécies evoluírem características de complexidade silábica em relação às quais detectámos custos de produção vocal fortes. Documentamos também que as sintaxes de canto coexistentes no género *Serinus* se correlacionam com aspectos distintos de performance vocal, o que sugere formas de selecção indirecta sobre a sintaxe; isto é relevante uma vez que trabalho experimental no serino falhou em relacionar directamente selecção sexual e sintaxe do canto. A coloração também apresenta um padrão de evolução intensa em ambos os sexos de *Serinus* spp., como é típico de características sexualmente seleccionadas. Desenvolvemos uma metodologia analítica com que testar modelos de evolução independente *versus* constrangimento sexual da ornamentação de machos e fêmeas, e criticamos a metodologia utilizada em estudos anteriores. Ao contrário destes, as nossas análises mostram que a causa principal para a evolução de coloração conspícua em fêmeas é constrangimento sexual com os machos. Como tal, advertimos contra a inferência de causalidade evolutiva a partir do valor adaptativo presente de ornamentos femininos. A teoria de evolução de ornamentos múltiplos prevê que nalgumas condições a evolução de uma categoria de ornamentação substitua ou iniba a elaboração de outros ornamentos. No entanto, os principais eixos de complexidade do canto e elaboração da coloração estão fortemente correlacionados entre as espécies de *Serinus*, e tendem a variar com aspectos do habitat que

indicam maior intensidade de selecção sexual. Isto mostra que o canto e a coloração são geralmente livres de responder independentemente a diferentes intensidades de selecção sexual, e mostra também que a selecção sexual é o processo selectivo mais importante na sua evolução.

Abstract

We studied the evolutionary dynamics and selective aspects of the two most prominent secondary sexual characteristics in passerines – song and coloration – by means of experimentation in the serin (*Serinus serinus*) and genus-wide comparative analyses. Song speed and high frequency are extreme phenotypes in serin songs, relatively to the other species in the genus or to most other passerines, which suggests evolution by sexual selection. In behavioural experiments, female serins preferred high frequency songs and were inhibited by fast songs. Males did not discriminate song based on frequency but, like females, were inhibited by fast song. These response patterns imply distinct selective pressures for the evolution of song frequency and speed in the serin: while song frequency may have evolved by inter-sexual selection, song speed seems to be an agonistic signal and, thus, should evolve by intra-sexual selection. Our results expand current theory about the evolution of passerine song, as these characteristics were not studied before in the context of sexual selection. We document intense evolutionary diversification of song in the genus *Serinus*, which overcame important vocal constraints. Song evolution in this genus was only partly accompanied by vocal adaptation to the song characteristics of the different species. This was, at least in part, due to many species evolving aspects of syllabic complexity for which we detected strong vocal production costs. The two syntaxes that coexist in the songs of *Serinus* spp. are correlated with different aspects of vocal performance, suggesting that song syntax may be under indirect selection pressures; this is relevant, as experimental work with serins failed to show a direct link between sexual selection and song syntax. Colour ornamentation also shows intense evolutionary evolution in both sexes of *Serinus* spp., as is usual in sexually selected traits. We developed a method for testing independent evolution models *versus* sexual constraint models for the evolution of male and female ornamentation, and we criticize the methods used in previous comparative studies. Unlike those, our results show that the main cause for the evolution of conspicuous female coloration is sexual constraint with males. Therefore, we caution against inferring evolutionary causality from present day adaptive value of female ornaments. Theory predicts that the evolution of a type of ornament may replace or inhibit the evolution of other ornaments. However, the main axes of song complexity and of coloration conspicuousness are strongly correlated between species of *Serinus*, and also tend to change with habitat characteristics that indicate stronger sexual selection. This shows that song and coloration are generally free to respond independently to different intensities of sexual selection, and that this is the most important selective pressure in its evolution.

Agradecimentos

Ao Professor Paulo Gama Mota pela confiança demonstrada durante este tempo e por me permitir decidir em situações de opiniões divergentes, mesmo que para mais tarde lhe dar razão. Aos Professores Eric Vallet e Michel Kreutzer pela disponibilidade para me ensinar técnicas experimentais na fase inicial deste doutoramento. Ao Paulo Peixoto por me ter ensinado a usar dispositivos de automação e aquisição de dados, que viriam a estar na base de todo o trabalho experimental desta tese. Aos colegas do Laboratório de Etologia, que o tornaram um espaço acolhedor e me prestaram apoio em várias fases do trabalho: Carlos Pacheco, João Pedro Neves, Eugénia Loureiro, Violaine Depraz, Humberto Costa, Luís Vicente, Ana Teresa Mamede, Cristina Cruz e Dora Simões. À minha família e amigos, que fizeram de Coimbra uma cidade onde soube bem viver ao longo destes anos.

Este doutoramento foi financiado pela bolsa PRAXIS XXI/BD/19605/99, da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), e pelo projecto POCTI/1999/BSE/33714, também da FCT. O Departamento de Antropologia da Universidade de Coimbra e o Instituto do Ambiente e Vida facultaram apoio logístico.

Capítulo 1

Contexto teórico e sinopse

Os estudos incluídos nesta tese incidem sobre a evolução das duas características sexuais secundárias mais proeminentes em passeriformes: o canto e a coloração. As questões teóricas a que procuramos responder prendem-se com a evolução de ornamentos compostos, e com a dinâmica do processo de selecção sexual destas características. Abordamos estas questões com trabalho experimental no serino (*Serinus serinus*), e com análises comparativas ao nível do género *Serinus*.

Neste capítulo revemos sucintamente alguma teoria e resultados empíricos sobre selecção sexual de canto e coloração que contextualizam esta tese; damos maior ênfase à evolução do canto, tema sobre o qual incide a parte maior da tese. Assuntos mais específicos de cada trabalho realizado, particularmente os respeitantes às análises comparativas, bem como considerações metodológicas são abordados nos respectivos capítulos. Neste capítulo introdutório facultamos ainda uma sinopse da tese, que integra os objectivos e conclusões principais dos vários estudos.

Os capítulos seguintes estão estruturados sob a forma de artigos independentes, com introduções e discussões dos seus resultados. Os Capítulos 2 e 4 correspondem às publicações Mota & Cardoso (2001) e Cardoso & Mota (2004), respectivamente; os Capítulos 3, 7 e 8 correspondem a quatro artigos submetidos (Cardoso *et al.*, submetido, e Cardoso & Mota, submetido a, b, c); e o material dos Capítulos 6 e 9 está presentemente em preparação para submissão.

Contexto teórico

Seleccção sexual e outras formas de selecção natural sobre a elaboração do canto e da coloração em aves

Muitas espécies de passeriformes cantam canções longas e elaboradas e/ou têm coloração conspícua ou outros ornamentos na plumagem. Estas características são exemplos clássicos de evolução por selecção sexual (Darwin 1871, revisto em Andersson 1994): é frequente que o canto e comportamentos de exibição da coloração estejam associados a contextos sexuais, que a sua expressão seja sexualmente dimórfica e restringida

aos machos, que sejam desvantajosos em termos de risco de predação, e que a sua elaboração seja excessiva para identificação específica ou individual.

Vários estudos têm demonstrado a existência de funções intra- e inter-sexuais do canto (revisto em Searcy & Andersson 1986, Searcy & Nowicki 2000) e da coloração (revisto em Andersson 1994) em passeriformes. As funções intra-sexuais do canto e coloração compreendem a defesa e competição por territórios ou recursos, e o estabelecimento de hierarquias de dominância (*e.g.* Krebs *et al.* 1978, Møller 1987); as funções inter-sexuais compreendem a atracção e estimulação reprodutiva das fêmeas (*e.g.* Catchpole 1980, Mota 1999, Hill 2002). A estas duas categorias funcionais correspondem dois tipos de selecção sexual: selecção intra- e inter-sexual (Darwin 1871, Andersson 1994). Estes dois processos selectivos não são mutuamente exclusivos; pelo contrário, é comum que as preferências das fêmeas tenham o efeito de reforçar a selecção intra-sexual (Berglund *et al.* 1996, Wiley & Poston 1996). É também possível que selecção intra- e inter-sexual incidam sobre componentes diferentes do canto ou coloração (*e.g.* Leitão & Riebel 2003, canto, e Andersson *et al.* 2002, coloração), uma vez que estas características são compostas e que diferentes componentes podem veicular informação independente (revisto em Vehrencamp 2000 e Gil & Gahr 2002, canto, e Hill 1996, coloração).

Pelo contrário, a selecção natural (que não selecção sexual) não parece ser importante na evolução da complexidade das canções ou da conspicuidade da coloração, porque esta elaboração é frequentemente redundante para a comunicação da identidade específica ou individual. Alguns factores ecológicos correlacionam-se positivamente com a elaboração do canto ou coloração (Badyaev *et al.* 2002, Badyaev & Hill 2003, Capítulo 9), mas tal não implica a sua selecção natural (não sexual); antes, estas associações devem-se ao efeito que os factores ecológicos têm sobre a intensidade ou o tipo de selecção sexual. Por exemplo, a aglomeração espacial de recursos permite a ocorrência de poliginia por defesa de recursos ou, mais geralmente, condições conducentes à diminuição de cuidados parentais diminuem a ocorrência de monogamia; ambos os factores aumentam a variância de sucesso reprodutor entre os machos e, conseqüentemente, a intensidade de selecção sexual (Johnstone *et al.* 1996, Shuster & Wade 2003). Factores ecológicos podem influenciar directamente a evolução do canto ou coloração não por seleccionarem a sua elaboração, mas por canalizarem ou imporem limites à direcção dessa elaboração (revisto em Endler 1993). Por exemplo, nas aves que habitam em ambientes com maior reverberação evoluem canções com modulações temporais mais lentas (Hanford 1988, Wiley 1991), ou a conspicuidade da coloração tende a evoluir no sentido de maior contraste com os habitats (Marchetti 1993, Endler & Théry 1996).

Mecanismos de selecção sexual de ornamentos

Na sua formulação inicial da teoria de selecção sexual, Darwin (1871) atribuiu a evolução de armamentos à selecção intra-sexual e a evolução de ornamentos à selecção

inter-sexual: a utilização de armas na competição directa entre machos constitui evidência óbvia de selecção intra-sexual, e a inferência de Darwin de que as fêmeas devem preferir machos mais ornamentados foi largamente corroborada por trabalho empírico nas últimas décadas (Andersson 1994). Apesar de esta dicotomia poder ser estatisticamente sólida, é simplista enquanto princípio teórico (Fisher 1930, Andersson 1994). Nesta secção explicamos como mecanismos de selecção inter- mas também intra-sexual podem causar a evolução de características conspícuas e elaboradas, *i.e.* de ornamentos. Por esta razão, a investigação sobre complexidade do canto e conspicuidade da coloração deve considerar ambos os tipos de selecção sexual.

Mecanismos de selecção inter-sexual

O exercício de preferências por ornamentos acarreta custos para as fêmeas (Pomiankowski 1987), pelo que as preferências das fêmeas podem evoluir apenas quando algum tipo de benefício, directo ou indirecto, contrabalança esses custos (revisto em Kirkpatrick & Ryan 1991). Fisher (1930) propôs que preferências por ornamentos evoluam quando estes são indicadores fiáveis de qualidade genética dos machos ou de benefícios directos para as fêmeas. A qualidade genética herdável dos machos constitui um benefício indirecto para as fêmeas por aumentar a aptidão da prole; benefícios directos da escolha de machos podem advir, por exemplo, do maior investimento parental ou protecção dados por certos indivíduos. Fisher (1930) propôs também que preferências e ornamentos criem ciclos evolutivos auto-reforçantes por correlação genética, um mecanismo que ficou conhecido como selecção sexual de “runaway” ou simplesmente selecção sexual Fisheriana. Modelos genéticos das ideias de Fisher demonstram o funcionamento destes mecanismos numa gama ampla de parâmetros (revisto em Mead & Arnold 2004) e constituem a base da teoria actual sobre evolução de ornamentos por selecção inter-sexual.

Existem vários mecanismos pelos quais ornamentos ou outros sinais podem indicar honestamente qualidades dos indivíduos (revisto em Bradbury & Vehrencamp 1998 e Maynard-Smith & Harper 2003), mas o princípio de “handicap” proposto por Zahavi (1975, Iwasa *et al.* 1991) revelou-se de importância central pela sua simplicidade e aplicabilidade geral (revisto em Zahavi & Zahavi 1997). Por este mecanismo, a honestidade de um sinal é mediada pelo seu custo (ou handicap): a intensidade óptima de sinalização é proporcional à maior ou menor capacidade dos diferentes indivíduos tolerarem o custo desse sinal; a qualidade honestamente sinalizada é esta capacidade de tolerar o custo que, dependendo do tipo de custo, pode equivaler a boa condição física, nutricional ou imunitária, estados motivacionais, capacidade de aprovisionamento, defesa ou outras. Os custos de diferentes sinais podem ser de natureza fisiológica, energética, social, ou outras, veiculando assim informações diferentes (revisto em Zahavi & Zahavi 1997 e Bradbury & Vehrencamp 1998). Do ponto de vista da evolução de ornamentos, a importância do princípio de handicap é que este faz com que as preferências das fêmeas por indicadores de qualidade exerçam pressões selectivas direccionais nos fenótipos dos machos, no sentido

de sinais com maior custo, logo mais intensos e elaborados; estas são as propriedades do que geralmente se designa por ornamentos.

O acasalamento não aleatório entre fêmeas com certas preferências e machos com certas características causa desequilíbrio de ligação entre os genes para as preferências e as características preferidas; por selecção sexual de “runaway”, ou Fisheriana, as preferências das fêmeas são indirectamente seleccionadas devido ao desequilíbrio de ligação com as características dos machos, o que por sua vez intensifica a selecção sexual dessas características num ciclo auto-perpetuante (Fisher 1930, Pomiankowski *et al.* 1991). Assim, o mecanismo Fisheriano não origina mas intensifica as preferências, e causa a elaboração e exagero das características dos machos como é típico de ornamentos; esta intensificação é potencialmente interminável e eventualmente deve ser contrariada por selecção natural. Mesmo que estes ornamentos inicialmente indicassem qualidade, podem perder o seu valor indicador, tornando-se arbitrários, e continuar a ser seleccionados. Duas propriedades importantes do mecanismo Fisheriano são a sua arbitrariedade e instabilidade (Iwasa & Pomiankowski 1995, Pomiankowski & Iwasa 1998), que ajudam a explicar a diversificação de ornamentos entre espécies aparentadas e ecologicamente semelhantes.

Os mecanismos indicador e Fisheriano para evolução de preferências femininas actuam em conjunto e são fundamentalmente semelhantes, porque pelo mecanismo indicador também são criados desequilíbrios de ligação entre preferências e ornamentos, e porque os ornamentos Fisherianos também sinalizam um benefício indirecto para as fêmeas: maior atractividade e sucesso reprodutor da prole do sexo masculino (Kokko *et al.* 2003). No entanto, as particularidades da dinâmica destes mecanismos tornam útil a sua apresentação separada.

Recentemente foi feita a distinção teórica de situações em que a selectividade das fêmeas se deve ao evitar dos custos de acasalamentos múltiplos (*e.g.* risco de agressão, de contágios ou outros, Holland & Rice 1998). Nestes casos a escolha das fêmeas é melhor descrita como resistência que como preferência, e os machos evoluem ornamentação como forma de vencer a resistência feminina (Holland & Rice 1998, Gavrilets *et al.* 2001). No entanto, esta distinção entre resistência a machos menos ornamentados e preferência por machos mais ornamentados é essencialmente descritiva; os mecanismos de selecção sexual gerados são fundamentalmente os mesmos (Mota 1998, Kokko *et al.* 2003), pelo que as conclusões dos parágrafos anteriores se mantêm também nesta situação.

Podem ainda existir preferências resultantes de enviesamentos perceptivos que são seleccionados em contexto não sexual, que resultam de padrões de selecção sexual passada e já não actuante, ou que são consequências simples do funcionamento dos sistemas sensoriais ou cognitivos (revisto em Endler & Basolo 1998). Estes enviesamentos podem ser explorados pelos machos na evolução de ornamentação, ou podem originar mecanismos Fisherianos que elaboram novos ornamentos.

Mecanismos de selecção intra-sexual

As características que mais obviamente evoluem por selecção intra-sexual são armas, *i.e.* características efectivas durante confrontos directos, como por exemplo o tamanho corporal, hastes, espigões ou tegumentos resistentes (Darwin 1871, Andersson 1994). Características que funcionam primariamente como armas podem indicar também capacidade competitiva, logo qualidade dos machos, de forma que a sua evolução seja reforçada por escolha das fêmeas directamente sobre a expressão dos armamentos (Berglund *et al.* 1996), ou indirectamente por incitamento à competição intra-sexual (Wiley & Poston 1996). Características que, não sendo armas no sentido estrito, auxiliam os machos em tipos de competição diferentes do confronto directo podem também evoluir por competição entre machos (selecção sexual independente de interacção, na terminologia de Murphy 1998); por exemplo, capacidade de acumulação energética em competição por resistência, capacidades sensoriais e locomotoras em “scramble competition” ou guarda do par em competição de esperma (revisto em Andersson 1994).

A complexidade do canto e a conspicuidade da coloração não pertencem a estas categorias de características, por não serem directamente eficientes na competição entre machos. Antes, a sua acção nos outros indivíduos é exclusivamente mediada pelos sentidos, pelo que só podem funcionar como sinais. Em situações de confronto, os machos devem procurar avaliar a capacidade relativa do oponente vencer confrontos, e actuar de forma a não escalar o conflito para evitar os custos de agressão (Maynard-Smith 1982). Assim, características que indicam aspectos da capacidade competitiva ou do estado motivacional dos indivíduos (*i.e.* a probabilidade de o oponente escalar ou abandonar o confronto) podem evoluir pela sua função como sinais agonísticos em confrontos entre machos, ou seja por selecção intra-sexual. Se a honestidade da comunicação agonística for mantida pelo princípio de handicap (ver secção anterior), os sinais são seleccionados no sentido de maior custo, logo maior intensidade e elaboração, como é característico de ornamentos.

Ao contrário da evolução de preferências nas fêmeas pelo mecanismo indicador, a selecção intra-sexual baseada no valor indicador dos ornamentos não pode ser reforçada pelo mecanismo Fisheriano porque, como os machos não se reproduzem entre si, não existe desequilíbrio de ligação entre a característica e a sua discriminação pelos machos. Assim, a intensidade de selecção de ornamentos pelo seu valor indicador deverá geralmente ser menor por selecção intra- que inter-sexual. O mesmo argumento se aplica ao efeito selectivo de enviesamentos perceptivos: enquanto que enviesamentos perceptivos em fêmeas podem ser amplificados pelo mecanismo Fisheriano, em machos, se não tiverem valor adaptativo, só podem manter-se por deriva ou serem contra-seleccionados.

Aspectos da fisiologia do canto e coloração e o seu papel como indicadores honestos de qualidade

Custos e limites fisiológicos constroem a evolução do canto e da coloração; ao mesmo tempo, os custos associados a vários aspectos do canto ou coloração constituem a base para a sinalização de qualidade dos indivíduos (*sensu* Zahavi 1975) e podem, por isso, direccionar a selecção sexual sobre essas características. Nesta secção apontamos alguns custos que podem permitir a sinalização da qualidade dos machos por certos aspectos do canto e coloração.

Canto e sinalização de qualidade

Cantar tem custos energéticos significativos que advêm não tanto do dispêndio energético directo (Oberweger & Goller 2001), mas principalmente do compromisso com actividades de forrageamento necessárias ao restabelecimento diário de reservas energéticas (McNamara *et al.* 1987, Thomas 1999). Assim, a quantidade de tempo que as aves passam a cantar, particularmente em alturas críticas como o início do dia, é um indicador fiável e conspicuo da sua condição energética e, como tal, pode constituir um alvo selecção sexual (Hutchinson *et al.* 1993).

Para os objectivos desta tese, que trata da evolução da complexidade das canções e não do comportamento de canto em si, os custos mais relevantes são os que dizem respeito a aspectos da fonologia e sintaxe das canções. O canto de passeriformes é dos comportamentos mais estudados do ponto de vista da sua fisiologia (revisto em Suthers & Goller 1997) e neuroetologia (revisto em Margoliash *et al.* 1994), e em ambas as áreas são detectados custos associados a aspectos particulares da complexidade das canções (revisto em Vehrencamp 2000, Gil & Gahr 2002 e Podos *et al.* 2004). Por exemplo, repertórios extensos geralmente necessitam de maior volume em certos núcleos cerebrais que controlam o canto (Nottebohm *et al.* 1981, Airey & DeVoogd 2000, Garamzegi & Eens 2004), sílabas mais agudas implicam maior contracção de músculos da siringe (o órgão de produção vocal em passeriformes), sílabas mais sonoras implicam maior contracção da musculatura abdominal, e a sucessão rápida de elementos vocais compromete a realização de inspirações durante as canções dificultando a manutenção de canções longas e ininterruptas (Suthers & Goller 1997). O desempenho em características que, como estas, são constroídas por custos fisiológicos ou neurológicos pode ser revelador da condição dos machos e, assim, indicar aspectos da sua qualidade genética, capacidade de aprovisionamento ou outras (Vehrencamp 2000). Foi também sugerido que, porque as canções são normalmente aprendidas e memorizadas durante o desenvolvimento dos juvenis (revisto em Marler 1991), o canto possa reflectir a estabilidade de desenvolvimento durante este período (Buchanan 2000); porque este corresponde a um período de particular vulnerabilidade a stress ambiental, tal constituiria um indicador de qualidade genética importante.

O nosso reconhecimento do valor indicador das várias características de canto é largamente inferencial, faltando ainda testes empíricos para a maioria das características que são potenciais sinais de qualidade (Gil & Gahr 2002). São também poucas as características de canto fisiologicamente constrangidas em relação às quais se testou a existência de selecção sexual (Podos *et al.* 2004, ver abaixo). Assim, existe um leque de possibilidades por testar sobre como a selecção sexual pode afectar a evolução da complexidade das canções.

Coloração e sinalização de qualidade

À semelhança do canto, a coloração é uma característica composta, em que vários componentes podem ser diferentemente afectados por aspectos de condição ou qualidade genética dos indivíduos (Badyaev *et al.* 2001, Badyaev & Hill 2003).

Mais atenção tem sido dada aos custos da utilização de pigmentos carotenóides (revisto em Hill 1996 e Olson & Owens 1998, ver também Hill 1999), que são os principais responsáveis pelas colorações amarelas, laranjas e vermelhas. Os carotenóides têm de ser sintetizados a partir de precursores obtidos na dieta (Goodwin 1984) que são frequentemente raros (Linville & Breitwisch 1997, Grether *et al.* 1999); a sua expressão na coloração é também dependente de condição ou de energia (Brawner *et al.* 2000, Hill 2000). Assim, a intensidade das colorações amarela, laranja e, sobretudo, vermelha pode indicar capacidade de forrageamento e condição das aves (Hill 1996).

Colorações de base estrutural, como cores iridescentes ou certos azuis e violetas, podem revelar a estabilidade de desenvolvimento dos indivíduos, por estas cores dependerem de microestruturas altamente regulares e precisas das penas (Andersson 1999); no entanto, este tipo de coloração não existe no grupo de aves estudadas nesta tese. Outro aspecto que potencialmente reflecte estabilidade de desenvolvimento é o grau de simetria da coloração, uma vez que perturbações no percurso de desenvolvimento descoordenam a diferenciação das áreas causando assimetria flutuante (Thornhill & Møller 1998, Swaddle 2000). Foi sugerido que a coloração conspícua evolua como um sinal revelador da condição das aves por tornar mais visíveis os efeitos disruptivos no desenvolvimento da plumagem, particularmente os causados por parasitas, e que espécies mais sujeitas a infecções evoluíssem a coloração como forma de comunicação honesta de condição (Hamilton & Zuk 1982). Embora a intensidade de parasitismo não pareça ser o factor mais importante na evolução de coloração conspícua na generalidade das aves, é influente em certos sistemas de parasita-hospedeiro (meta-análise em Hamilton & Poulin 1997).

Características de canto e coloração sexualmente seleccionadas em aves

Seleccção inter-sexual de características de canto

As características das canções em relação às quais tem sido mais estudada a existência de preferências por parte das fêmeas são a quantidade de canto, o tamanho dos repertórios e a proveniência geográfica; as preferências descobertas são, respectivamente, por canções

longas ou taxas de canto elevadas, repertórios extensos e pertença a dialectos locais (revisto em Searcy & Yasukawa 1996 e Searcy & Nowicki 2000). Os efeitos evolutivos das preferências por quantidade de canto far-se-ão sentir nos padrões temporais de canto, mas não tanto na complexidade das suas canções, que é o aspecto abordado nesta tese. Também a preferência por dialectos locais é com certeza influente nos padrões geográficos e de micro-evolução cultural das canções (Baker & Cunningham 1985), mas o seu efeito a nível da evolução de complexidade do canto e diferenciação entre espécies é conservador (ver discussão no Capítulo 4). A preferência por repertórios é a mais directamente relevante para a evolução da complexidade do canto, permitindo explicar este aspecto redundante das canções, do ponto de vista da comunicação da identidade individual ou da espécie.

Muito poucos estudos abordaram a existência de preferências por outras características das canções apesar de, como explicado acima, estas poderem veicular informação sobre a qualidade dos machos. A preferência por repetições rápidas de sílabas com banda de frequência ampla foi demonstrada em fêmeas de canário doméstico (*Serinus canaria*, Vallet & Kreutzer 1995, Vallet *et al.* 1998, Drăgănoiu *et al.* 2002) e de escrevedeira-dos-pântanos (*Melospiza georgiana*, Ballentine *et al.* 2004). Também em fêmeas de canário doméstico, Pasteau *et al.* (2004) demonstraram uma preferência por maior diversidade de elementos intra-silábicos. Fêmeas de tentilhão (*Fringilla coelebs*) preferem canções com maior proporção de sintaxe não repetida (Riebel & Slater 1998). Fêmeas de bico-de-diamante (*Taeniopygia guttata*) preferem sintaxe sem recorrência de sílabas (Neubauer 1999), embora esta preferência possa ser consequência da sua familiaridade com esta sintaxe (ver Capítulo 4). Por fim, Forstmeier *et al.* (2002) detectaram vantagens em acasalamento extra-par de machos de felosa-sombria (*Phylloscopus fuscatus*) com maior proporção de som nas canções. Estes estudos (ver também Capítulo 3) sugerem que a selecção inter-sexual pode influenciar a evolução da fonologia das canções de forma precisa, pelo que a continuação desta linha de investigação deve ampliar a nossa compreensão sobre a origem e evolução da complexidade do canto.

Seleccção intra-sexual de características de canto

Foram efectuadas muitas experiências com playbacks a machos territoriais para investigar a importância de várias características das canções no reconhecimento específico; estas mostram que as características relevantes variam consideravelmente entre espécies (revisto em Becker 1982). A maioria destas experiências são difíceis de traduzir em termos de selecção intra-sexual porque testam as respostas de machos a canções não modificadas *versus* canções com características modificadas; assim, o reconhecimento específico deve sobrepor-se à eficiência das características de canto na função intra-sexual. Por isto, testes sobre função intra-sexual de características das canções devem utilizar estímulos dentro da gama de variação da espécie, ou modificações simétricas e equidistantes em relação à norma da espécie.

Considerando os trabalhos a que este problema não se aplica, foram obtidos os seguintes resultados. Foi demonstrado que repertórios são mais eficientes que canções únicas em defesa territorial, e também que canções dos machos residentes são mais eficientes que canções de machos estranhos (revisto em Searcy & Nowicki 2000); este último resultado refere-se a reconhecimento individual entre os machos vizinhos e não a uma característica específica do canto. Em canário domésticos, os machos são sensíveis ao mesmo tipo de sílabas de repetição rápida que as fêmeas preferem (Parisot *et al.* 2002). Em tentilhões, ao contrário das fêmeas, os machos respondem mais a canções com menor proporção de sintaxe não repetida (Leitão & Riebel 2003).

Também ao contrário das fêmeas, machos de rouxinol-grande-dos-caniços (*Acrocephalus arundinaceus*) reagem mais a canções curtas (Catchpole *et al.* 1986); esta e várias outras espécies utilizam canções mais curtas em interações entre machos que em interações com fêmeas (Catchpole 1983, revisto em Catchpole & Slater 1995). Como as canções destas espécies têm duração indeterminada, esta diferença refere-se ao uso das canções e não a características fonológicas ou sintáticas intrínsecas do canto. Outros aspectos do uso das canções também são importantes nas interações entre machos, como cantar sobre as canções do adversário (*e.g.* Dabelsteen *et al.* 1996, 1997), responder ao adversário com o mesmo tipo de canção (Beecher *et al.* 2000), ou trocar o tipo de canção frequentemente (Vehrencamp 2000). No entanto, a selecção intra-sexual que pode resultar deste tipo de interações não actua directamente sobre características do canto, mas apenas sobre o modo de utilização das canções.

Assim, a nossa capacidade de avaliar como a selecção intra-sexual influencia a evolução das características de canto é ainda muito limitada. Padrões de resposta diferentes de machos e fêmeas, como os obtidos com tentilhões, sugerem que selecção intra- e inter-sexual possam ter efeitos distintos na evolução do canto. As diferentes técnicas e diferentes contextos em que machos e fêmeas são normalmente testados também dificultam a comparação de resultados obtidos com cada sexo, pelo que é útil a procura de metodologias com que testar ambos os sexos (Ratcliffe & Otter 1996, Capítulo 6).

Seleccção sexual de características de coloração

Vários ornamentos visuais são alvo de preferências das fêmeas ou usados em confrontos entre machos em diferentes espécies (revisto em Andersson 1994). As características relevantes variam muito de espécie para espécie, de acordo com o tipo de ornamentação que estas exibem, e incluem a intensidade ou tamanho de áreas brancas ou coloridas (com coloração iridescente, com carotenóides ou melaninas), e também o tamanho e cor de estruturas como caudas, cristas e outras. Estudos comparativos indicam que a coloração com carotenóides é mais importante em selecção sexual que coloração com melaninas (Gray 1996, Hill 1996, Badyaev & Hill 2000, mas ver Capítulo 8). Por vezes são encontrados ornamentos que não aumentam a atractividade dos machos (revisto em

Andersson 1994, ver também Omland 1996a, b), mas podem ser importantes na competição entre estes (e.g. Pryke *et al.* 2001a, b).

Sinopse

Esta tese está dividida em três partes. A primeira parte é introdutória e inclui uma análise da estrutura e padrões de variação das canções de serino (*Serinus serinus*). Algumas características de canto desta espécie são extremas quando comparadas com as restantes espécies do género *Serinus*, ou com a generalidade dos passeriformes. Isto sugere evolução por selecção sexual e motivou grande parte da investigação subsequente, particularmente a apresentada na segunda parte. Na segunda parte apresentamos um conjunto de trabalhos experimentais com machos e fêmeas de serino sobre discriminação e respostas a variação em características das canções. Estas experiências testam a possibilidade de selecção intra- ou inter-sexual contribuírem para a evolução destas características de canto extremas. A terceira parte da tese é constituída por trabalho comparativo do canto e coloração no género *Serinus*. Nestas análises testamos hipóteses sobre evolução de adaptação vocal e diversificação do canto, evolução de coloração nas fêmeas por selecção ou constrangimento genético com os machos, e avaliamos a importância da selecção sexual na evolução do canto e coloração no género *Serinus*.

Parte I – Introdução

Capítulo 2 – Organização das canções e padrões de variação no serino

Neste capítulo descrevemos a fonologia das canções de serino e as suas regras de organização sintáctica, quantificamos o tamanho dos repertórios e o seu padrão de variação geográfica e temporal.

Nas canções de serino coexistem sintaxe repetida, que consiste na repetição da mesma sílaba um número variável de vezes, e sintaxe sequencial, que consiste na apresentação de sílabas diferentes numa ordem bem determinada; a sintaxe sequencial ocupa a maior parte da duração das canções. As canções apresentam um padrão de organização diferente das espécies descritas até ao momento, em que um repertório extenso de sílabas é cantado numa grande sequência de estrutura circular. Desvios à sequência modal de sílabas estão associados a factores externos que desencadeiam vocalizações de alarme, devendo por isso ser erros de produção causados por perturbações externas. Isto é contrário a uma sugestão prévia de que desvios à estrutura modal das canções fosse um sinal agonístico (Searcy *et al.* 2000). Os repertórios de sílabas são mais semelhantes entre aves que coexistem na mesma área, que entre aves gravadas em diferentes localidades ou anos, sugerindo um padrão de divergência geográfica e temporal coerente com aprendizagem e acumulação gradual de diferenças nas canções (Kroodsmá 1996).

Duas características fonológicas são muito acentuadas no serino comparativamente com a generalidade dos passeriformes: a frequência das canções, que é muito mais aguda que o esperado para o seu tamanho corporal (Wallschläger 1980), e a velocidade do canto, *i.e.* o número elevado de elementos sonoros por unidade de tempo. O uso de sintaxe sequencial é também mais extenso no serino que na maioria das espécies congêneres (Capítulo 7). A influência destas características de canto nas respostas comportamentais de machos e fêmeas de serino é investigada na segunda parte da tese.

Parte II– Efeitos comportamentais de características de canto no serino

Capítulo 3 – Respostas de fêmeas a duas características derivadas no canto de serino: frequência e velocidade

Neste capítulo descrevemos um conjunto de experiências com fêmeas de serino, em que são avaliadas respostas vocais e aproximações a playbacks de canções com frequência e velocidade manipuladas. As manipulações das canções aumentam ou diminuem a frequência ou velocidade das canções de forma que estas sejam aproximadamente equidistantes dos valores iniciais, para poder avaliar a existência de preferências sem a interferência de fenómenos de habituação ou reconhecimento específico. As frequências agudas e velocidade rápida das canções são características extremas no serino e, por isso, evolutivamente derivadas (Capítulos 2 e 7). Assim, a previsão que testamos é de que, se estas características evoluíram por selecção inter-sexual, as fêmeas respondam mais intensamente a manipulações no sentido de canções ainda maior agudas e rápidas.

As manipulações em frequência e velocidade das canções tiveram efeitos opostos no comportamento das fêmeas: enquanto que o padrão de respostas ao aumento de frequência indica a existência de uma preferência por canções agudas, as canções rápidas obtiveram respostas menos intensas que as canções lentas. A análise das respostas vocais às canções com velocidade manipulada permitiu distinguir que a discriminação se deveu especificamente à diminuição de intensidade nas respostas às canções rápidas. Assim, não se conclui deste resultado que existe uma preferência das fêmeas por canções mais lentas (o que seria evolutivamente paradoxal, uma vez que a velocidade elevada das canções de serino deve ser uma apomorfia), mas que o aumento da velocidade inibiu as respostas vocais. Este efeito inibitório sugere uma função agonística para a velocidade das canções, hipótese que testamos em experiências com machos (Capítulos 5 e 6).

A principal conclusão destas experiências é que as características derivadas do canto de serino não podem ser explicadas por um processo único de selecção sexual. Selecção inter-sexual por preferência das fêmeas pode contribuir para a evolução da frequência aguda das canções de serino, mas a evolução da sua velocidade requer uma explicação diferente.

Capítulo 4 – Respostas de fêmeas de serino não favorecem a sintaxe de canto predominante da espécie

Neste capítulo apresentamos duas experiências sobre preferências das fêmeas por sintaxe repetida ou sequencial, utilizando a mesma metodologia do capítulo anterior. Como a sintaxe sequencial é predominante no serino relativamente à maioria dos seus congêneres, a previsão testada é de que, se esta característica evoluiu nas canções de serino por selecção inter-sexual, as fêmeas respondam mais intensamente à sintaxe sequencial.

Contrariamente à previsão, na primeira experiência as fêmeas tenderam a responder mais à sintaxe repetida. Este resultado é difícil de interpretar porque a sintaxe repetida é sintáctica e fonologicamente semelhante às vocalizações de contacto da espécie (Pacheco 2002), enquanto que as sílabas de sintaxe sequencial tendem a ser agregações de elementos mais longas. Assim, é possível que as aves não estivessem a discriminar duas sintaxes, mas duas categorias vocais: canções e vocalizações de contacto. A segunda experiência controla esta ambiguidade testando as fêmeas com canções construídas a partir das mesmas sílabas, em que varia apenas a ordem relativa por que essas sílabas são apresentadas: repetidas ou formando sequências. Nesta experiência as fêmeas não discriminaram entre os dois tipos de sintaxe.

Concluimos não ter demonstrado uma relação entre preferência das fêmeas e a evolução da sintaxe nas canções de serino. Este resultado é discutido no actual contexto de escassez de evidência que relacione selecção inter-sexual e evolução de sintaxe, apesar de algumas expectativas em contrário. Resultados de uma análise comparativa posterior (Capítulo 7) sugerem formas alternativas de abordar o problema da evolução da sintaxe, focando a atenção em características do canto que estão correlacionadas com a sintaxe, como amplitude e outras, em vez de na sintaxe *per se*.

Capítulo 5 – Respostas comportamentais de machos de serino a canções conspecíficas e heterospecíficas, e a variação em características do canto

Testámos machos de serino com a mesma metodologia utilizada anteriormente com fêmeas, para avaliar a existência de efeitos intra-sexuais da frequência, velocidade e sintaxe das canções. Ao contrário das fêmeas nas experiências anteriores, os machos não mostraram discriminação em relação a nenhuma das características. Os machos também não responderam de forma significativamente diferente a canções conspecíficas e heterospecíficas numa experiência de controlo.

O método que utilizámos monitoriza respostas comportamentais que são comuns a machos e fêmeas, pelo que os seus resultados são potencialmente comparáveis entre os sexos. Uma interpretação destes resultados seria a de que os machos são menos discriminantes que as fêmeas em relação a características de canto, o que é previsto por algumas hipóteses na literatura (revisto em Ratcliffe & Otter 1996). No entanto, como os machos não mostraram discriminação de estímulos em nenhuma experiência, permanece a

possibilidade de o método não ser adequado para os testar, e a experiência não pode ser considerada conclusiva. Assim, realizámos experiências adicionais utilizando outra metodologia (Capítulo 6), para comparar mais seguramente as respostas de ambos os sexos. Apesar de inconclusivo, este resultado será relevante para a discussão da experiência do Capítulo 6. Ao contrário dos restantes capítulos, que estão escritos sob a forma de artigos, apresentamos este capítulo como uma comunicação curta.

Capítulo 6 – Função inter-sexual da frequência do canto e função agonística da velocidade do canto no serino: um teste experimental

Neste capítulo apresentamos uma experiência que utiliza uma metodologia mais simples que a dos capítulos anteriores, baseada no comportamento de machos e fêmeas numa situação em que as aves têm as opções de se aproximar ou afastar da fonte de som cada vez que um playback é difundido. As características testadas são a frequência e a velocidade das canções; é ainda testada a discriminação entre canções conspecíficas e heterospecíficas como controlo.

Ao contrário das experiências anteriores, com este desenho experimental os machos revelaram maior discriminação entre canções conspecíficas e heterospecíficas que as fêmeas. Isto indica que as diferenças em discriminação encontradas entre os sexos não traduzem capacidade de discriminação *per se*, mas devem ser interpretadas em termos de regras de decisão que são diferentemente capturadas por cada método.

Nesta experiência as fêmeas aproximaram-se mais de canções agudas que os machos, corroborando o resultado obtido no Capítulo 3 e mostrando que o efeito da frequência das canções se restringe às fêmeas. Ambos os sexos se aproximaram menos de canções rápidas, sendo esta diferença mais notória nos machos. Este resultado também corrobora o obtido no Capítulo 3 e mostra que o efeito da velocidade das canções se estende também aos machos. No seu conjunto, os resultados desta experiência comprovam as duas hipóteses funcionais surgidas a partir do trabalho anterior com fêmeas de serino: selecção inter-sexual da frequência aguda das canções e função agonística da velocidade das canções, o que implica selecção intra-sexual.

Parte III – Evolução do canto e coloração no género Serinus

Capítulo 7 – Evolução de complexidade do canto e adaptação vocal no género *Serinus*

Neste capítulo analisamos a evolução do canto no género *Serinus* a partir de medições detalhadas de sintaxe, complexidade silábica, características temporais e de frequência das canções num conjunto de 27 espécies. São objectivos desta análise caracterizar a labilidade e padrão evolutivo das características de canto, obter medidas quantitativas de complexidade do canto que compreendam as várias dimensões fonológicas e sintácticas das canções, e avaliar quanto a diversificação interespecífica do canto foi acompanhada por evolução de adaptação vocal.

O padrão de evolução do canto em *Serinus* spp. é muito lábil, como é típico de características sexualmente seleccionadas. Não só as características de canto não mostram constrangimento filogenético, como também a intensa diversificação interespecífica se sobrepõe a constrangimentos vocais bem conhecidos, como a relação entre frequência e tamanho corporal. O eixo principal de variação interespecífica compreende de forma abrangente as várias medições de complexidade silábica e elaboração do canto, e é caracterizado sobretudo pela velocidade das canções e pelo tamanho do repertório.

Utilizando a amplitude relativa como medida de desempenho vocal das características silábicas, documentamos que a diversificação do canto no género *Serinus* foi acompanhada apenas parcialmente por adaptação vocal às características típicas das canções em cada espécie; *i.e.* as espécies com uma certa característica de canto mais pronunciada não são necessariamente as espécies com melhor desempenho vocal nessa característica. Isto deveu-se, pelo menos em parte, a várias espécies terem evoluído aspectos de complexidade silábica intrinsecamente exigentes, como um maior número de elementos intra-silábicos. Apesar da correspondência geralmente má entre as características de canto das espécies e o seu desempenho vocal, são identificáveis alguns casos pontuais de especialização vocal. Um destes envolve o serino, que é a espécie com canções mais agudas no género e que demonstra maior proficiência em frequências agudas; esta especialização é significativa uma vez que em experiências anteriores encontrámos evidências de preferência das fêmeas de serino por canções agudas (Capítulos 3 e 6).

Encontrámos associações robustas entre sintaxe e aspectos das canções que são alvos prováveis de selecção sexual: sintaxe repetida está associada a maior amplitude das sílabas, e sintaxe sequencial a maior proporção de som nas canções e variabilidade imediata de sílabas. Dada a presente dificuldade em descobrir pressões selectivas para a evolução de sintaxe (ver Capítulo 4), sugerimos que focar a atenção nas características potenciadas pela sintaxe, e não na sintaxe *per se*, possa constituir uma via de investigação proveitosa.

Capítulo 8 – Evolução correlacionada da coloração de machos e fêmeas no género *Serinus*

Neste capítulo analisamos a variação interespecífica na coloração de machos e fêmeas de *Serinus* spp. Investigamos a importância relativa de selecção independente e pleiotropia com machos na evolução de coloração conspícua em fêmeas. Tradicionalmente a coloração conspícua em fêmeas é explicada como um constrangimento causado pela selecção sobre os machos (Darwin 1871, Wallace 1889, Lande 1980). Recentemente foi sugerido que a selecção de coloração conspícua em fêmeas fosse mais importante que constrangimento. Esta mudança para explicações adaptacionistas baseia-se em descobertas de funções para a ornamentação feminina em várias espécies e em estudos comparativos que concluem que a ornamentação nas fêmeas evolui independentemente da ornamentação nos machos (revisto em Amundsen 2000a). Nós mostramos como a metodologia utilizada nos estudos comparativos anteriores enviesa os resultados no sentido de concluir evolução

independente, e desenvolvemos uma metodologia baseada em simulações que é capaz de testar correctamente cenários de evolução com constrangimento feminino ou masculino.

Os nossos resultados mostram que a importância de evolução independente de coloração conspícua nas fêmeas de *Serinus* spp. é negligenciável. Pelo contrário, a variação interespecífica da coloração no género é bem explicada por um modelo de evolução independente dos machos com constrangimento nas fêmeas ou, embora com menor conformidade, por um modelo de partilha de pressões selectivas entre os dois sexos. A forte correlação entre os padrões de coloração de ambos os sexos, e a menor covariação das características de coloração em fêmeas que em machos, também sugerem constrangimentos evolutivos na coloração das fêmeas.

Concluimos, perante o nosso resultado e as limitações dos estudos comparativos anteriores, que a explicação clássica de que a coloração conspícua em fêmeas evolui sobretudo por pleiotropia com os machos está essencialmente correcta. Como consequência, advertimos contra a inferência de causalidade evolutiva a partir de descobertas de valor adaptativo presente de ornamentos em fêmeas.

Capítulo 9 – Evolução correlacionada de ornamentos múltiplos no género *Serinus*: coloração e complexidade do canto

A teoria recente sobre evolução de ornamentos múltiplos prevê que a evolução de um tipo de ornamento iniba ou substitua a evolução de outros, por o valor indicador dos vários ornamentos ser idêntico, um fenómeno conhecido por transferência (Badyaev *et al.* 2002). Em certas condições, como sinalização de diferentes aspectos de aptidão pelos ornamentos ou baixo custo das preferências nas fêmeas, ornamentos diferentes podem evoluir em conjunto e a sua coexistência nas espécies ser evolutivamente estável (revisto em Candolin 2003, ver também van Doorn & Weissing 2004). O caso da relação entre a evolução de canto e ornamentação da plumagem nas aves é particularmente confuso, porque existem resultados contraditórios na literatura (ver introdução do Capítulo 9).

Neste capítulo testamos se a complexidade das canções e elaboração da coloração evoluem em conjunto no género *Serinus*, utilizando a quantificação dos eixos de variação interespecífica do canto e coloração obtida previamente (Capítulos 7 e 8). Os principais eixos de variação de canto e coloração estão fortemente relacionados, de forma que as espécies com canções mais complexas tendem a ter coloração mais conspícua. Estes eixos de variação tendem também a variar com aspectos do habitat (latitude e altitude) que indicam maior intensidade de selecção sexual. Os restantes eixos de variação do canto parecem ser explicados por outros factores que não selecção sexual: tamanho corporal das aves e propriedades de transmissão de som em ambientes densos.

A selecção sexual é o único processo conhecido capaz de seleccionar simultaneamente características tão distintas do ponto de vista da ontogenia e das implicações ecológicas como o canto e a coloração. O facto de estas características

evoluírem em conjunto e de essa relação ser manifesta entre os principais eixos de variação, mostra que a selecção sexual é um determinante fundamental da complexificação do canto e da elaboração da coloração no género *Serinus*.

O nosso resultado mostra também que neste género o possível efeito de transferência entre a elaboração do canto e coloração não é importante. Revemos a metodologia de trabalho anterior que apoiou a hipótese de transferência (Badyaev *et al.* 2002), e encontramos uma transformação estatística desaconselhada por contribuir para relacionar negativamente dados de coloração e canto. Assim, a evidência actual sugere que a complexidade do canto e a ornamentação da plumagem em passeriformes são geralmente livres de evoluir simultaneamente por selecção sexual.

Capítulo 2

Organização das canções e padrões de variação no serino

Introdução

Tem sido demonstrado de forma consistente que as duas principais funções responsáveis pela evolução do canto nas aves canoras (sub-ordem Oscines) são a atracção e estimulação do par, e a competição entre machos (Catchpole 1982, Searcy & Andersson 1986, Catchpole & Slater 1995). Menos óbvias são as causas da enorme variação no padrão temporal e complexidade do canto em diferentes espécies (Read & Weary 1992, Catchpole & Slater 1995).

O progresso nesta área é dificultado pela grande variação nos padrões de organização do canto entre espécies, o que dificulta a sua comparação objectiva. Em muitas espécies os repertórios vocais são organizados num número limitado de tipos de canções que exibem pouca variação (*e.g.* Baptista 1975, McGregor 1980, Podos *et al.* 1992). Noutras, as aves podem ter um grande número de elementos ou uma forma quase ilimitada de os combinar, resultando em ambos os casos um grande número de sequências diferentes (*e.g.* Catchpole 1976, Ince & Slater 1985, Eens *et al.* 1991). Por isto, a quantificação e comparação de regras de organização e tamanho de repertórios entre espécies é problemática (Kroodsma 1982, Catchpole & Slater 1995). A caracterização detalhada do canto em grupos de espécies aparentadas deve contribuir para ultrapassar este problema, permitindo comparações precisas entre espécies que partilham regras de organização do canto idênticas (*e.g.* Ince & Slater 1985).

Este trabalho pretende contribuir para a caracterização do canto no serino (*Serinus serinus*). O serino pertence a um grupo de espécies particularmente importante para investigação, porque uma das espécies do género, o canário (*Serinus canaria*), é muito utilizada numa variedade de estudos sobre função e fisiologia do canto (*e.g.* Kroodsma 1976, Nottebohm *et al.* 1986, Hartley 1990, Vallet & Kreutzer 1995). O estudo do canto desta e outras espécies aparentadas pode ajudar a enquadrar o conhecimento actual sobre o canto de canário num cenário evolutivo realista.

Os serinos são pequenas aves socialmente monógamas e gregárias da subfamília Carduelinae, que habitam áreas abertas e cultivadas do norte de África e sul da Europa. Os machos cantam intensivamente durante a época reprodutiva, o que tem consequências perceptíveis na estimulação das fêmeas (Mota 1999, Mota & Depraz 2004) e possivelmente no sucesso reprodutor dos machos. As canções de serino são percebidas pelo ouvido humano como um discorrer agudo e rápido de elementos indistintos, o que contrasta com a sonoridade mais suave e trilada do canto de canário e outros carduelíneos (Güttinger 1974, 1985, Güttinger & Clauss 1982, Capítulo 7).

Neste trabalho descrevemos e quantificamos a organização e variação no canto de serinos adultos de vida livre. Também medimos o tamanho dos repertórios e analisamos a variação geográfica e temporal da sua constituição. Os nossos resultados são discutidos tendo em conta o conhecimento actual dos mecanismos e constrangimentos fisiológicos do canto.

Métodos

Este estudo é baseado em gravações intensivas de oito machos de serino anilhados com anilhas de cor, feitas na área circundante à reserva natural do Paúl de Arzila, perto de Coimbra. A área compreende 50 ha de pequenos campos cultivados, com oliveiras (*Olea europaea*), carvalhos (*Quercus sp.*), sobreiros (*Quercus suber*) e arbustos, e é parcialmente envolta por pinhal. Gravações adicionais de seis machos não anilhados foram feitas para comparar a semelhança de repertórios com aves distantes (aves 9 a 11) e para confirmar os tamanhos típicos de repertório (aves 12 a 14).

As aves 1 a 3 foram gravadas de Abril a Julho de 1992. As aves 4 a 8 foram gravadas de Março a Maio de 1998. Cada ave foi gravada durante vários dias. As aves 9 a 11 foram gravadas numa área a 8 km do local de estudo em Julho de 1998 e as aves 12 a 14 foram gravadas em Abril de 1999, em locais escolhidos aleatoriamente fora da zona de estudo. As gravações das seis aves não anilhadas foram feitas mantendo contacto visual permanente para assegurar a sua identidade. As gravações foram feitas com um gravador de cassetes áudio Marantz CP 430 e microfones direccionais Sennheiser (MKH 70 e ME 88).

Fizemos um total de 107 gravações, compreendendo 1488 canções. O número médio de canções gravadas por ave foi 106 ± 95.8 (média \pm d.p.). Todas as aves tinham um mínimo de 50 canções gravadas, excepto as aves 9 a 11 que foram usadas apenas para comparar a semelhança de repertórios.

Foram feitos espectrogramas de todas as canções com o software Canary 1.2.1 e 1.2.4, com resolução de 0.73 ms e 86.13 Hz. A duração das canções foi medida directamente a partir das cassetes. Outras medições temporais e de frequência foram feitas nos espectrogramas usando o software Canary. O intervalo de frequências de sílabas repetidas foi medido utilizando um limiar de -24 db em relação à frequência de amplitude

máxima nos seus espectros de amplitude, para obter dados comparáveis aos de Podos (1997). As frequências de amplitude máxima de canções inteiras também foram medidas nos espectros de amplitude.

Todos os testes estatísticos são bicaudais. Foram utilizados testes não paramétricos uma vez que a maioria dos dados não tinham distribuições normais.

Organização do canto

Todos os espectrogramas foram visualmente comparados com espectrogramas impressos da mesma ave para identificar elementos semelhantes entre canções. Chamamos elemento à unidade de som mais pequena que é visualmente indivisível no espectrograma. Os elementos estão organizados em sílabas, separadas de outras sílabas por intervalos superiores a 10 ms. Este valor de limiar foi escolhido porque nas canções de serino a duração dos intervalos tem uma distribuição bimodal com o mínimo entre as duas modas situado a cerca de 10 ms (Figura 2). As sílabas estão agrupadas em sequências longas que são cantadas de forma muito estereotipada, com pouca variação entre canções. As sequências de sílabas estão elas próprias organizadas num padrão cíclico. Para representar este padrão de organização do canto, construímos diagramas lineares para cada ave que descrevem as bifurcações e ciclos de sequências de sílabas. Como existem exceções que dificultam a leitura esquemática do padrão, adoptámos uma regra de simplificação: as ocorrências infrequentes não eram representadas quando,

1- os elementos eram cantados em menos de 10% das canções gravadas (até um limite absoluto de 10 vezes), e

2- transições entre elementos correspondem a menos de 15% dos casos em que um elemento podia ser seguido por mais que um outro. Escolhemos este valor porque muitas transições eram frequentes (> 70%), poucas tinham frequências intermédias, e existia um pico de transições raras a menos de 15%.

Semelhança de repertórios

As gravações utilizadas na análise desta secção são de dois anos diferentes (aves 1 a 3 de 1992 e aves 4 a 11 de 1998) e duas localidades diferentes (aves 1 a 8 de Arzila e aves 9 a 11 de uma localidade a 8 km de distância) para examinar variação temporal e geográfica nos repertórios. Quantificámos a partilha de sílabas entre os indivíduos para medir a semelhança dos seus repertórios.

Os repertórios das aves 1 a 11 foram impressos e cada sílaba cortada do espectrograma. As sílabas isoladas foram então comparadas e as que correspondiam em frequência e detalhe das características fonológicas eram agrupadas. Para evitar enviesamento do observador, a proveniência das sílabas estava marcada apenas no verso. Para evitar ambiguidades, as sílabas com duração inferior a 10 ms foram excluídas da análise. Todas as sílabas restantes tinham detalhes idiossincráticos suficientes para permitir

Tabela 1 – Frequências mínima e máxima e frequência de amplitude máxima (Freq. amp. máx; em kHz) das canções de serino. As diferenças na frequência de amplitude máxima entre sílabas repetidas e não repetidas não são significativas (testes de Mann-Whitney, $P > 0.05$ para cada ave).

Ave	Canções inteiras			N	Sílabas repetidas		Outras sílabas	
	Frequência mínima	Frequência máxima	Freq. amp. máx. \pm d.p.		Freq. amp. máx. \pm d.p.	N	Freq. amp. máx. \pm d.p.	N
1	2.02	9.36	6.09 \pm 1.3	5	6.27 \pm 0.6	5	6.26 \pm 1.1	41
2	2.45	10.58	6.36 \pm 1.5	5	6.46 \pm 0.7	4	7.13 \pm 0.7	29
3	2.88	10.74	6.42 \pm 1.3	5	6.41 \pm 0.4	5	7.12 \pm 0.8	38
4	2.16	10.58	7.13 \pm 0.8	5	6.27 \pm 0.6	4	7.17 \pm 1.0	36
5	2.23	10.58	6.70 \pm 1.2	5	6.06 \pm 0.9	5	6.54 \pm 0.9	31
6	2.38	10.29	5.54 \pm 0.8	5	5.57 \pm 0.5	3	5.73 \pm 1.0	33
7	2.16	10.58	5.91 \pm 1.5	5	5.63 \pm 0.8	5	5.49 \pm 0.8	35
8	2.45	10.72	6.29 \pm 1.1	5	6.00 \pm 0.5	7	6.77 \pm 1.1	35
Média \pm d.p.	2.34 \pm 0.3	10.43 \pm 0.5	6.31 \pm 0.5		6.08 \pm 0.3		6.53 \pm 0.7	

correspondências claras e exclusivas. Foi dada uma pontuação de 1 por cada sílaba totalmente partilhada com outra ave, e 0.5 quando apenas parte da sílaba era partilhada. A percentagem de sílabas partilhadas entre cada duas aves foi calculada como a soma de pontuações $\times 100$ / número de sílabas no repertório da ave focal.

A ave 7, gravada em 1998 na margem da área de estudo, teve pontuações de partilha de sílabas particularmente baixas, quer com as aves gravadas na mesma área e ano, quer com as outras, pelo que esta ave foi excluída da análise. Como os serinos não são territoriais e são muito móveis (Mota 1995), é possível que esta ave seja proveniente de uma área adjacente ou transiente. Cada ave gravada em Arzila em 1998 foi utilizada como uma referência em relação à qual comparámos as outras para testar a influência da proximidade temporal e geográfica na similaridade dos repertórios.

Resultados

Frequência

As canções de serino usam uma gama de frequências larga, de cerca de 8 kHz (2.3 a 10.4 kHz, Tabela 1). O valor médio da frequência de amplitude máxima das canções é 6.3 kHz, o que corresponde sensivelmente ao meio da sua gama de frequências (0.4, mínimo, e 0.59, máximo, da gama de frequências para aves individuais, Tabela 1). Medimos uma variação na frequência de amplitude máxima muito pequena entre canções do mesmo indivíduo (Tabela 1) que se pode dever a variações nas condições de gravação. A diferença entre aves na frequência de amplitude máxima não é significativa (teste de

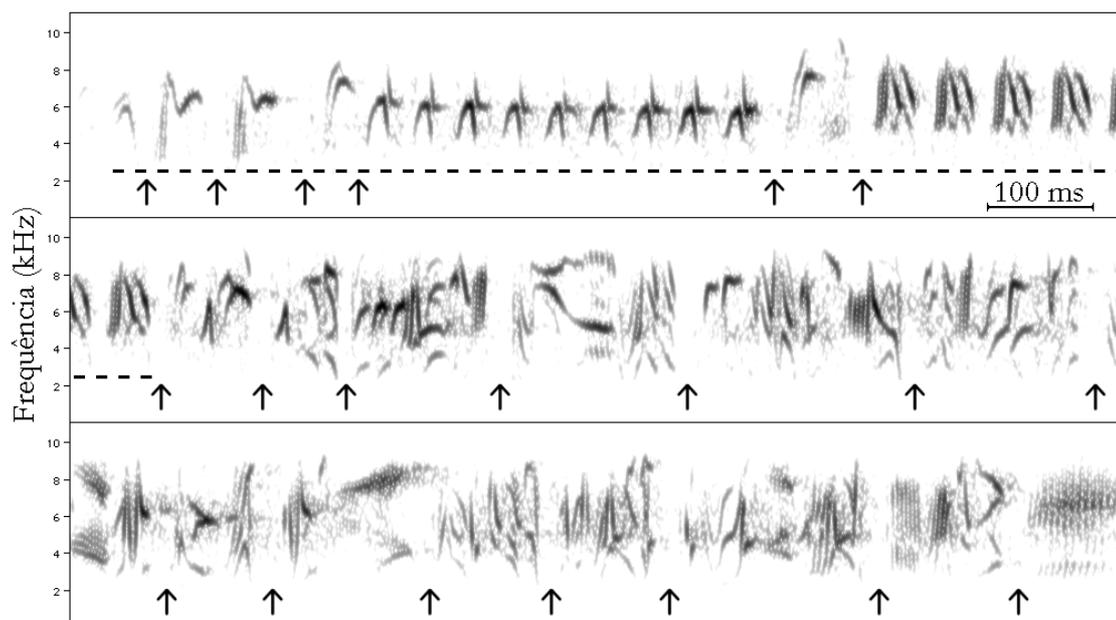


Figura 1 – Espectrograma de parte de uma canção da ave 1. A canção inicia-se em sintaxe repetida com três trilos consecutivos (linha horizontal tracejada) e continua em sintaxe sequencial. As setas indicam os intervalos utilizados para identificar sílabas.

Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 6.84$, $P = 0.45$, $N = 40$). As diferenças em frequências máxima e mínima são ainda menores.

Sintaxe

Distinguimos duas sintaxes diferentes nas canções de serino: a sintaxe repetida e a sintaxe sequencial.

A sintaxe repetida consiste na repetição de elementos ou pequenos grupos de elementos (*i.e.* sílabas) formando trilos (linha tracejada na Figura 1). A sintaxe repetida foi mais frequente no início das canções (pontos de início, PI); ocorria em 10 de 18 PI das aves 1 a 8 (média de ocorrências nestes 10 PI: $94\% \pm 11$). Trilos nos PI eram precedidos por um elemento curto e simples (Figura 1). A sintaxe repetida também ocorreu no meio das canções (em 1.5 ± 0.93 locais por ave, $N = 8$). Nestes casos, incluía menos trilos que nos PI (sintaxe repetida com dois ou mais trilos, no meio das canções: 1/12; nos PI: 6/10; teste exacto de Fisher, $P = 0.02$, $N = 22$) e menos repetições por cada trilo (respectivamente 3.19 ± 1.49 , $N = 13$ e 4.80 ± 1.96 , $N = 15$; teste de Mann-Whitney, $U = 140$, $P = 0.039$).

As sílabas de 4 entre 28 tipos de trilo continham dois ou mais elementos que correspondem a picos de amplitude distintos. Os trilos eram cantados a uma taxa de repetição média de 23.40 sílabas por segundo (gama = 16.93 a 33.04 Hz, $N = 28$ tipos de trilo das aves 1 a 8) e tinham uma banda de frequência média de 4.09 kHz (gama = 2.64 a 6.63 kHz, $N = 28$ tipos de trilo das aves 1 a 8).

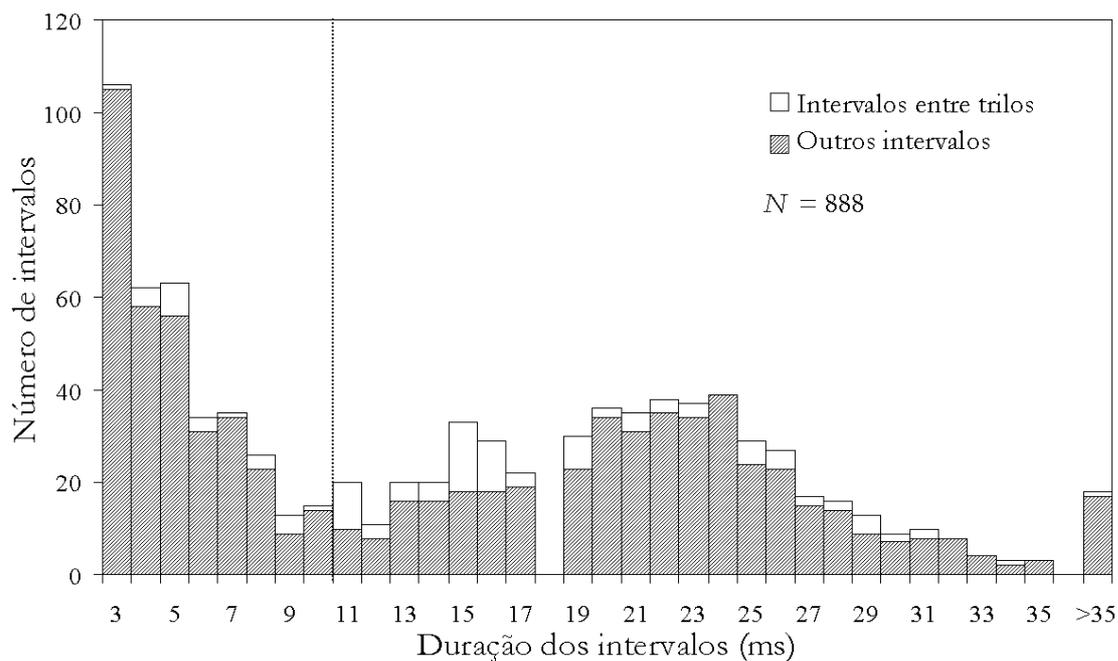


Figura 2 – Distribuição das durações de todos os intervalos no repertório das aves 1 a 8. As barras brancas representam os intervalos dentro de trilos; as barras sombreadas representam todos os outros intervalos. A linha vertical pontilhada indica o limiar utilizado para identificar sílabas. O espaço vazio nos 18 ms é um artefacto da escala com que foi medida a duração dos intervalos.

A sintaxe sequencial (2º e 3º painéis da Figura 1) é maioritária nas canções de serino e é a que mais distintivamente identifica a espécie ao ouvido humano. Consiste numa sucessão de sílabas morfologicamente diversas e cantadas em sequências ordenadas. Dentro das sílabas os elementos estão temporalmente compactados, resultando num número elevado de picos de amplitude por intervalo de tempo, comparável ao da sintaxe repetida mas de amplitude mais variável.

Algumas sílabas de sintaxe sequencial incluíam a repetição rápida de elementos muito simples (*e.g.* início da penúltima sílaba e última sílaba da Figura 1). Estas repetições de elementos são muito mais rápidas e claramente distintas da sintaxe repetida: com a excepção de dois casos, a taxa de repetição de elementos em sílabas de sintaxe sequencial foi superior a 60 Hz, enquanto que o trilo mais rápido da sintaxe repetida foi cantado a 33 Hz.

Eram frequentes sílabas com duas modulações de frequência simultâneas e independentes, portanto envolvendo a acção separada dos dois lados da siringe. Em muitas sílabas também existiam sons harmónicos não filtrados.

A duração de intervalos entre elementos na sintaxe sequencial segue uma distribuição bimodal com um pico na duração mais pequena que conseguimos medir com confiança nos espectrogramas (3 ms), um segundo pico aos 20-24 ms, e um vale aos 9-12 ms (Figura

Tabela 2 – Correlações entre as durações de sílabas e intervalos adjacentes na sintaxe sequencial das aves 1 a 8. r_s , coeficientes de correlação de Spearman. N , tamanho de amostra.

Ave	Sílabas – sílabas seguintes		Sílabas – intervalos seguintes		Intervalos – sílabas seguintes	
	r_s	N	r_s	N	r_s	N
1	0.26	42	0.45*	43	0.24	42
2	-0.07	40	0.36*	42	-0.25	40
3	-0.12	38	0.32*	41	-0.19	38
4	0.04	41	0.41*	41	0.14	41
5	-0.13	36	0.41*	38	-0.10	36
6	0.04	42	0.32*	46	0.13	43
7	0.16	47	0.37*	51	0.07	48
8	0.08	50	0.52*	53	-0.04	51

* - $P < 0.05$

2). Os intervalos na sintaxe repetida foram de duração intermédia e não seguiam uma distribuição bimodal (Figura 2). As duas distribuições diferem significativamente (teste de Kolmogorov-Smirnov, $Z = 2.41$, $P < 0.001$, $N = 888$).

Por cantarem grupos de elementos temporalmente compactados, as aves enfrentam a necessidade coordenar movimentos inspiratórios durante as canções. Os intervalos entre sílabas servem esta função em muitas espécies de aves (Suthers & Goller 1997). Esta pode ser a razão funcional para a existência dos intervalos mais longos nas canções de serino (*i.e.* os intervalos que definem sílabas, Figura 2). Se assim é, espera-se que sílabas mais longas necessitem de intervalos mais longos para inspiração. A análise da duração dos intervalos inter-silábicos confirmou isto, estando a duração das sílabas correlacionada com a duração do intervalo seguinte em todas as aves, mas não com a duração do intervalo anterior ou da sílaba adjacente (Tabela 2).

Organização das canções

Sequências longas de sílabas eram cantadas de forma muito estereotipada, com pouca variação entre canções. Medimos a duração de oito sequências de sílabas sem trilos de duas aves (aves 1 e 2) em todas as canções em que apareciam intactas (duração média das sequências: $1.87 \text{ seg} \pm 0.83$; tamanho da amostra médio para cada sequência: 43.25 ± 53.8). Os coeficientes de variação da duração de cada sequência foram muito pequenos (média = $1.63\% \pm 0.51$, máximo = 2.33% , $N = 8$). Também comparámos a duração de todas as canções com sequências de sílabas idênticas nas aves 1 a 8. Os coeficientes de variação foram igualmente pequenos ($1.44\% \pm 0.99$, máximo = 3.58% , $N = 38$). Isto indica uma grande rigidez temporal na produção dos elementos de som e dos intervalos entre eles.

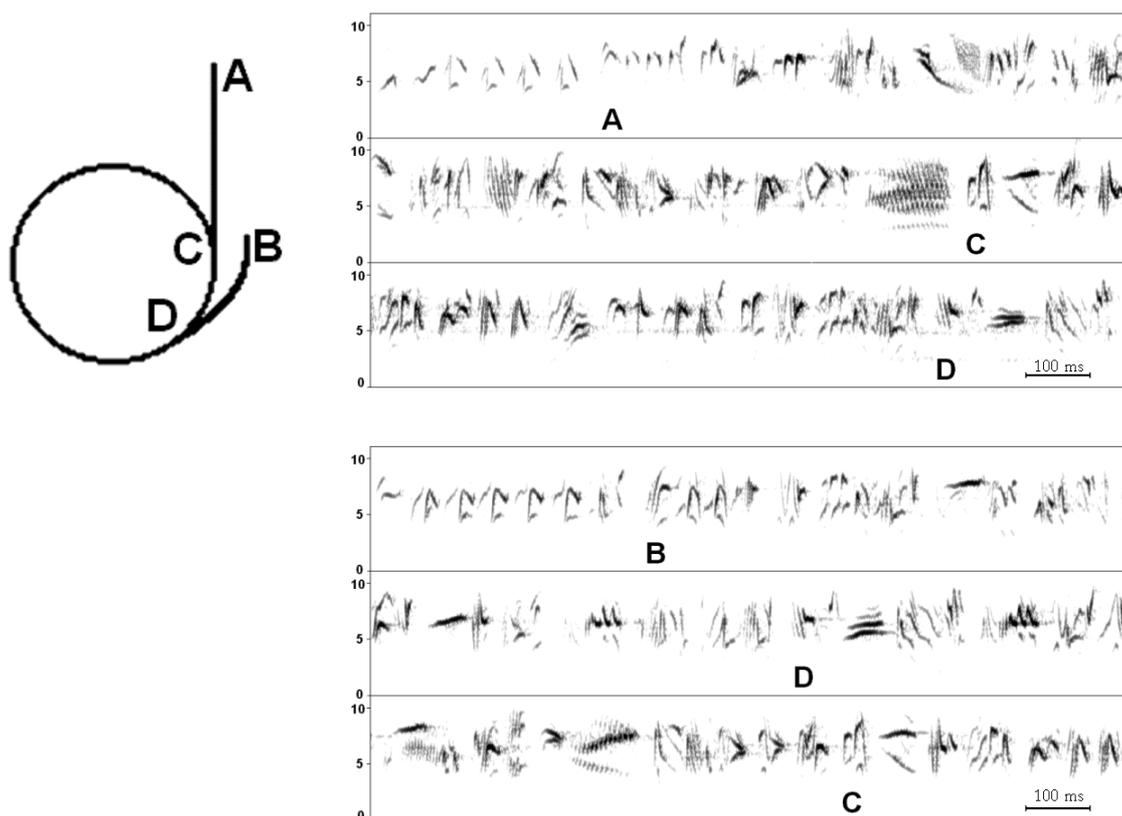


Figura 3 – Duas canções da ave 5 ilustrando a representação da organização das canções em diagramas. O diagrama e espectrogramas têm letras que marcam o início da sintaxe sequencial e os pontos de junção de seqüências de sílabas. O diagrama é lido no sentido horário e representa apenas a sintaxe sequencial, uma vez que a sintaxe repetida é mais variável. As linhas representam a forma como as seqüências de sílabas, que são cantadas de forma muito estereotipada, se inter-relacionam e originam a estrutura circular das canções. O comprimento dos segmentos não é proporcional à duração ou número de sílabas.

Quando as canções são suficientemente longas a seqüência de sílabas retorna a um ponto anterior, formando um circuito cíclico. As seqüências podem unir-se em diferentes pontos, originando circuitos distintos. A representação da organização das canções foi feita usando diagramas de fluxo (Figura 3). Cada diagrama (Figura 4) representa a ordem relativa pela qual as sílabas eram cantadas em sintaxe sequencial, considerando todas as canções de cada indivíduo. Alguns circuitos alternativos muito curtos (0.75 ± 0.75 locais por ave) não foram representadas. O número de PI e circuitos variou entre indivíduos. As canções de cada ave exibiram um número limitado de PI mas podiam terminar quase em qualquer ponto, por vezes interrompendo elementos contínuos. Conseqüentemente, o número de pontos de fim de canção diferentes correlacionou-se significativamente com o número de canções analisado em cada indivíduo ($r_s = 0.84$, $P = 0.01$, $N = 8$).

A duração média das canções foi 2.92 seg (± 1.64 , $N = 1225$, dados das aves 1 a 8; duração média por ave varia entre 1.93 e 3.19 seg), o que é insuficiente para completar um

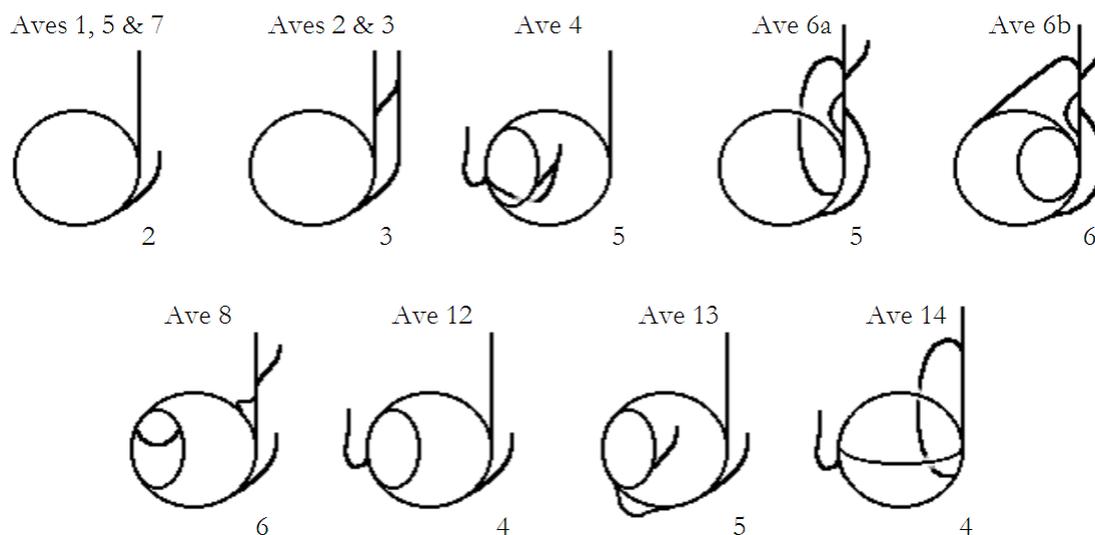


Figura 4 – Diagramas representando a organização das canções das aves 1 a 8 e 12 a 14. Os números junto a cada diagrama são medidas de complexidade estrutural do canto (ver texto).

circuito cíclico inteiro. Apenas as canções mais longas completavam um ou mais circuitos. Encontrámos coeficientes de variação muito altos da duração das canções em cada ave ($75\% \pm 0.17$, mínimo = 51%, máximo = 111%, $N = 8$), sugerindo que a duração das canções é indeterminada.

A ave 6 tem dois diagramas porque foi gravada em dois períodos distintos separados por 35 dias, e os diagramas referem-se a cada um desses períodos. Existem duas diferenças principais entre os diagramas (Figura 4): a posição de contacto do circuito que regressa ao início da canção e a presença de um circuito menor (Ave 6b). Estas variações não são causadas por insuficiência de amostragem. Apesar de a ave 6 mostrar esta alteração temporal, não encontrámos nenhuma relação entre a duração do período de gravação e a complexidade estrutural das canções entre indivíduos (Figura 4, $r_s = -0.39$, $P = 0.24$, $N = 11$), pelo que não sabemos a generalidade do fenómeno.

A presença de excepções à organização do canto pode ser consequência de perturbações externas, como a presença de um predador ou outra situação stressante. Os serinos produzem vocalizações de alarme frequentemente, quando predadores ou intrusos são detectados. Assim, as vocalizações de alarme devem ser, na sua maioria, bons indicadores de stress ou ansiedade nestas aves. Para testar se perturbações externas influenciam a organização do canto comparámos o número de excepções presentes em grupos de cinco canções consecutivas precedidas por uma vocalização de alarme, com grupos controlo também de cinco canções consecutivas. Cada grupo controlo foi escolhido aleatoriamente de entre as gravações sem alarmes da mesma ave que o grupo de canções com alarme, e de forma que nenhuma canção fosse incluída mais que uma vez em nenhum grupo. As excepções foram significativamente mais frequentes nos grupos de canções após

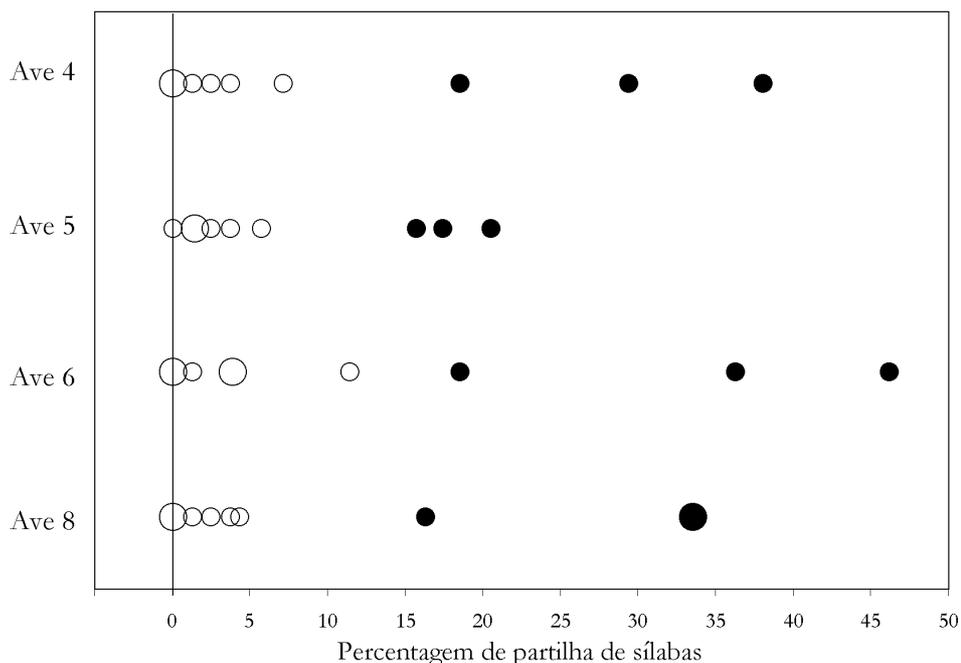


Figura 5 – Percentagem de partilha de sílabas entre quatro aves de referência, gravadas em Arzila em 1998, com aves vizinhas (círculos sombreados) e aves estranhas (círculos brancos).

vocalizações de alarme (teste emparelhado por graus de Wilcoxon: $Z = 2.84$, $P = 0.004$, $N = 25$).

Tamanho do repertório de sílabas

O tamanho dos repertórios de sílabas foi medido como o número de sílabas diferentes nas canções de cada ave (excepções não foram incluídas). Como sílabas diferentes variam consideravelmente em duração, sendo que as mais longas podem ser mais complexas, usámos a soma das durações de todas as sílabas como uma medida de repertório adicional (Kroodsma 1982).

O tamanho médio dos repertórios foi de 52.64 ± 6.79 sílabas (mínimo = 42, máximo = 66, $N = 11$ aves). A duração dos repertórios (excluindo repetições de sílabas) variou entre 5.40 e 8.02 seg, sendo a média de $6.70 \text{ seg} \pm 0.82$. Como esperado, o número de sílabas e a duração total do repertório correlacionaram-se significativamente ($r_s = 0.76$, $P < 0.01$, $N = 11$).

Uma medida da complexidade da organização do canto, o número de circuitos diferentes, foi calculada como o número de PI e pontos de divergência em cada diagrama (números na Figura 4). O número de circuitos diferentes não se correlacionou com o tamanho do repertório (número de sílabas, $r_s = 0.49$, $P = 0.13$, duração do repertório, $r_s = 0.53$, $P = 0.10$, $N = 11$ aves). Nenhuma medida de tamanho de repertório se correlacionou com o número de canções analisada (número de sílabas, $r_s = 0.27$, $P = 0.42$,

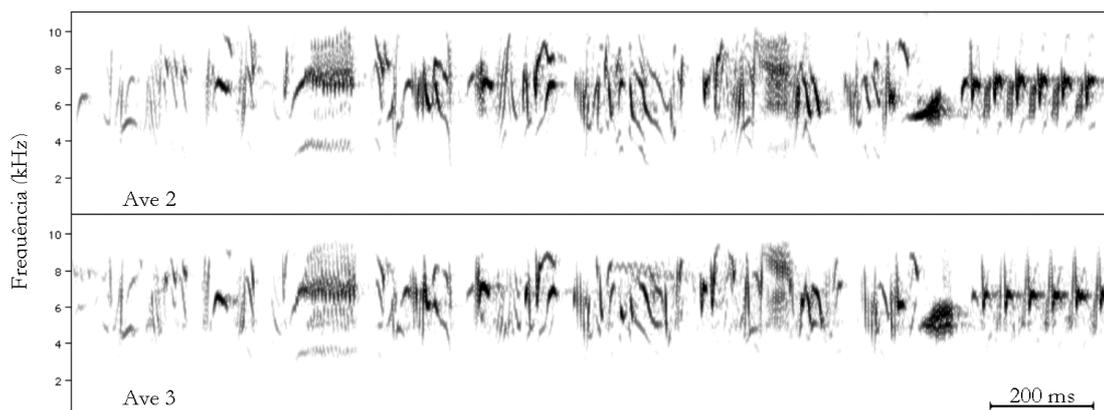


Figura 6 – Início de canções das aves 2 e 3, mostrando que nestas aves a partilha de sílabas é sensível à sua ordem relativa.

duração do repertório, $r_s = 0.18$, $P = 0.60$, $N = 11$), indicando que os tamanhos de amostra foram adequados para estimar repertórios.

Semelhança de repertórios

Os repertórios das aves gravadas em Arzila em 1998 foram comparados entre si e com os repertórios de aves estranhas (Figura 5). Tomando como referência qualquer das aves gravadas em Arzila em 1998, a partilha de sílabas é significativamente mais elevada com aves vizinhas (*i.e.* gravadas em 1998 em Arzila) que com aves estranhas (*i.e.* não gravadas em Arzila ou em 1998, teste de Mann-Whitney, $U = 18$, $P = 0.02$, $N = 9$, para qualquer ave referência).

Duas aves gravadas em 1992 tinham exactamente a mesma organização das canções (aves 2 e 3, Figura 4) e uma taxa elevada de partilha de sílabas (26%). Nas canções destas duas aves as sílabas partilhadas ocupavam as mesmas posições relativas (Figura 6).

Discussão

As canções de serino consistem numa sucessão rápida e estereotipada de sílabas, frequentemente compostas e contendo modulações de som simultâneas e independentes. Coexistem duas sintaxes na canções de serino: sintaxe repetida, que consiste em trilos de sílabas relativamente curtas, e sintaxe sequencial, que é predominante, e que consiste em sequências rápidas e estereotipadas de sílabas, geralmente mais longas e com mais sub-elementos e modulações de frequência que as anteriores.

As sílabas são cantadas em sequências circulares muito previsíveis; dados de uma ave indicam que a organização exacta das canções se pode alterar com o tempo. As canções iniciam-se em poucos locais do repertório e podem terminar em qualquer ponto.

Excepções às regras de organização sequencial das canções são mais prováveis após vocalizações de alarme.

O tamanho do repertório variou entre 42 e 66 sílabas. Os repertórios de aves gravadas no mesmo ano e local são mais semelhantes entre si que com aves gravadas num local ou ano diferente.

Frequência

A frequência de amplitude máxima nas canções de serino é consideravelmente superior à esperada para aves com a sua massa corporal (Wallschläger 1980). A regressão interespecífica de Wallschläger prevê uma frequência dominante de 4 kHz para aves com a massa corporal do serino (11.5 g, Cramp & Perrins 1994), enquanto que a frequência de amplitude máxima média no serino é de 6.30 kHz. A mesma conclusão é obtida se usarmos a regressão de Ryan & Brenowitz (1985) para passeriformes sul americanos. A frequência de amplitude máxima de canto no serino situa-se a cerca de meio da gama de frequências utilizada, o que também não está de acordo com a sugestão de Lambrechts (1996) de que o desempenho vocal das aves deva ser maior a cerca de um quarto da sua gama de frequências. Isto sugere que, por comparação com outras espécies, o serino está particularmente adaptado para cantar em frequências agudas.

Sintaxe

As diferenças entre as duas sintaxes de canto no serino podem ser interpretadas por referência a trabalhos de fisiologia do canto em canários e emberizídeos. Em canários, dinâmicas respiratórias distintas estão associadas a diferentes taxas de repetição de sílabas: trilos lentos (< 27 Hz) permitem pequenas inspirações entre as sílabas (mini-inspirações) enquanto que trilos mais rápidos (> 30 Hz) são cantados apenas com movimentos expiratórios (respiração pulsátil, Hartley & Suthers 1989, Hartley 1990). Diferenças na cinética do tracto vocal também foram encontradas entre trilos lentos (< 30 Hz) e rápidos (> 40 Hz) de emberizídeos (Westneat *et al.* 1993). Crê-se que estas diferenças fisiológicas sejam de aplicação geral (Podos 1997). De acordo com esta dualidade, os trilos de serino são muito mais lentos (<35 Hz) e têm intervalos maiores que as repetições de elementos nas sílabas sequenciais (>60 Hz).

Considerando estas diferenças em fonética e respiração, propomos que:

1 – A maioria dos tipos de trilos (*i.e.* sintaxe repetida) são cantados com mini-inspirações, e as durações intermédias encontradas para os intervalos entre sílabas repetidas correspondem ao tempo necessário para as mini-inspirações.

2 – Cada sílaba de sintaxe sequencial é cantada com respiração pulsátil, uma vez que os intervalos intra-silábicos (primeira moda da Figura 2) são certamente de duração insuficiente para permitir inspirações.

3 – Os intervalos que separam sílabas em sintaxe sequencial (segunda moda da Figura 2) permitem a recuperação do volume de ar utilizado na sílaba precedente, e os intervalos mais longos correspondem aos requerimentos respiratórios maiores das sílabas mais longas. Isto é apoiado pelas correlações significativas entre durações dos intervalos e das sílabas precedentes.

Podós (1997), estudando trilos com taxas de repetição inferior a 50 Hz em emberizídeos e no canário, demonstrou a existência de um constrangimento de produção vocal: o aumento na taxa de repetição máxima dos trilos é acompanhado por decréscimo no intervalo máximo da gama de frequências. Utilizando a mesma metodologia, não encontramos este compromisso entre velocidade e gama de frequência dos trilos, mas tal pode dever-se à pouca variação existente nas taxas de repetição de sílabas no serino. No entanto, os valores de gama de frequência \times taxa de repetição em serinos são altos quando comparados com os dados de Podós (1997). A média da taxa de repetição e gama de frequências nos trilos de serino situa-se apenas a 0.65 kHz abaixo da linha da equação do constrangimento vocal encontrada por Podós (1997), e 7 de entre 28 trilos situam-se acima dessa linha. Isto é significativo porque esta equação foi obtida utilizando os valores mais extremos dos dados conjuntos de 35 espécies de aves. Como em relação à capacidade de cantar em frequências agudas, o serino parece estar melhor adaptado que a maioria das espécies para cantar sílabas rapidamente e com uma gama de frequência extensa.

Escrevedeiras-dos-pântanos (*Melospiza georgiana*) que em juvenis são sujeitas à audição de trilos mais rápidos que o normal da sua espécie, aprendem a cantar cópias dos trilos com as sílabas simplificadas ou reproduções fiéis mas com uma sintaxe atípica, partida; *i.e.* segmentos de trilo quebrados por pausas (Podós 1996). Esta sintaxe partida é semelhante ao padrão temporal da sintaxe sequencial do serino, sendo que as sílabas de serino são conjuntos particularmente rápidos de sub-elementos. Se estes constrangimentos vocais (Podós 1996, 1997) e a permissividade de aprendizagem encontradas em escrevedeiras-dos-pântanos são aplicáveis ao serino, então a sintaxe sequencial pode ser o resultado de uma pressão evolutiva favorecendo canções rápidas e contínuas.

Características relacionadas com velocidade vocal podem ser alvos de selecção sexual do canto (Searcy & Yasukawa 1996) e uma tal preferência existe em fêmeas de canário (Vallet & Kreutzer 1995, Vallet *et al.* 1998). Assim, e porque o canto de serino apresenta estas características extremas de velocidade, pode ser proveitoso estudar a velocidade das canções de serino neste contexto (Capítulos 3 e 6).

Organização do canto

É a primeira vez de que temos conhecimento ser descrita uma organização circular da estrutura das canções. Sendo o serino uma espécie com sintaxe predominantemente sequencial e muito poucas repetições de sílabas, é possível que a circularidade seja uma adaptação para permitir cantar canções mais longas que a própria duração do repertório. A

maioria das canções são demasiado curtas para completar um ciclo, mas enquanto cantando para fêmeas as canções tendem a ser mais longas (P.G. Mota, trabalho não publicado), pelo que esta capacidade pode ser importante.

Inversamente, é possível que a circularidade seja uma consequência de regras seriais simples, que no serino assumem uma forma mais rígida porque a brevidade das sílabas e sintaxe sequencial causam a exaustão do repertório nas canções mais longas. Regras seriais podem ser comuns nas aves canoras. São conhecidas na apresentação de sequências mais prováveis de sílabas no canário (“rotinas” em Mundinger 1995), no encadeamento de tipos de canções no rouxinol (*Luscinia megarhynchos*, Hultsch & Todt 1989) e, de uma certa forma, em todas as espécies com tipos de canções (sendo os tipos de canções definidos por certas sequências de sílabas). O facto de várias espécies do género *Serinus*, com características de sintaxe e velocidade de canto muito diferentes, mostrarem um grau de consistência serial semelhante ao do serino (ver Capítulo 7 e Apêndice 1) apoia esta segunda hipótese, não adaptativa.

A organização do canto da ave 6 alterou-se num período de 35 dias (Figura 3). Algumas das alterações são quantitativas e não qualitativas. Por exemplo, o local onde esta ave fecha o circuito, regressando a perto do início, é diferente nas duas séries de gravações; o local de fecho de circuito utilizado na primeira série é ainda utilizado na segunda série, mas numa proporção muito baixa e considerada excepcional. É incerto quão frequente é este tipo de mudança nos serinos, e são necessário estudos longitudinais para o investigar.

Uma explicação para a existência de excepções é que factores externos stressantes interfiram com a produção do canto. Os nossos resultados apoiam esta hipótese: a ocorrência de excepções é mais provável após emissão de vocalizações de alarme, pelo que factores externos têm um efeito disruptivo na organização das canções.

Podos *et al.* (1992) propuseram uma explicação alternativa a esta para a existência de variações na organização serial das sílabas: as canções são vistas como probabilisticamente definidas, de forma que ocorre naturalmente um certo grau de desvios em relação à estrutura modal. Esta explicação prevê a ocorrência de excepções independentemente do contexto, ao contrário da nossa hipótese de erro de produção. Estas duas hipóteses não são mutuamente exclusivas mas, porque a ocorrência de excepções no serino é pelo menos em parte dependente de contexto, a hipótese probabilística não é suficiente para as explicar.

Searcy *et al.* (2000) simularam intrusões territoriais em escrevedeira-dos-pântanos e observaram o aumento do número de desvios às sequências modais das canções por parte dos machos territoriais. Os autores interpretaram o resultado de forma adaptacionista, como sendo os desvios sintácticos um sinal agonístico, embora tenham reconhecido a possibilidade de os desvios serem apenas erros de produção. Porque o nosso resultado com serinos indica que desvios à estrutura das canções são provocados por contextos menos específicos que intrusão territorial, a hipótese de erro de produção é mais parcimoniosa para explicar a ocorrência de excepções em ambas as espécies.

Tamanho dos repertórios de sílabas

O tamanho dos repertórios é normalmente quantificado como o número de sílabas ou de tipos de canções. Na maioria das espécies de canto descontínuo é possível identificar tipos de canções recorrentes e distintos e, assim, a medida de repertório mais utilizada é o número de tipos de canções (Kroodsma 1982). Repertórios de sílabas, por sua vez, são normalmente utilizados para espécies de canto contínuo, porque a sua forma de cantar não se subdivide em canções discretas com inícios e finais claros (*e.g.* Catchpole 1976).

A definição de sílabas adoptada para o serino foi ditada pela sintaxe sequencial estereotipada da suas canções, que inviabiliza outros critérios (ver Capítulo 7). Apesar de ser um cantor descontínuo, a duração dos intervalos é o único critério inteiramente objectivo para separar sílabas nesta espécie e, assim, constitui o melhor procedimento para comparações intra-específicas.

O repertório médio no serino é de 52 sílabas, o que é um valor relativamente elevado entre as aves canoras (Read & Weary 1992, Catchpole & Slater 1995). As sílabas de serino são muito diferentes em número de elementos intra-silábicos de muitas espécies para as quais foram quantificados repertórios de sílabas (*e.g.* canário, Güttinger 1985; verdilhão, *Carduelis chloris*, Güttinger 1974; pintassilgo, *Carduelis carduelis*, Güttinger & Clauss 1982; *Acrocephalus* spp., Catchpole 1980; escrevedeira-dos-pântanos, Marler & Pickert 1984). Embora breves, as sílabas de serino têm um número consideravelmente maior de elementos intra-silábicos cantados muito rapidamente. Isto levanta uma dificuldade para comparações de tamanho de repertório com espécies com sílabas mais simples. A simples contagem de sílabas perde esta variabilidade em complexidade. Por esta razão, sugerimos que comparações interespecíficas usem quantificações multivariadas da complexidade do canto (*e.g.* Capítulo 7).

Outra medida de complexidade do repertório no serino é o número de circuitos nas canções. Podemos pôr a hipótese de que um maior número de circuitos sirva para acomodar repertórios maiores, mas tal não é suportado pela falta de correlação entre tamanho do repertório e complexidade estrutural das canções. Também não sabemos se as aves enquanto receptores são sensíveis a este aspecto de organização das canções. Assim, a complexidade da organização do canto permanece de interpretação duvidosa (pode ser vista como um sinal de elaboração ou de produção menos controlada) e requer mais investigação.

Semelhança dos repertórios

Os repertórios das aves gravadas no mesmo ano e local foram mais semelhantes entre si que com repertórios de aves gravadas noutra local ou ano. Isto sugere a existência de variação geográfica e alteração temporal na composição dos repertórios, embora o resultado seja baseado numa tamanho de amostra pequeno. Este padrão é esperado nas

aves canoras, onde o canto é aprendido pela audição de conspécíficos ou outros sons, e pode por isso ocorrer mudança cultural rápida (Kroodsma 1996, Podos *et al.* 2004).

O facto de algumas aves partilharem porções grandes das canções, e não só sílabas isoladas, mostra que a aprendizagem pode ser sensível à ordem relativa das sílabas. Contudo, a maioria da partilha que encontramos refere-se a sílabas isoladas. Isto pode ser o resultado de aprender sílabas separadamente, ou o efeito de mistura cultural após algumas gerações de canto e aprendizagem. O nosso critério para identificar partilha de sílabas foi muito exclusivo e é provável que tenha subestimado a quantidade de partilhas. A mesma organização do canto e a mesma ordem relativa das sílabas partilhadas entre as aves 2 e 3 mostram ainda que a aprendizagem é sensível à organização das canções.

Notas finais: divergência do canto entre serinos e canários

Para concluir, é sugestivo comparar o canto do serino com o da sua espécie mais proximamente aparentada, o canário (Arnaiz-Villena *et al.* 1999). Em canários domésticos os trilos constituem a grande maioria ou totalidade das canções, enquanto que em canários selvagens os trilos são mais curtos e as sequências de notas são comuns (Güttinger 1985). No serino, as sequências são a sintaxe predominante nas canções de serino. A duração de cada trilo é menor no serino e maior no canário doméstico, estando o canário selvagem entre estes. A frequência do canto é maior no serino e menor nos canários domésticos, particularmente nas variedades seleccionadas pelo canto. Esta relação mantém-se após controlar o efeito do tamanho corporal (Wallschläger 1980). A velocidade de canto no serino é muito maior que nos canários domésticos e selvagens. Por exemplo, a taxa de repetição de sílabas média nos trilos de serino é tão rápida como os trilos de sílabas complexas mais rápidos no canário, que se sabe causarem respostas sexuais elevadas por parte das fêmeas (Vallet *et al.* 1998).

Portanto, para algumas características do canto estas aves parecem formar uma série ordena – serino / canário selvagem / canário doméstico – com o serino apresentando os valores mais extremos de frequência, variabilidade imediata e velocidade. Estas são o tipo de características susceptíveis de evolução por selecção sexual (Searcy & Yasukawa 1996, Vehrencamp 2000). É provável que o serino esteja sujeito a maior intensidade de selecção sexual que o canário selvagem, devido à insularidade (Griffith 2000), e estes que o canário doméstico, devido às condições reprodutivas sob domesticação. Assim, a possibilidade de a gradação das características de canto acima estar relacionada com intensidade de selecção sexual merece mais investigação. Em particular, as alterações sofridas durante a domesticações dos canários podem ser um caso de regressão de características sexualmente seleccionadas. Como notado por Güttinger (1985), algumas mudanças no canto do canário doméstico são explicadas por selecção artificial (frequência grave e sintaxe trilada, que é

mais apelativa ao ouvido humano), mas também ocorrem, numa escala menor, nas variedades não seleccionadas pelo canto.

Capítulo 3

Respostas de fêmeas a duas características derivadas no canto de serino: frequência e velocidade

Introdução

A evolução do canto das aves atraiu muita atenção devido à sua conspicuidade, diversidade interespecífica e frequente elaboração (Catchpole & Slater 1995). Trabalho experimental nas últimas décadas confirmou a proposta de Darwin de que a selecção sexual é um factor importante na sua evolução (Searcy & Andersson 1986). A característica de canto mais detalhadamente estudada neste contexto é o tamanho dos repertórios, uma vez que este é frequentemente redundante para as funções de identificação individual ou específica e, por isso, é provável que tenha evoluído por selecção sexual (Andersson 1994, Catchpole & Slater 1995). Aspectos relacionados com o uso das canções (como taxas e duração de canto) também foram interpretados como sexualmente seleccionados (*e.g.* Wasserman & Cigliano 1991, Vehrencamp 2000, Nolan & Hill 2004).

Características físicas e sintácticas das canções foram menos investigadas no contexto de selecção sexual, apesar de ter existido ampla experimentação sobre este tipo de características com o objectivo de identificar pistas de reconhecimento específico (Becker 1982, Nelson 1989). Contudo, as propriedades físicas e sintácticas das canções são muito variáveis entre espécies e exibem por vezes fenótipos extremos, como é típico de características sexualmente seleccionadas.

Este é o caso do serino (*Serinus serinus*), cujo canto é notável pela sua frequência aguda e pela rápida e contínua sucessão de diferentes elementos sonoros nas canções (Capítulo 2). A frequência de amplitude máxima nas canções de serino, de 6.3 kHz, é muito superior à esperada para o seu tamanho corporal e encontra-se entre as mais agudas conhecidas entre as aves canoras (Capítulo 2, Ryan & Brenowitz 1985, Wallschläger 1980). As canções de serino também exibem o maior número de elementos sonoros diferentes por unidade de tempo no seu género (Capítulo 7) e, tanto quanto conhecemos, entre todas as aves europeias.

A frequência e velocidade (definida como o número de elementos por unidade de tempo, dentre de cada canção) são claramente identificáveis como características evolutivamente derivadas no canto de serino, por duas razões. Primeira, estes fenótipos são os mais extremos no género *Serinus* (Capítulo 7), sugerindo que a frequência aguda e velocidade elevada evoluíram no serino a partir de fenótipos mais comuns no género, com frequência e velocidade menores. Segunda, a hipótese alternativa de estes fenótipos extremos representarem um estado ancestral do género *Serinus* pode ser rejeitada, porque a especiação do serino é relativamente recente e está localizada numa linhagem especiosa, portanto muito distante da raiz na árvore filogenética do género (Arnaiz-Villena *et al.* 1999; ver Figura 1 do Capítulo 7). Neste capítulo investigamos o papel das preferências das fêmeas de serino na evolução destas apomorfias do canto.

Testámos a discriminação e preferências das fêmeas de serino por características do canto monitorizando as suas respostas vocais e procura de playbacks. Respostas vocais foram previamente usadas em testes de preferência nalgumas espécies, sobretudo com juvenis no contexto de aprendizagem vocal (*e.g.* Clayton 1988, Nelson & Marler 1993), mas também com aves adultas para averiguar preferências por características de vocalizações (Vicario *et al.* 2001) ou canções (Clayton 1988, Parisot *et al.* 2002). É relevante para o objectivo do nosso estudo que repostas vocais tenham sido utilizadas com sucesso em testes de preferências com fêmeas adultas de uma espécie aparentada (*Serinus canaria*), produzindo resultados equivalentes aos obtidos por quantificação de solicitações de cópula (Nagle *et al.* 2002). A monitorização da procura de playbacks pelas fêmeas é remanescente de técnicas de condicionamento operante, adaptadas pela primeira vez para avaliar preferências das fêmeas por Riebel & Slater (1998).

Prevemos que, se uma característica das canções evoluiu por um processo de selecção inter-sexual, a manipulação das canções no sentido derivado deve obter respostas mais intensas das fêmeas relativamente à manipulação inversa no sentido ancestral. Concretamente, canções mais agudas devem ser preferidas sobre canções mais graves, e canções mais rápidas sobre canções mais lentas.

Métodos

Capturámos fêmeas de serino com redes japonesas de bolsos, desde o final de Janeiro a Junho de 2002, numa área de pequenos campos agrícolas intervalados com arbustos e árvores, perto de Coimbra. Mantivemos as aves em grupos de quatro ou cinco, em gaiolas de 75 × 35 × 30 cm, num aviário com luz e ventilação naturais. As aves eram alimentadas com sementes, água, e suplementos regulares de minerais, proteínas e vitaminas. Não estiveram presentes machos no aviário. As experiências decorreram de 12 de Março a 27 de Maio para um primeiro grupo de 16 aves, e de 6 de Junho a 12 de Agosto

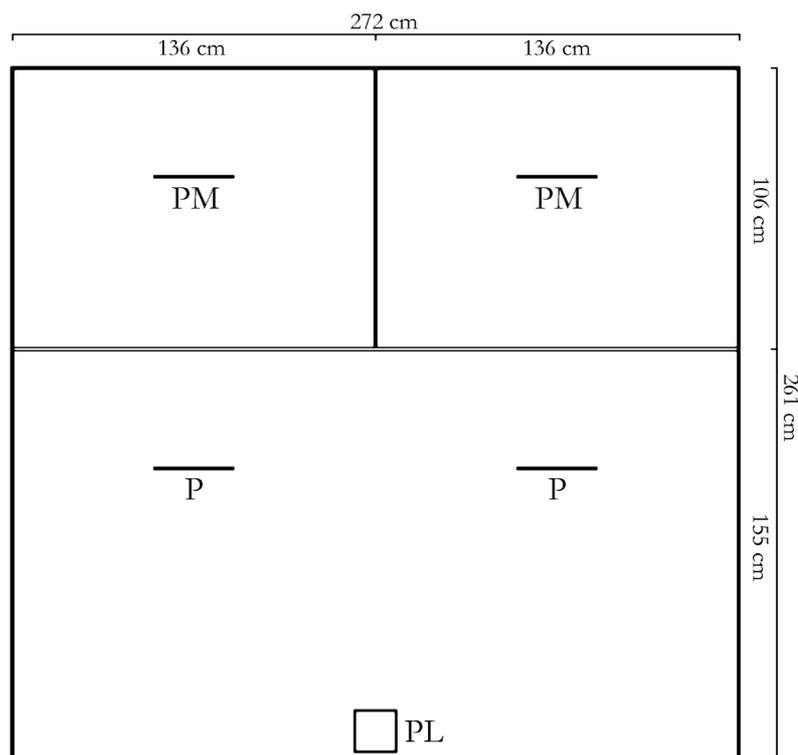


Figura 1 – Diagrama da vista de topo da sala experimental. As linhas escuras são paredes, e a linha clara é uma parede de vidro que separa o compartimento maior dos outros dois. A altura da sala é de 220 cm. (PM) Poleiros de 150 cm de altura com um macho de serino empalhado. (P) Poleiros de 150 cm de altura equipados com sensores de movimento. (PL) Plataforma de 88 cm de altura com água e sementes. O tamanho e posição dos poleiros e plataforma está representado à escala.

para um segundo grupo de 13 aves, resultando numa amostra total de 29 fêmeas de serino. Depois das experiências as aves foram libertadas perto do local de captura.

Efectuámos três experiências distintas: a experiência 1 testou as respostas das fêmeas a canções conspecíficas *versus* canções heterospecíficas; a experiência 2 testou respostas a canções de serino agudas *vs.* graves; e a experiência 3 testou respostas a canções de serino rápidas *vs.* lentas. Cada ave foi testada uma vez em cada uma destas três experiências e os testes com a mesma ave distaram entre si pelo menos 14 dias. A ordem das experiências variou de ave para ave de forma balanceada.

As experiências foram realizadas numa sala fechada (Figura 1) com chão de areia e iluminação artificial ajustada à temporização natural. Uma parede de vidro separava um compartimento maior de dois outros compartimentos menores adjacentes. Em cada um dos compartimentos menores estava um serino macho empalhado num poleiro virado para a parede de vidro. Por cima do vidro, defronte de cada macho empalhado, estava um altifalante de 5W direccionado para o compartimento maior. No compartimento maior estavam dois poleiros de madeira equipados com sensores de infravermelhos, um em frente

de cada altifalante. Estes sensores estavam ligados a um computador fora do compartimento de experiências, que monitorizava a ocupação dos poleiros e geria a reprodução de playbacks. A partir do poleiro do lado direito só era visível o macho empalhado no compartimento do lado direito, e o mesmo para o esquerdo. Estavam disponíveis sementes e água numa plataforma junto ao centro da parede oposta aos poleiros e à parede de vidro (Figura 1).

No dia antes de cada experiência introduzimos a fêmea no compartimento maior para habituação. As experiências começavam durante as duas primeiras horas de luz do dia seguinte. Na primeira parte das experiências, que durava 27 minutos, eram reproduzidos playbacks e as respostas vocais das fêmeas eram gravadas numa cassete áudio. Um tipo de estímulo era reproduzido 10 vezes pelo mesmo altifalante, a cada 15 segundos, constituindo assim um bloco de 150 segundos. Após um intervalo silencioso de 30 segundos, o outro altifalante reproduzia um bloco semelhante do tipo de estímulo oposto. Um total de 9 blocos eram reproduzidos alternadamente, de forma que o estímulo que iniciara a experiência é o mesmo que a termina, para minimizar um possível efeito de habituação. A ordem e lado de apresentação dos diferentes estímulos foi mudada de teste para teste de forma balanceada.

A segunda parte da experiência começava 3 minutos após o final da primeira, e durava até às 19 horas; a sua duração total foi de 12 ou 13 horas, dependendo da hora de nascer do sol. Durante este período os altifalantes estavam silenciosos a não ser que a fêmeas se movesse para um dos poleiros, o que causava que o altifalante defronte reproduzisse o mesmo estímulo que tinha tocado durante a primeira parte da experiência. Este estímulo era então repetido a cada 10 segundos durante o tempo em que a fêmea permanecesse empoleirada. O computador mantinha o registo das visitas aos poleiros e do tempo de permanência em cada visita.

Estímulos sonoros

Os estímulos conspécíficos foram produzidos a partir de canções de 29 machos diferentes, seleccionadas pela qualidade das gravações. Os estímulos heterospécíficos para a experiência 1 foram produzidos a partir de gravações de 29 indivíduos diferentes de 19 espécies do género *Serinus* com gravações de boa qualidade sonora disponíveis no National Sound Archive de Londres. As gravações foram seleccionadas pela qualidade de som e nenhuma espécie foi utilizada em mais que dois conjuntos de estímulos. Cada ave foi testada com um conjunto de estímulos diferente, para evitar pseudo-replicação (Kroodsma 1989, 1990). Todas as gravações foram digitalizadas a 22.05 kHz, filtradas a 2 kHz (canções heterospécíficas com sons a frequências mais graves foram filtradas a 1 kHz) e o seu volume normalizado usando o software Avisoft-SASLab Pro (Specht 1999-2002). O volume dos altifalantes foi ajustado de forma que a amplitude dos playbacks normalizados no compartimento experimental fosse realista, avaliada pelo ouvido humano.

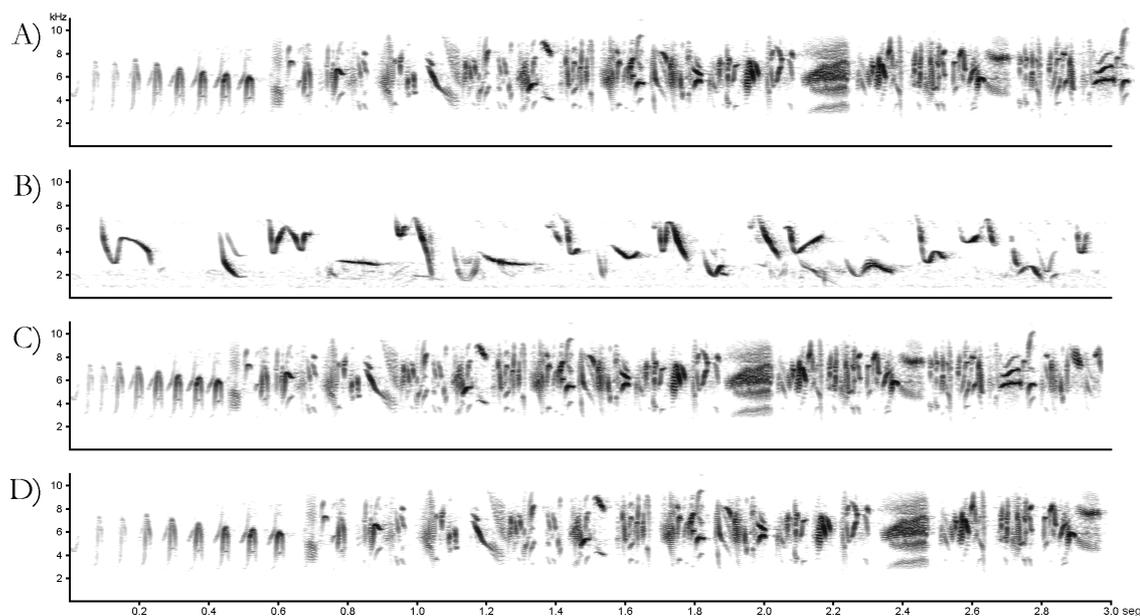


Figura 2 – Primeiros 3 segundos de um conjunto de estímulos usados nas experiências. (A) Canção de serino não modificada. (B) Canção heterospecífica emparelhada, neste caso de *Serinus leucopygius*. (C) Canção rápida, produzida a partir de A por redução dos intervalos inter-silábicos para 10 ms. (D) Canção lenta, produzida a partir de A aumentando os intervalos inter-silábicos em 10 ms, e truncando a canção num intervalo para que a sua duração seja aproximadamente igual à de C. Os espectrogramas das canções usadas na experiência sobre frequência do canto (não mostrados) diferem de A apenas por terem a sua frequência absoluta aumentada ou diminuída em 1kHz.

Os conjuntos de estímulos para a experiência 1 consistem em canções de serino não modificadas e canções congênicas (Figura 2a, b). As canções congênicas foram truncadas num intervalo natural para terem a mesma duração que a canção de serino emparelhada. Como as canções de *Serinus* spp. não têm geralmente um local de finalização pré-determinado (Güttinger 1985, Capítulos 2 e 7), isto produz canções sintacticamente normais. A média da duração das canções utilizadas na experiência 1 foi de 5.72 seg (± 0.99 d.p.), o que corresponde a uma canção de serino relativamente longa (Capítulo 2).

Os conjuntos de estímulos para a experiência 2 consistem em canções com frequência mais aguda ou grave que o natural. Estes estímulos foram produzidos a partir das canções conspecificas da experiência 1, aumentando ou diminuindo a frequência da canção em 1 kHz com o programa Avisoft. Como as canções de serino utilizam uma larga gama de frequências (cerca de 8 kHz), esta manipulação produziu canções com frequência dominante dentro da gama de frequências utilizadas nas canções de serino (Capítulo 2). As canções de cada conjunto de estímulos desta experiência diferem uma da outra por 2 kHz e são em tudo o resto idênticas.

Os estímulos rápidos da experiência 3 (Figura 2c) foram produzidos a partir das canções conspecíficas da experiência 1 reduzindo os intervalos inter-silábicos para 10 ms, o que corresponde à duração dos intervalos inter-silábicos mais curtos nas canções de serino (Capítulo 2). Como a duração média dos intervalos inter-silábicos no serino é de aproximadamente 20 ms (Capítulo 2), isto corresponde a uma manipulação média de 10 ms na duração dos intervalos. Emparelhado com cada estímulo rápido, produzimos um estímulo lento (Figura 2d) acrescentando 10 ms a cada intervalo inter-silábico da mesma canção original, e depois truncando a canção num intervalo por forma a que a duração da canção lenta seja semelhante à da canção rápida. A duração média das canções utilizadas nesta experiência foi de 5.33 seg (± 0.92 d.p.).

Assim, cada canção em cada par de estímulos das experiências 2 e 3 desvia-se de forma simétrica em relação à canção original não modificada. Não testámos as canções modificadas contra a canção original, porque a familiaridade com o fenótipo mais comum pode obscurecer preferências mais básicas pelas características das canções, nas quais estamos interessados.

Análise comportamental

Relativamente à primeira parte das experiências usámos duas medidas de respostas vocais: o número de vocalizações dadas por bloco de playbacks, que mede a quantidade de respostas vocais, e o número médio de sílabas por vocalização de contacto, que mede a intensidade de cada resposta vocal. Esta última medição foi feita visualizando os espectrogramas das cassetes áudio e contando as sílabas em cada vocalização de contacto das fêmeas. As vocalizações de contacto são o tipo mais comum de vocalização na natureza e nestas experiências (94% de todas as vocalizações no conjunto das 3 experiências). A análise do número de vocalizações de contacto dá resultados idênticos ao número total de vocalizações; optámos pela segunda por se mais representativa. Nenhum dos restantes tipos de vocalizações (vocalizações de alarme, vocalizações agressivas) ocorre em quantidade suficiente para poder ser analisado com um mínimo de poder estatístico razoável.

Na segunda parte das experiências medimos o número de visitas a cada poleiro e o tempo médio de permanência por visita. A discriminação de estímulos pelo número de visitas aos poleiros implica que as fêmeas tenham aprendido a associar cada poleiro com o estímulo que este desencadeia (*e.g.* Riebel & Slater 1998). Por outro lado, o tempo que as fêmeas passam em cada visita aos poleiros constitui uma resposta imediata ao estímulo que é reproduzido, devendo por isso ser uma boa medida de preferência independentemente de ter existido ou não aprendizagem prévia.

Em cada experiência, as variáveis comportamentais não conformes a uma distribuição normal (teste de D'Agostino e Pearson, Zar 1996) foram normalizadas com uma transformação de log (x+1). As respostas a estímulos sonoros opostos em cada

experiência foram comparadas usando uma ANOVA de medidas repetidas bicaudal. A ordem de apresentação dos estímulos (qual o estímulo reproduzido em primeiro) e o lado de apresentação (por que altifalante cada estímulo é reproduzido) entram no modelo como factores inter-sujeitos para controlar o seu efeito estatisticamente. Testes sem respostas a ambos os estímulos foram eliminados, uma vez que estas aves não demonstravam sinais de reagir de todo à experiência. Como algumas aves só responderam vocalmente ou visitando os poleiros, os tamanhos de amostra diferem entre variáveis comportamentais.

Como as experiências se estenderam pela época reprodutiva (Cramp & Perrins 1994) avaliámos o efeito da época na discriminação das fêmeas por regressão de um índice de discriminação sobre a data dos testes. O índice foi o χ^2 com sinal de um teste de goodness of fit (proporção esperada de 50%, com correcção de Yates, Zar 1996), calculado para cada experiência e variável comportamental. Valores absolutos de χ^2 grandes indicam discriminação forte; valores positivos ou negativos sinalizam respostas mais elevadas para um tipo de estímulo ou o seu oposto.

Distinguindo estimulação de inibição

Assume-se geralmente que diferenças de resposta entre dois estímulos se devem a um aumento provocado por um desses estímulos, reflectindo assim uma preferência. Quando os níveis basais de resposta são baixos esta é a interpretação mais simples e deve estar correcta na maioria dos casos. No entanto, existe a possibilidade alternativa de o diferencial de resposta resultar de um efeito inibitório do estímulo menos respondido (*e.g.* Kingston *et al.* 2003). Estas situações podem-se distinguir por análise de respostas comportamentais que tenham diferentes níveis de intensidade. Numa situação de preferência o diferencial de respostas deve depender estatisticamente das respostas mais intensas, uma vez que os sujeitos devem responder a níveis acima da média ao estímulo preferido. Pelo contrário, numa situação de inibição o diferencial de resposta deve ser causado pelas respostas menos intensas, uma vez que os sujeitos estarão constangidos a respostas abaixo do nível médio perante o estímulo inibidor.

O número de sílabas por vocalização de contacto é uma tal medida com níveis de intensidade: vocalizações de contacto com poucas sílabas são as respostas de baixa intensidade, e vice-versa. Ademais, vocalizações de contacto com muito poucas sílabas (frequentemente apenas uma) foram comuns nas respostas das fêmeas a estas experiências. 10.8% das vocalizações de contacto no conjunto das três experiências foram uni-silábicas, enquanto que na natureza as vocalizações de contacto consistem quase sempre num trilo com um número variável de repetições (Pacheco 2002). Assim, avaliámos a importância destas vocalizações de intensidade muito baixa nos diferenciais de respostas das fêmeas, repetindo a análise do número de sílabas por vocalização de contacto após eliminar as vocalizações uni-silábicas. Se os valores de significância permanecerem semelhante ou se

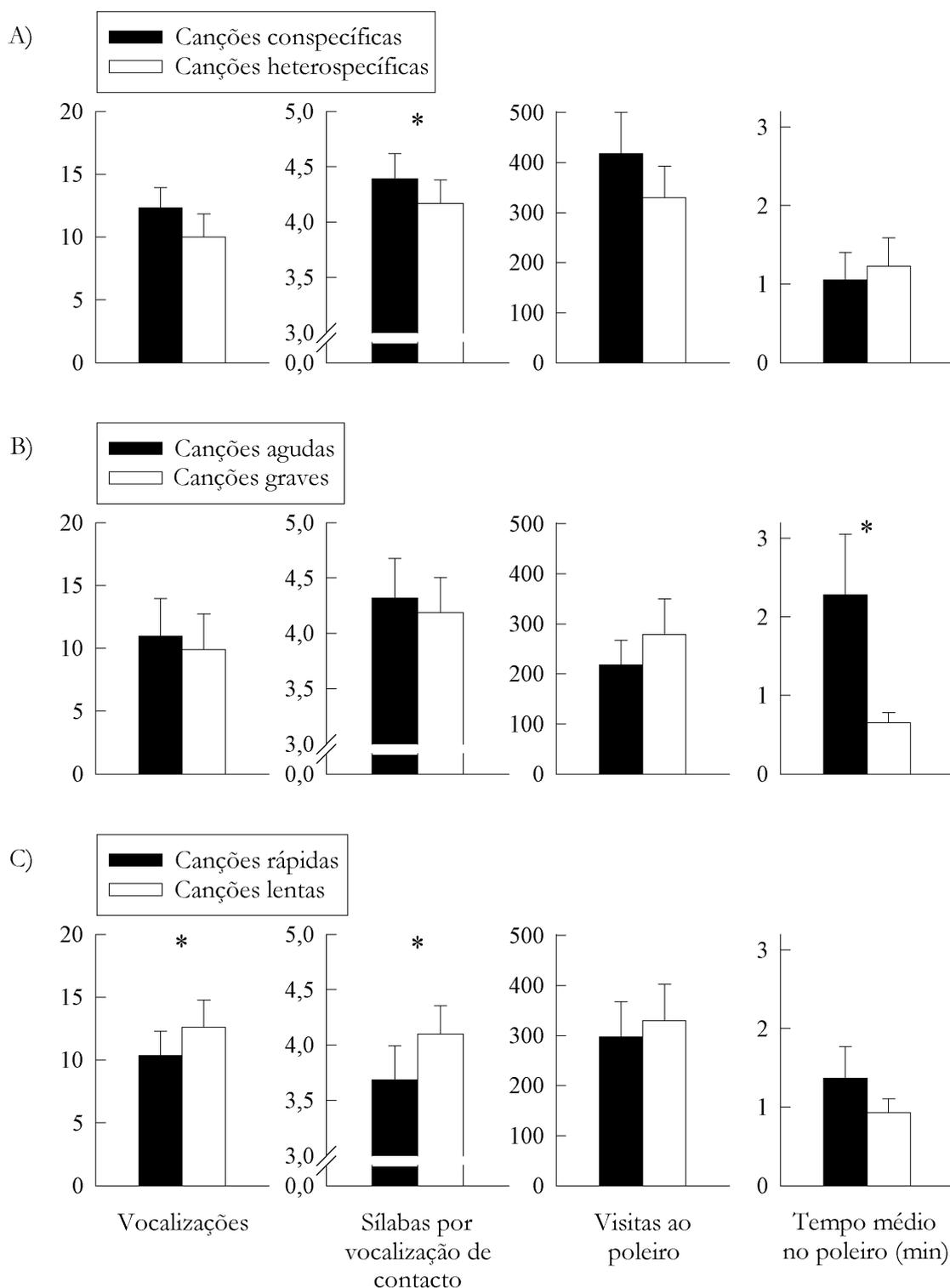


Figura 3 – Valores médios de resposta das fêmeas de serino por bloco de playback nas experiências 1 a 3. São indicados os erros padrão da média. * sinaliza diferenças significativas a $P = 0.05$ por uma ANOVA bicaudal de medidas repetidas (ver texto para detalhes). (A) Experiência 1, canções conspecíficas *vs.* heterospecíficas. (B) Experiência 2, canções de serino agudas *vs.* graves. (C) Experiência 3, canções de serino rápidas *vs.* lentas.

Tabela 1 – Estatísticas de ANOVAs bicaudais de medidas repetidas referentes a cada resposta comportamental em cada das três experiências.

	Vocalizações	Sílabas por vocalização	Visitas aos poleiros	Tempo de permanência nos poleiros	Sílabas por vocalização (excluindo vocalizações uni-silábicas)
Experiência 1 –	$N = 27$	27	24	24	24
Canções con- e heterospecíficas	$F = 3.29$ $P = 0.08$	6.97 0.01	0.02 0.88	1.33 0.26	6.52 0.02
Experiência 2 –	24	24	22	22	19
Frequência das canções	1.35 0.26	2.82 0.11	0.10 0.76	10.16 0.005	3.26 0.09
Experiência 3 –	26	26	23	23	20
Velocidade das canções	5.85 0.02	5.72 0.03	0.64 0.43	< 0.01 0.99	0.13 0.72

tornarem mais significativos, então a diferença original devia-se a vocalizações de intensidade média ou elevada, o que é compatível com uma situação de preferência. Se, pelo contrário, a diferença perder significância, então a diferença original devia-se a vocalizações de intensidade baixa, o que denota uma situação de inibição.

Resultados

As fêmeas mostraram uma tendência não significativa para vocalizar mais em resposta a playback conspecífico que heterospecífico ($P = 0.08$), e as vocalizações de contacto foram significativamente mais longas em resposta a canções conspecíficas ($P = 0.01$, Tabela 1, Figura 3a). As diferenças nos comportamentos de aproximação e permanência nos poleiros não foram significativas na experiência 1.

Na experiência 2 as pontuações de ambas as variáveis vocais foram maiores para canções agudas que graves, mas a diferença não foi significativa (ambos os $P > 0.1$). As fêmeas passaram em média cerca de três vezes mais tempo por visita ao poleiro que desencadeava canções agudas que graves ($P = 0.005$, Tabela 1, Figura 3b).

Na experiência 3 o número de vocalizações foi significativamente maior em resposta a canções lentas ($P = 0.02$, Tabela 1, Figura 3c) e o número médio de sílabas por vocalização de contacto foi também maior ($P = 0.03$). As diferenças em aproximação e permanência nos poleiros não foram significativas.

Para determinar se os diferenciais de resposta foram causados por estimulação ou inibição analisámos o número médio de sílabas por vocalização de contacto depois de excluir as vocalizações de menor intensidade. Houve apenas uma ligeira mudança na

significância dos resultados nas experiências 1 e 2 (Tabela 1). Pelo contrário, excluir as vocalizações de contacto uni-silábicas apagou a diferença existente na experiência 3 (o valor de P aumentou mais de 20 vezes, Tabela 1), indicando que este resultado fora causado especificamente pela diminuição da intensidade de respostas a canções rápidas.

Não houve sinais consistentes de mudança na discriminação das fêmeas durante a época de experiências: de todas as regressões de índices de discriminação sobre data dos testes (4 variáveis \times 3 experiências = 12 regressões lineares) apenas uma foi significativa (o índice do número de vocalizações aumentou com a data na experiência 1).

Discussão

Apesar de as fêmeas de serino responderem substancialmente a todos os tipos de estímulos, foi obtida uma boa discriminação estatística usando respostas vocais nas experiências 1 e 3. Na experiência 1, as canções conspecíficas foram mais respondidas, como esperado, indicando que este é um método válido para investigar preferências de canto. Pelo contrário, em nenhuma experiência as fêmeas discriminaram os estímulos visitando preferencialmente um ou outro dos poleiros, sugerindo que não ocorreu aprendizagem da associação entre diferentes e poleiros e tipos de estímulo.

Na experiência 2, as fêmeas discriminaram a frequência das canções pelo tempo que passaram a escutar, e esta foi a discriminação estatisticamente mais forte de todas as experiências. Esta resposta comportamental não requer aprendizagem; é uma reacção simples ao estímulo que a fêmea está a ouvir no momento. É incerto porque os comportamentos vocais, que permitiram boa discriminação de estímulos nas outras experiências, não o fizeram aqui, e vice-versa. Contudo, as tendências das respostas vocais, embora não significativas, concordaram com a discriminação pelo tempo de permanência nos poleiros. No seu conjunto, esta experiência indica uma preferência das fêmeas por canções agudas.

Na experiência 3 as fêmeas responderam mais a canções mais lentas, contrariamente ao previsto pela hipótese de selecção inter-sexual da velocidade das canções. Esta foi a única experiência em que a discriminação dependeu das vocalizações de mais baixa intensidade, sugerindo inibição pelo estímulo menos respondido, as canções rápidas.

Frequência do canto

As fêmeas preferiram canções com frequência mais agudas pelo tempo que passaram a escutar os playbacks: passaram quase três vezes mais tempo por visita ao poleiro que desencadeava playback de canções agudas que ao poleiro que desencadeava canções graves, e cerca do dobro do tempo por visita aos poleiros nas outras duas experiências. Embora seja conhecido que a extensão da gama de frequências das canções pode ser relevante para a preferência das fêmeas (Vallet *et al.* 1998, Drăgănoiu *et al.* 2002, Ballentine *et al.* 2004), a

preferência pela frequência absoluta das canções não foi estudado antes em aves (mas ver Staicer 1996). Como previsto pela hipótese de selecção intersexual da frequência de canto no serino, as fêmeas mostraram preferência por canções agudas.

Este resultado contrasta com o padrão de selecção sexual sobre a frequência de vocalizações em grupos taxonómicos que não aves. Noutros grupos taxonómicos as preferências das fêmeas, quando encontradas, favorecem vocalizações graves (*e.g.* Brown *et al.* 1996, Howard & Young 1998, Collins 2000, revisto em Andersson 1994, mas ver também Narins & Capranica 1980). Estas preferências originaram-se provavelmente porque as frequências graves são dependentes do tamanho corporal (*e.g.* Davies & Halliday 1978) e podem, por isso, sinalizar qualidade ou capacidade competitiva dos machos (*e.g.* Davies & Halliday 1978, Ladich 1998). Este processo não se aplica a organismos cujo mecanismo de produção de som é independente do tamanho, como em *Drosophila* spp. (Bennet-Clark & Ewig 1969), onde preferências por frequências agudas foram encontradas (Ritchie *et al.* 2001 e referências aí contidas).

Embora a relação entre frequência e tamanho se aplique à generalidade das aves (*e.g.* Wallschläger 1980), existem razões para esperar que a sinalização de qualidade dos machos por frequências graves seja de aplicabilidade limitada, particularmente em passeriformes pequenos:

Contrariamente a animais terrestres, as aves podem ter vantagem competitiva associada a menor tamanho corporal, por este permitir maior agilidade de voo (Andersson & Norberg 1981). A agilidade de voo é particularmente importante para muitas espécies pequenas de passeriformes que, como o serino, interagem sobretudo no ar, onde lutam e fazem exibições (Hedenström & Møller 1992, Mota 1999), mas também para espécies principalmente terrestres que efectuem exibições aéreas (Payne 1984). De facto, em passeriformes pequenos é frequente a existência de um ligeiro dimorfismo sexual de tamanho “invertido” (Andersson 1994), o que sugere que em muitas espécies o menor tamanho corporal confere vantagens adaptativas aos machos. Para além disto, cantar frequências agudas deve ser fisiologicamente mais exigente por implicar maior contracção muscular (Suthers & Goller 1997), um custo que é aparente no padrão de canto de chapim-real (*Parus major*, Lambrechts 1997). Este custo pode permitir que frequências agudas funcionem como indicador de qualidade dos machos, e assim seleccionar a preferência nas fêmeas. Um tal mecanismo indicador poderia igualmente funcionar em mamíferos, anfíbios e outros vertebrados, mas aí é contrariado pelo valor indicador possivelmente mais forte das frequências graves (ver acima).

Alternativamente, é possível que as respostas das fêmeas de serino à frequência das canções resulte de um processo não relacionado com valor indicador das frequências agudas de canto. A preferência pode, por exemplo, ser uma consequência ontogénica (Guilford & Dawkins 1991) ou evolutiva (Enquist & Arak 1993) do reconhecimento específico, uma vez que o canto de serino é mais agudo que na maioria das suas espécies

simpátricas. São claramente necessários estudos sobre preferências das fêmeas noutras espécies de aves para distinguir entre estas hipóteses e para construir uma teoria sobre selecção sexual da frequência do canto em aves.

Até ao momento, explicações adaptativas para a variação na frequência das canções entre espécies de passeriformes visaram apenas propriedades de transmissão acústica dos habitats (e.g. Morton 1975, 1986, Hunter & Krebs 1979, Ryan & Brenowitz 1988, Wiley 1991). Esta discussão ilustra como selecção sexual pode intervir de formas interessantes e inexploradas na evolução da frequência de canto.

Velocidade das canções

Tínhamos razões para esperar que as fêmeas respondessem mais intensamente a canções rápidas, para além do facto de esta ser uma característica derivada no serino. Fêmeas de canário preferem frases de uma certa sintaxe (frases A, Vallet & Kreutzer 1995), e isto deve-se à sua velocidade e larga gama de frequências (Vallet *et al.* 1998, Drăgănoiu *et al.* 2002). O mesmo padrão é encontrado em escrevedeira-dos-pântanos (*Melospiza georgiana*, Ballentine *et al.* 2004). Forstmeier *et al.* (2002) documentaram uma vantagem em obtenção de crias extra-par nos machos de felosa-sombria (*Phylloscopus fuscatus*) que mantêm uma amplitude mais uniforme nas sílabas. Esta característica tem em comum com a sintaxe preferida de canários e escrevedeiras-dos-pântanos uma menor proporção entre as durações dos intervalos e dos elementos sonoros nas canções, o que implica maior exigência sobre a fisiologia de produção vocal (Suthers & Goller 1997). A manipulação na velocidade das canções de serino que fizemos (alterar a duração dos intervalos inter-silábicos) produz este efeito directamente. Devido ao custo fisiológico implícito das canções rápidas, a velocidade de canto poderia ser um indicador da qualidade dos machos (*sensu* Zahavi 1975) da mesma forma que o podem as taxas de canto (Vehrencamp 2000).

Contudo, as fêmeas de serino responderam mais a canções lentas. A análise da distribuição de intensidades de respostas vocais mostrou que esta diferença foi causada pela prevalência de respostas de baixa intensidade a canções rápidas. Esta foi a única experiência em que um tal efeito foi encontrado. Como explicado acima, a importância das vocalizações de baixa intensidade na discriminação da velocidade das canções sugere um efeito inibitório das canções rápidas. Este resultado implica que a velocidade do canto no serino não serve uma função inter-sexual, parecendo até prejudicá-la.

Pelo contrário, o efeito aparentemente inibitório das canções rápidas sugere uma função agonística para a velocidade do canto, o que remete para selecção intra-sexual. Porque o canto é usado em comunicação intra- e inter-sexual, a sua evolução está sujeita a pressões selectivas que podem ser distintas ou mesmo antagónicas, de forma que adaptações para uma função comprometam a outra; um tal processo foi inferido na sintaxe de canto em tentilhões (*Fringilla coelebs*, Leitão & Riebel 2003). Assim, uma função agonística da velocidade do canto pode explicar o padrão inesperado de resposta das

fêmeas de serino a canções rápidas. Esta hipótese precisa de confirmação empírica mais directa, e pode ser testada com machos de muitas espécies, quer experimentalmente (ver Capítulo 6), quer monitorizando a variação intra-individual na velocidade das canções em diferentes contextos.

Tomados em conjunto, os nossos resultados indicam que as apomorfias das canções de serino não podem ser explicadas por um só processo evolutivo. Enquanto que é possível que a frequência das canções evolua por escolha das fêmeas nesta espécie, a velocidade das canções provoca um padrão de resposta completamente distinto que requer uma explicação diferente.

Capítulo 4

Respostas de fêmeas de serino não favorecem a sintaxe predominante no canto da espécie

Introdução

O canto das aves canoras (sub-ordem Oscines) pode estar organizado segundo várias regras sintáticas, existindo desde espécies que cantam canções curtas e bem diferenciadas temporalmente, até espécies com repertórios de sílabas organizados em cadeias de canto longas e mais ou menos indeterminadas (Catchpole & Slater 1995). As espécies do género *Serinus* não têm geralmente tipos de canções distintos. Antes, cantam canções de duração variável que exibem progressivamente o repertório de sílabas (Capítulos 2 e 7). Um dos aspectos sintáticos em que estas espécies variam amplamente é a proporção de sílabas que são cantadas repetidas ou em sequências de sílabas diferentes.

A sintaxe das canções de serino (*Serinus serinus*) é caracterizada por variedade imediata de elementos, compactados temporalmente em sílabas que são por sua vez cantadas em sequências pré-determinadas. Esta sintaxe sequencial confere a sonoridade rápida e aguda característica do canto da espécie. As repetições de sílabas ocorrem sobretudo no início das canções, e também em alguns locais determinados na sequência de sílabas, e correspondem a uma porção minoritária nas canções de serino (Capítulo 2). Estas repetições de sílabas têm uma sonoridade trilada distintiva, semelhante às vocalizações de contacto da espécie.

Na maioria das outras espécies de *Serinus* a sintaxe sequencial é menos predominante que no serino (Capítulo 7). A comparação das canções de serino com as espécies mais aparentadas (Arnaiz-Villena *et al.* 1999) sugere que a preponderância de sintaxe sequencial é uma característica derivada no serino (Capítulos 2 e 7). A sintaxe sequencial pode ela própria ser uma característica derivada relativamente à sintaxe repetida, pelas seguintes razões. Crê-se que o canto das aves evoluiu a partir de vocalizações mais simples por concatenação, estruturação e elaboração (Darwin 1871, Nottebohm 1972, Zann 1993, Neubauer 1999). Isto é evidente em espécies com canções relativamente simples, em que muitos elementos das canções são idênticos a outras vocalizações (*e.g.* bico-de-diamante,

Taeniopygia gutatta, Zann 1993, andorinha-das-chaminés, *Hirundo rustica*, Galeotti *et al.* 1997). A sintaxe sequencial do serino é muito diferenciada de todos os outros tipos de vocalizações, mas a sintaxe repetida lembra vocalizações de contacto em sintaxe e fonologia das sílabas, que são mais simples e curtas (Capítulo 2, Pacheco 2002). Para além disto, a sintaxe sequencial é muito estruturada, obedecendo a um padrão circular bem definido (Capítulo 2).

Sendo uma característica sexual secundária frequentemente muito elaborada, o canto das aves é fortemente determinado por selecção sexual (*e.g.* Searcy & Andersson 1986). Em particular, conhecem-se vários exemplos de preferências das fêmeas por certas características das canções, que demonstram um papel da selecção inter-sexual na sua evolução (revisto em Searcy & Andersson 1986, Searcy & Yasukawa 1996). No serino, sabe-se que a quantidade de canto dos machos é ajustada ao estatuto reprodutivo das fêmeas (Mota 1999) e que o comportamento de nidificação das fêmeas é sensível à quantidade de canto (Mota & Depraz 2004).

Neste trabalho investigamos se a preponderância de sintaxe sequencial nas canções de serino pode ter origem ou ser mantida por preferência das fêmeas. Examinámos preferências das fêmeas em condições laboratoriais com uma metodologia que usa a quantificação das suas respostas vocais (*e.g.* Clayton 1988, Nagle *et al.* 2002) e o seu despoletar operante de playbacks (Adret 1993, Riebel & Slater 1998). A aplicação prévia desta metodologia a fêmeas de serino permitiu discriminação de canções conspécificas e heterospécificas, e também de propriedades do canto (Capítulo 3).

Fizemos uma experiência para testar a preferência das fêmeas pelas sintaxes repetida ou sequencial que ocorrem naturalmente nas canções da espécie. Os resultados desta experiência podem ser influenciados pelas semelhanças fonológicas da sintaxe repetida com vocalizações de contacto. Por isso, fizemos uma segunda experiência em que controlamos este factor, sendo as fêmeas testadas com canções construídas artificialmente que diferem apenas no padrão de repetição de sílabas. A nossa hipótese de trabalho, que a preferência das fêmeas pode explicar a evolução de sintaxe sequencial, prevê respostas mais elevadas aos estímulos sequenciais.

Métodos

Método geral e desenho experimental

Capturámos 29 fêmeas de serino com redes japonesas de bolsos, de Janeiro a Março e do final de Maio a Junho de 2002, em áreas de cultivo agrícola com arbustos e árvores perto de Coimbra. Estas fêmeas foram utilizadas na experiência 1, de Março a Agosto de 2002, e foram libertadas perto do local de captura no final das experiências. Capturámos outras 19 fêmeas de Janeiro a início de Maio de 2003, que foram utilizadas na experiência 2, de Fevereiro a Maio de 2003, e libertadas depois. Enquanto no laboratório, as fêmeas eram

mantidas em grupos de quatro ou cinco, em gaiolas de 75 × 35 × 30 cm, num aviário com luz e ventilação naturais. As aves eram alimentadas com sementes, água, e suplementos regulares de minerais, proteínas e vitaminas.

Na experiência 1 examinámos as respostas das fêmeas a playbacks de canções de sintaxe sequencial *versus* repetida. Na experiência 2 examinámos as respostas a canções com sequências de sílabas *versus* canções com as mesmas sílabas em sintaxe repetida. Cada ave foi testada apenas uma vez.

As experiências foram efectuadas numa sala (272 × 155 × 220 cm) acusticamente isolada, com chão de areia e luz artificial temporizada de acordo com as condições naturais (ver Figura 1 do Capítulo 3). Uma parede de vidro separava a sala de dois compartimentos adjacentes menores onde, na experiência 1, colocámos dois machos de serino empalhados em poleiros com 150 cm de altura. Por cima da parede de vidro, em cada metade da sala e voltadas para o compartimento maior, dois altifalantes de 5W foram utilizados para reproduzir playbacks. Estavam dois poleiros de madeira com 150 cm de altura dentro do compartimento maior, a 45 cm do vidro, em frente de cada altifalante. Os poleiros tinham sensores de infravermelhos ligados a um computador fora da sala que monitorizava as idas das aves aos poleiros e controlava a reprodução de playbacks. As fêmeas dispunham de água e sementes *ad libitum* numa plataforma colocada junto ao centro da parede oposta ao vidro. Como os níveis de resposta vocal em 2002 foram satisfatórios, e muitas aves responderam sem visitar os poleiros, os machos empalhados não foram utilizados em 2003.

Uma fêmea era introduzida no compartimento maior da sala de experiências ao fim do dia ou na noite anterior ao dia de experiência para habituação. As experiências iniciavam-se durante as duas primeiras horas de luz do dia. A primeira parte das experiências durava 27 minutos, durante os quais as fêmeas eram submetidas a playbacks de canções e as suas respostas vocais eram gravadas numa cassete. Durante esta parte das experiências era reproduzido um estímulo sonoro 10 vezes no mesmo altifalante, de 15 em 15 segundos, portanto, constituindo um bloco de 150 segundos de playback. Após um intervalo de 30 segundos, um bloco semelhante do estímulo emparelhado era reproduzido no altifalante oposto. Um total de nove blocos de playbacks eram apresentados em alternadamente. A ordem e altifalante pelo qual os estímulos eram difundidos foram mudados de teste para testes de forma balanceada.

A segunda parte das experiências começava após 3 minutos de silêncio e durava até às 19:00. Durante este período, uma canção era reproduzida a cada 10 segundos enquanto a fêmea estivesse no poleiro em frente do respectivo altifalante. Caso contrário os altifalantes permaneciam silenciosos. Os estímulos reproduzidos por cada altifalante eram os mesmos em ambas as partes das experiências. Assim, os playbacks eram despoletados quando as fêmeas se aproximavam da fonte de som que ouviram durante a primeira parte. O

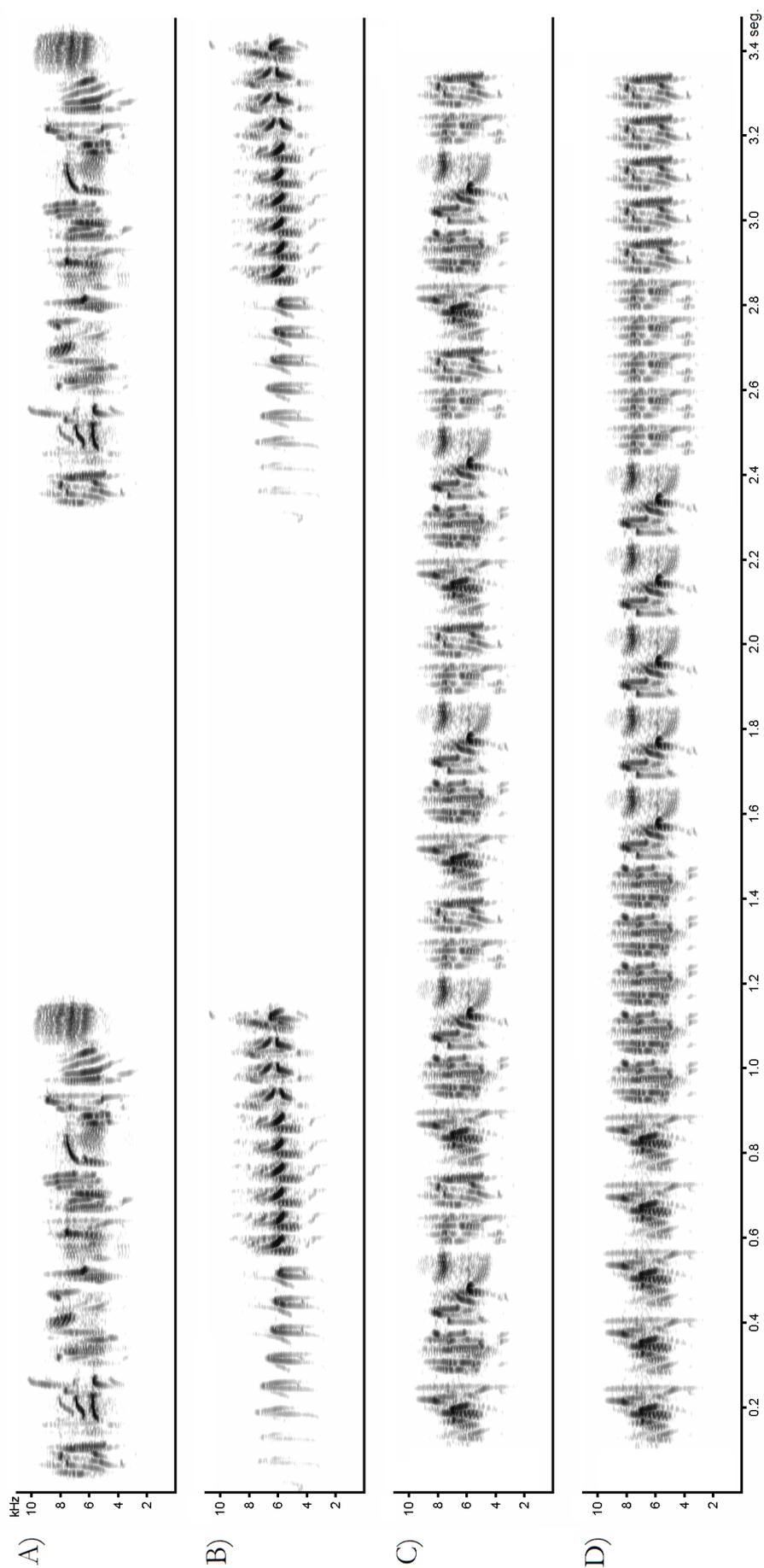


Figura 1 – Exemplo de espectrogramas de estímulos usados nas experiências (ver métodos, estímulos sonoros, para uma descrição detalhada). (A) Porção de canção de serino de sintaxe sequencial. (B) Estímulo emparelhado de sintaxe repetida, produzido a partir da mesma gravação que o anterior e, neste caso, constituído por três sílabas repetidas. Note-se que em (A) e (B) estas porções de canção são repetidas uma terceira vez, omitida nestes espectrogramas. (C) Estímulo de sintaxe sequencial construída repetindo 5 vezes uma sequência natural de 5 sílabas. (D) Estímulo emparelhado de sintaxe repetida, constituído pelas mesmas 5 sílabas, desta vez repetidas cada uma 5 vezes.

computador registava o número de visitas aos poleiros e a duração da permanência em cada visita.

Estímulos sonoros

Os estímulos para a experiência 1 foram produzidos a partir de canções de 29 machos de serino diferentes, escolhidas pela qualidade das gravações e pela extensão de sintaxe repetida disponível. Cada conjunto de estímulos consistia numa canção de serino apenas com sintaxe sequencial e outra apenas com sintaxe repetida. Concatenámos todas as porções de sintaxe repetida de uma canção natural para produzir uma canção de sintaxe exclusivamente repetida. A duração média destas canções foi de 1.05 ssg (± 0.28 d.p.). Uma vez que esta duração corresponde a uma canção de serino curta, repetimos a canção três vezes, separadas por intervalos de duração idêntica à da própria canção, para produzir o estímulo repetido completo. O estímulo sequencial emparelhado foi feito extraído da mesma canção uma porção de sintaxe sequencial de duração igual, e dando-lhe o mesmo tratamento temporal. As Figuras 1a e b mostram espectrogramas de um conjunto destes estímulos.

Os estímulos para a experiência 2 foram feitos a partir de gravações de 19 machos de serino diferentes, seleccionadas pela qualidade de som. Cada conjunto de estímulos foi produzido a partir de uma porção de 5 sílabas de sintaxe sequencial. Cada sílaba foi repetida 5 vezes, mantendo a duração do seu intervalo inter-silábico, e estas repetições foram depois concatenadas para formar o estímulo repetido. O estímulo sequencial emparelhado foi feito repetindo 5 vezes a sequência intacta de 5 sílabas. Assim, ambos os estímulos têm a mesma duração, número e tipo de sílabas. A duração média destes estímulos é de 3.55 seg (± 0.60 d.p.). As Figuras 1c e d mostram espectrogramas de um conjunto destes estímulos.

Um conjunto diferente de estímulos foi usado para cada fêmea. Todas as gravações foram digitalizadas a 22.05 kHz, filtradas a 2 kHz e o seu volume normalizado usando o software Avisoft-SASLab Pro (Specht 1999-2002) antes da produção dos playbacks. O volume dos altifalantes foi ajustado para reproduzir os playbacks com uma amplitude aproximadamente normal, julgada pelo ouvido humano.

Variáveis comportamentais e análise

Na primeira parte das experiências medimos o número de vocalizações e o número de sílabas por vocalização de contacto. O número de vocalizações é a quantidade de respostas vocais dadas por bloco de playback. A maioria destas são vocalizações de contacto, que consistem num trilo em que uma sílaba é repetida um número variável de vezes (Pacheco 2002). Calculámos o número médio de sílabas por vocalização de contacto nas respostas a cada tipo de estímulo visualizando as cassetes com a função real time

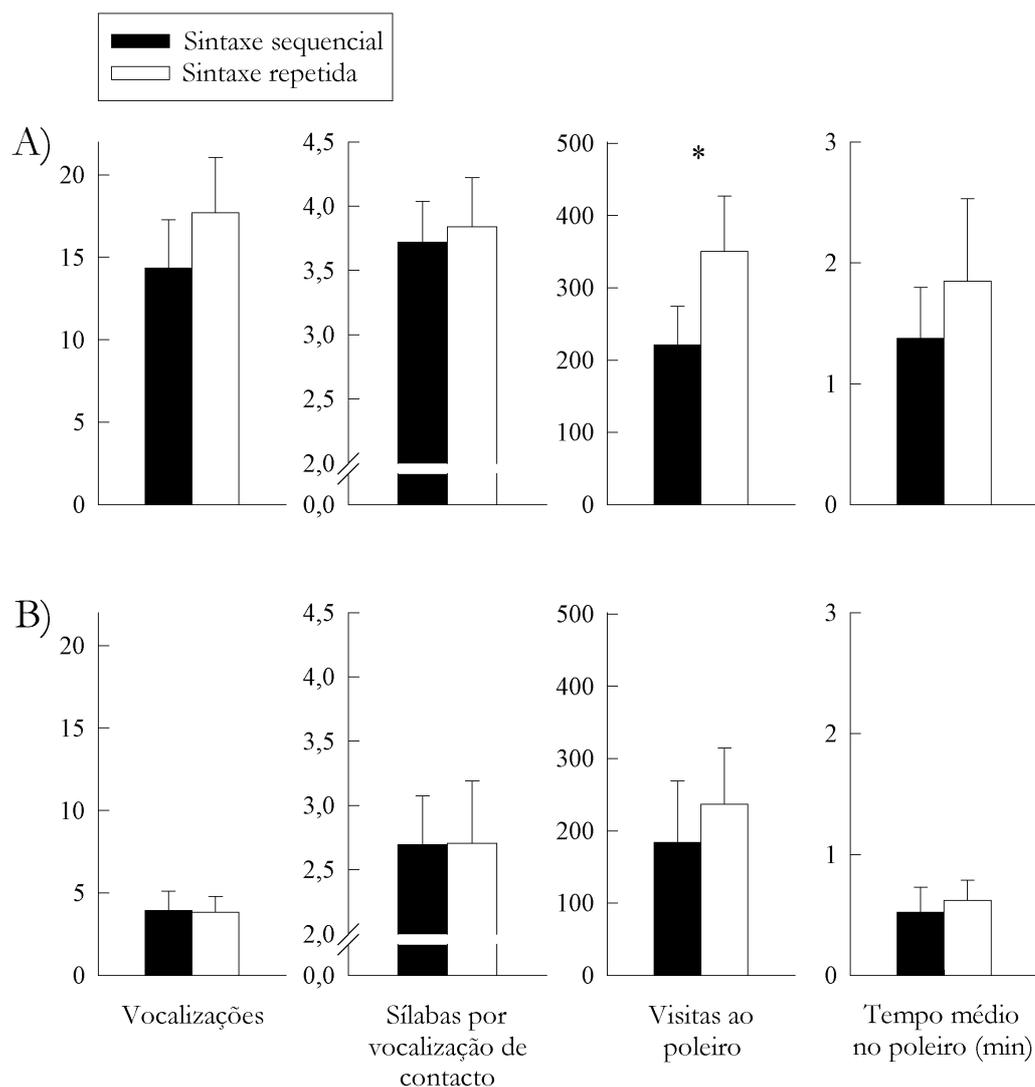


Figura 2 – Pontuações médias dos comportamentos das fêmeas por tipo de sintaxe dos playbacks nas experiências 1 e 2. Os erros padrão das médias são indicados. * sinaliza diferenças significativas a $P < 0.05$ numa ANOVA de medidas repetidas bicaudal. (A) Experiência 1, sintaxes naturais das canções, sequencial *vs.* repetida. (B) Experiência 2, sintaxe sequencial *vs.* repetida, construídas a partir do mesmo conjunto de sílabas.

spectrogram do software Avisoft. Esta medida traduz a intensidade das respostas vocais dadas.

Na segunda parte das experiências registámos o número de visitas a cada poleiro e o tempo médio de permanência por visita a cada poleiro.

Em cada experiência, as variáveis não conformes a uma distribuição normal (teste de D'Agostino e Pearson, Zar 1996) foram normalizadas por transformação de $\log(x+1)$. As respostas a estímulos opostos foram então comparadas com uma ANOVA de medidas

Tabela 1 – Estatísticas de ANOVAs de medidas repetidas para o efeito da sintaxe do canto referentes a cada resposta comportamentais nas duas experiências.

	Vocalizações	Sílabas por vocalização	Visitas aos poleiros	Tempo de permanência nos poleiros
Experiência 1	$N = 22$	20	24	22
	$F = 1.70$	0.10	7.80	0.94
	$P = 0.76$	0.76	0.01	0.35
Experiência 2	13	13	15	10
	0.08	0.08	0.88	0.62
	0.36	0.79	0.37	0.46

repetidas bicaudal, com ordem de apresentação e lado de apresentação dos playbacks como factores inter-sujeitos para controlar o seu efeito estatisticamente.

Duas aves, uma na experiência 1 e outra na experiência 2, não responderam a nenhuma parte da experiência pelo que os seus testes não foram incluídos. Algumas aves responderam apenas vocalizando ou visitando os poleiros, pelo que os tamanhos de amostra diferem entre diferentes variáveis.

Resultados

Na experiência 1, as fêmeas responderam mais aos estímulos de sintaxe repetida em todas as variáveis comportamentais (Figura 2a) e a diferença foi significativa no número de visitas aos poleiros ($P = 0.01$, Tabela 1). Na experiência 2 as diferenças de resposta foram geralmente menores (Figura 2b) e em nenhuma variável comportamental a diferença se aproximou de níveis significativos (Tabela 1).

Discussão

Os resultados da experiência 1, em que as fêmeas tenderam a responder mais a sintaxe repetida, foram contrários à previsão da nossa hipótese de trabalho de as preferências das fêmeas seleccionarem sintaxe sequencial nas canções de serino. No entanto, não subsiste nenhum efeito discernível da sintaxe nas respostas das fêmeas após controlar a similaridade fonológica das sílabas de sintaxe repetida com vocalizações de contacto na experiência 2.

A tendência para as fêmeas responderem mais à sintaxe repetida natural na experiência 1 é semelhante à preferência bem documentada das fêmeas de canário doméstico (*Serinus canaria*) por repetições rápidas de sílabas compostas (Vallet & Kreutzer 1995, Vallet *et al.* 1998). Mas, apesar de o serino e o canário serem espécies irmãs (Arnaiz-

-Villena *et al.* 1999), o seu canto difere em aspectos importantes que impedem darmos a mesma interpretação ao resultado semelhante que obtivemos com o serino, como explicado abaixo.

No canário doméstico as repetições rápidas de sílabas são a porção fisiologicamente mais exigente do repertório (Hartley & Suthers 1989). Crê-se que tal dificuldade de desempenho sinalize honestamente a condição dos indivíduos (*sensu* Zahavi 1975), originando assim a evolução de preferências femininas (Vallet *et al.* 1998, Drăgănoiu *et al.* 2002). Como no canário, as sílabas repetidas do serino podem ser compostas e têm uma combinação de taxa de repetição e banda de frequências que indicam uma elevada dificuldade de produção quando comparadas com outras espécies (Capítulo 2, Podos 1997). Contudo, ao contrário do canário, este não é o aspecto mais exigente das canções de serino, porque a sintaxe sequencial comporta um número comparável ou maior de elementos sonoros por unidade de tempo e uma proporção de som maior (ver espectrogramas no Capítulo 2).

Se o resultado da experiência 1 fosse interpretado como uma preferência das fêmeas por sintaxe repetida, levantaria ainda o paradoxo evolutivo de a sintaxe no canto de serino ter evoluído contrariamente a essa preferência. Como explicado na introdução, a sintaxe repetida no serino é muito provavelmente ancestral, devido à sua similaridade com vocalizações de contacto, a sua simplicidade sintáctica relativamente à sintaxe sequencial, a sua preponderância noutras espécies de *Serinus* e o posicionamento dessas espécies na filogenia do género.

O resultado da experiência 1 pode ser uma simples consequência da similaridade fonológica entre a sintaxe repetida e as vocalizações de contacto (Pacheco 2002). Nesse caso o resultado reflecte respostas a diferentes categorias de vocalizações (canto *vs.* vocalizações de contacto) e não a sintaxes alternativas das canções. Esta possibilidade é apoiada pela perda de qualquer tendência quando a semelhança fonológica é controlada na experiência 2. Cada conjunto de estímulos na experiência 2 varia apenas na ordem relativa das mesmas sílabas, e isto foi insuficiente para causar discriminação por qualquer das respostas comportamentais medidas. O aumento de respostas à sintaxe repetida na experiência 1 está, então, mais plausivelmente relacionado com a função comunicativa das vocalizações de contacto.

Tomadas em conjunto, as nossas experiências não detectaram um papel de preferências das fêmeas na evolução da sintaxe predominante nas canções de serino.

Seleção inter-sexual e a evolução da sintaxe de canto

Existe pouca evidência que relacione preferências das fêmeas com a evolução da sintaxe do canto em aves. Enquanto que as fêmeas frequentemente mostram preferências direccionais por repertórios grandes (*e.g.* Searcy 1992a, Collins 1999) a maioria do trabalho com fêmeas sobre escolha de sintaxe dá resultados conservadores, conducentes quanto

muito a selecção estabilizante. Por exemplo, em testes com emberizídeos do género *Melospiza* as sintaxes menos respondidas são heterospecíficas (mesmo que com fonologia conspecífica, Searcy & Marler 1981), provêm de populações distantes (Balaban 1988), ou não existem na natureza (Nowicki *et al.* 2001).

A preferência das fêmeas de canário por trilos rápidos, mencionada acima, também é difícil de relacionar com a evolução da sintaxe do canto nessa espécie porque os canários selvagens, onde as preferências das fêmeas devem ser mais importantes que em cativo, têm uma menor proporção de sílabas repetidas (cerca de 35%, Leitner *et al.* 2001) que as variedades domésticas, mesmo as variedades não seleccionadas artificialmente pelo canto (Güttinger 1985). A perda de consistência serial no canto de variedades domésticas não é única do canário (Honda & Okanoya 1999), sugerindo que não deve ser causada por selecção sexual activa mas, pelo contrário, pelo seu relaxamento em cativo.

Resultados como estes indicam que a escolha das fêmeas não é importante na evolução da sintaxe, ou são confundidos pela capacidade de as fêmeas modificarem as suas preferências por aprendizagem (*e.g.* Baker *et al.* 1981, Nagle & Kreutzer 1997a, b, Riebel 2000) originando por isso resultados conservadores. O problema da aprendizagem de preferências é minimizado nas nossas experiências, uma vez que as fêmeas de serino estão familiarizadas com ambas as sintaxes. Assim, o nosso resultado negativo reforça este contexto de dissociação entre preferências das fêmeas e sintaxe.

Devemos notar, contudo, que a sintaxe é uma característica do canto menos estudada e mais difícil que, por exemplo, o tamanho dos repertórios, onde estímulos super-normais podem facilmente ser preparados para demonstrar a possibilidade de selecção inter-sexual. Dada a variação interespecífica na sintaxe das canções e a importância da escolha das fêmeas na evolução do canto, permanece a expectativa de que preferências evolutivamente significativas possam vir a ser detectadas. Por exemplo, após encontrarem uma preferência conservadora em fêmeas de escrevedeira-dos-pântanos (*Melospiza georgiana*) que contraria uma nova sintaxe, Nowicki *et al.* (2001) comentaram que “o efeito conservador das preferências das fêmeas deve por vezes ser transposto [...] para permitir a evolução das grandes diferenças estruturais do canto observadas entre espécies”.

De facto, existem alguns casos em que se mostrou ou inferiu que o comportamento das fêmeas é consistente com a evolução da sintaxe. Nestes casos, curiosamente, a sintaxe importante foi sequencial ou com poucas repetições, de acordo com a direcção de evolução do canto no serino.

Um destes casos é a descoberta de Neubauer (1999) de que as fêmeas de bico-de-diamante (*Taeniopygia guttata*) preferem sintaxe sem recorrência de sílabas. Isto é consistente com o percurso evolutivo do canto nesta espécie: de repetições de vocalizações para uma concatenação destas mais variada e integrada (Zann 1993). Contudo, explicações alternativas permanecem, como familiaridade das fêmeas com a sintaxe preferida. Em tentilhões (*Fringilla coelebs*), uma espécie em cujas canções coexiste sintaxe repetida e

sequencial (trilos e floreados, respectivamente), as fêmeas mas não os machos parecem seleccionar sintaxe sequencial: as fêmeas respondem mais a canções com floreados longos que curtos (Riebel & Slater 1998) enquanto que os machos fazem o oposto (Leitão & Riebel 2003). Ballentine *et al.* (2003) encontraram evidência indirecta de que sintaxe sequencial possa estar relacionada com função inter-sexual, porque os machos de bico-grossudo-azul (*Guiraca caerulea*) produzem canções com maior consistência serial durante os períodos férteis dos seus pares. A existência disseminada de preferências das fêmeas por repertórios grandes (revisto em Searcy & Andersson 1986, Andersson 1994, Catchpole & Slater 1995) também leva à expectativa de que sequências de sílabas devam ser preferidas a repetições porque, tudo o resto sendo igual, as primeiras contêm maior diversidade silábica que as segundas.

Claramente, é necessário mais trabalho sobre preferências das fêmeas para permitir avaliar a sua importância na evolução da sintaxe de canto (ver também Capítulo 7 para uma abordagem alternativa).

Capítulo 5

Respostas comportamentais de machos de serino a canções conspecíficas e heterospecíficas e a variação em características do canto

Em experiências anteriores (Capítulo 3), as respostas comportamentais de fêmeas de serino (*Serinus serinus*) a variação em características das canções sugeriram pressões selectivas para a evolução da frequência e velocidade no canto. Uma apreciação completa das pressões selectivas resultantes da interacção entre indivíduos deve investigar igualmente a influência da interacção entre machos, porque o canto em aves canoras serve funções inter- e intra-sexuais (Catchpole & Slater 1995, Searcy & Nowicki 2000). Neste trabalho examinamos respostas comportamentais de machos de serino à reprodução de playbacks, com o objectivo de complementar a avaliação de pressões selectivas sobre características das canções.

As experiências com que testamos machos de serino utilizam o mesmo método usado anteriormente com fêmeas (Capítulos 3 e 4). As respostas comportamentais monitorizadas com este método (respostas vocais e permanência junto aos playbacks) não estão associadas a um contexto de resposta específico de machos e fêmeas, pelo que são aplicáveis a ambos os sexos. Os estímulos sonoros com que testamos os machos nestas experiências são os mesmos utilizados para testar fêmeas (Capítulo 3 e experiência 2 do Capítulo 4). Desta forma, os resultados obtidos nesta experiência são potencialmente comparáveis com o trabalho anterior com fêmeas.

A utilização de métodos experimentais aplicáveis aos dois sexos pode permitir não só a detecção de diferenças qualitativas, mas também a comparação do grau de discriminação vocal entre os sexos. Foi sugerido que as fêmeas devam evoluir maior capacidade discriminatória de estímulos sonoros porque, sendo o sexo que investe mais na reprodução, pode sofrer maiores perdas de aptidão resultantes da falta de discriminação entre estímulos relevantes (Searcy 1990, Ratcliffe & Otter 1996, mas ver também Nelson & Soha 2004).

Método experimental

Capturámos 25 machos de serino em Janeiro e Maio de 2003, usando redes japonesas de bolsos, numa área de cultivo agrícola a cerca de 10 km a sudoeste de Coimbra. As aves foram mantidas em grupos de 4 ou 5 indivíduos em gaiolas de $75 \times 35 \times 30$ cm de dimensão, num aviário com luz e ventilação naturais. As aves foram alimentadas com sementes e água *ad libitum*, e foram-lhes periodicamente dados suplementos proteicos, minerais e vitamínicos.

As aves foram testadas uma vez em cada uma de quatro experiências, de 23 de Fevereiro a 18 de Junho, salvo alguns testes repetidos por problemas técnicos. Cada experiência teve a duração de um dia, cada macho foi testado em experiências diferentes com um intervalo mínimo de cinco dias, e a ordem pela qual as experiências foram feitas a cada ave foi balanceada. As quatro experiências avaliaram respostas comportamentais dos machos a pares de estímulos sonoros: 1) canções conspecíficas e heterospecíficas, 2) canções conspecíficas agudas e graves, 3) canções conspecíficas rápidas e lentas, e 4) canções de sintaxe sequencial ou repetida. Os estímulos sonoros utilizados nestas experiências são descritos detalhadamente no Capítulo 3, e na experiência 2 do Capítulo 4. Cada ave foi testada com um conjunto de estímulos sonoros diferente.

Estas experiências utilizaram o desenho experimental descrito nos Capítulos 3 e 4, que aqui apenas resumimos. Um macho era inserido na sala de testes (dimensões: $272 \times 155 \times 220$ cm) durante a noite antes do dia de experiência. Na sala de testes existiam dois poleiros perto de duas colunas de som. Os poleiros estavam equipados com sensores de presença por infravermelhos, que eram monitorizados por um computador fora da sala de experiências; este computador também geria a reprodução de playbacks durante as experiências. As experiências iniciavam-se no intervalo de tempo de até duas horas após o nascer do sol e terminavam às 19 horas (hora de inverno).

Durante a primeira meia hora de cada experiência foram gravadas as respostas vocais dos machos a playbacks. Os playbacks de estímulos sonoros opostos (*e.g.* canções conspecíficas e heterospecíficas) eram reproduzidos em colunas de som diferentes, em blocos de 150 segundos de duração, de forma alternada e com intervalos de 30 segundos entre si. A coluna que reproduzia cada tipo de estímulo bem como o tipo de estímulo a ser reproduzido em primeiro lugar, foram balanceados entre os diferentes testes de cada experiência. Durante o restante tempo da experiência, enquanto as aves se empoleiravam num dos poleiros, eram feitos playbacks do estímulo associado à coluna de som junto a esse poleiro. Nesta parte da experiência o computador registava o número de visitas a cada poleiro e o tempo de permanência em cada visita.

Análise

À semelhança das experiências nos Capítulos 3 e 4, na primeira parte das experiências medimos o número de vocalizações de contacto emitidas pelos machos e o número de

sílabas por vocalização de contacto. Ao contrário das fêmeas, os machos também podem responder aos playbacks cantando, pelo que medimos também o número de canções e a duração média destas. Calculámos a média de cada uma destas quatro respostas comportamentais por bloco de playbacks de cada tipo de estímulo. As medições comportamentais da segunda parte das experiências foram, como nos Capítulos 3 e 4, o número de visitas a cada poleiro e o tempo médio passado por visita em cada poleiro. Algumas aves não responderam, ou responderam apenas a uma ou outra parte da experiência, pelo que os tamanhos das amostras diferem entre as várias medidas comportamentais.

Em cada experiência, as respostas comportamentais dadas aos diferentes tipos de estímulo sonoro foram comparadas por ANOVAs de medidas repetidas bicaudais. Nestas ANOVAs de medidas repetidas, à semelhança dos capítulos anteriores, os dois tipos de estímulo sonoro são os dois níveis do factor principal, as aves são os sujeitos e o lado e ordem de reprodução dos estímulos entram como co-factores, para controlar o seu efeito estatisticamente.

Para detectar padrões de discriminação que possam estar camuflados por variação individual no grau de actividade das aves, correlacionámos medidas de discriminação das aves com uma medida da sua actividade geral. As medidas de discriminação são as diferenças de respostas dadas a estímulos opostos. A medida de actividade das aves é a quantidade total de vocalizações e canções durante os playbacks.

Resultados e Discussão

Não houve, em nenhuma das quatro experiências, discriminação significativa dos estímulos sonoros com qualquer das medidas comportamentais (Tabela 1). Apenas uma correlação de medidas de discriminação e actividade dos machos foi marginalmente significativa de entre 24 (6 medidas de discriminação \times 4 experiências), o que é muito abaixo do esperado pelo acaso. Isto implica que a falta de discriminação observada nas experiências não é explicada por diferenças em reactividade dos machos.

Outros estudos documentaram menor discriminação por parte dos machos que das fêmeas entre canções conspecíficas e heterospecíficas (Searcy & Brenowitz 1988, Searcy 1990). Esta diferença é interpretável como adaptativa devido aos diferentes contextos em que machos e fêmeas de passeriformes reagem às canções (Searcy 1990, mas ver Nelson & Soha 2004 para uma hipótese alternativa). Os machos reagem às canções durante competição com outros machos e exclusão territorial (Catchpole & Slater 1995), um contexto em que reacções a heterospecíficos como se fossem conspecíficos não implica perdas substanciais de aptidão, ou pode mesmo ser adaptativa se existir competição interespecífica por recursos. As fêmeas, pelo contrário, reagem às canções dos machos sobretudo no contexto da escolha do par (Catchpole & Slater 1995), um contexto em que decisões erradas implicam uma grande perda de aptidão. Por esta razão foi sugerido que os

Tabela 1 – Estatísticas de ANOVAs de medidas repetidas referentes ao efeito do tipo de estímulo sonoro nas respostas comportamentais dos machos.

	Número de vocalizações de contacto	Sílabas por vocalização	Número de canções	Duração média das canções	Visitas aos poleiros	Tempo de permanência nos poleiros
Experiência 1 (espécie)	$N = 18$ $F = 0.0005$ $P = 0.98$	13 2.20 0.17	13 0.89 0.37	13 1.07 0.33	13 0.02 0.88	12 0.0001 0.99
Experiência 2 (frequência)	14 0.09 0.38	14 0.001 0.97	13 2.30 0.16	12 1.92 0.20	14 1.52 0.25	12 0.0002 0.99
Experiência 3 (velocidade)	14 1.53 0.24	12 1.30 0.29	12 0.35 0.57	8 1.87 0.24	15 0.13 0.73	13 0.06 0.81
Experiência 4 (sintaxe)	14 0.22 0.65	10 1.69 0.24	8 1.41 0.29	8 0.62 0.47	14 0.33 0.58	14 0.42 0.53

sexos tivessem evoluído diferentes graus de discriminação de estímulos sonoros, não só entre canções conspecíficas e heterospecíficas (Searcy 1990), mas também de variação em características de canto conspecíficas (Ratcliffe & Otter 1996).

Foram levantadas reservas quanto a esta hipótese, conhecida como hipótese de risco de investimento (Dabelsteen & Pederson 1993), por os resultados que a apoiam serem obtidos utilizando diferentes métodos experimentais com machos e fêmeas (Ratcliffe & Otter 1996, Nelson & Soha 2004). A utilização de diferentes metodologias procura testar cada sexo no contexto em que o canto lhe é mais relevante mas, ao fazê-lo, torna possível que os resultados se devam a diferenças motivacionais ou a diferentes regras de tomada de decisão dependentes do contexto, e não a diferenças de capacidade de discriminação, como a hipótese propõe.

O resultado de estudos em que os dois sexos são testados com metodologias semelhantes não têm apoiado a hipótese de risco de investimento (*e.g.* Zimmer 1982, Riebel *et al.* 2002). No entanto, o nosso resultado na experiência 1 sugere menor discriminação de estímulos vocais por parte de machos que de fêmeas (Capítulo 3). O método que utilizámos nesta experiência com machos de serino, e nas experiências anteriores com fêmeas, mede respostas comportamentais muito simples num contexto de resposta que não é específico de um só sexo. Desta forma, machos e fêmeas não devem diferir em motivação e os resultados são potencialmente comparáveis entre os sexos. Apesar disto, a interpretação duma experiência com resultados exclusivamente negativos (*i.e.* ausência de discriminação a todos os estímulos por parte dos machos) é problemática, porque não

exclui a possibilidade de inadequação metodológica ao sexo masculino. Assim, adiamos uma conclusão acerca da existência de diferenças entre os sexos em capacidade de discriminação, para após confirmação utilizando experiências com metodologia diferente (Capítulo 6).

A falta de discriminação por parte dos machos entre canções alteradas em frequência, velocidade e sintaxe nas experiências 2, 3 e 4 sugere que, ao contrário do comportamento das fêmeas (Capítulo 3), a interação entre machos não terá originado pressões selectivas importantes para a evolução destas características. No entanto, pela mesma razão que anteriormente, fazemos depender a fundamentação de conclusões sobre este assunto de trabalho comprovativo adicional utilizando uma metodologia ainda mais simples e, por isso, mais facilmente comparável entre os sexos (Capítulo 6).

Capítulo 6

Função inter-sexual da frequência do canto e função agonística da velocidade do canto no serino: um teste experimental

Introdução

O canto das aves canoras cumpre duas funções principais: uma função inter-sexual de atração e estimulação de fêmeas e uma função intra-sexual de competição entre machos (revisto em Catchpole & Slater 1995, Searcy & Nowicki 2000). A estas duas funções correspondem dois tipos de selecção, que são as principais responsáveis pela elaboração do canto nas aves: selecção inter- e intra-sexual, respectivamente (revisto em Andersson 1994). Em particular, vários processos de selecção inter-sexual, como o processo Fisheriano, preferências por handicaps ou enviesamento sensorial, seleccionam fenótipos extremos em características sexuais masculinas, podendo provocar a sua elaboração muito para além do necessário para o reconhecimento específico ou individual (revisto em Andersson 1994, Searcy & Yasukawa 1996). Também a selecção intra-sexual tem o potencial de seleccionar fenótipos extremos, se os machos usarem características das canções para avaliar a condição competitiva ou estado motivacional dos rivais, sendo que vários aspectos das canções podem funcionar como sinais honestos de condição (*sensu* Zahavi 1975, revisto em Vehrencamp 2000, Gil & Gahr 2002).

A partir de trabalho anterior com fêmeas de serino (*Serinus serinus*, Capítulo 3) sugerimos que duas características extremas no canto de serino, a sua frequência aguda e velocidade (*i.e.* número elevado de elementos sonoros por unidade de tempo), evoluíssem seleccionadas pela sua eficiência em funções diferentes. As fêmeas de serino tenderam a dar mais respostas vocais a canções agudas que graves e passavam mais tempo a escutar canções agudas, o que indica uma preferência por canções agudas e é compatível com evolução por selecção inter-sexual. Pelo contrário, as fêmeas não só deram mais respostas

vocais a canções lentas que rápidas, como o tipo de vocalizações dado a canções rápidas sugeriu um efeito inibitório destas. Este resultado é contrário à existência de preferência das fêmeas pela velocidade das canções, sugerindo antes uma função agonística, o que é coerente com evolução por selecção intra-sexual.

Neste trabalho pretendemos testar estas hipóteses funcionais através de experimentação com ambos os sexos de serino. A hipótese de função inter-sexual da frequência de canto prevê que apenas as fêmeas manifestem preferência por canções agudas. A hipótese de função agonística da velocidade do canto, pelo contrário, prevê que não só as fêmeas mas também os machos reajam diferentemente a canções rápidas.

Outro objectivo deste trabalho é avaliar a existência de diferenças entre os sexos no grau de discriminação de estímulos sonoros. Foi sugerido que as fêmeas devessem evoluir maior capacidade discriminatória de estímulos sonoros porque, sendo o sexo que investe mais na reprodução, podem sofrer maiores perdas de aptidão resultantes da falta de discriminação entre estímulos relevantes (Searcy & Brenowitz 1988, Searcy 1990); esta hipótese foi denominada por hipótese de risco de investimento por Dabelsteen & Pedersen (1993). Os resultados de um trabalho anterior (Capítulo 5), em que machos de serino não discriminaram significativamente nenhuma categoria de canções usando a mesma metodologia usada com as fêmeas anteriormente (Capítulos 3 e 4), aparentemente apoia a hipótese de risco de investimento. Apesar de o desenho experimental ser potencialmente aplicável aos dois sexos, existe a possibilidade de a diferença entre machos e fêmeas ter resultado de menor adequação metodológica ao sexo masculino. Nesta experiência procuramos confirmar a diferença entre os sexos em discriminação testando ambos os sexos com uma metodologia mais simples. O método baseia-se na monitorização de aproximações a playbacks, que é um tipo de resposta comportamental várias vezes utilizada em estudos de campo ou laboratório, quer com machos quer com fêmeas de aves (revisto em Falls 1992, Searcy 1992b).

Métodos

Geral e desenho experimental

Capturámos 19 machos e 20 fêmeas de serino durante os meses de Janeiro e Fevereiro de 2005 usando redes japonesas de bolsos, numa área de cultivo agrícola a cerca de 10 km a sudoeste de Coimbra. As aves foram alojadas em gaiolas de 75 × 35 × 30 cm de dimensão em grupos do mesmo sexo, de quatro ou menos indivíduos, num aviário com luz natural. As aves foram alimentadas com sementes e água *ad libitum* e foram-lhes periodicamente administrados suplementos minerais e vitamínicos.

As experiências decorreram de 16 de Fevereiro a 31 de Março de 2005. As experiências foram efectuadas numa gaiola de 55 × 28 × 35 cm de dimensão, colocada a 75 cm do chão no centro de um compartimento acusticamente isolado (dimensões: 272 × 155

× 220 cm) e com luz artificial temporizada para acender cerca de 15 minutos antes do nascer do sol e para apagar 15 minutos depois do pôr do sol. Num dos lados maiores da gaiola de experiências existiam dois comedouros e dois bebedouros dispostos de forma simétrica. No outro lado maior da gaiola estavam três poleiros de 20 cm a uma altura 14 cm. Um dos poleiros estava colocado a meio da gaiola e os outros dois a 21 cm de cada lado deste e paralelos entre si. Os três poleiros estavam equipados com um emissor e um sensor de luz infravermelha, por forma a detectar quando uma ave aí se encontrasse. Em cada extremidade do compartimento estava instalada uma coluna de som de 5 Watts. Os sensores de infravermelhos e as colunas de som estavam ligadas a um computador fora do compartimento que monitorizava os movimentos das aves e geria a reprodução de playbacks.

Cada experiência teve a duração de um dia, cada ave foi testada apenas uma vez, e machos e fêmeas foram testados em dias alternados. As aves eram introduzidas na gaiola experimental na noite antes da experiência e retiradas na noite seguinte. O início e final das experiências eram determinados pelo acender a apagar da iluminação.

Quando a ave experimental se empoleirava no poleiro central e aí permanecia por dois segundos o computador iniciava o playback de um de seis estímulos: (1) uma canção conspecífica, (2) uma canção heterospecífica de duração semelhante, (3 e 4) a mesma canção conspecífica transposta para 1 kHz mais agudo ou grave, ou (5 e 6) a mesma canção conspecífica com os intervalos intra-silábicos reduzidos ou alongados por forma a fazer uma canção mais rápida ou lenta (a canção lenta era truncada para ter a mesma duração total da canção rápida). A descrição detalhada destes estímulos sonoros encontra-se na secção Métodos do Capítulo 3. O volume de reprodução dos playbacks foi ajustado para soar realista na gaiola de experiências, avaliado pelo ouvido humano. O estímulo a ser reproduzido e a coluna de som por que era reproduzido eram determinados aleatoriamente em cada playback, para que a sequência de estímulos ou a associação destes a um dos lados não fossem previsíveis. Durante um minuto a partir do início do playback o computador registava se a ave se aproximava do playback (voando para o poleiro mais próximo da coluna de som que o reproduzira), se afastava deste (voando para o poleiro mais distante), se permanecia no poleiro central, ou se voava para local indeterminado. Durante os dois minutos seguintes o sistema estava em pausa, não produzindo playbacks mesmo que a ave voltasse ao poleiro central. Após este tempo, se a ave estiver no poleiro central, o sistema espera que esta saia e só volta a reproduzir um playback da próxima vez que a ave aí se empoleirar.

Foram utilizados 30 conjuntos diferentes de estímulos sonoros (ver Capítulo 3). Os estímulos agudo, grave, rápido e lento foram produzidos a partir da canção conspecífica do conjunto. Cada ave foi testada com um conjunto de estímulos diferente. Ao fim de testar a 15ª fêmea ou o 15º macho, foram reutilizados os conjuntos de estímulos que anteriormente provocaram menor número de playbacks com uma ave do mesmo sexo; de cada par de

testes que utilizavam o mesmo conjunto de estímulos, o teste com menos playbacks foi descartado. Desta forma obtivemos 15 testes de fêmeas e 15 testes de machos, todos eles usando conjuntos de estímulos sonoros diferentes.

Análise

Calculámos a proporção de vezes que a ave se aproximou de cada tipo de estímulo sonoro. Neste cálculo descartámos os casos em que a ave voou para local indeterminado, por alguns destes casos poderem ser aproximações.

Apesar de os estímulos serem reproduzidos aleatoriamente por uma ou outra coluna de som, várias aves voavam para um dos poleiros laterais com uma frequência bastante superior a 50%, denotando um enviesamento por aquele lado. Para controlar este efeito de lateralidade, regredimos, para cada ave, as suas proporções de aproximação a cada estímulo pela proporção de vezes que esses estímulos foram reproduzidos num dos lados, e analisámos os resíduos destas regressões em vez das proporções originais.

Estes resíduos das proporções de aproximação foram comparados entre pares de estímulos opostos (*i.e.* canção conspecífica *vs.* heterospecífica, canção aguda *vs.* grave, e canção rápida *vs.* lenta). As comparações restringiram-se a pares de estímulos opostos porque o tipo de manipulações sonoras feitas introduzem alterações que não seriam controladas em comparações cruzadas: a manipulação de frequência no par agudo/grave desfaz as relações harmónicas naturais do som (oitavas) pelo que estes dois estímulos não devem ser comparados com os restantes; do mesmo modo a manipulação de velocidade no par rápido/lento altera a duração total do estímulo, pelo que estes dois estímulos não devem ser directamente comparados com os restantes.

As comparações foram feitas por ANOVAs de medidas repetidas, em que os estímulos opostos são os dois níveis do factor principal, as aves são os sujeitos, e o sexo das aves é um co-factor. Uma análise semelhante foi também feita para cada sexo separadamente (*i.e.* testes *T* emparelhados). Usámos critérios de significância bicaudais em todos os testes estatísticos.

Resultados

O número médio de playbacks por teste foi 116.5 (machos 123.7, fêmeas 109.3; teste *T*, $T = 0.98$, $P = 0.34$, $N = 30$). A proporção de aproximações aos playbacks foi de 0.41, e os machos mostraram uma tendência não significativa para se aproximar mais dos playbacks que as fêmeas (machos 0.43, fêmeas 0.38; teste *T*, $T = 1.74$, $P = 0.09$, $N = 30$).

A proporção de aproximações a canções conspecíficas e heterospecíficas não diferiu significativamente considerando os dois sexos em conjunto (ANOVA de medidas repetidas, $F = 0.77$, $P = 0.39$, $N = 30$), mas a interacção com o sexo foi significativa

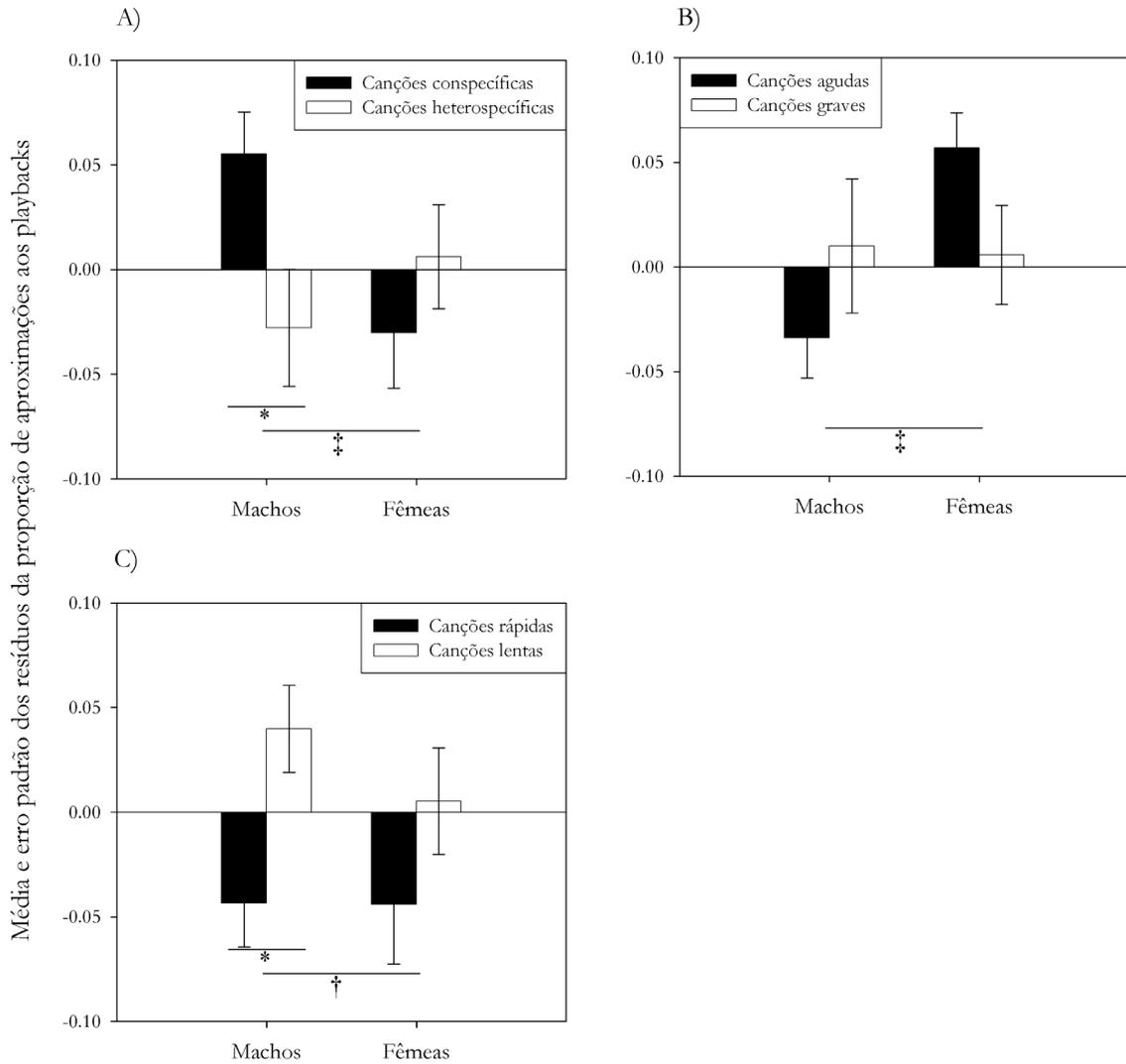


Figura 1 – Médias e erros padrão da proporção de aproximações aos diferentes tipos de estímulos sonoros, controlando o efeito de lateralidade pela utilização de resíduos de regressões (ver texto). As médias indicadas são de cada sexo separadamente, logo $N = 15$. (A) Aproximações a canções conspecíficas e heterospecíficas. (B) Aproximações a canções com frequência manipulada. (C) Aproximações a canções com velocidade manipulada.

* - Diferença de respostas entre estímulos significativa intra-sexualmente (testes T emparelhados, $P < 0.05$).

† - Diferença de respostas entre estímulos significativa no conjunto dos dois sexos (ANOVA de medidas repetidas, $P < 0.05$; ver texto para detalhes).

‡ - Interação com o sexo ou efeito inter-sujeitos do sexo significativo (ANOVA de medidas repetidas, $P < 0.05$; ver texto para detalhes).

($F = 5.02$, $P = 0.03$). O efeito inter-sujeitos do sexo não foi significativo ($F = 1,23$, $P = 0.28$). Analisando cada sexo separadamente (Figura 1a), a proporção de aproximações a canções conspecíficas foi maior que a heterospecíficas em machos (teste T emparelhado,

$T = 2.43$, $P = 0.03$, $N = 15$) mas não em fêmeas (teste T emparelhado, $T = 0.89$, $P = 0.39$, $N = 15$).

A proporção de aproximações a canções agudas e graves não diferiu significativamente considerando os dois sexos em conjunto (ANOVA de medidas repetidas, $F = 0.02$, $P = 0.89$, $N = 30$). A interação com o sexo mostrou uma tendência não significativa ($F = 3.21$, $P = 0.08$) e o efeito inter-sujeitos do sexo foi significativo ($F=4.52$, $P=0.04$). A tendência de interação com o sexo deveu-se a as fêmeas se aproximarem mais das canções agudas enquanto os machos se aproximavam mais das graves (Figura 1b); no entanto, estas tendências não foram significativas analisando os sexos separadamente (machos: teste T emparelhado, $T = 1.07$, $P = 0.30$, $N = 15$; fêmeas: $T = 1.52$, $P = 0.15$, $N = 15$). O efeito inter-sujeitos significativo deveu-se a as fêmeas se aproximarem mais das canções agudas que os machos (Figura 1b; teste T , $T = 3.55$, $P = 0.001$, $N = 30$); os sexos não diferiram na proporção de aproximações às canções graves (Figura 1b; teste T , $T = 0.11$, $P = 0.92$, $N = 30$).

A proporção de aproximações a canções rápidas foi menor que a canções lentas analisando os dois sexos em conjunto (ANOVA de medidas repetidas, $F = 5.04$, $P = 0.03$, $N = 30$). A interação com o sexo e o efeito inter-sujeitos do sexo não foram significativos ($F = 0.33$, $P = 0.57$, e $F = 1.06$, $P = 0.31$, respectivamente). Considerando cada sexo separadamente a diferença permanece detectável em machos (Figura 1c; teste T emparelhado, $T = 2.34$, $P = 0.04$, $N = 15$) mas não em fêmeas ($T = 1.05$, $P = 0.31$, $N = 15$).

Discussão

Diferença entre os sexos na discriminação de canções conspecíficas e heterospecíficas

A diferença entre os sexos na capacidade de discriminação de características das canções tem sido um assunto de estudo difícil porque os métodos normalmente usados para testar machos e fêmeas são diferentes (revisto em Ratcliffe & Otter 1996). Tipicamente os playbacks são dirigidos a machos no campo, onde são medidas as suas respostas territoriais, e a fêmeas em laboratório, onde são medidas as suas respostas sexuais (revisto em Falls 1992). Esta abordagem pretende testar cada sexo no contexto em que o canto lhe é mais relevante (exclusão territorial em machos e escolha do par em fêmeas, Catchpole & Slater 1995), mas as suas grandes diferenças metodológicas e contextuais impedem uma comparação quantitativa dos resultados. Apenas em casos em que o padrão de respostas de machos e fêmeas difere qualitativamente é possível retirar conclusões (*e.g.* Searcy & Brenowitz 1988, Nowicki *et al.* 2001, Searcy *et al.* 2002). Mesmo nestes casos mais claros, é possível que a verificação das diferenças entre os sexos em contextos mais semelhantes revele padrões diferentes (Nelson & Soha 2004), indicando que não se tratam

de diferenças intrínsecas em capacidade de discriminação, mas de diferentes respostas motivadas contextualmente.

O método que utilizámos neste estudo mediu respostas comportamentais muito simples (aproximação a playbacks) e independentes de contextos específicos de um só sexo, sendo por isso os resultados potencialmente comparáveis entre os sexos. O padrão de respostas obtido diferiu substancialmente entre machos e fêmeas. Enquanto que os machos se aproximaram mais de canções conspecíficas que heterospecíficas, as fêmeas não discriminaram estes dois estímulos. Este padrão – maior discriminação por parte dos machos que das fêmeas – é o inverso do obtido nas experiências dos Capítulos 3 e 5, utilizando um método também ele assente em respostas comportamentais aplicáveis aos dois sexos (respostas vocais a playbacks). Estes dois resultados opostos mostram que, mesmo examinando as respostas de machos e fêmeas em circunstâncias iguais, diferenças subtis no tipo de resposta comportamental ou circunstância podem limitar a comparação dos resultados entre os sexos. Não concluímos, portanto, da maior discriminação mostrada pelos machos nesta experiência que este sexo é intrinsecamente mais discriminante, mas apenas que o presente método se adequa melhor ao seu padrão de respostas comportamentais.

De acordo com esta conclusão, os estudos que compararam a discriminação de canções noutras espécies, usando a mesma metodologia para machos e fêmeas, não encontraram diferenças na discriminação (Zimmer 1982, Diehl & Helb 1986, Clayton 1988, Johnstrude *et al.* 1994, Ikebuchi & Okanoya 2000, Riebel *et al.* 2002), ou puderam atribuir essas diferenças a aspectos motivacionais ou regras de decisão, e não à capacidade de discriminação *per se* (Cynx & Nottebohm 1992, Ikebuchi *et al.* 2003, Nelson & Soha 2004). Assim, a evidência experimental existente sugere que a hipótese de risco de investimento para as diferenças de discriminação entre machos e fêmeas, e os dados que a suportam (revisto em Ratcliffe & Otter 1996, ver também Nelson & Soha 2004 para uma hipótese alternativa), devem ser reequacionados em termos de regras de decisão e não de capacidade de discriminação.

A menor sensibilidade revelada pelas fêmeas, com o desenho experimental desta experiência, faz com que seja pouco rigorosa a comparação quantitativa entre as suas respostas e as dos machos às modificações de frequência e velocidade das canções (*i.e.* comparar diferentes graus de discriminação). No entanto a comparação dos sexos permite, e com vantagem sobre os estudos que utilizam métodos diferentes para cada sexo, detectar diferenças qualitativas nas suas respostas (*i.e.* presença *vs.* ausências de discriminação, ou discriminação em sentidos opostos).

Frequência das canções

Em experiências anteriores (Capítulo 3), as fêmeas de serino passavam mais tempo perto de playbacks de canções agudas que de graves, sugerindo uma função inter-sexual

para a frequência aguda das canções e, portanto, um processo de selecção inter-sexual para a sua evolução. Nesta experiência as fêmeas também se aproximaram mais de canções agudas que graves mas a tendência não foi significativa, provavelmente devido à menor sensibilidade das fêmeas a este desenho experimental. O resultado da experiência é, no entanto, concordante com a hipótese de função inter-sexual da frequência aguda porque a tendência de aproximação a canções agudas ou graves foi oposta entre os sexos, tendo-se as fêmeas aproximado significativamente mais que os machos das canções agudas. Esta diferença entre os sexos não é um artefacto metodológico; pelo contrário, nestas experiências as fêmeas mostravam uma tendência para se aproximarem menos que os machos da generalidade dos playbacks. A diferença entre os sexos mostra que o efeito das canções agudas é limitado ao sexo feminino, pelo que a evolução desta característica nas canções de serino é compatível apenas com um processo de selecção inter-sexual, e não intra-sexual.

As respostas de machos e fêmeas a variação em frequência absoluta das canções foram estudada em duas outras espécies de aves: melros (*Turdus merula*; machos: Dabelsteen & Pedersen 1985; fêmeas: Dabelsteen & Pedersen 1993) e escrevedeira-de-garganta-branca (*Zonotrichia albicollis*; machos: Hurly *et al.* 1992; fêmeas: S.B. Meek, L. Ratcliffe & R. Weisman, dados não publicados, em Ratcliffe & Otter 1996). Nestes estudos as fêmeas mas não os machos responderam mais a canções agudas que a graves, como no serino. Apesar de as respostas comportamentais medidas às fêmeas serem sexuais, os autores interpretaram os seus resultados apenas no contexto de reconhecimento de características específicas e não como preferências das fêmeas. Dabelsteen & Pederson (1993) explicaram a diferença de respostas entre machos e fêmeas de melros como uma adaptação das fêmeas à degradação do som, por estas ocuparem um microambiente de vegetação mais densa que os machos. Esta explicação é de aplicação limitada a espécies em que machos e fêmeas se localizam preferencialmente em microhabitats diferentes, e não abrange o serino.

A explicação de preferência das fêmeas, pelo contrário, não só é aplicável ao serino como também é sugerida pela função inter-sexual do seu canto (Mota 1999, Mota & Depraz 2004) e pelo carácter extremo da frequência nas suas canções: a frequência dominante nas canções de serino é a mais aguda das espécies do seu género (Capítulo 7), e particularmente aguda quando comparada com a generalidade dos passeriformes (Capítulo 2, Wallschläger 1980). O serino também se distingue das outras espécies do género *Serinus* por apresentar sinais de adaptação vocal para frequências agudas (Capítulos 2 e 7). Isto significa que a frequência foi um aspecto particularmente importante na evolução do canto no serino e sugere que tenha necessitado de pressões selectivas fortes. A selecção sexual resultante de preferências femininas é tipicamente forte ao ponto de permitir a evolução de fenótipos assim exagerados e, por isso, custosos para os machos (Andersson 1994).

A produção de sons mais agudos tem custos fisiológicos prováveis, resultantes da maior intensidade de contracção muscular necessária (Goller & Suthers 1996) ou da maior

frequência de movimentos, dependendo do mecanismo de produção de som (revisto em Bradbury & Vehrencamp 1998). Este custo faz das canções e vocalizações agudas um potencial indicador de qualidade dos indivíduos por um processo de handicap (Zahavi 1975) e, por isso, uma característica passível de evolução por selecção sexual. Em muitos grupos de animais, sobretudo terrestres, esta possibilidade é contrariada pelas associações entre aptidão e tamanho corporal, e entre este e as frequências graves das vocalizações, que assim actuam como sinais de competitividade (ver discussão no Capítulo 3). No entanto, em aves que interagem sobretudo no ar e em que o tamanho corporal não deve ser determinante de aptidão (ver discussão no Capítulo 3), a selecção sexual de frequências agudas é uma possibilidade que poderá revelar-se de aplicação geral.

Concluimos que a frequência aguda do canto de serino terá evoluído principalmente por selecção inter-sexual, e que a selecção sexual de frequências agudas poderá ser generalizável a outros passeriformes.

Velocidade das canções

Em experiências anteriores (Capítulo 3), as fêmeas de serino deram mais respostas vocais a canções lentas que a rápidas. O padrão de respostas vocais nessas experiências indicou que a discriminação se devia a um efeito inibitório das canções rápidas e não a uma preferência por canções lentas, pelo que argumentámos que o resultado indicava uma função agonística da rapidez das canções, e não uma preferência por canções lentas. A existência de uma preferência por canções lentas constituiria, aliás, um paradoxo evolutivo, porque o serino se encontra entre as espécies do seu género com canções mais rápidas (Capítulo 7) e porque a rapidez é um dos traços definidores do principal eixo de complexidade do canto no género *Serinus* (Capítulo 7). Ademais, a rapidez das canções é uma característica com custos fisiológicos implícitos, devidos à quantidade de movimento muscular envolvido e à diminuição da duração das pausas para inspiração (Suthers & Goller 1997), pelo que a sua evolução em sentido oposto a uma preferência feminina seria difícil de explicar.

O resultado da presente experiência confirma a discriminação negativa das canções rápidas e mostra que essa discriminação se estende também a machos. Aliás, a discriminação foi mais forte no sexo masculino, provavelmente devido à maior adequação desta metodologia a esse sexo. O resultado da experiência é também concordante com um efeito inibitório das canções rápidas nos machos: a proporção de aproximações a playbacks de canções lentas foi semelhante à de canções conspecíficas não manipuladas, enquanto que a proporção de aproximações a canções rápidas foi substancialmente mais baixa. Apesar de estes playbacks não serem directamente comparáveis, isto indica que a diferença de aproximações entre canções rápidas e lentas se deveu à redução de aproximação em relação às primeiras e não a um incremento em relação às últimas. Este padrão de respostas

sugere uma função agonística para a rapidez das canções no serino, o que é compatível com um processo de evolução por selecção intra-sexual.

Noutras espécies, uma delas estreitamente aparentada com o serino, foram documentadas preferências femininas por características do canto com uma semelhança importante às canções rápidas desta experiência. Fêmeas de canário doméstico (*Serinus canaria*) e de escrevedeira-dos-pântanos (*Melospiza georgiana*) preferem repetições rápidas de sílabas (Vallet *et al.* 1998, Ballentine *et al.* 2004) e fêmeas de felosa-sombria (*Phylloscopus fuscatus*) têm mais crias extra-par de machos com maior proporção de som nas canções (Forstmeier *et al.* 2002). Estas duas características têm em comum com as canções rápidas desta experiência os espaços inter-silábicos reduzidos, que são exigentes do ponto de vista da produção vocal (Suthers & Goller 1997). Ao contrário das experiências feitas a estas espécies, as fêmeas de serino foram testadas num contexto não sexual; mas não é provável que a diferença de resultados seja metodológica, uma vez que a reacção agonística das fêmeas parece ser oposta à existência de atracção sexual. Para além disto, o método utilizado no Capítulo 3 tende a reproduzir o mesmo padrão de respostas dado em contexto sexual (Nagle *et al.* 2002), e também aí as fêmeas revelaram inibição de respostas perante canções rápidas.

No seu conjunto, as repostas comportamentais dos dois sexos de serino nesta experiência confirmam as previsões das hipóteses funcionais e evolutivas geradas por trabalho anterior com fêmeas (Capítulo 3): função inter-sexual da frequência do canto e função agonística da velocidade do canto. Estas funções distintas implicam diferentes pressões selectivas actuantes sobre as duas características de canto, selecção inter- e intra-sexual, respectivamente. Sendo que entre as espécies do género *Serinus* a variação na frequência e velocidade das canções não se encontra significativamente correlacionada (Capítulo 7), estas características são passíveis de ter evoluído em grande parte independentemente nas canções de serino, seleccionadas por estas duas pressões selectivas distintas.

Capítulo 7

Evolução de complexidade do canto e adaptação vocal no género *Serinus*

Introdução

O canto das aves encontra-se entre as características sexualmente dimórficas mais estudadas, e mostra uma enorme variedade interespecífica em sintaxe e fonologia que dificulta a sua quantificação em estudos comparativos. A maioria dos estudos comparativos mediram a complexidade do canto como o tamanho dos repertórios, porque é bem conhecido que este aspecto da complexidade das canções é uma característica sexualmente seleccionada (Searcy & Yasukawa 1996, Searcy & Nowicki 2000). No entanto, o tamanho dos repertórios não é comparável entre espécies que têm diferentes tipos de organização das canções ou sintaxe (Kroodsma, 1982), um problema que não foi resolvido apesar de algumas tentativas (Thompson *et al.* 1994, Garamszegi *et al.* 2005) e em relação ao qual os estudos comparativo tentaram quanto muito compromissos razoáveis (Gil & Gahr 2002). Um problema maior é que medições de repertórios não capturam informação sobre a variedade em complexidade fonológica existente nas canções ou sílabas. Esta insuficiência é tanto mais aparente quanto investigação recente mostra que aspectos sintácticos e fonológicos do canto podem ser importantes em selecção sexual (revisito em Vehrencamp 2000, Gil & Gahr 2002). Embora tenham sido obtidos resultados importantes usando medidas simples de tamanho dos repertórios (*e.g.* DeVoogd *et al.* 1993, Garamszegi *et al.* 2003), existem casos em que a sensibilidade estatística de estudos comparativos de canto está diminuída por comparação a características sexualmente dimórficas mais simples de quantificar como o tamanho corporal ou ornamentação (*e.g.* Garamszegi & Møller, 2004), o que sugere uma necessidade de melhor quantificação da complexidade de canto.

Na realidade, é difícil conceber uma medida de complexidade de canto relativamente completa e aplicável a uma grande variedade taxonómica de aves. Alternativamente, a compreensão do padrão de covariação das várias características de canto em grupos de espécies aparentadas deve facultar classificações de complexidade detalhadas, cujo rigor possa sobrecompensar a sua aplicabilidade taxonómica limitada. Os resultados de tais análises comparativas detalhadas podem também ser informativos relativamente a aspectos

como a capacidade de evolução do canto, o seu constrangimento e fisiologia. No entanto, o potencial de estudos comparativos detalhados sobre características de canto foi ainda muito pouco explorado (Price & Lanyon 2002, 2004, Päckert *et al.*, 2003).

Neste capítulo investigamos a evolução da covariação de características de canto e adaptação vocal no género *Serinus*. Este é o maior género na família Fringillidae, e é composto por pequenas aves granívoras, a maioria das quais africanas (Clement *et al.*, 1993). As espécies deste género não têm repertórios constituídos por tipos de canções, antes cantam canções de duração indeterminada e com diferentes proporções de sequências e repetições de sílabas (Güttinger 1985, Leitner *et al.* 2001, Capítulo 2, este capítulo). Nas espécies de *Serinus* estudadas até ao momento, o canto desempenha funções importantes na sua biologia reprodutiva, nomeadamente na estimulação das fêmeas (*e.g.* Leboucher *et al.* 1998, Gil *et al.* 2004, Mota 1999, Mota & Depraz 2004). O género é de forma geral homogéneo em ecologia (Clement *et al.* 1993): as aves ocupam habitats normalmente abertos, alimentam-se de sementes, fora da época reprodutiva juntam-se em bandos grandes (frequentemente de espécies mistas) e não migratórios, e durante a reprodução são socialmente monogâmicas e, com a excepção de espécies mais raras, nidificam com uma distribuição moderadamente semi-colonial. Uma vez que características dos habitat afectam a evolução do canto (*e.g.* Morton 1975, Ryan & Brenowitz 1985, Hanford 1988, Wiley 1991, Seddon 2005), a relativa homogeneidade dos habitats destas espécies, e a conseqüente semelhança em pressões de selecção natural, facilita a nossa abordagem comparativa focada em regras organizacionais e covariação das características do canto (mas ver também Capítulo 9).

Uma das espécies do género, *S. canaria*, é extensivamente utilizada como um sistema modelo em estudos de aprendizagem (*e.g.* Mundinger 1995, Gardner *et al.* 2005), selecção sexual (*e.g.* Drăgănoiu *et al.* 2002), neuroetologia (*e.g.* Nottebohm *et al.* 1986) e fisiologia (*e.g.* Suthers *et al.* 2004) do canto. Assim, o estudo da evolução do canto neste género é de interesse prático considerável para contextualizar o grande volume de trabalho nesta espécie modelo.

Nas análises comparativas deste capítulo abordamos um grande número de questões: quão conservadora ou lábil é a evolução do canto neste género; se características de canto ou o seu desempenho estão relacionados com o tamanho corporal; quais os eixos de variação, e como classificar objectivamente a complexidade do canto neste género; se o padrão de diversificação interespecífica do canto é previsível a partir do padrão de covariação intra-específico de características das sílabas; quais as associações funcionais das sintaxes repetida e não repetida; que características das canções são mais difíceis de produzir; e quão vocalmente adaptadas estão as espécies às suas características de canto.

Métodos

Gravações

Escolhemos gravações das 27 espécies de *Serinus* disponíveis no National Sound Archive da British Library de Londres. Quando mais de cinco fitas estavam disponíveis por espécie, escolhemos as cinco com melhor qualidade de som. Para a espécie *S. serinus* usámos 3 gravações nossas de boa qualidade em vez destas. As gravações foram digitalizadas a 22.05 kHz, a sua frequência filtrada abaixo de 1 kHz, e as medições subsequentes feitas em espectrogramas com resolução de 43 Hz e 1.45 ms, usando o software Avisoft-SASLab Pro (Specht 1999-2002). Em gravações com mais de 10 canções, seleccionámos a sequência de 10 canções com melhor qualidade de som para análise. Em fitas que contêm mais que uma sessão de gravação, estas eram consideradas gravações independentes. No Apêndice 1 damos os números de canções e sílabas analisadas por espécie.

Definição de sílabas

Utilizámos sílabas como as unidades básicas para medições espectrográficas. As sílabas são agregações temporais mais ou menos complexas de elementos sonoros, e são definidas na literatura por um de dois critérios, dependendo da sintaxe da espécie (Thompson *et al.*, 1994): no caso de sintaxe repetida ou trilada são definidas por um critério sintáctico (as unidades que são repetidas para formar trilos), e no caso de sintaxe não repetida são definidas por um critério temporal (as unidades separadas por um intervalo de duração superior a um certo limiar; ver o Capítulo 2 para um exemplo detalhado numa espécie de *Serinus*). Ambas as sintaxes coexistem na maioria das espécies de *Serinus* e, por isso, utilizámos os dois critérios, da seguinte forma:

Primeiro obtivemos unidades temporais provisórias usando a função de medições automáticas do software Avisoft. Os limiares de amplitude para detectar elementos sonoros foram ajustados para cada gravação de forma a conseguir a discriminação mais exacta possível entre som e intervalos. Para detectar todos os intervalos inter-silábicos e, ao mesmo tempo, ignorar pequenas porções de ruído de fundo, utilizámos uma sensibilidade temporal de 10 ms, uma vez que esta é a duração dos intervalos silábicos mais curtos do serino (*S. serinus*, Capítulo 2), que é a espécie com canções mais rápidas no género (*i.e.* com menor duração dos intervalos inter-silábicos, Apêndice 1).

Nas porções das canções com sintaxe repetida aplicámos o critério sintáctico concatenando as unidades provisórias quando estas subdividiam a sílaba repetida. Algumas repetições muito rápidas e com sonoridade áspera (frequentemente referidas como “buzzes” na literatura) foram excluídas das análises subsequentes, uma vez que são provavelmente produzidas por um mecanismo de fonação diferente das repetições de sílabas comuns (Brackenbury 1978). Estas repetições representam apenas 3.3% dos casos

(máximo por espécie, 15%) e eram sempre caracterizadas pela duração média da unidade repetida ou dos intervalos entre repetições disjunta em relação às distribuições na espécie.

Relativamente às porções das canções com sintaxe não repetida, construímos gráficos de abundância relativa das durações dos intervalos para cada espécie. Os gráficos foram construídos sem recorrer à categorização arbitrária das durações dos intervalos: calculámos, para cada intervalo, a diferença entre as durações dos dois intervalos que distavam de si por 5% do tamanho de amostra na sequência ordenada das durações de intervalos. O cálculo das diferenças entre intervalos que distam 10% dos tamanhos de amostra funciona como um tampão contra irregularidades fortuitas no gráfico. Diferenças pequenas indicam uma grande abundância relativa de intervalos naquela gama de durações, e diferenças grandes indicam que intervalos naquela gama são raros. Nos gráficos de 19 espécies, das 25 com tamanho de amostra suficiente para desenhar um gráfico, foi aparente uma depressão de abundância relativa, ou uma paragem abrupta no decréscimo de abundâncias, na zona de intervalos mais curtos. Isto denota a justaposição de duas distribuições parcialmente sobrepostas: intervalos inter-silábicos mais longos, e intervalos mais curtos que correspondem a pequenas interrupções intra-silábicas. Estes pontos (depressão de abundância ou paragem de decréscimo) foram usados como limiares para delimitar sílabas, sendo concatenadas numa sílaba única as unidades provisórias separadas por intervalos mais curtos que o limiar da sua espécie. Estes limiares situam-se, em média, a 0.459 da duração média dos intervalos inter-silábicos em cada uma das 19 espécies; o seu desvio padrão de 0.087 é notavelmente pequeno, pelo que pudemos extrapolar o critério para as outras 8 espécies por cálculo iterativo.

Os espectrogramas na Figura 4 e Apêndice 2 ilustram a aplicação destes critérios nas 27 espécies de *Serinus* analisadas.

Medições

Fizemos nove medições ao nível das sílabas nos espectrogramas: duração (DURAÇÃO), duração dos intervalos inter-silábicos (INTERVAL; em correlações ou regressões com outras características foi usada a média dos intervalos anterior e seguinte para sílabas não repetidas e, para sílabas repetidas, a média dos intervalos dentro do trilo), frequência dominante (a frequência à qual a sílaba tem maior amplitude. FR_DOMIN), intervalo de frequências (FR_INTERV), número de elementos intra-silábicos (definidos como traços temporalmente independentes nos espectrogramas, N_ELEM), número de inflexões de frequência na sílaba (*i.e.* o número de vezes que um aumento em frequência é seguido de um decréscimo ou vice-versa, N_INFLEX), proporção da sílaba com duas vozes (P_2VOZ), com harmónicos (P_HARM) e com buzzes (P_BUZZ; as proporções foram codificadas em cinco classes: nenhuma, aproximadamente um quarto, metade, três quartos ou a sílaba completa).

No caso de sílabas repetidas apenas um conjunto de medidas foi usado por trilo: foram calculadas as médias da duração das sílabas e dos intervalos inter-silábicos para cada trilo, e foram utilizadas as restantes medições da segunda sílaba do trilo, uma vez que por vezes a primeira estava fundida com elementos anteriores. Também anotámos o número de repetições (N_REP) e calculámos a taxa de repetição (TAXA_REP) de cada trilo.

Fizemos mais uma medição ao nível das sílabas, a amplitude máxima da sílaba, que não pode ser comparada entre gravações porque é contingente de várias condições de gravação. Esta medição não foi utilizada em comparações interespecíficas, mas apenas numa análise intra-específica controlando a identidade das gravações.

Ao nível das canções, medimos a duração (DUR_CNC), a proporção de som nas canções (soma da duração das sílabas / duração da canção, P_SOM), o número total de sílabas (N_SÍL) e a proporção de sílabas não repetidas (sendo as sílabas de cada trilo contadas apenas como uma, P_SÍL_NREP). Também calculámos a proporção de sílabas partilhadas entre cada duas canções consecutivas; esta proporção foi calculada relativamente à canção com menos sílabas em cada par. A proporção média de sílabas partilhadas foi então utilizada para calcular índices de tamanho do repertório e de consistência serial em cada espécie. O índice de tamanho do repertório (REPERT) é: o número médio de sílabas por canção (contando trilos como uma sílaba) $\times (1 + (1 - \text{proporção média de sílabas partilhadas}))$. Isto constitui uma aproximação ao número de sílabas diferentes ouvidas ao fim de uma série curta de canções, um tipo de medida proposto ser mais biologicamente relevante que o tamanho absoluto do repertório (Bell *et al.* 2004, Garamszegi *et al.* 2005). Por consistência serial referimo-nos à semelhança na ordem relativa das sílabas entre canções. Este índice (CONSIST) é: proporção média de sílabas partilhadas / número médio de séries partilhadas (uma série partilhada é uma sequência intacta de sílabas comum às duas canções; séries são delimitadas por inserções, deleções ou alterações na ordem relativa das sílabas, mas não repetições da mesma sílaba).

Damos os valores médios por espécie de todas estas medições no Apêndice 1.

Labilidade evolutiva

Avaliámos a significância do sinal filogenético das medições de canto calculando os valores de *Z* associados ao *I* de Moran (Gittleman & Kot 1990) em três intervalos de tempo na filogenia do género (linhas tracejadas na Figura 1). Usámos a filogenia molecular de Arnaiz-Villena *et al.* (1999), que inclui 16 das espécies da nossa amostra, para calcular o *I* de Moran e nas restantes análises baseadas em filogenia. Também calculámos os valores de *Z* para o tamanho corporal (média das gamas dadas em Clement *et al.* 1993), como uma referência para comparação.

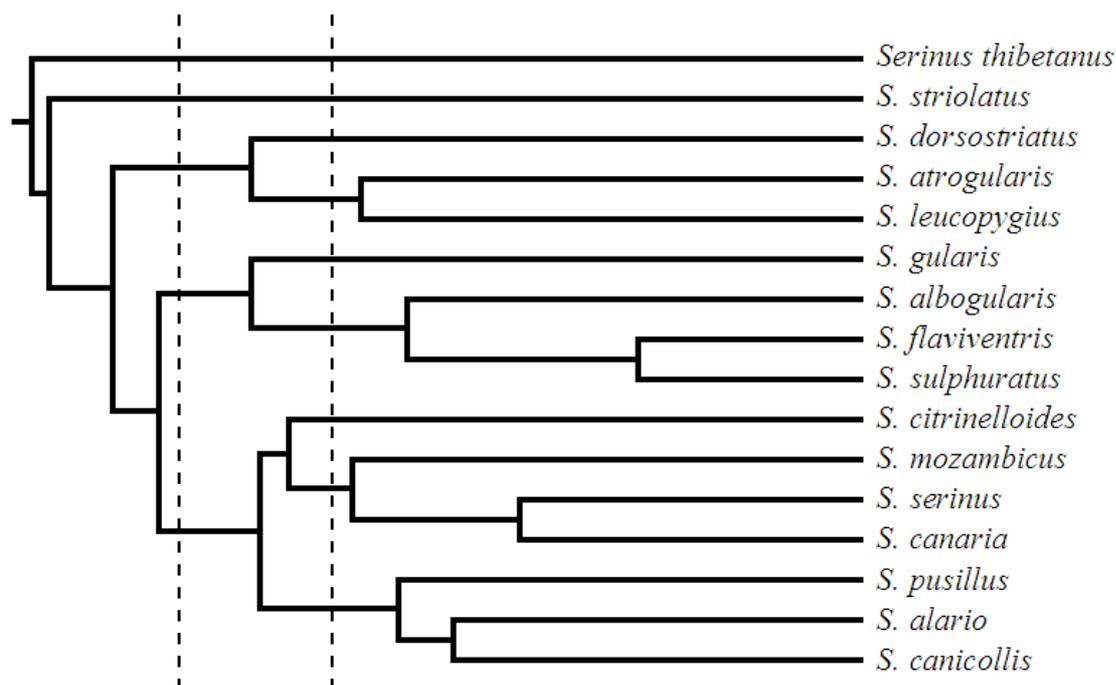


Figura 1 – Árvore filogenética do conjunto de espécies de *Serinus* usadas neste estudo e compreendidas pela filogenia molecular de Arnaiz-Villena *et al.* (1999). As linhas tracejadas separam os intervalos de tempo para testes de sinal filogenético pelo *I* de Moran (ver texto).

Tamanho corporal e características de canto

Avaliámos a relação interespecífica entre as características de canto e o tamanho corporal por regressão múltipla. Também regredimos pela origem contrastes independentes das características de canto sobre contrastes do tamanho corporal (Felsenstein 1985) e corrigimos para correlações múltiplas. Os contrastes independentes foram calculados com o programa CONTRAST do software PHYLIP 3.6 (Felsenstein 2000).

Padrões de variação intra- e interespecíficos

Para cada espécie, calculámos os coeficientes de correlação de Pearson para cada par de características das sílabas. Corrigimos quanto à partilha de sílabas entre canções calculando os graus de liberdade destas correlações usando um N ajustado, igual ao N original \times (1-proporção de sílabas partilhadas). Para avaliar se algumas destas correlações são robustas no género *Serinus* calculámos, para cada tipo de correlação, a média dos logaritmos sinalizados dos valores de significância de cada espécie. Numa grande gama de graus de liberdade os logaritmos de significância variam de forma aproximadamente linear com T , que mede a força da correlação (Zar 1996) mas não incorpora o efeito dos graus de liberdade, que diferem entre espécies. Assim, a logaritmização dos valores de significância

permite a utilização de médias simples e, ao mesmo tempo, incorpora as diferenças de graus de liberdade entre as espécies. Os logaritmos foram sinalizados para que correlações positivas e negativas tenham efeitos opostos no cálculo da média.

Também calculámos os mesmos coeficientes de correlação entre espécies, usando os valores médios de cada espécie. Depois verificámos se o padrão de variação interespecífico das características silábicas, expresso por estes coeficientes, coincide com o padrão intra-específico.

Classificação de complexidade do canto

Corremos uma Análise de Componentes Principais (ACP) sobre as características de canto médias de cada espécie, analisámos os pesos das características nos Componentes Principais (CPs) e extraímos as pontuações dos CPs para cada espécie. Também corremos uma ACP semelhante sobre os componentes específicos de auto-regressões filogenéticas (Cheverud *et al.* 1985) como confirmação contra possíveis efeitos filogenéticos na ACP anterior. As auto-regressões foram calculadas com o programa COMPARE 4.4 (Martins 1999).

Funções da sintaxe do canto

Comparámos as características das sílabas entre as sintaxes repetida e não repetida em cada espécie. Os graus de liberdade foram ajustados para a partilha de sílabas como anteriormente. Também como anteriormente, a média dos logaritmos sinalizados das significâncias foi usada para detectar resultados robustos ao nível do género.

Testámos se a variação interespecífica em sintaxe (a proporção de sílabas não repetidas e o índice de consistência serial) influencia dois aspectos de desempenho vocal do canto: a duração e a proporção de som nas canções. Isto foi feito por regressões múltiplas das médias de cada espécie. A duração média das sílabas e dos intervalos inter-silábicos também entraram no modelo de regressão para controlar a sua óbvia influência nestes aspectos de desempenho vocal.

Características das sílabas e desempenho vocal

Usámos a amplitude de intensidade máxima das sílabas como uma medida do seu desempenho vocal, ou facilidade de produção. Para cada espécie, avaliámos o efeito das nove características silábicas no seu desempenho por regressão múltipla. A sintaxe das sílabas (repetida ou não repetida) também entra no modelo de regressão como um factor fixo. Como a amplitude não é comparável entre gravações (porque estas variam em volume de gravação, distância da ave, etc.), a identidade das gravações entra no modelo como um factor aleatório. Como antes, os graus de liberdade foram ajustados quanto à partilha de sílabas, e a média dos logaritmos de significância foi usada para avaliar a robustez dos

resultados ao nível do género. Note-se que o número de espécies para as quais obtivemos valores de T e, conseqüentemente, valores de significância diferem consoante a característica, dependendo da existência de variância e de tamanho de amostra suficiente para correr a regressão múltipla.

Os valores absolutos de T , que indicam a magnitude da influência de cada característica das sílabas no seu desempenho vocal, foram consistentemente muito maiores na espécie com menor tamanho de amostra de sílabas diferentes (*S. capistratus*, Apêndice 1): em seis das nove características das sílabas o valor de T de *S. capistratus* é um outlier conspícuo em relação às outras espécies. Isto é provavelmente consequência do seu pequeno tamanho de amostra e, por isso, excluímos esta espécie das análises desta secção.

Calculámos as correlações interespecíficas entre os valores de T de cada característica das sílabas (com sinal positivo ou negativo consoante o efeito da característica seja de aumentar ou diminuir a amplitude das sílabas) e a prevalência dessas características no canto das espécies (*i.e.* o valor médio das características em cada espécie). Correlações positivas, quando as espécies em que uma característica é mais abundante ou pronunciada são também aquelas com maior facilidade de produção dessa característica, implicam um padrão de especialização vocal para a produção dessa característica. Correlações negativas, quando as espécies em que uma certa característica é mais abundante são aquelas com maior dificuldade em a produzir, implicam um padrão de adaptação vocal incompleta ou ausente; *i.e.* uma característica de canto evolui com frequência para além de um nível óptimo de produção mais ou menos fixo, causando dificuldade de produção e a conseqüente correlação negativa.

Excepto quando afirmado o contrário, neste capítulo usámos um critério de significância bicaudal de 0.05 e aplicámos correcções de Bonferroni às comparações múltiplas.

Resultados

Labilidade evolutiva

Apenas duas das 15 medições das sílabas e canções mostraram um sinal filogenético positivo e significativo ($Z > 1.96$, Gittleman & Kot 1990). Estas foram a duração das sílabas ($Z = 2.36$) e o número de inflexões por sílaba ($Z = 2.71$), ambos no intervalo temporal intermédio da filogenia (Figura 1). Portanto, as características de canto exibem um padrão de grande labilidade evolutiva e pouco constrangimento filogenético. Pelo contrário, o tamanho corporal tem sinal filogenético significativo, também no intervalo intermédio ($Z = 2.38$).

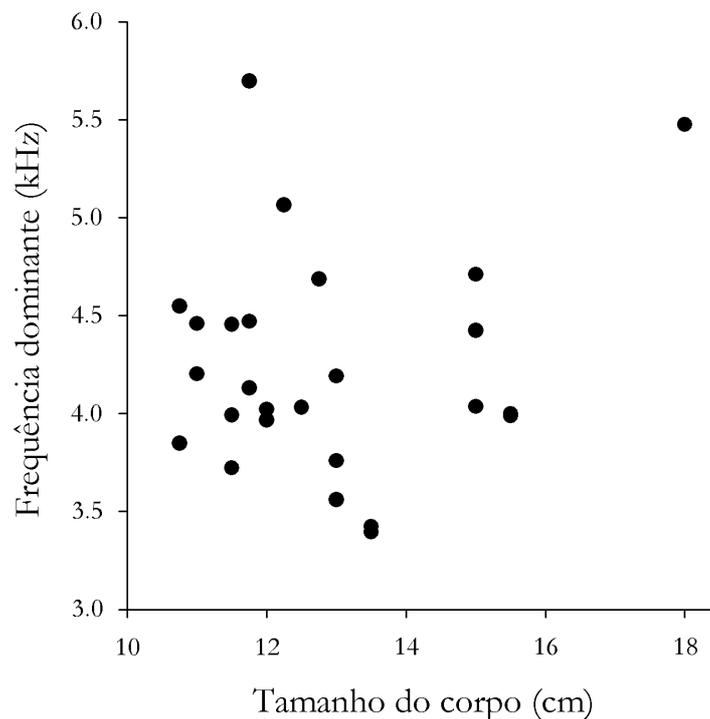


Figura 2 – Gráfico de correlação ilustrando a ausência de relação entre o tamanho corporal e frequência dominante nas canções de *Serinus* spp. O outlier de tamanho corporal grande e frequência aguda é *S. burtoni*.

Tamanho corporal e características de canto

A regressão múltipla de características de canto sobre tamanho corporal não foi significativa ($R^2 = 0.68$, $P = 0.45$, $N = 27$) e nenhuma das características das sílabas ou canções variou significativamente com o tamanho corporal nessa regressão múltipla (todos os $|T| < 1.86$, todos os $P > 0.09$, $N = 27$). A relação entre tamanho corporal e frequência do canto em passeriformes está bem documentada (*e.g.* Wallschläger 1980, Ryan & Brenowitz 1985), pelo que verificámos esta relação uma segunda vez com uma correlação simples entre frequência dominante e tamanho corporal (Figura 2). A correlação não é significativa e, contrariamente ao esperado, teve sinal positivo ($r_p = 0.15$, $P = 0.46$, $N = 27$). O coeficiente de correlação positivo, no entanto, deveu-se a uma única espécie outlier (*S. burtoni*, a maior espécie do género e a segunda com frequência de canto mais aguda, Figura 2), sem a qual o coeficiente inverte o sinal mas mantém-se não significativo ($r_p = -0.15$, $P = 0.46$, $N = 26$).

Duas das regressões de contrastes independentes de características de canto sobre tamanho corporal foram significativas, mas não permanecem significativas após correcção de Bonferroni para comparações múltiplas (duração média das sílabas [coeficiente de

Tabela 1 – Correlações intra-específicas robustas entre características das sílabas, comparadas com as correlações interespecíficas equivalentes. Ver texto para abreviações.

Características das sílabas		Correlações intra-específicas		Correlações interespecíficas	
		r_p médio	P médio*	r_p	P^{**}
DURAÇÃO	N_ELEM	0.33	0.31×10^{-3}	-0.05	0.82
DURAÇÃO	N_INFLEX	0.35	0.003×10^{-3}	0.52	0.01
DURAÇÃO	P_BUZZ	0.20	0.30×10^{-3}	0.08	0.70
DURAÇÃO	FR_INTERV	0.31	0.05×10^{-3}	-0.03	0.87
P_BUZZ	N_INFLEX	-0.15	0.17×10^{-3}	-0.06	0.76
N_INFLEX	N_ELEM	0.39	1.09×10^{-3}	0.01	0.98
FR_INTERV	FR_DOMIN	0.19	0.07×10^{-3}	0.27	0.16
FR_INTERV	N_ELEM	0.24	0.18×10^{-3}	0.39	0.04
FR_INTERV	P_HARM	0.20	0.73×10^{-3}	0.60	0.95×10^{-3}

* - Média dos logaritmos de significância sinalizados das 27 espécies (ver métodos), transformadas de novo para valores de probabilidade. Nível de significância com correcção de Bonferroni para 36 comparações (combinações de pares de 9 medições silábicas) é 1.39×10^{-3} .

** - Nível de significância com correcção de Bonferroni é 1.39×10^{-3} .

regressão pela origem estandardizado [$B_{st} = 0.67$, $P = 0.005$, $N = 15$] e índice de consistência serial [$B_{st} = 0.60$, $P = 0.015$, $N = 15$; nível de significância com correcção de Bonferroni é 0.003]).

O efeito do tamanho corporal na frequência e outras características do canto foi, portanto, pouco importante no género *Serinus*. Assim, usámos as médias de cada espécie não corrigidas para tamanho corporal em todas as análises interespecíficas subsequentes.

Padrões de variação intra- e interespecíficos

As correlações intra-específicas entre as características das sílabas variaram entre espécies, mas nove são significativas ao nível do género; *i.e.* a média dos logaritmos de significância sinalizados das 27 espécies (ver Métodos) permanece significativa após correcção de Bonferroni para comparações múltiplas. Na Tabela 1 mostramos estes nove coeficientes de correlação intra-específicos mais robustos. As primeiras cinco correlações na Tabela 1 representam compromissos entre a velocidade das sílabas (*i.e.* duração curta) e medidas de complexidade, ou entre diferentes medidas de complexidade das sílabas; as últimas quatro correlações representam associações entre características das sílabas e os seus factores causais. Devido a um muito menor tamanho de amostra de espécies que de sílabas, apenas uma correlação interespecífica permanece significativa após correcção de Bonferroni. Os coeficientes de correlação interespecíficos correspondentes às correlações intra-específicas significativas também são apresentados na Tabela 1. Pode ser visto pela comparação dos coeficientes de correlação intra- e interespecíficos que os seus padrões

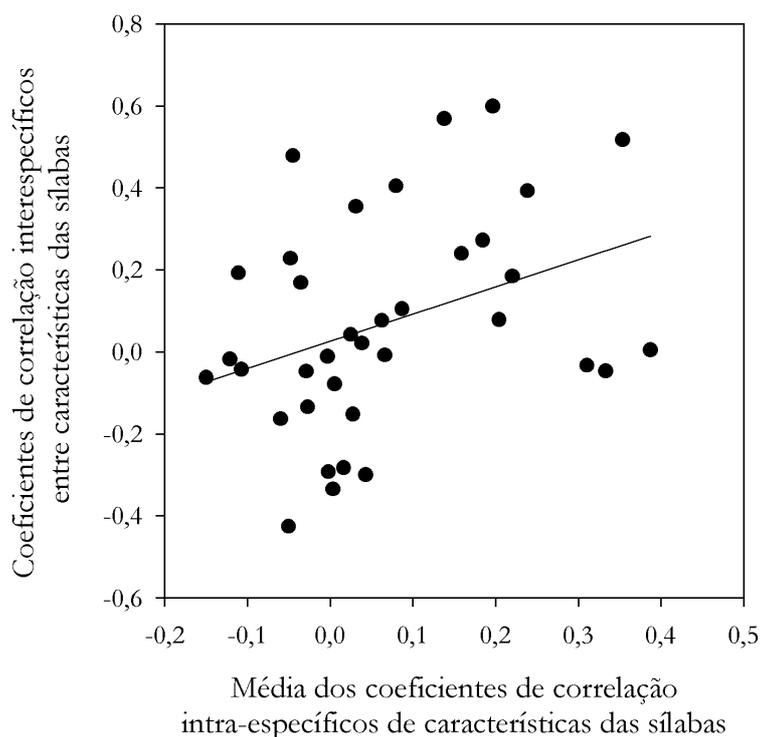


Figura 3 – Gráfico da correlação entre a média dos coeficientes de correlação intra-específicos de cada par de características silábicas e os coeficientes interespecíficos correspondentes, ilustrando a correspondência moderada entre os padrões intra- e interespecíficos de covariação das características silábicas.

diferem em aspectos importantes: enquanto que intra-especificamente as sílabas mais longas tendem a ser mais complexas em três medidas e a usar uma maior gama de frequências, apenas a associação com o número de inflexões tem um coeficiente interespecífico diferente de zero. Além disto, às duas correlações intra-específicas significativas entre medidas de complexidade correspondem coeficientes de correlação interespecíficos próximos de zero. Pelo contrário, as associações entre gama de frequência e factores causais prováveis (frequência dominante aguda, elementos intra-silábicos e harmónicos) têm coeficientes de correlação interespecíficos elevados.

Considerando a totalidade dos coeficientes, a correlação entre coeficientes intra- e interespecíficos foi moderada mas significativa se cada coeficiente for considerado um ponto de dados independente (Figura 3: $r_p = 0.36$, $P = 0.03$, $N = 36$). Como os 36 coeficientes de correlação resultam das combinações das mesmas nove características, esta é uma sobrestimativa permissiva dos graus de liberdade, uma ligeira redução dos quais faz perder a significância da correlação. Assim, o padrão de variação interespecífico das características silábicas concorda apenas moderadamente com o padrão intra-específico e

Tabela 2 – Pesos das características de canto em cada um dos CPs significativos de uma ACP; *i.e.* coeficientes de correlação entre as características de canto e os CPs. As características de canto estão ordenadas por ordem decrescente dos valores absolutos de correlação com cada componente para facilidade de leitura. Ver texto para abreviações.

1º componente		2º componente		3º componente		4º componente	
Característica	Peso	Característica	Peso	Característica	Peso	Característica	Peso
TAXA_REP	0.83	P_SOM	0.65	P_SÍL_NREP	-0.74	P_BUZZ	-0.65
N_SÍL	0.81	N_INFLEX	0.65	DUR_CNÇ	0.67	REPERT	0.56
REPERT	0.74	DURAÇÃO	0.64	P_SOM	-0.54	DUR_CNÇ	0.49
INTERVAL	-0.62	N_REP	-0.64	INTERVAL	0.51	P_HARM	-0.46
P_2VOZ	0.57	CONSIST	0.56	N_SÍL	0.41	P_SÍL_NREP	0.46
DURAÇÃO	-0.53	P_HARM	0.51	FR_DOMIN	-0.40	FR_INTERV	-0.46
N_ELEM	0.52	FR_INTERV	0.51	DURAÇÃO	0.36	N_REP	-0.31
FR_INTERV	0.50	P_BUZZ	0.36	P_2VOZ	0.27	N_SÍL	0.29
FR_DOMIN	0.43	DUR_CNÇ	0.34	N_ELEM	0.24	N_INFLEX	0.22
CONSIST	-0.41	N_ELEM	0.30	N_REP	0.21	DURAÇÃO	0.21
DUR_CNÇ	0.37	P_2VOZ	-0.20	TAXA_REP	-0.20	N_ELEM	-0.20
P_HARM	0.26	INTERVAL	-0.13	P_BUZZ	0.19	FR_DOMIN	-0.13
N_INFLEX	-0.13	FR_DOMIN	-0.13	FR_INTERV	-0.16	P_2VOZ	-0.12
P_BUZZ	0.12	TAXA_REP	-0.13	CONSIST	-0.12	INTERVAL	0.12
P_SOM	0.12	N_SÍL	0.09	P_HARM	0.08	P_SOM	0.10
P_SÍL_NREP	-0.03	REPERT	-0.04	REPERT	0.02	TAXA_REP	0.06
N_REP	-0.02	P_SÍL_NREP	-0.01	N_INFLEX	0.001	CONSIST	0.05

não pode ser previsto por este, particularmente no que diz respeito a compromissos entre características das sílabas (*e.g.* complexidade e velocidade).

Classificação de complexidade do canto

A ACP interespecífica das características das sílabas e canções resultou em quatro CPs com eigenvalues maiores que o esperado por associação aleatória das variáveis usando o critério de broken-stick (Jackson 1993). Os eigenvalues destes quatro componentes foram 3.98, 2.91, 2.30 e 1.99, que correspondem às seguintes proporções da variância total: 0.23, 0.17, 0.14 e 0.12, respectivamente. Efeitos filogenéticos não influenciaram os resultados da ACP, uma vez que os CPs de uma ACP semelhante com os componentes específicos de auto-regressões filogenéticas são caracterizados por pesos das características muito correlacionados com os da ACP sobre médias específicas simples (todos os $r_p > 0.99$, todos os $P < 0.001$, $N = 17$).

Tabela 3 – Pontuações das espécies nos três CPs significativos e interpretáveis da complexidade do canto. As espécies estão ordenadas por pontuações decrescentes em cada componente para facilidade de leitura.

1º componente		2º componente		3º componente	
Espécie	Pontuação	Espécie	Pontuação	Espécie	Pontuação
<i>S. pusillus</i>	2.09	<i>S. menelli</i>	1.84	<i>S. thibetanus</i>	1.77
<i>S. canicollis</i>	1.93	<i>S. albogularis</i>	1.49	<i>S. leucopterus</i>	1.74
<i>S. citrinelloides</i>	1.92	<i>S. sulphuratus</i>	1.10	<i>S. menelli</i>	1.52
<i>S. serinus</i>	1.78	<i>S. alario</i>	1.07	<i>S. canaria</i>	1.44
<i>S. leucopygius</i>	0.72	<i>S. canicollis</i>	0.65	<i>S. gularis</i>	1.41
<i>S. canaria</i>	0.57	<i>S. dorsostriatus</i>	0.59	<i>S. rufobrunneus</i>	1.13
<i>S. burtoni</i>	0.47	<i>S. serinus</i>	0.56	<i>S. alario</i>	0.67
<i>S. flaviventris</i>	0.32	<i>S. flaviventris</i>	0.55	<i>S. pusillus</i>	0.50
<i>S. leucopterus</i>	0.29	<i>S. gularis</i>	0.49	<i>S. burtoni</i>	0.35
<i>S. thibetanus</i>	0.23	<i>S. atrogularis</i>	0.48	<i>S. capistratus</i>	0.25
<i>S. capistratus</i>	-0.15	<i>S. striolatus</i>	0.45	<i>S. citrinelloides</i>	0.19
<i>S. sulphuratus</i>	-0.17	<i>S. leucopterus</i>	0.38	<i>S. esthereae</i>	0.03
<i>S. koliensis</i>	-0.17	<i>S. canaria</i>	0.10	<i>S. mozambicus</i>	-0.11
<i>S. gularis</i>	-0.20	<i>S. totta</i>	0.09	<i>S. leucopygius</i>	-0.18
<i>S. striolatus</i>	-0.23	<i>S. pusillus</i>	-0.06	<i>S. sulphuratus</i>	-0.27
<i>S. esthereae</i>	-0.33	<i>S. mozambicus</i>	-0.16	<i>S. flaviventris</i>	-0.33
<i>S. atrogularis</i>	-0.38	<i>S. leucopygius</i>	-0.20	<i>S. canicollis</i>	-0.49
<i>S. dorsostriatus</i>	-0.46	<i>S. burtoni</i>	-0.23	<i>S. striolatus</i>	-0.55
<i>S. albogularis</i>	-0.46	<i>S. rotschildi</i>	-0.31	<i>S. totta</i>	-0.58
<i>S. mozambicus</i>	-0.53	<i>S. tristriatus</i>	-0.42	<i>S. koliensis</i>	-0.59
<i>S. rotschildi</i>	-0.61	<i>S. capistratus</i>	-0.60	<i>S. atrogularis</i>	-0.64
<i>S. alario</i>	-0.68	<i>S. xantholaema</i>	-0.60	<i>S. rotschildi</i>	-0.77
<i>S. tristriatus</i>	-0.72	<i>S. citrinelloides</i>	-0.66	<i>S. albogularis</i>	-0.90
<i>S. totta</i>	-0.76	<i>S. rufobrunneus</i>	-0.74	<i>S. xantholaema</i>	-1.07
<i>S. menelli</i>	-1.36	<i>S. thibetanus</i>	-0.93	<i>S. tristriatus</i>	-1.22
<i>S. xantholaema</i>	-1.52	<i>S. koliensis</i>	-1.87	<i>S. serinus</i>	-1.50
<i>S. rufobrunneus</i>	-1.60	<i>S. esthereae</i>	-3.06	<i>S. dorsostriatus</i>	-1.78

O primeiro CP é caracterizado sobretudo por durações curtas das sílabas e dos intervalos, taxas de repetição rápidas das sílabas repetidas, muitas sílabas por canção e repertórios grandes; a maioria das outras medidas de complexidade das sílabas, frequência dominante e extensão da gama de frequências também têm pesos positivos neste CP (Tabela 2). O segundo CP é caracterizado por sílabas longas, com muitas inflexões, uma proporção elevada de som nas canções e poucas repetições de sílabas por trilo (Tabela 2).

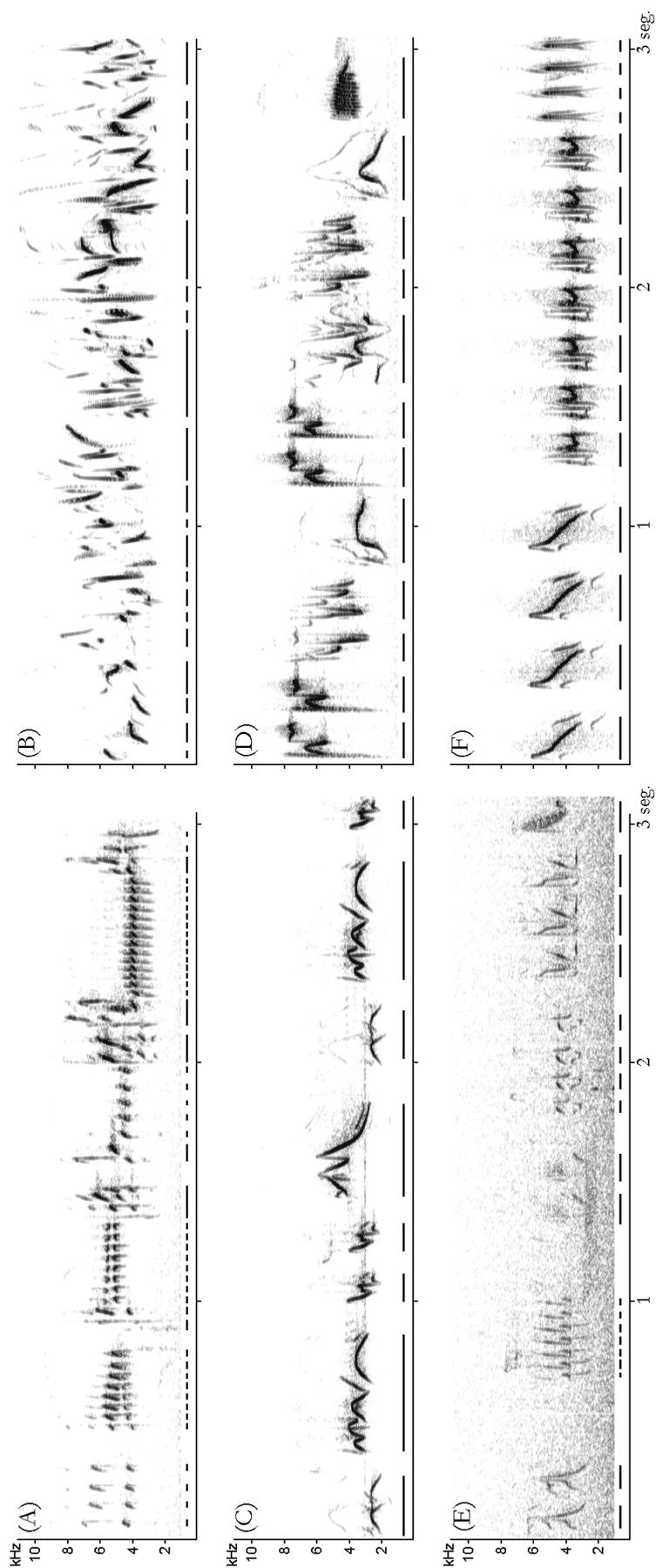


Figura 4 – Espectrogramas representativos das canções de (A) *Serinus pusillus*, (B) *S. canicollis*, (C) *S. albogularis*, (D) *S. thibetanus* e (F) *S. leucopterus*. As espécies representadas são as duas mais pontuadas no primeiro (A, B), segundo (C, D) e terceiro (E, F) CPs de uma ACP sobre as características das sílabas e canções. As linhas horizontais por baixo dos espectrogramas identificam sílabas. Cada espectrograma representa os primeiros 3 segundos de uma canção; as canções variam em duração dentro e entre espécies.

O terceiro CP é caracterizado pela preponderância de sintaxe repetida, canções longas e intervalos inter-silábicos longos. O quarto CP é difícil de interpretar porque tem muitos pesos negativos das medidas de complexidade silábica (Tabela 2), não podendo por isso ser interpretado como um eixo de complexidade do canto.

Assim, é necessário considerar três eixos de variação para abarcar convenientemente as variações na complexidade das canções de *Serinus* spp. Na Tabela 3 damos as pontuações das várias espécies de *Serinus* nos primeiros três CPs. Para cada um destes três CPs existem algumas espécies (quatro no CP1, quatro no CP2 e seis no CP3) cujas pontuações são claramente superiores às outras (Tabela 3), mostrando que estes CPs não são meras abstrações da variação no género, mas são concretamente exemplificadas por algumas espécies. A Figura 4 mostra espectrogramas representativos de canções das duas espécies com maiores pontuações em cada um destes três CPs; espectrogramas das restantes espécies de *Serinus* spp. analisadas podem ser encontrados no Apêndice 2.

Apesar de as características de canto individualmente não serem apreciavelmente dependentes do tamanho das aves (ver acima), as pontuações no segundo CP estão significativamente correlacionadas com o tamanho corporal ($r_p = 0.49$, $P = 0.01$, $N = 27$, significativo após correcção de Bonferroni; nos outros componentes ambos os $r_p < 0.25$, ambos os $P > 0.21$, $N = 27$). A mesma conclusão é demonstrada usando contrastes independentes das pontuações dos CPs (segundo CP: $Bst = 0.63$ $P = 0.01$, $N = 15$, significativo após correcção de Bonferroni; outros CPs: ambos os $Bst < 0.38$, ambos os $P > 0.15$, $N = 15$).

As pontuações nos CPs não tiveram sinal filogenético significativo, em nenhum intervalo de tempo, com um critério de significância bicaudal (Figura 1; todos os $Z < 1.96$, Gittleman & Kot 1990). As pontuações do primeiro CP, no entanto, mostraram sinal filogenético significativo com um critério de significância unicaudal ($Z = 1.64$, P unicaudal = 0.05), sugerindo que este eixo de variação esteja associado com uma linhagem evolutiva particular (a linhagem que inclui as espécies desde *S. citrinelloides* a *S. canicollis* na Figura 1, ver também Tabela 3).

Funções da sintaxe do canto

A única diferença robusta ao nível do género entre sílabas repetidas e não repetidas, após correcção de Bonferroni para comparação de nove características, é que as sílabas repetidas tendem a ser mais curtas (T sinalizado médio = 3.12, P médio aproximado = 0.37×10^{-3}). A tendência para as sílabas repetidas terem menores intervalos inter-silábicos é quase significativa (T sinalizado médio = 3.11, P médio aproximado = 9.17×10^{-3} , nível de significância após correcção de Bonferroni 5.56×10^{-3}).

A proporção de sílabas não repetidas nas canções das diferentes espécies, *i.e.* a prevalência de sintaxe não repetida, não está correlacionada com a consistência serial ($r_p = 0.05$, $P = 0.81$, $N = 27$). Controlando o efeito das durações das sílabas e intervalos,

nenhum destes aspectos da sintaxe influenciou a duração das canções (ambos os $|T| < 1.27$, ambos os $P > 0.21$, $N = 27$). A proporção de som nas canções foi afectada positivamente pela prevalência de sintaxe não repetida ($T = 3.28$, $P = 0.003$, $N = 27$) mas não pela consistência serial ($T = -0.01$, $P = 0.99$, $N = 27$).

Características das sílabas e desempenho vocal

Regressões múltiplas revelaram que muitas características das sílabas influenciam a sua amplitude, embora o padrão difira de espécie para espécie. Os efeitos das nove características silábicas e da sintaxe na amplitude (valores sinalizados de T) não tiveram sinal filogenético significativo em nenhum intervalo de tempo da filogenia (Figura 1; todos os $Z < 1.96$, Gittleman & Kot 1990). Também nenhum dos efeitos na amplitude se correlaciona com o tamanho corporal (todos os $|r_p| < 0.35$, todos os $P > 0.08$, N entre 19 e 24).

Os seguintes efeitos foram robustos ao nível do género: a amplitude máxima das sílabas foi influenciada positivamente pela sua duração (T sinalizado médio = 1.51, P médio aproximado = 0.03) e pela sintaxe repetida (T sinalizado médio = 1.85, P médio aproximado = 0.03), e negativamente pelo número de elementos intra-silábicos (T sinalizado médio = -2.47, P médio aproximado = 0.003).

A importância de uma característica em determinar a amplitude das sílabas (valores sinalizados de T) correlacionou-se com a prevalência dessa característica nas canções das espécies em dois casos. Os valores de T para a duração dos intervalos inter-silábicos correlacionaram-se positivamente com a duração relativa dos intervalos nas diferentes espécies (*i.e.* proporção de intervalos nas canções, Figura 5a; $r_p = 0.49$, $P = 0.01$, $N = 26$), sugerindo um padrão de especialização para esta característica; *i.e.* espécies com maiores intervalos inter-silábicos tendem a ser aquelas com maior desempenho vocal em sílabas ladeadas por intervalos maiores ou, equivalentemente, espécies com intervalos mais curtos tendem a mostrar melhor desempenho em sílabas com intervalos menores. Contudo, esta correlação não permanece significativa após correcção de Bonferroni para comparações múltiplas. Os valores de T para o número de elementos intra-silábicos correlacionaram-se negativamente com o número médio de elementos intra-silábicos das espécies (Figura 5b; $r_p = -0.58$, $P = 0.003$, $N = 26$; significativo após correcção de Bonferroni), implicando adaptação vocal incompleta ou ausente em relação a este aspecto da complexidade silábica no género; *i.e.* espécies com sílabas mais complexas, em termos de número de elementos, mostram maior dificuldade em produzir sílabas com muitos elementos dentro da sua gama de variação.

Em relação às outras características, são detectados casos de adaptação vocal em espécies individuais, apesar de o fenómeno não se estender ao género. Os dois casos mais claros foram *S. serinus*, que é a espécie com frequência dominante de canto mais aguda e

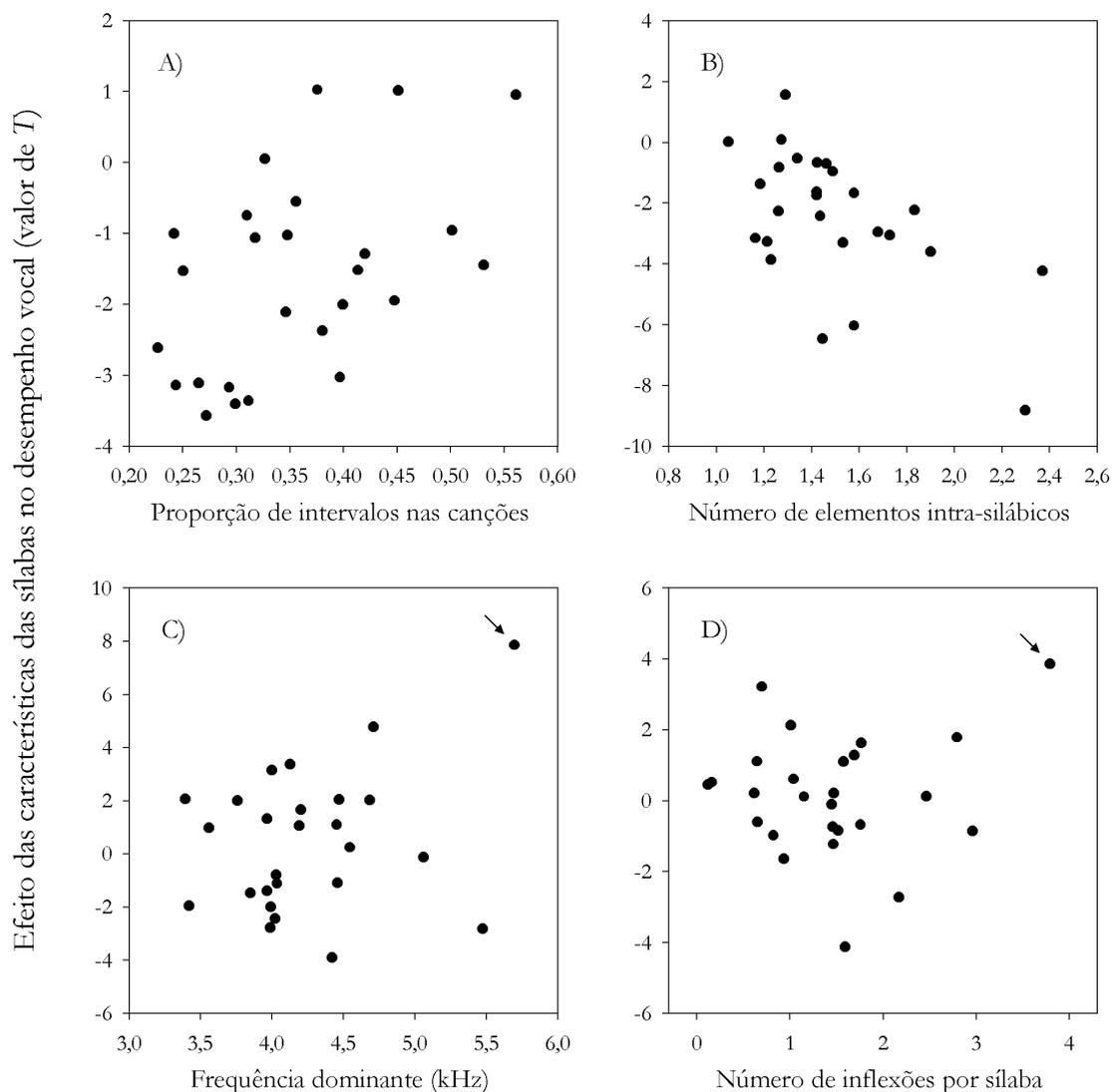


Figura 5 – Relação entre o valor médio de quatro características silábicas nas diferentes espécies de *Serinus* e o seu desempenho nessas características. (A) Padrão sugestivo de especialização vocal para proporções altas ou baixas entre as durações das sílabas e dos intervalos adjacentes. Contudo, a correlação ($r_p = 0.49$, $P = 0.01$) não é significativa após correcção de Bonferroni para comparações múltiplas. (B) Padrão indicador de não adaptação vocal, ou adaptação incompleta, em relação ao número de elementos intra-silábicos em espécies com sílabas mais complexas ($r_p = -0.58$, $P = 0.003$, significativo após correcção de Bonferroni). (C, D) mostram gráficos de relações não significativas, mas onde são aparentes especializações vocais de espécies individuais que aparecem como outliers (assinaladas por setas): especialização para frequência dominante aguda em *S. serinus*, e para número de inflexões das sílabas em *S. menelli*, respectivamente.

ainda assim maior desempenho vocal nas sílabas agudas dentro da sua gama (Figura 5c), e *S. menelli*, que é a espécie com maior número de inflexões por sílaba e maior desempenho em sílabas com mais inflexões dentro da sua gama (Figura 5d).

Discussão

Labilidade evolutiva e relação entre tamanho corporal e características de canto

As características de canto mostraram uma quase ausência de constrangimento filogenético no género *Serinus*. O baixo sinal filogenético pode ser em parte consequência da topografia filogenética do género, com os ramos terminais longos relativamente aos intervalos entre eventos de especiação (Figura 1), mas esta não pode ser a única explicação para este resultado porque o tamanho corporal mostrou sinal filogenético forte.

Este resultado concorda com a expectativa de que características comportamentais e características sexuais secundárias tenham elevada labilidade evolutiva. Esta expectativa resulta, respectivamente, da plasticidade fenotípica que normalmente as características comportamentais têm (*e.g.* West-Eberhard 1989, Gittleman *et al.* 1996, mas ver também de Queiroz & Wimberger 1993), e da instabilidade e frequente inversão das pressões de selecção sexual (*e.g.* Cuervo & Møller 1999, Omland & Lanyon 2000, Wiens 2001). É frequentemente encontrado baixo sinal filogenético para a maioria das características do canto em aves (*e.g.* Irwin 1990, 1996, van Buskirk 1997), mas este padrão não é universal: existem casos de sinal filogenético consistente não só em vocalizações de não passeriformes (*e.g.* McCracken & Sheldon 1997), que não são aprendidas nem alvos prováveis de selecção sexual, mas também em alguns grupos de passeriformes com aprendizagem de canções complexas que são provavelmente sexualmente seleccionadas (Price & Lanyon 2002, Päckert *et al.* 2003). Por isto, o padrão encontrado em *Serinus* spp. é informativo, e sugere que a evolução do canto foi particularmente intensa neste género.

Evolução intensa do canto em *Serinus* spp. é também indicada pela clara dissociação entre as características de canto e o tamanho corporal. Estas características incluem aspectos temporais das canções que foram relacionadas com o tamanho corporal noutras espécies (Suthers & Goller 1997, Podos 2001) e frequência dominante. A frequência dominante das canções é especialmente relevante porque a sua associação com o tamanho corporal é muito robusta e bem documentada em passeriformes (Wallschläger 1980, Ryan & Brenowitz 1985, Wiley 1991, Tubaro & Mahler 1998, Seddon 2005), e resulta de simples leis físicas de eficiência acústica dependente do tamanho dos órgãos vocais (Bradbury & Vehrencamp 1998).

Juntamente com a elevada labilidade evolutiva do canto no género, este resultado sugere que a diversificação do canto em *Serinus* spp. não resultou de deriva, mas esteve

frequentemente sob pressões selectivas suficientemente fortes para dissociar amplamente constrangimentos evolutivos.

Padrões de variação intra- e interespecíficos

Os padrões de covariação intra- e interespecíficos de características silábicas corresponderam apenas moderadamente, de forma que a diversificação evolutiva do canto no género *Serinus* não podia ser prevista a partir das linhas de variação intra-específicas. A correspondência entre covariação intra- e interespecífica resultou essencialmente de fenómenos acústicos básicos e não de compromissos de complexidade. Foram detectados cinco compromissos de complexidade intra-específicos robustos, quatro dos quais envolvendo velocidade das sílabas (*e.g.* sílabas mais curtas têm menos elementos). Com apenas uma excepção, a estes compromissos correspondem coeficientes de correlação interespecíficos próximos de zero. Assim, espécies que evoluíram canções rápidas não o fizeram meramente reduzindo a complexidade das sílabas, ou partindo sílabas existentes em porções menores, mas especializaram-se verdadeiramente em canções rápidas com sílabas igualmente complexas.

Foi proposto que a duração cumulativa dos repertórios de sílabas fosse uma medida de complexidade do canto capaz de ultrapassar o problema de comparabilidade interespecífica (Irwin 2000, Gil & Gahr 2002). Em grupos em que ocorre especialização por velocidade do canto, como neste género, esta medida é inapropriada e a complexidade das sílabas tem de ser explicitamente incluída nas classificações de complexidade.

Classificação de complexidade do canto

O primeiro componente de uma análise factorial sobre as características de canto abarca a grande maioria das medidas de complexidade, e não existem medidas de complexidade com pesos negativos apreciáveis. Esta é, portanto, uma boa medida da complexidade do canto no género, embora não seja exaustiva, uma vez que a extracção de outros dois componentes significativos e interpretáveis indica que a evolução em *Serinus* spp. seguiu também outros eixos de variação.

Noutros grupos de aves foi descoberto que o canto em diferentes linhagens evoluiu em diferentes direcções de complexidade (Irwin 2000, Price & Lanyon 2004). Contudo, a ausência de sinal filogenético significativo dos eixos de complexidade em *Serinus* spp. indica que estes não resultam geralmente de diferenciação entre linhagens.

O principal eixo de variação, definido pelo primeiro componente principal, pode ser uma excepção uma vez que tem sinal filogenético significativo, embora apenas ao nível uni-caudal de significância. Todas as espécies com pontuações elevadas neste eixo (*S. canicollis*, *S. citrinelloides*, *S. pusillus* e *S. serinus*) pertencem a uma mesma linhagem, e estão intercaladas com outras espécies dessa linhagem com pontuações médias (*S. alario*, *S. canaria* e *S. mozambicus*). De acordo com o conhecimento actual sobre a dinâmica evolutiva de

características sexualmente seleccionadas, este padrão é mais facilmente explicado por perdas repetidas de complexidade das canções (revisto em Wiens 2001), o que também explicaria o fraco sinal filogenético restante. Sugerimos previamente um processo de perda de complexidade na diferenciação do canto das variedades domésticas de uma espécie nesta linhagem, *S. canaria* (Capítulo 2). O padrão que agora documentamos sugere que o mesmo se pode aplicar a algumas espécies selvagens, nomeadamente o próprio *S. canaria* devido à sua insularidade, uma vez que espécies insulares perdem frequentemente aspectos da complexidade do seu canto (Milder & Schreiber 1989, Baker 1996, Hamao & Ueda 2000) presumivelmente devido ao relaxamento da intensidade de selecção sexual (Griffith 2000). Neste cenário, é possível que a preferência bem documentada das fêmeas de *S. canaria* pela velocidade de repetição de sílabas (Vallet & Kreutzer 1995, Vallet *et al.* 1998, Drăgănoiu *et al.* 2002), que é o traço definidor mais forte deste eixo de variação, seja uma preferência ancestral e contra a qual o canto evoluiu. O número de espécies nesta linhagem, no entanto, não permite um teste definitivo da direcção de evolução do canto. Estudos sobre selecção sexual e natural em populações selvagens desta espécie poderão ser muito informativos a este respeito.

Funções da sintaxe do canto

Nenhuma sintaxe influenciou a duração das canções, nem as sílabas de diferentes sintaxes diferiram consistentemente em complexidade. Contudo, a sintaxe não repetida contribuiu para maior proporção de som nas canções. A proporção de som elevada nas canções é favorecida sexualmente em certas aves (Forstmeier *et al.*, 2002), e este pode ser um fenómeno comum porque os seus custos fisiológicos (Suthers & Goller 1997) podem funcionar como um sinal honesto de qualidade (*sensu* Zahavi 1976). Assim, juntamente com o óbvio efeito na variedade imediata de sílabas, que é frequentemente uma característica sexualmente seleccionada (Searcy & Nowicki 2000), a proporção de som nas canções pode ser uma causa indirecta de selecção sobre sintaxe não repetida. Contrariando ou balançando estas vantagens selectivas putativas da sintaxe não repetida, a sintaxe repetida contribuiu para maior amplitude de som em comparações intra-específicas. Apesar de a amplitude de som não poder ser comparada entre espécies sem condições controladas de gravação, este efeito intra-específico robusto sugere que selecção de maior amplitude de som deve seleccionar indirectamente sintaxe repetida. Foi demonstrado que a amplitude de som elevada é sexualmente vantajosa em certas aves (Searcy 1996) e, pela mesma razão que acima, este deve ser um fenómeno generalizado.

A evolução da sintaxe das canções por selecção sexual, em particular por escolha das fêmeas, tem sido um assunto difícil de investigar (ver discussões em Nowicki *et al.* 2001 e Capítulo 4; mas ver também Leitão & Riebel 2003). Talvez focando a atenção em aspectos de desempenho vocal do canto correlacionados com a sintaxe, como os reportados aqui,

em vez de na sintaxe *per se*, se possa melhorar a nossa compreensão da evolução e selecção sexual desta característica importante das canções.

O efeito da sintaxe no desempenho vocal das sílabas foi contrário à hipótese de anti-exaustão de Lambrechts & Dhondt (1988, Lambrechts 1996). Segundo esta hipótese a repetição de sílabas causa fadiga muscular que, se de todo, deve diminuir o desempenho das sílabas. Como a nossa análise por regressão múltipla controla o efeito de todas as outras medições silábicas, o efeito positivo da sintaxe repetida no desempenho vocal deve-se especificamente à sua simplicidade motora. Claramente, a sintaxe repetida não é fisiologicamente mais exigente neste género.

Características das sílabas e desempenho vocal

A amplitude de som das sílabas, e consequentemente o seu desempenho vocal, é facilitada ou dificultada por várias características silábicas em diferentes espécies de *Serinus*. O efeito positivo da duração das sílabas no seu desempenho vocal, que é um dos efeitos robustos ao nível do género, pode parecer inesperado porque as sílabas mais longas tendem a ser mais complexas e, portanto, deveriam ser mais difíceis de produzir. No entanto, nestas análises o efeito de todas as outras medições das sílabas é controlado estatisticamente. De facto, o número de elementos intra-silábicos, que é uma das medidas de complexidade das sílabas fortemente associada com a duração, teve um efeito negativo sobre o desempenho vocal ao nível do género.

Espécies com maior número de elementos intra-silábicos mostram pior desempenho vocal neste aspecto de complexidade silábica (dentro da sua gama de variação). Logo, as espécies de *Serinus* evoluíram frequentemente esta característica sem ser acompanhada por adaptação vocal, ou apenas parcialmente acompanhada. É relevante que este efeito seja encontrado na mesma característica que mostra um influência negativa no desempenho vocal das sílabas ao nível do género; isto sugere que o custo vocal do número de elementos intra-silábicos é particularmente difícil de superar evolutivamente. Este custo pronunciado torna o desempenho dos machos em sílabas compostas por vários elementos intra-silábicos um potencial indicador fiável da sua qualidade, o que é também sugerido pela preferência recentemente documentada em fêmeas de *S. canaria* por esta característica (Pasteau *et al.* 2004). O desempenho vocal das espécies nas restantes características das sílabas não está relacionado com a sua prevalência nas canções, apesar de essas características serem frequentemente significativas em prever a amplitude das sílabas em diferentes espécies.

No seu conjunto, estes resultados indicam uma correspondência limitada entre adaptação vocal e as características das canções de cada espécie, o que é provavelmente explicado pela intensa diversificação evolutiva do canto que verificámos neste género. Apesar de a adaptação vocal ser geralmente limitada, alguns casos claros de especialização vocal são distinguíveis em espécies individuais. Destes chamamos atenção para a

especialização de *S. serinus* para frequências agudas de canto, o que tinha antes sido inferido com outra metodologia (Capítulo 2) e que pode ter uma função inter-sexual (Capítulo 3).

Conclusões

Documentámos um padrão de evolução intensa e muito lábil do canto no género *Serinus*, que dissociou correlações bem estabelecidas com o tamanho corporal e compromissos entre aspectos de complexidade silábica visíveis intra-espécies. O canto diversificou-se em direcções que geralmente não eram previstas pelo padrão intra-específico de covariação de características silábicas. Foi detectado um eixo principal de variação interespecífica que compreende de forma abrangente medidas de complexidade das sílabas e canções, e que é caracterizado mais fortemente pela velocidade do canto e tamanho do repertório. Apesar de abrangente, este eixo não é exaustivo da variação no género, uma vez que o canto de algumas espécies evoluiu enfatizando outros aspectos de complexidade como a proporção de som ou a duração das canções. A adaptação vocal às características de canto de cada espécie foi apenas parcial, pelo menos em parte por muitas espécies evoluírem aspectos de complexidade silábica intrinsecamente difíceis. Sintaxes de canto alternativas têm efeitos positivos sobre diferentes aspectos de desempenho vocal das canções: a sintaxe repetida está relacionada com amplitude, e a sintaxe não repetida com a proporção de som nas canções e variedade silábica. O balanço de selecção entre estas características pode indirectamente controlar a evolução de sintaxe do canto.

Capítulo 8

Evolução correlacionada da coloração de machos e fêmeas no género *Serinus*

Introdução

A coloração e ornamentação da plumagem das aves são um exemplo clássico de evolução por selecção sexual. Numa longa discussão de quatro capítulos no *The Descent of Man*, Darwin (1871) argumentou a favor da evolução de ornamentação masculina no contexto da escolha do par por parte das fêmeas, e interpretou a coloração conspícua de fêmeas como um resultado de estas “partilharem mais ou menos das características assim adquiridas pelos machos”. A selecção inferida para ornamentação nos machos teria de ser forte o suficiente para compensar um número de custos associados à coloração conspícua, como o aumento do risco de predação (Promislow *et al.* 1992, Slagsvold *et al.* 1995, Huhta *et al.* 2003, mas ver também Owens & Bennett 1994) ou das exigências alimentares (Grether *et al.* 1999, Hill *et al.* 2002). A existência de selecção inter-sexual e também intra-sexual para ornamentação da plumagem dos machos foi confirmada várias vezes experimentalmente, por trabalhos de campo, e por análises comparativas (*e.g.* Møller 1988, Evans & Hatchwell 1992, Marchetti 1993, Møller & Birkhead 1994, Hill *et al.* 1999).

Até recentemente, a discussão sobre selecção sexual da coloração das aves focou quase exclusivamente o sexo masculino, uma vez que este é geralmente mais ornamentado e tem maior variação de sucesso reprodutor (Møller 1986, Møller & Ninni 1998). A pressão selectiva que se pensava ser mais relevante para a coloração das fêmeas é, começando com Darwin (1871) e Wallace (1889), selecção para coloração críptica. A coloração críptica deve beneficiar os dois sexos por diminuir o risco de predação, mas deve ser mais importante no sexo feminino devido ao seu papel predominante na incubação e conseqüente risco de exposição do ninho. Realmente, o risco de predação dos ninhos correlaciona-se negativamente com a coloração das fêmeas mas não dos machos (Martin & Badyaev 1996). A opinião prevalecente via a coloração de machos e fêmeas como resultando destas pressões selectivas antagónicas entre os dois sexos, de forma que um sexo constrija a evolução do outro (*e.g.* Price & Burley 1994, Price 1996). Modelos de evolução de características poligénicas com pleiotropia (Lande 1980, 1987) prevêm a evolução de uma

característica (neste caso, coloração das fêmeas) afastando-se do seu óptimo adaptativo por constrangimento genético com outra característica (neste caso, coloração dos machos), seguida de evolução mais lenta da característica constrangida em direcção ao seu óptimo por aquisição gradual de independência de determinação genética. Esta explicação está de acordo com o padrão geral de variação interespecífica na coloração das fêmeas: desde monomorfismo conspícuo até dimorfismo críptico, por vários padrões de semelhança parcial com os machos, por vezes semelhantes a juvenis (Darwin 1871, Björklund 1991a).

Recentemente tem sido prestada mais atenção à possibilidade de a coloração das fêmeas evoluir por competição entre fêmeas ou preferências dos machos baseadas em ornamentos femininos. Foram encontrados exemplos de preferência dos machos (*e.g.* Hill 1993, Jones & Hunter 1993, Amundsen *et al.* 1997), competição entre fêmeas (*e.g.* Johnson 1988, Kraaijeveld *et al.* 2004), acasalamento entre semelhantes – o que indicam escolha do par mútua (*e.g.* Jawor *et al.* 2003, Kraaijeveld *et al.* 2004) –, e outras vantagens de aptidão para as fêmeas (*e.g.* Griggio *et al.* 2003, Kraaijeveld 2003), todos baseados em ornamentos femininos. Existem também estudos que não encontraram função para a expressão de ornamentos nas fêmeas (Cuervo *et al.* 1996, Wolf *et al.* 2004).

Estudos comparativos pioneiros sobre a importância relativa da evolução de machos e fêmeas para o dicromatismo (Irwin 1994, Burns 1998) reconstruíram estados ancestrais da plumagem e chegaram às conclusões inesperadas de que (1) a coloração das fêmeas foi mais evolutivamente lábil que a coloração dos machos, e (2) a maioria da evolução independente nas fêmeas fora no sentido de tornar a plumagem mais conspícua. Isto foi interpretado como indicando maior importância de selecção directamente nas fêmeas que de pleiotropia com machos na evolução de coloração feminina conspícua. Estes estudos foram muito influentes e, juntamente com o surgimento de evidência de selecção sexual de fêmeas nalgumas espécies, causaram um afastamento substancial em relação ao consenso anterior. As revisões recentes sobre o assunto (Amundsen 2000a, b, Badyaev & Hill 2003) denunciam uma mudança para explicações adaptacionistas da coloração conspícua nas fêmeas, por vezes argumentando que o constrangimento pleiotrópico com os machos pode não ser importante (Amundsen 2000a, b).

Contudo, a evidência comparativa em que esta mudança de paradigma assenta tem problemas metodológicos que podem invalidar as suas conclusões. Nós avaliamos estes problemas na discussão. Estes problemas resultam da reconstrução de estados ancestrais, um procedimento que foi mostrado ser muito impreciso por comparação com estados ancestrais reais (Oakley & Cunningham 2000, Polly 2001, Webster & Purvis 2002) e por avaliação crítica de métodos comparativos (*e.g.* Omland 1997, Schluter *et al.* 1997, Garland *et al.* 1999, Pagel 1999a). Isto causou cepticismo acerca do uso de reconstruções de estados ancestrais em análises comparativas (Cunningham *et al.* 1998, Losos 1999) e promoveu a procura de métodos comparativos mais robustos (*e.g.* Mooers *et al.* 1999).

Neste trabalho estudamos a evolução da coloração em machos e fêmeas no género *Serinus* considerando a possibilidade de existência de constrangimento inter-sexual, e utilizando métodos comparativos que não dependem da reconstrução de estados ancestrais. Em particular, exploramos a utilização de simulações exemplificada por Garland *et al.* (1991, 1993, ver também Martins & Garland 1991, Björklund 1994) como um instrumento para testar modelos evolutivos. Usamos métodos comparativos bem conhecidos (*I* de Moran, Gittleman & Kot 1990; contrastes independentes, Felsenstein 1985; e comparações de log-likelihood, Mooers *et al.* 1999) juntamente com o procedimento baseado em simulações para avaliar o desempenho deste último.

O género *Serinus* compreende 36 espécies de pequenas aves granívoras, a maioria das quais habitam África e têm coloração amarela (Clement *et al.* 1993). Para 17 destas espécies existe uma filogenia molecular detalhada (Arnaiz-Villena *et al.* 1999) que utilizamos nas nossas análises. Analisando um género único de aves, onde se espera que o padrão de coloração seja semelhante (Price & Pavelka 1996, Omland & Lanyon 2000), é possível obter medidas quantitativas detalhadas de coloração que são objectivamente comparáveis entre espécies.

Ao nível das espécies, comparamos os sexos no que diz respeito à labilidade evolutiva das suas características de coloração e ao grau de covariação da coloração nas várias partes do corpo. Previmos uma menor covariação das características de coloração no sexo mais constrangido devido ao efeito antagonístico de selecção e correlação genética (Lande 1980). Também testamos se o padrão de coloração no género é melhor explicado por modelos de mudança filética gradual ou especiacional (*sensu* Gould 2002, Cubo 2003), por modelos de evolução independente ou correlacionada, e por modelos de constrangimento das fêmeas, constrangimento dos machos ou partilha de pressões selectivas.

Métodos

Recolha de dados

Medimos a coloração em ambos os sexos de 26 taxa (25 espécies e 2 subespécies) de *Serinus* spp., em espécimens da colecção do Museu de História Natural de Londres, em Tring. Calculámos a média das medições de um número mínimo de 3 machos por taxon porque os machos mostram com frequência alguma variação interindividual. O número de espécimens medidos é dado no Apêndice 3. Tomámos várias medidas de cor e marcas em várias partes da plumagem, bico e patas, de forma a abarcar compreensivamente a gama de variação no género. A cor do peito, subcaudais, manto e uropígio foram classificadas por referência a um mapa de cores (Küppers 1979). Esta medição é adequada porque as cores ornamentais em *Serinus* spp. são baseadas em pigmentos carotenóides (Stradi *et al.* 1995), que reflectem luz sobretudo no espectro visível (Gross 1987). Usámos o brilho e saturação

destas cores, mas não a croma por três razões: 1) A cor ornamental em *Serinus* spp. é quase exclusivamente o amarelo (Clement *et al.* 1993) e tem pouca variação em croma; 2) a medição de croma em partes escuras ou esbranquiçadas é muito pouco precisa; e 3) croma é uma medida circular e, por isso, a sua análise levanta problemas conceptuais (de Repentigny *et al.* 1997). Medimos a extensão vertical da área amarela no peito. Categorizámos o padrão de pigmentação no peito, subcaudais, manto e uropígio desde fortemente malhado a liso. Categorizámos as margens das penas da cauda e asas em relação à sua espessura e conspicuidade da cor. Categorizámos a cor do bico e patas em ordem crescente de conspicuidade. Quantificámos o padrão de cor brilhante na cabeça contando o número de partes anatómicas da plumagem abrangidas. Quantificámos a presença de marcas pretas ou fortemente melanizadas na cabeça e parte frontal do corpo contando o número de partes abrangidas. Notámos a existência de penas escuras conspícuas nas asas. No total, foram medidas 22 características de coloração. Apresentamos no Apêndice 3 as médias destas medidas por taxon e sexo, bem como as suas definições. Também medimos o comprimento do tarso, asa e cauda, e o comprimento e altura do bico.

Existem alguns valores omissos nos dados (Apêndice 3). Por exemplo, a cor das margens das penas não pode ser medida em espécies com penas não marginadas. Para minimizar a influência dos valores omissos, substituímo-los pela média das outras espécies nas análises não filogenéticas. Nas análises filogenéticas substituímo-los por valores calculados iterativamente de forma a manter inalterados os valores ancestrais inferidos por evolução mínima (Martins & Hansen 1996), tendo em conta o comprimento dos ramos da filogenia.

Covariação de características de coloração e dicromatismo

Corremos uma Análise de Componentes Principais (ACP) sobre as características de coloração nos 26 taxa da nossa base de dados. Primeiro corremos ACPs separadas para machos e fêmeas e comparámos a covariação das características de coloração entre os sexos. Maior covariação é indicada por maiores pesos das características nos Componentes Principais (CPs), particularmente no primeiro CP. Depois corremos uma única ACP sobre as características de coloração dos dois sexos, para obtermos medidas comparáveis entre os sexos. Estas medidas foram utilizadas para calcular o dicromatismo sexual e uma pontuação única de coloração para cada sexo e espécie (doravante referida como pontuação de coloração). A pontuação de coloração foi calculada como a soma das pontuações nos CPs significativos, pelo critério de broken-stick (Jackson 1993), pesadas pelos eigenvalues dos CPs.

Labilidade evolutiva

Avaliámos o sinal filogenético pelo cálculo dos valores de Z associados ao I de Moran (Gittleman & Kot 1990) em três intervalos (linhas quebradas na Figura 1) da

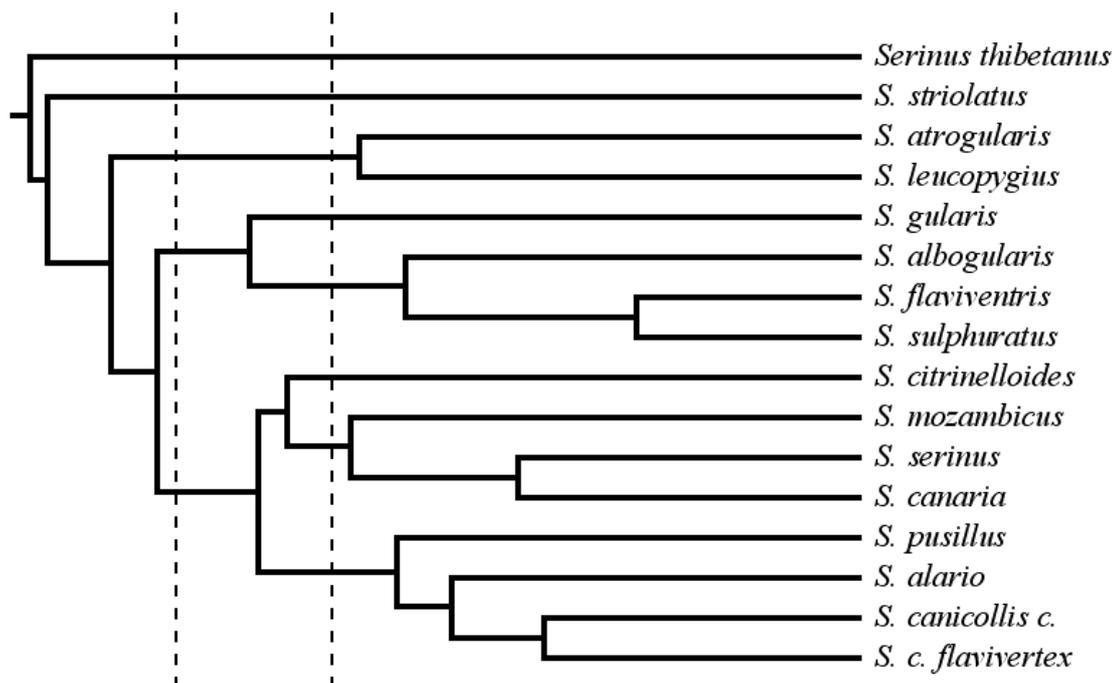


Figura 1 – Árvore filogenética das espécies de *Serinus* usadas neste estudo que são compreendidas pela filogenia molecular de Arnaiz-Villena *et al.* (1999). As linhas quebradas verticais separam os intervalos de tempo usados no teste de sinal filogenético pelo *I* de Moran (ver texto).

filogenia molecular de Arnaiz-Villena *et al.* (1999). Comparámos os valores de *Z* das características de coloração entre os sexos e com os valores das medições de tamanho.

Análise de sinal filogenético baseada em simulações

Para avaliar a metodologia comparativa baseada em simulações, na qual baseamos muito do restante deste trabalho, fizemos uma segunda avaliação de sinal filogenético utilizando simulações.

Resumidamente, as quatro etapas desta metodologia são: a) construir modelos evolutivos para cada hipótese alternativa e simular muitos conjuntos de dados com cada modelo (doravante os conjuntos de dados simulados são referido como as previsões das hipóteses); b) escolher uma estatística capaz de diferenciar as previsões das hipóteses alternativas; c) quantificar quão discrimináveis são as previsões das hipóteses alternativas usando a estatística escolhida; e d) avaliar o ajuste dos dados reais às previsões das hipóteses, mais uma vez utilizando a estatística escolhida. Se na etapa c) as previsões de hipóteses alternativas forem semelhantes, é aconselhável escolher uma estatística mais adequada, ou combinar as previsões de mais que uma estatística como mostramos numa análise mais adiante. No resto da secção de Métodos continuamos a escrever a), b), c) e d) para identificar cada uma destas etapas.

a) Fizemos 1000 simulações de evolução por movimento Browniano (*e.g.* Garland *et al.* 1991) pela filogenia do género (Figura 1), e outras 1000 por uma filogenia em estrela com o mesmo comprimento total e número de taxa. Estes conjuntos de fenótipos simulados representam a gama de sinal filogenético previsto pela filogenia do género *Serinus* e apenas pelo acaso, respectivamente.

b) Como estatística para diferenciar as previsões destes modelos escolhemos o coeficiente de correlação entre distâncias fenotípicas e filogenéticas. Distâncias fenotípicas são o valor absoluto da diferença de fenótipos entre cada par de espécies; distâncias filogenéticas são o comprimento dos ramos até ao ancestral mais recente de cada par de espécies. Todos os pares de fenótipos nas pontas da filogenia foram usados para calcular o coeficiente de correlação. São previstos coeficientes de correlação maiores pela primeira hipótese, a hipótese de sinal filogenético significativo.

c) Calculámos a probabilidade de um coeficiente de correlação aleatório obtido por cada modelo se encontrar dentro dos limites de confiança do modelo alternativo; *i.e.* a probabilidade de um coeficiente aleatório do primeiro modelo ser menor que o 95º percentil da distribuição de coeficientes do segundo modelo e, da mesma forma, a probabilidade de um coeficiente aleatório do segundo modelo ser maior que o 5º percentil do primeiro. Estas duas probabilidades podem diferir um pouco devido às diferentes formas das distribuições

Note-se que este procedimento segue uma lógica unicaudal, porque os valores da estatística que escolhemos são claramente previstos serem maiores num dos modelos. Em situações em que esta previsão não possa ser feita, ou se por qualquer razão for preferido fazer um teste bicaudal, os intervalos de confiança vão desde o percentil 2.5º ao 97.5º (para o nível convencional de probabilidade de erro do tipo I de 0.05).

d) Por fim, comparámos o coeficiente de correlação real das espécies de *Serinus* com as distribuições geradas pelas duas hipóteses alternativas. A hipótese de sinal filogenético significativo é rejeitada se o coeficiente de correlação real for menor que o 5º percentil da sua distribuição, e a hipótese de ausência de sinal filogenético é rejeitada se a correlação real for superior ao seu 95º percentil. Apenas foram usados os dados das espécies de *Serinus* incluídas na filogenia molecular em que os modelos foram corridos.

Existe a possibilidade de nenhuma das hipóteses ser rejeitada, a probabilidade da qual é dada na etapa c) sob a assunção de uma das hipóteses ser verdadeira. Os valores obtidos em c) são análogos à probabilidade de erro estatístico do tipo II, ou a 1 - o poder estatístico para discriminar as hipóteses alternativas.

Mudança gradual versus especiacional

Testámos modelos de gradualismo filético *versus* mudança especiacional com a metodologia baseada em simulações descrita acima. a) As simulações das hipóteses gradual e de mudança especiacional foram feitas usando, respectivamente, o mesmo modelo

Browniano que anteriormente, e uma sua modificação em que a mudança de fenótipos é limitada às bifurcações na filogenia. b) Os fenótipos simulados exibem sinais filogenéticos e formas das distribuições diferentes, dependendo da topologia da filogenia. Como estatísticas para diferenciar as previsões dos dois modelos experimentámos os coeficientes de correlação entre distâncias fenotípicas e filogenéticas, a assimetria e kurtose das distribuições de fenótipos simulados. c) A melhor discriminação de modelos foi obtida com a kurtose dos fenótipos (Z_g , de Anscombe & Glynn 1983, em Zar 1996, p. 119), que foi adoptada para d) avaliar o ajuste dos dados reais de *Serinus* aos modelos.

Também comparámos o ajuste das pontuações de coloração de *Serinus* spp. aos modelos gradual e especiacional usando a metodologia de log-likelihood de Mooers *et al.* (1999). Os cálculos foram feitos com uma versão modificada do programa CONTML do software PHYLIP disponibilizada por Mooers *et al.* (1999).

Evolução independente

a) Simulámos evolução independente dos sexos por movimento Browniano e, b) como estatística de teste, calculámos o coeficiente de correlação entre os fenótipos de machos e fêmeas conspecíficos. A hipótese alternativa de evolução correlacionada não foi simulada porque implica a inserção de um parâmetro adicional (a intensidade da correlação ou constrangimento entre os sexos), o que inviabiliza a comparação das hipóteses por este método (Johnson & Omland 2004). Em vez disto, d) testámos directamente o ajuste dos dados de *Serinus* spp. às previsões da hipótese de evolução independente, como em Garland *et al.* (1991).

Isto é equivalente a um teste da significância da correlação entre os sexos controlando o efeito da filogenia, o que também fizemos regredindo contrastes independentes pela origem (Felsenstein 1985). Os contrastes foram calculados com o programa CONTRAST do software PHYLIP 3.6 (Felsenstein 2000).

Evolução com constrangimento entre os sexos

É evidente uma distribuição triangular das pontuações de coloração de machos e fêmeas (Figura 2A), tendo a coloração dos machos valores semelhantes ou superiores aos das fêmeas. As nossas simulações de evolução correlacionada entre os sexos tomam este aspecto em consideração. Simulámos três modelos de evolução correlacionada (etapa a, como indicado acima): um modelo de constrangimento feminino, um modelo de constrangimento masculino, e um modelo de partilha de pressões selectivas.

No modelo de constrangimento feminino os dois sexos evoluem independentemente por movimento Browniano mas as fêmeas são impedidas de ultrapassar o valor síncrono do fenótipo dos machos conspecíficos (*i.e.* não se tornam mais conspícuas que os machos) e, a cada passo na filogenia, o fenótipo das fêmeas é puxado na direcção dos machos por uma proporção constante da sua diferença fenotípica. Esta constante foi calculada

iterativamente de forma a originar conjuntos de fenótipos simulados com correlação média entre os sexos igual à correlação real das espécies de *Serinus*. O modelo de constrangimento masculino é o reverso deste: o fenótipo dos machos é impedido de se tornar menos conspicuo que o das fêmeas, e é puxado em direcção ao fenótipo das fêmeas por uma proporção constante das diferenças fenotípicas.

No modelo de partilha de pressões selectivas, a cada passo na filogenia, quando os machos se tornam menos conspicuos que as fêmeas as suas pontuações de coloração são repostas no seu valor médio. Além disto, ambos os sexos são igualmente puxados na direcção do valor médio dos seus fenótipos por uma proporção constante da sua diferença fenotípica. Esta média das diferenças fenotípicas funciona como um óptimo adaptativo comum aos dois sexos, com a vantagem importante de constranger os dois sexos sempre com igual intensidade. A diferença entre este modelo e os anteriores é a sua simetria: nenhum sexo é mais constrangido que o outro. Porque ambos os sexos são simultaneamente constrangidos, a constante usada para puxar os fenótipos de cada sexo é metade da usada nos modelos anteriores. Isto mantém a correlação média entre os sexos igual à dos modelos anteriores, permitindo assim a comparação das suas previsões (Johnson & Omland 2004).

Note-se que o movimento Browniano foi simulado como a soma de números aleatórios retirados de uma distribuição normal, por muitos intervalos temporais iguais (*e.g.* Björklund 1994). Para isto, a árvore filogenética foi dividida em intervalos temporais iguais com uma duração escolhida de forma a manter as distâncias relativas entre as bifurcações ($1/90^\circ$ do comprimento da árvore). Isto é equivalente ao procedimento mais comum de multiplicar números aleatórios pelo comprimento dos ramos (*e.g.* Garland *et al.* 1991), e nas simulações anteriores seria equivalente usar qualquer um destes procedimentos. Nas simulações desta secção, sobre evolução correlacionada dos sexos, este procedimento foi útil por providenciar fenótipos síncronos com os quais pudemos computar várias formas de constrangimento.

Em vez da etapa b), escolher uma estatística para diferenciar as previsões das hipóteses, quantificámos quão discrimináveis são estas previsões (etapa c) usando as três estatísticas seguintes. 1) A diferença de desvios padrão das distribuições dos fenótipos de machos e fêmeas. 2) A assimetria (Z_{g_i} de D'Agostino & Pearson 1973, em Zar 1996, p. 117) da distribuição conjunta dos fenótipos de machos e fêmeas. 3) A diferença de declives de regressão entre os fenótipos de um sexo e os fenótipos do outro sexo conspécífico. Estas três estatísticas foram calculadas após estandardização da distribuição conjunta dos fenótipos de machos e fêmeas. Depois usámos estas estatísticas para avaliar o ajuste das pontuações de coloração estandardizados de *Serinus* spp. aos modelos (etapa d).

O *rationale* e previsões de cada uma destas três estatísticas é o seguinte. 1) Espera-se que a dispersão de fenótipos seja menor no sexo mais constrangido devido ao efeito canalizador do constrangimento. Assim, a diferença de desvios padrão de machos e fêmeas

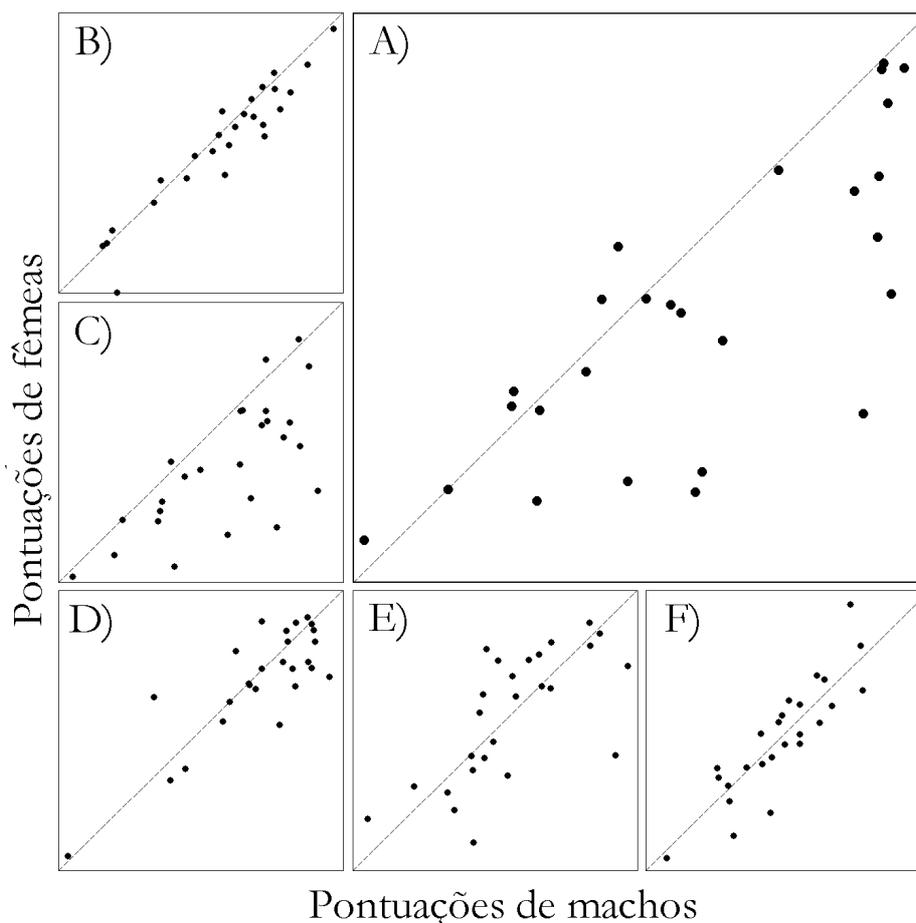


Figura 2 – Relação entre machos e fêmeas em (A) pontuações de coloração e (B a F) pontuações nos cinco CPs significativos da ACP às características de coloração de ambos os sexos. Os eigenvalues e pesos das características nestes componentes são dados na Figura 3. As pontuações de coloração são a soma das pontuações dos CPs significativos, escalados pelos seus eigenvalues.

tende a ser positiva quando os machos são o sexo independente, negativa quando as fêmeas são o sexo independente, e a apresentar valores intermédios no modelo de partilha de pressões selectivas porque ambos os sexos são igualmente constrangidos. 2) A distribuição conjunta dos fenótipos simulados consiste na junção de duas distribuições (dos machos e das fêmeas) com médias e variâncias diferentes, sendo que a variância do sexo mais constrangido é menor. Assim, a distribuição conjunta tenderá a ser assimétrica na direcção do sexo independente (*i.e.* assimetria positiva se os machos são o sexo independente, negativa se as fêmeas). Pela mesma razão que anteriormente, o modelo de partilha de pressões selectivas é intermédio. 3) Espera-se que o declive da regressão de fenótipos das fêmeas sobre os machos conspécíficos seja menor quando os machos são o sexo independente porque, quando os sexos são semelhantes (*i.e.* as espécies ocupam uma posição perto da linha diagonal na Figura 2A), a diminuição de coloração nos machos arrasta consigo o fenótipo das fêmeas, fazendo aumentar a densidade de espécies na parte

inferior da diagonal na Figura 2A. Esperam-se declives mais pronunciados quando as fêmeas são o sexo independente, arrastando os machos para, e aumentando a densidade de espécies na parte superior da diagonal. Como esta assimetria está ausente no modelo de partilha de pressões selectivas, são esperados declives intermédios. O declive da regressão dos fenótipos das fêmeas sobre os machos varia em sentido oposto ao declive alternativo da regressão de machos sobre fêmeas; estes declives alternativos mostram maior sensibilidade para um ou outro dos extremos da gama de declives, pelo que é obtida uma maior discriminação de modelos com a diferença dos dois declives, que por isso utilizámos.

Finalmente, efectuámos um teste bicaudal usando estas três estatísticas simultaneamente. Categorizámos os trios de estatísticas do conjunto de todas as simulações em intervalos tridimensionais de 0.5 desvios padrão de aresta. O espaço de confiança bicaudal para cada modelo é o grupo de intervalos tridimensionais (por ordem decrescente de densidade) que compreendem 95% das simulações de cada modelo. A discriminação entre as previsões dos modelos (etapa c) e o ajuste dos dados de *Serinus* spp. aos modelos (etapa d) foram calculados como anteriormente, por referência a estes espaços de confiança tridimensionais. Note-se que quer a categorização, quer o teste bicaudal tornam esta abordagem mais conservadora.

Usámos uma quarta estatística com estes modelos: o coeficiente de correlação entre distância fenotípicas e filogenéticas (a mesma usada no teste de sinal filogenético). Usámos esta estatística apenas para avaliar a asserção de que o sinal filogenético baixo da coloração de fêmeas indica selecção directa sobre a conspicuidade nas fêmeas (Irwin 1994, Burns 1998).

Resultados

Covariação de características de coloração e dicromatismo

Os primeiro cinco CPs de ACPs separadas para as medições de coloração de cada sexo de *Serinus* spp. foram significativos pelo critério de broken-stick (Jackson 1993, Figura 3A) e explicam 0.76 da variação nos machos e 0.73 nas fêmeas. Note-se que os eigenvalues dos CPs de machos e fêmeas não são directamente comparáveis, porque a variação total em cada sexo pode diferir. Os pesos das variáveis de coloração em machos e fêmeas correlacionaram-se significativamente em cada um destes cinco CPs (todos os $r_p > 0.71$, todos os $P < 0.01$, $N = 26$), indicando que os sexos têm padrões de covariação das características de coloração muito semelhantes. Os pesos das variáveis de coloração no primeiro CP foram consistentemente maiores nos machos que nas fêmeas (teste T emparelhado, $T = 3.49$, $P < 0.01$, $N = 22$), indicando covariação mais forte das características de coloração nos machos. Os pesos das variáveis não diferiram significativamente nos outros componentes.

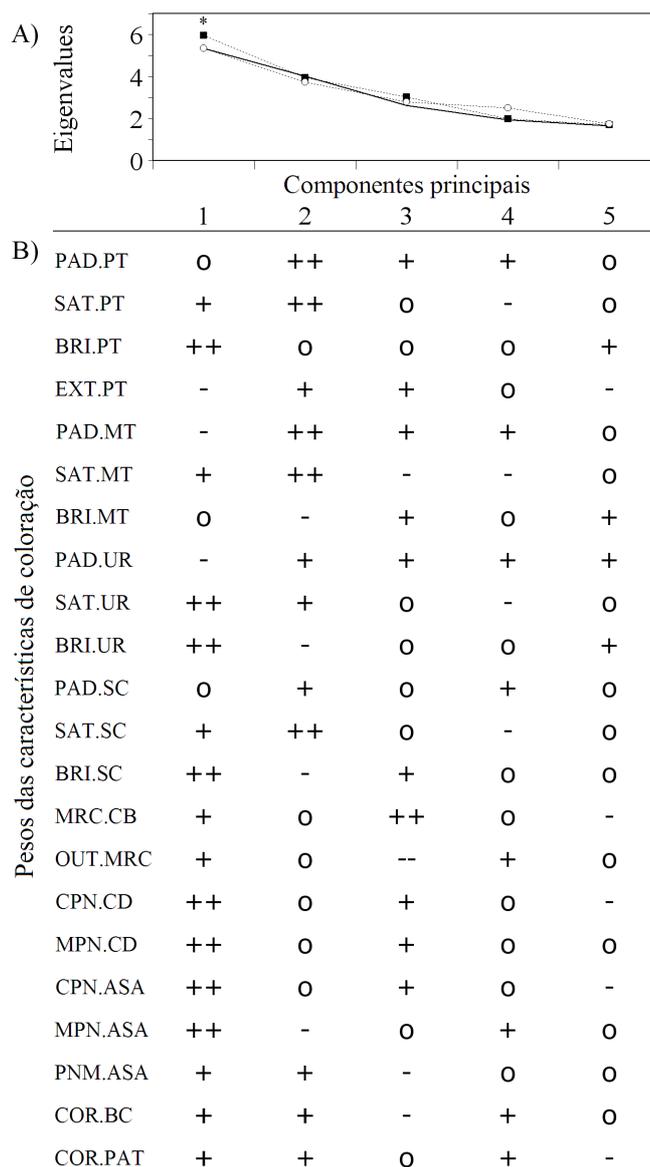


Figura 3 – (A) Eigenvalues dos cinco CPs significativos de ACPs feitas às características de coloração de machos (quadrados sombreados), fêmeas (círculos brancos) e ambos os sexos (linha sólida) de *Serinus spp.* * indica o único CP em que os pesos das características de machos e fêmeas diferiram significativamente. (B) Pesos nos cinco CPs da ACP feita às características de coloração de ambos os sexos; *i.e.* coeficientes de correlação entre as características e os CPs. As definições das características de coloração são dadas no Apêndice 3. Para facilidade de leitura os pesos das características estão categorizados como: -- de -1 a -0.6, - de -0.6 a -0.2, 0 de -0.2 a 0.2, + de 0.2 a 0.6, e ++ de 0.6 a 1.

Como anteriormente, os primeiros cinco CPs da ACP única para ambos os sexos foram significativos pelo critério de broken-stick. O primeiro CP é caracterizado principalmente pelo brilho da cor nas partes maiores do corpo e pela ornamentação das asas e cauda; a maioria das outras características também têm pesos positivos neste CP e

nenhuma tem pesos negativos fortes (Figura 3B). Assim, este CP é uma boa medida de ornamentação no género, embora não exaustiva porque existem outros CPs significativos. O segundo CP é caracterizado sobretudo pela saturação da cor e padrão de pigmentação nas partes maiores do corpo, e pela extensão da área amarela do peito (Figura 3B). Os terceiro a quinto CPs são mais fortemente caracterizados pelas marcas amarelas na cabeça, o padrão de coloração na parte de trás do corpo, e o brilho da cor no manto, respectivamente (Figura 3B).

As pontuações de coloração de machos e fêmeas correlacionaram-se significativamente ($r_p = 0.76$, $P < 0.01$, $N = 26$) e mostraram uma distribuição triangular, sendo que as pontuações dos machos foram maiores ou semelhantes às das fêmeas conspecíficas (Figura 2A). A distribuição triangular das pontuações de coloração deveu-se ao segundo CP, uma vez que a relação entre os sexos nos outros quatro CPs significativos foi aproximadamente linear (Figura 2B a F). Este segundo CP reflecte principalmente a saturação da cor e padrão de pigmentação, enquanto que o brilho da cor e a maioria das outras características foram mais importantes no primeiro CP (Figura 3B). Assim, as principais causas de dicromatismo sexual no género *Serinus* foram a saturação e padrão de pigmentação nas partes maiores do corpo, mas não o brilho dessas mesmas partes corporais.

Labilidade evolutiva

Muito poucas características de coloração tiveram sinal filogenético significativo em qualquer dos três intervalos temporais em que calculámos o I de Moran (Figura 1). Das 22 características de coloração, apenas duas características nos machos no intervalo mais antigo, e uma nas fêmeas no intervalo do meio tiveram valores de Z significativos (Gittleman & Kot 1990). Consequentemente, o sinal filogenético da pontuação de coloração não foi significativo para nenhum sexo em nenhum intervalo de tempo (todos os $Z < 0.58$, valor crítico de $Z = 1.96$). Pelo contrário, as características morfométricas mostraram consistentemente a existência de sinal filogenético nos dois primeiros intervalos de tempo. Das cinco medições morfométricas, três nos machos e três nas fêmeas no primeiro intervalo de tempo, e duas nos machos e quatro nas fêmeas no segundo intervalo tiveram valores de Z significativos. Os valores de Z das características de coloração não diferiram entre os sexos (testes T emparelhados, em qualquer intervalo de tempo $T < 1.8$, $P > 0.09$, $N = 22$). Nos dois intervalos de tempo em que as características morfométricas apresentaram sinal filogenético, os valores de Z das características de coloração foram significativamente menores (indicando maior labilidade evolutiva) que os de características morfométricas (testes T , para machos ou fêmeas $T > 3.38$, $P < 0.01$, graus de liberdade = 25).

Os coeficientes de correlação entre distâncias filogenéticas e fenotípicas (no resto desta secção, simplesmente coeficientes) simulados segundo a hipótese de sinal filogenético

significativo tiveram uma probabilidade de 0.75 de serem inferiores ao 95° percentil da distribuição segundo a hipótese de ausência de sinal filogenético. A probabilidade de um coeficiente da segunda hipótese ser superior ao 5° percentil dos coeficientes da primeira foi de 0.78. Logo, as previsões destes modelos são pouco distinguíveis.

O coeficiente das pontuações de coloração de machos de *Serinus* spp. (0.05) encontrou-se no 20° percentil da distribuição segundo a hipótese de sinal filogenético significativo, e no 66° percentil da distribuição da hipótese de ausência de sinal filogenético. Desta forma, nenhuma das hipóteses pôde ser rejeitada. O coeficiente das pontuações de coloração das fêmeas (-0.13) situou-se no 2° percentil da primeira hipótese e no 15° da segunda. Assim, rejeitou-se a hipótese de existência de sinal filogenético significativo para a coloração das fêmeas. Em relação às pontuações de características morfométricas (*i.e.* pontuações do único CP significativo de uma ACP das medições morfométricas) a hipótese de sinal filogenético significativo não foi rejeitada para nenhum sexo (coeficiente dos machos 0.29, 77° percentil; coeficiente das fêmeas 0.34, 84° percentil), e a hipótese de ausência de sinal filogenético foi rejeitada (machos, 96° percentil; fêmeas, 98° percentil).

Mudança gradual versus especiacional

As previsões das hipóteses de evolução gradual e especiacional sobrepuseram-se muito. A kurtose da distribuição de fenótipos gerados pelo modelo de evolução gradual tem uma probabilidade de 0.84 de ser inferior ao 95° percentil das distribuições geradas pela hipótese de mudança especiacional. Da mesma forma, a probabilidade de a kurtose segundo o último modelo ser inferior ao 5° percentil do primeiro é de 0.85.

A kurtose das pontuações de coloração dos machos de *Serinus* spp. corresponde ao 86° percentil da distribuição de kurtoses por evolução gradual, e ao 99° percentil da distribuição sob mudança especiacional. Assim, a hipótese de mudança por especiacional é rejeitada para a coloração dos machos. Para a pontuação de coloração das fêmeas e para a pontuação morfológica de cada sexo não foi obtida discriminação das duas hipóteses (percentis correspondentes: coloração das fêmeas 30° e 34°, pontuação morfométrica dos machos 14° e 18°, pontuação morfométrica das fêmeas 64° e 70°).

As log-likelihoods dos modelos Brownianos e especiacionais relativamente a uma hipótese nula a-histórica (Mooers *et al.* 1999) foram, respectivamente, para a pontuação de coloração dos machos -0.02 e -1.38, e da fêmeas -1.54 e -1.52. O limiar de suporte relativo equivalente à probabilidade convencional de erro de tipo I de 0.05 é a diferença de 2 log-likelihoods (Edwards 1992, pp. 180-190), pelo que nenhuma das hipóteses é rejeitada em favor das outras. Para as pontuações morfométricas os modelos Browniano e especiacional não foram distinguidos, mas o modelo a-histórico foi rejeitado por comparação com o modelo Browniano em fêmeas. As log-likelihoods foram, na mesma ordem que anteriormente, para os machos 1.92 e 1.94, e para a fêmeas 2.57 e 1.35.

Tabela 1 – Distinctividade das previsões dos modelos de evolução com constringimento entre os sexos, como a probabilidade de coincidência com os intervalos de confiança de modelos alternativos. Posicionamento da coloração de *Serinus* spp. em relação aos modelos.

		Probabilidade de os valores simulados pertencerem ao intervalo de confiança de modelos alternativos †			Percentis / probabilidade da coloração de <i>Serinus</i> spp. relativamente aos modelos simulados ‡					
Estatística	Modelo simulado	Constringimento das fêmeas	Constringimento dos machos	Partilha de pressões selectivas	Constringimento das fêmeas	Constringimento dos machos				
	Modelo alternativo	Constringimento dos machos	Constringimento das fêmeas	Constringimento das fêmeas	Constringimento das fêmeas	Constringimento dos machos				
Diferença de desvios padrão		0.456	0.851	0.491	0.872	0.768	0.736	0.416	0.982 *	0.820
Assimetria		0.825	0.896	0.826	0.887	0.890	0.893	0.193	0.753	0.568
Diferença de declives de regressão		0.560	0.732	0.541	0.753	0.863	0.900	0.630	0.013 *	0.021 *
Conjunto das três estatísticas		0.519	0.577	0.554	0.585	0.578	0.575	0.630	<0.001 *	0.302

† - Foram usados os intervalos de confiança de 95% unicaudais nos testes com estatísticas individuais e os intervalos de confiança de 95% bicaudais no último teste.

‡ - Nos testes com estatísticas individuais são dados os percentis correspondentes nas distribuições de estatísticas simuladas para cada modelo. No teste que combina as três estatísticas é dada a probabilidade de o trio de estatísticas da coloração de *Serinus* spp. ou trios menos frequentes serem originados pelos modelos simulados.

* - Percentil ou probabilidade (primeiro três e último teste, respectivamente) fora dos limites de confiança das previsões do modelo.

Fornecendo as pontuações de cada um dos CPs significativos como características independentes, em vez da pontuação de coloração única, aumenta as diferenças de log-likelihood (Mooers *et al.* 1999). Com este procedimento as log-likelihoods foram, na mesma ordem que anteriormente, para a coloração dos machos -0.39 e -4.24, e para a coloração das fêmeas 0.02 e -2.04, rejeitando assim o modelo especiacional em favor dos modelos gradual ou a-histórico em ambos os sexos.

Evolução independente

Os coeficientes de correlação entre os sexos para a coloração (0.70) e morfologia (0.97) excedem o 99º percentil das simulações de evolução independente, rejeitando assim este modelo. Os contrastes independentes de coloração e morfologia estão significativamente relacionados entre os sexos (contrastos de cor, coeficiente de regressão pela origem estandardizado $B_{st} = 0.69$, $P < 0.01$, $N = 15$; contrastos de morfologia, $B_{st} = 0.97$, $P < 0.01$, $N = 15$).

Evolução com constrangimento entre os sexos

A Tabela 1 mostra quão discrimináveis são as previsões dos três modelos de evolução com constrangimento sexual, com cada uma de três estatísticas. Obtivemos melhor discriminação dos modelos com 1) a diferença de desvios padrão, com a qual o modelo de constrangimento masculino foi rejeitado, e 2) a diferença de declives das regressões entre os sexos, com a qual foram rejeitados os modelos de constrangimento masculino e de partilha de pressões selectivas.

As discriminações entre hipóteses obtida com o uso simultâneo das três estatísticas (última linha da Tabela 1) foram semelhantes a, ou maiores que, as obtidas com uma só estatística, apesar de estas serem bicaudais e as anteriores unicaudais. Assim, a junção multidimensional destas estatísticas aumentou consideravelmente o poder estatístico do método. Pelo uso simultâneo destas estatísticas o modelo de constrangimento masculino foi rejeitado ($P < 0.001$, Tabela 1). Os modelos de constrangimento feminino e de partilha de pressões selectivas não foram rejeitados, mostrando uma probabilidade de explicar os dados de coloração em *Serinus* spp. de 0.63 e 0.30, respectivamente (Tabela 1).

Os coeficientes de correlação entre distâncias fenotípicas e filogenéticas forneceram uma discriminação muito baixa dos modelos (probabilidade de os coeficientes pertencerem aos intervalos de confiança de hipóteses alternativas sempre > 0.91) e não resultou na rejeição de nenhuma hipótese para nenhum dos sexos.

Discussão

Covariação de características de coloração

A variação interespecífica das características de coloração em cada um dos sexos de *Serinus* spp. está organizada em mais do que um eixo significativos. Estes eixos são idênticos nos dois sexos, indicando que os sexos não diferem no padrão de covariação das características de coloração. Apesar de enquadrados num padrão de organização idêntico, a covariação de características é discernivelmente mais forte nos machos que nas fêmeas, por os pesos das características de coloração serem maiores no primeiro componente dos machos.

A covariação de características de coloração mais fraca nas fêmeas é esperada por evolução com constrangimento sexual. A teoria prevê que os ornamentos evoluam em ambos os sexos por correlação genética, apesar de pressões selectivas antagónicas em machos e fêmeas, porque a variância em sucesso reprodutor dos machos é maior (Shuster & Wade 2003). O sexo mais constrangido deve então adquirir progressivamente independência das vias de desenvolvimento, resultando em aproximações sucessivas e parciais ao seu óptimo adaptativo (Lande 1980, 1987). Podemos inferir que estas pressões selectivas contrárias e a diferenciação parcial da ontogenia perturbe até certo grau o padrão de covariação das características de coloração nas fêmeas.

Este processo é também sugerido pela prevalência de dicromatismo sexual dependente de estrogénios em aves (Owens & Short 1995). Em dicromatismo dependente de estrogénios o estado neutro de desenvolvimento é a coloração ornamentada típica dos machos, e o desenvolvimento de plumagem críptica nas fêmeas é mediado por estrogénios. Isto indica que a evolução de coloração conspícua inicialmente afectava ambos os sexos e que foi mais tarde limitada nas fêmeas (Kimball & Ligon 1999).

Dicromatismo

Os sexos diferem sobretudo na saturação de cor e no padrão de pigmentação (de malhada a liso) da partes corporais maiores, que são as características que definem o segundo componente principal da variação interespecífica na coloração em *Serinus* spp. Independentemente de o dicromatismo resultar de selecção de conspicuidade nos machos ou de camuflagem nas fêmeas, o facto de este se reflectir no segundo componente principal, e não no primeiro, mostra que os sexos estão sujeitos a uma quantidade limitada de evolução independente.

É relevante que as características mais importantes neste segundo componente sejam medidas de saturação. A saturação de cores baseadas em pigmentos carotenóides tem custos intrínsecos (revisto em Hill 1996 e Olson & Owens 1998, ver também Hill 1999). Por exemplo, os carotenóides são frequentemente raros na dieta (Linville & Breitwisch 1997, Grether *et al.* 1999) e aspectos do seu metabolismo dependentes de condição ou de

energia diminuem a expressão da coloração (Brawner *et al.* 2000, Hill 2000). Sabe-se por estudos comparativos que a coloração baseada em carotenóides, mas não em melaninas, se correlaciona com o dicromatismo sexual em aves (Gray 1996, Badyaev & Hill 2000, mas ver também Owens & Hartley 1998). Usando o dicromatismo como um indicador da intensidade de selecção sexual, esta correlação foi interpretada como evidência para selecção sexual da coloração baseada em carotenóides nos machos, provavelmente por sinalizar a qualidade dos machos de forma honesta, mediada pelos seus custos (Zahavi 1975).

Em situações de evolução correlacionada entre machos e fêmeas é possível uma explicação alternativa a esta. Por causa do seu custo, a coloração de carotenóides deve ser mais fortemente contra-seleccionada nas fêmeas que outras características (Cuervo & Møller 2000). Isto causaria uma diferenciação mais rápida dos fenótipos de machos e fêmeas comparativamente com outras características, e as correlações genéticas enfraquecidas entre os sexos daí resultantes facilitariam a sua evolução independente futura. Esta explicação de estrangimento nas fêmeas para a importância de coloração de carotenóides no dicromatismo sexual é alternativa, e provavelmente complementar, à explicação de selecção sexual em machos. A importância relativa das duas explicações é empiricamente tratável. Por exemplo, a hipótese de selecção dos machos (mas não a hipótese de estrangimento das fêmeas) prevê uma associação entre o dicromatismo de carotenóides e a intensidade de selecção sexual (avaliada por uma medida que não o dicromatismo ele próprio).

Labilidade Evolutiva

Muitos estudos comparativos mostraram que coloração e outros ornamentos sexuais secundários são muito evolutivamente lábeis quer intra- (Uy & Borgia 2000, Ödeen & Björklund 2003) quer interespecificamente (Kusmierski *et al.* 1997, Cuervo & Møller 1999, Kimball *et al.* 2001). Esta labilidade traduz-se frequente pela perda e recorrência dos mesmos ornamentos (Price & Pavelka 1996, Omland & Lanyon 2000). Isto contrasta com os sinais filogenéticos normalmente mais fortes e evolução conservadora de características morfológicas não sexuais (Björklund 1991b, 1994, Björklund & Merilä 1993, Gittleman *et al.* 1996, Cuervo & Møller 1999, Blomberg *et al.* 2003). Tal instabilidade das características sexuais secundárias é coerente com evolução por selecção sexual, porque alguns mecanismos de selecção sexual são inerentemente instáveis (Iwasa & Pomiankowski 1995), e porque a selecção sexual é frequentemente oposta por outras formas de selecção natural. Os nossos resultados concordam com esta visão geral, uma vez que encontramos sinais filogenéticos de coloração mais baixos que de características morfológicas.

A análise por simulação detectou ainda uma diferença entre os sexos. As pontuações de coloração dos machos são compatíveis com os modelos de sinal filogenético aleatório e significativo, enquanto que as pontuações de coloração das fêmeas se encontram fora do

intervalo de confiança do modelo de sinal filogenético significativo. Isto concorda com estudos prévios que encontraram maior labilidade evolutiva na coloração de fêmeas que de machos (Irwin 1994, Burns 1998, mas ver também Figuerola & Green 2000). A maior labilidade nas fêmeas foi interpretada como evidência de selecção directa da conspicuidade nas fêmeas e de evolução por selecção sexual. No entanto, esta interpretação é problemática porque modelos de evolução com constrangimento genético prevêm o fenótipo do sexo constrangido oscilando devido à oposição entre selecção natural e constrangimento genético (Lande 1980, 1987), o que também deve diminuir o sinal filogenético. De qualquer forma, mostrámos que o sinal filogenético fornece uma muito má discriminação dos modelos de evolução independente ou constrangida, pelo que não deve ser usado *per se* para inferir selecção sexual num sexo.

Mudança gradual versus especiacional

A avaliação do modo de evolução gradual ou especiacional é importante porque mudança especiacional é um padrão comum na macroevolução de aves (Cubo 2003, Ricklefs 2004), e porque tem implicações na escolha de testes e métodos analíticos apropriados (ver abaixo). O modelo especiacional analisado é incompleto porque omite as especiações que originaram espécies não compreendidas pela filogenia molecular ou que originaram espécies extintas. Os resultados são válidos apenas na medida que a topografia das especiações conhecidas na filogenia reflecta o padrão completo no género.

A grande sobreposição de estatísticas produzidas pelas simulações Browniana e especiacional mostram que, para esta filogenia particular, as duas hipóteses fazem previsões semelhantes e que testes para as diferenciar têm pouco poder estatístico. Consequentemente, a discriminação de modelos foi conseguida apenas em relação à coloração de um sexo, masculino, sendo que evolução por especiação foi rejeitada em favor de evolução gradual. O teste entre evolução gradual e especiacional por log-likelihood (Mooers *et al.* 1999) rejeitou o modelo especiacional para a coloração de ambos os sexos quando analisando as pontuações dos cinco CPs como características independentes.

Estes resultados indicam que a evolução da coloração em *Serinus* spp. foi essencialmente gradual ou que um número suficientemente grande de pontuações desconhecidas na filogenia torna as previsões dos dois processos muito semelhantes. Em qualquer das situações, porque o modelo de evolução gradual descreve a distribuição dos fenótipos de coloração melhor, fica justificado o uso de tamanho dos ramos não transformados nas restantes simulações. Assim, e porque todos os dados provêm de espécies contemporâneas, as análises são insensíveis a direccionalidade (Pagel 1999b), pelo que não é necessário estimar e usar probabilidades de transição nas restantes simulações (Mooers & Schluter 1999, Omland 1999).

Evolução independente ou constrangida entre os sexos

Apesar de a correlação entre os sexos em *Serinus* spp. ser menor para as pontuações de coloração que de morfologia, ambas são muito maiores que o esperado pelo acaso. Isto denota a existência de uma forte força restritiva que unifica a evolução dos dois sexos.

Dos três modelos de evolução correlacionada testados, o modelo de evolução independente dos machos e constrangimento das fêmeas é o que explica melhor o padrão de coloração no género *Serinus*. Os modelos alternativos, de constrangimento nos machos ou de partilha de pressões selectivas, foram rejeitados com testes unicaudais. Uma abordagem bicaudal mais conservadora, usando três estatísticas em simultâneo, também rejeitou o modelo de constrangimento nos machos e atribuiu metade da probabilidade ao modelo de partilha de pressões selectivas por comparação com o modelo de constrangimento nas fêmeas. Como estes modelos não são mutuamente exclusivos, uma interpretação conservadora dos resultados é que o constrangimento nas fêmeas e, com menor importância, a partilha de pressões selectivas entre os sexos explicam o padrão de coloração e dicromatismo em *Serinus* spp., enquanto que o efeito de constrangimento nos machos é negligenciável.

Juntamente com os resultados sobre a covariação das características de coloração e dicromatismo, este resultado indica fortemente que a principal causa para a coloração conspicua em fêmeas de *Serinus* spp. é pleiotropia com a coloração dos machos. Isto está de acordo com a visão clássica de Darwin (1871) e com o modelo de constrangimento genético em características poligénicas de Lande (1980, 1987). Pelo contrário, os nossos resultados não apoiam estudos comparativos e opinião recentes sobre ornamentação das fêmeas, que propõem que selecção directa da conspicuidade nas fêmeas é mais importante que constrangimento (Irwin 1994, Burns 1998, Amundsen 2000a, b). É possível que diferentes grupos taxonómicos exibam diferentes processos evolutivos, mas pensamos que aspectos metodológicos podem ser responsáveis por esta discrepância, de forma que a evidência comparativa sobre constrangimento ou selecção dos ornamentos nas fêmeas deve ser reavaliada.

Crítica metodológica

Três estudos comparativos baseados em filogenias abordaram previamente a questão de constrangimento ou selecção na coloração das fêmeas em aves (Irwin 1994, Burns 1998, Figuerola & Green 2000), e outro no afastamento dos olhos em fêmeas de moscas da família Diopsidae (Baker & Wilkinson 2001). Estes estudos usaram critérios de parsimonia ou likelihood máxima para reconstruir estados ancestrais dos ornamentos de machos e fêmeas (coloração e afastamento dos olhos) e, baseados nessas reconstruções, avaliaram a quantidade relativa e direcção de mudança em cada sexo. Alguns destes estudos inferiram mais mudanças evolutivas em fêmeas que em machos (Irwin 1994, Burns 1998) e uma tendência para as fêmeas aumentarem em ornamentação independentemente dos machos

(Burns 1998), o que foi interpretado como evidência para selecção de ornamentação nas fêmeas. Este resultados, no entanto, podem estar fortemente enviesados por qualquer de três dificuldade associadas à reconstrução de estados ancestrais.

Primeiro, como mencionado na introdução, a reconstrução de estados ancestrais é muito imprecisa e produz intervalos de confiança largos (Schluter *et al.* 1997, Pagel 1999a). Por isso, seleccionar o conjunto de reconstruções mais parcimonioso como base de análises subsequentes suprime uma variedade de cenários evolutivos distintos e aceitáveis. Baker & Wilkinson (2001) tentaram compensar o problema da imprecisão efectuando análises não só com o conjunto de reconstruções mais parcimonioso, mas também com os dois conjuntos correspondentes aos limites mínimo e máximo dos intervalos de confiança das reconstruções. Mas isto meramente desloca o mesmo padrão de reconstruções numa direcção ou outra, afectando muito pouco as relações entre os estados ancestrais. Em estudos de evolução correlacionada entre machos e fêmeas como estes, uma tal imprecisão de reconstruções tem o efeito de dessincronizar as inferências de mudança evolutiva ao longo das linhas masculina e feminina, desta forma sobrestimando a quantidade de evolução independente dos sexos e enviesando as conclusões no sentido oposto a evolução correlacionada e constrangimento.

Segundo, a reconstrução de plumagem ancestral nos estudos com aves foi feita assumindo probabilidades de transição iguais, o que não acontece geralmente em aves, sendo que as perdas de coloração conspícua são normalmente mais frequentes que os ganhos (Price & Birch 1996, Omland 1997, Kimball *et al.* 2001, Wiens 2001, Kraaijeveld 2003). Este excesso de perdas em relação a ganhos não é necessariamente uma situação transitória, uma vez que pode ser mantida em equilíbrio pela tendência de as espécies mais ornamentadas especiarem mais (Barraclough *et al.* 1995, Møller & Cuervo 1998, Owens *et al.* 1999, mas ver também Morrow *et al.* 2003). Assim, a assunção de probabilidades de transição iguais deve ser verificada *a priori* (Omland 1999, Mooers & Schluter 1999, Baker & Wilkinson 2001). A adopção de modelos mais realistas, com maior probabilidade de perda que de ganho de ornamentos, diminuiria o número de aumentos de ornamentação inferidos em fêmeas, que é um resultado chave dos estudos acima mencionados.

Terceiro, a reconstrução de estados ancestrais depende em grande medida de quão comuns são os fenótipos. Por exemplo, se os dados provêm de espécies contemporâneas nunca são reconstruídos estados ancestrais fora do intervalo de fenótipos actuais e o valor da raiz é normalmente colocado próximo da média (Pagel 1999b). Assim, porque a maioria dos estados ancestrais são colocados junto aos fenótipos contemporâneos mais comuns, pode chegar-se à conclusão aparente de que os organismos tendem a evoluir na direcção do fenótipo mais raro (*e.g.* coloração conspícua em fêmeas) apenas por ser raro, e o inverso em relação ao fenótipo mais comum, o que é um paradoxo. Este problema deve ser verificado mesmo sem as incertezas da reconstrução de características ancestrais. Por exemplo, numa análise de variação intra-específica em aves, Peterson (1996) documentou ser cinco vezes

mais provável os machos perderem que ganharem cores conspícuas, e o inverso para as fêmeas, o que não constitui evidência para maior importância evolutiva da coloração conspícua nas fêmeas mas, como o autor conclui, simplesmente “reflectiu o facto de os machos da maioria das espécies terem plumagens conspícuas, e de as fêmeas terem inicialmente plumagem críptica.”

Conclusão

Vários dos nossos resultados suportaram a visão clássica de Darwin-Lande no género *Serinus*, segundo a qual a coloração conspícua nas fêmeas evoluiu sobretudo por pleiotropia com os machos. Juntamente com o argumento clássico sobre a existência de ornamentos vestigiais em fêmeas (Darwin 1871), com aspectos da fisiologia (Owens & Short 1995, Kimball & Ligon 1999) e desenvolvimento (Björklund 1991b) do dicromatismo sexual, e com as dificuldades metodológicas dos estudos comparativos prévios, é provável que constrangimento sexual prove ser a causa mais importante para a conspícuidade das fêmeas em aves.

Descobertas recentes de selecção sexual em fêmeas são um desenvolvimento importante para a teoria de selecção sexual (revisto em Amundsen 2000a, b), mas o entusiasmo que geraram contribuiu para a negligência precoce da importância de constrangimento nas fêmeas. Resultados como os nossos não excluem a possibilidade de existência de selecção sexual nas fêmeas, mas limitam a extensão das suas consequências na ornamentação, e compelem os investigadores a distinguirem entre valor adaptativo presente e origem evolutiva. A consideração explícita de constrangimento e evolução correlacionada com os machos deverá permitir uma interpretação dos ornamentos femininos num contexto evolutivo mais realista de adaptação e contingência (*e.g.* Autumn *et al.* 2002).

Breve avaliação da metodologia comparativa

Neste trabalho expandimos o uso do procedimento de simulação originalmente proposto por Garland e colegas para testar a significância de correlações (Garland *et al.* 1991) e de diferenças entre taxa (Garland *et al.* 1993) controlando efeitos filogenéticos. Com esta metodologia, as incertezas que embarçam a reconstrução de estados ancestrais não são ignoradas. Pelo contrário, são incorporadas nas simulações sob a forma de movimento Browniano, em que todas as simulações se baseiam. Este ruído é então utilizado para estabelecer os intervalos de confiança das previsões dos modelos evolutivos.

O procedimento básico consiste em obter muitos conjuntos de dados simulados segundo um modelo evolutivo (um modelo nulo na prática de Garland e colegas), e depois avaliar o ajuste dos fenótipos reais ao modelo utilizando uma estatística apropriado (*e.g.* o coeficiente de correlação para testar a correlação de duas características, a correlação entre

distâncias fenotípicas e filogenéticas para testar sinal filogenético, etc.). Qualquer modelo evolutivo pode ser testado com este procedimento desde que seja possível encontrar uma estatística adequada para avaliar o ajuste dos dados reais ao modelo. Para alguns modelos a escolha de uma estatística adequada é óbvia, mas para outros pode ser difícil ou impossível encontrar uma estatística única que expresse compreensivamente as suas previsões distintas. Este problema dificulta a rejeição de modelos, tornando o procedimento conservador. Como exemplificámos nas simulações de evolução com constrangimento, o problema pode ser minimizado combinando duas ou mais estatísticas que capturam cada uma diferentes previsões do modelo.

Ao contrário de Garland e colegas, que simulavam modelos nulos para as suas hipóteses de interesse, nós simulamos as hipóteses de interesse elas próprias juntamente com as suas alternativas. A aceitação de uma hipótese não depende apenas da sua não rejeição, uma vez que isto se pode dever a baixo poder estatístico do teste, mas também da rejeição das alternativas. Esta utilização do procedimento de simulações é, assim, logicamente semelhante a testes de log-likelihood (Edwards 1992) e outras técnicas de selecção de modelos (Johnson & Omland 2004) por as hipóteses serem aceites ou rejeitadas por comparação a uma ou mais alternativas.

A simulação de hipóteses alternativas permite a avaliação de quão distintas são as suas previsões. Esta avaliação é uma função da topologia da árvore filogenética e da estatística utilizada, é independente dos dados reais das espécies, e pode ser utilizada como uma ferramenta heurística para procurar estatísticas que diferenciem melhor as previsões dos modelos. Esta avaliação é também uma medida do poder estatístico para testar as hipóteses de interesse; isto é um resultado importante em si mesmo, por indicar as limitações da abordagem comparativa. Por exemplo, descobrimos que as previsões dos modelos de sinal filogenético aleatório e significativo se sobrepõem substancialmente para a filogenia de *Serinus*. Isto é compreensível considerando a topologia radial da filogenia e os longos comprimentos relativos dos seus ramos terminais (Arnaiz-Villena *et al.* 1999). A simulação de hipóteses alternativas também permitiu distinguir que, por exemplo, a pontuação de coloração das fêmeas tem um sinal filogenético verdadeiramente não significativo, enquanto que nos machos o sinal filogenético é compatível com ambos os modelos. Análises de sinal filogenético pelo I de Moran simplesmente concluem que ambos são não significativos. Nos outros testes por simulações em que pudemos replicar a análise com um método diferente, os resultados foram concordantes e a metodologia baseada em simulações mostrou uma sensibilidade equivalente ou superior.

A metodologia baseada em simulações tem algumas limitações. Uma limitação importante é a sua incapacidade de comparar modelos diferentemente parametrizados (Johnson & Omland 2004). A procura de estatísticas para diferenciar modelos complexos também pode ser difícil. Estes problemas não se aplicam, por exemplo, a comparações de log-likelihood. O desenvolvimento de ferramentas para testar modelos complexos por log-

-likelihood, como Mooers *et al.* (1999) fizeram para o caso particular de distinguir evolução gradual e especiacional, pode constituir uma metodologia alternativa valiosa. O uso de simulações como exemplificado aqui, no entanto, permanece uma metodologia facilmente implementável, versátil e estatisticamente sólida para abordar uma grande variedade de questões evolutivas.

Capítulo 9

Evolução correlacionada de ornamentos múltiplos no género *Serinus*: coloração e complexidade do canto

Introdução

Várias espécies de animais exibem ornamentos múltiplos e um número crescente de estudos têm demonstrado que estes podem ser importantes na escolha do par por parte de fêmeas (revisto em Candolin 2003). Os primeiros modelos de evolução de ornamentos múltiplos apontavam para um conjunto de condições muito restritivas em que a coexistência de ornamentos fosse estável, particularmente de ornamentos que funcionam como indicadores de qualidade dos machos (Schluter & Price 1993, Iwasa & Pomiankowski 1994). Isto deve-se à relação entre custos e benefícios para as fêmeas enquanto avaliadoras da ornamentação: os custos de avaliação aumentando com o número de ornamentos a inspeccionar e o ganho em informação decrescendo para cada ornamento extra. Na maior parte das circunstâncias estes modelos prevêem que evolua por selecção sexual o ornamento mais facilmente detectável e fiável como indicador de qualidade. Estados de ornamentação múltipla seriam, assim, tendencialmente instáveis e transitórios. Estes resultados teóricos são coincidentes com a hipótese de transferência, uma ideia que remonta a Darwin (1871, Gilliard 1956), segundo a qual o constrangimento numa categoria de ornamentação intensifica a selecção e elaboração de outra categoria. A hipótese de transferência prevê correlações interespecíficas negativas entre a elaboração de diferentes categorias de ornamentos.

A generalidade das duas condições sobre as quais estes resultados teóricos assentam foi questionada. O valor indicador de ornamentos múltiplos pode ser significativo se diferentes ornamentos veiculam informação sobre diferentes aspectos de aptidão (hipótese

de mensagens múltiplas, Møller & Pomiankowski 1993, Johnstone 1995) ou se aumentar a fiabilidade da informação (hipótese de redundância dos sinais, Møller & Pomiankowski 1993, Johnstone 1996). Estas duas hipóteses são fundamentalmente semelhantes, diferindo apenas no detalhe da descrição de componentes de aptidão (van Doorn & Weissing 2004), e existe um corpo crescente de trabalho empírico que as corrobora (revisto em Candolin 2003). Além disto, nalguns casos a existência de ornamentos múltiplos pode diminuir, ao invés de aumentar, os custos de avaliação (Candolin 2003); por exemplo, se a existência de ornamentos múltiplos aumentar a probabilidade de diferenciação de indivíduos, ou se a avaliação de diferentes ornamentos for feita sequencialmente por ordem de detectabilidade de forma a diminuir o tempo de inspecção necessário. Se estas condições são de aplicabilidade geral os ornamentos podem responder simultaneamente a diferentes intensidades de selecção sexual, prevendo-se correlações interespecíficas positivas entre o grau de elaboração em diferentes ornamentos.

Foram ainda propostas outras hipóteses para a evolução de ornamentos múltiplos por processos que não o de indicador de qualidade, contornando a aparente dificuldade teórica com este mecanismo. Estas incluem efeitos epistáticos de vários ornamentos sobre o sistema cognitivo dos receptores (revisão em Rowe 1999), permanência de ornamentos devido a padrões de selecção passados (*e.g.* Holland & Rice 1998), a existência de vários tipos de receptores (*e.g.* Andersson *et al.* 2002) ou ambientes (Candolin 2003), e a evolução de ornamentos múltiplos por enviesamentos sensoriais (Endler & Basolo 1998) ou pelo mecanismo Fisheriano (Pomiankowski & Iwasa 1993, mas ver van Doorn & Weissing 2004). Existe alguma evidência empírica para cada uma destas possibilidades (revisto em Candolin 2003) mas é incerto que alguma possa ser considerada de aplicação geral. Com a excepção do processo de Fisher – que pode ser visto como um caso particular de indicador em que o traço adaptativo indicado é a própria atractividade (Kokko *et al.* 2002, van Doorn & Weissing 2004) –, estas hipóteses não prevêm claramente um padrão de correlação interespecífica (mas ver Andersson *et al.* 2002).

As aves canoras (sub-ordem Oscines) são um grupo adequado para testar as previsões interespecíficas das hipóteses sobre evolução de ornamentos múltiplos, porque exibem duas categorias de ornamentação proeminentes e de ontogenia independente: o canto e a coloração. A importância do canto e coloração na escolha do par em aves canoras está largamente documentada (revisto em Searcy & Yasukawa 1996 e Andersson 1994, respectivamente), bem como a possibilidade destas características funcionarem como indicadores de qualidade (revisto em Gil & Gahr 2002 e Hill 1996, respectivamente; ver também Badyaev *et al.* 2001).

A ideia de que o canto é mais complexo em espécies de aves com coloração críptica está presente na literatura desde Darwin (1871), apesar da inexistência de suporte estatístico

em seu favor (Read & Weary 1992). Estudos comparativos que recentemente avaliaram a relação entre a evolução de canto e coloração foram inconclusivos (Read & Weary 1992) ou contraditórios. Dois estudos reportaram associações positivas entre certas características de canto e ornamentação de plumagem, em Parulinae e várias espécies norte-americanas de Oscines (Shutler & Weatherhead 1990, de Repentigny *et al.* 2000). Outro estudo encontrou uma associação negativa entre complexidade do canto e ornamentação de plumagem em Carduelinae (Badyaev *et al.* 2002).

Neste capítulo, estudamos a associação entre elaboração de canto e coloração no género *Serinus*, o maior género da subfamília Carduelinae. Porque analisamos um género único de aves é-nos possível quantificar detalhadamente a complexidade do canto e a elaboração da coloração, de forma adequada ao padrão e gama de variação neste conjunto de espécies. Esta pode ser uma vantagem importante porque, sendo o canto e coloração características compostas e com diferentes padrões de variação em diferentes taxa (Kroodsma 1982, Price & Pavelka 1996), a obtenção de medidas quantitativas aplicáveis a grupos taxonómicos elevados pode comprometer a sua acuidade. O género *Serinus* é particularmente adequado para esta abordagem comparativa por três razões:

1) O género compreende várias espécies com canções longas e complexas e/ou coloração vistosa, e estas características exibem um padrão de variação não constrangido pela filogenia (Capítulos 7 e 8). Esta labilidade evolutiva é típica de características sexualmente seleccionadas (*e.g.* Cuervo & Møller 1999) e sugere uma capacidade de resposta rápida à selecção.

2) As espécies do género *Serinus* partilham muitas características ecológicas e comportamentais, pelo que o efeito destas sobre a evolução do canto e coloração é minimizado, tornando os resultados mais facilmente interpretáveis no contexto da evolução correlacionada de ornamentos múltiplos. Estas espécies são predominantemente granívoras, ocupam maioritariamente habitats abertos, fora da época reprodutiva integram bandos relativamente grandes e não migratórios, são socialmente monogâmicas, não territoriais, nidificam em arbustos ou árvores e, à excepção de algumas espécies mais raras, nidificam com um padrão ligeiramente semi-colonial (Clement *et al.* 1993).

3) A latitude e altitude ocupadas diferem substancialmente entre as espécies do género: existem espécies desde a África e Ásia equatoriais até à Eurásia central, quer em altitudes baixas ou altas (Clement *et al.* 1993). É conhecido o efeito do aumento de altitude e latitude na elaboração de características sexuais secundárias em aves (*e.g.* Bailey 1978, Badyaev 1997, Irwin 2000), presumivelmente por as condições ecológicas correspondentes aumentarem a intensidade de selecção sexual (Price 1998). Assim, as espécies de *Serinus* devem estar sujeitas a diferentes intensidades de selecção sexual, fornecendo a variação necessária para testar a existência de respostas correlacionadas de canto e coloração.

Métodos

Complexidade do canto

Usámos classificações de complexidade do canto obtidas por análise de componentes principais (ACP) de 17 medidas feitas a gravações de 27 espécies do género *Serinus* (ver Capítulo 7). Estas medições compreendem de forma abrangente a gama de variação do género em sintaxe das canções, fonologia e complexidade das sílabas. Os três primeiros componentes principais (CPs) da ACP são significativos e interpretáveis como eixos de complexidade do canto:

O primeiro CP é caracterizado principalmente pela velocidade das canções (*i.e.* durações curtas das sílabas e intervalos intersilábicos; não canções curtas), muitas sílabas por canção e tamanho grande dos repertórios de sílabas; a gama de frequências, frequência dominante e a maioria das medidas de complexidade das sílabas também se correlacionam positivamente com este CP. O segundo CP é caracterizado sobretudo por sílabas longas e com inflexões de frequência, e por uma proporção elevada de som nas canções (*i.e.* com sílabas longas relativamente aos espaços intersilábicos). O terceiro CP é caracterizado pela predominância de sintaxe repetida e por canções longas, com sílabas e intervalos intersilábicos também longos.

Elaboração da coloração

Utilizámos classificações de elaboração da coloração obtidas por ACP de 22 medidas de coloração feitas em espécimens de museu de ambos os sexos de 25 espécies de *Serinus* (ver Capítulo 8); apenas as classificações dos machos são aqui usadas. Estas medidas compreendem detalhadamente a variação destas espécies em coloração e padrão de pigmentação na plumagem, bico e patas. Os dois primeiros CPs são significativos e interpretáveis como eixos abrangentes de elaboração da coloração no género. O primeiro CP é caracterizado sobretudo pelo brilho das áreas maiores do corpo e ornamentação das asas e cauda; a maioria das outras medições de coloração estão também positivamente correlacionadas com este CP. O segundo CP é caracterizado pela saturação da cor e padrão de pigmentação das áreas maiores.

Em relação a uma espécie, *S. canicollis*, obtivemos medições de coloração separadamente para duas subespécies (*S. c. canicollis* e *S. c. flavivertex*); neste estudo usamos o valor médio dos CPs das duas subespécies.

Habitats

Compilámos informação acerca da latitude, altitude e tipo de cobertura vegetal dos habitats destas espécies a partir de Clement *et al.* (1993) e Badyaev (1997). Calculámos a média das latitudes mínima e máxima da distribuição geográfica de cada espécie medidas nos mapas de distribuição de Clement *et al.* (1993); usámos o valor absoluto desta média

uma vez que condições ecológicas como temperatura, duração da época reprodutiva e outras, variam com a distância ao equador, independentemente de se para norte ou sul. Usámos os valores de altitude mínima em Badyaev (1997) como índice de altitude do habitat de cada espécie, porque os valores de altitude máxima são frequentemente omissos. Usámos a categorização de cobertura vegetal dos habitats destas espécies dada em Badyaev (1997): habitats abertos (estepe, campos agrícolas, etc.), semi-fechados (zonas arbustivas) e fechados (floresta).

Geral

Fizemos uma regressão múltipla entre cada classificação de canto e coloração e as três características do habitat das espécies. Correlacionámos as classificações de canto com as classificações de coloração. As correlações entre canto e coloração foram feitas com os valores dos CPs simples, não corrigidos quanto ao possível efeito das características de habitat porque, sendo o habitat indicador de diferentes intensidades de selecção sexual, estaríamos a controlar parcialmente a variável causal de interesse que é a intensidade de selecção sexual. O conjunto de espécies para as quais temos dados de canto, coloração e habitat são apenas parcialmente coincidentes (Capítulos 7 e 8, e Badyaev 1997) pelo que os tamanhos de amostra diferem entre análises.

A complexidade das canções e elaboração da coloração não têm sinais filogenéticos significativos (Capítulos 7 e 8), pelo que baseamos as análises deste trabalho em valores específicos simples. No entanto, corroboramos os resultados com análises equivalentes controlando efeitos filogenéticos pela técnica de contrastes independentes (Felsenstein 1985). Os contrastes independentes foram calculados com o programa CONTRAST do software PHYLIP 3.6 (Felsenstein 2000) usando a filogenia molecular do género *Serinus* de Arnaiz-Villena *et al.* (1999). A filogenia molecular compreende apenas um subconjunto das espécies para as quais temos quantificações de canto e coloração, pelo que o poder estatístico de análises com contrastes é menor.

Resultados

A complexidade do canto, medida pelo primeiro CP, aumenta com o afastamento do equador e mostra uma tendência não significativa para aumentar também com a altitude do habitat (Tabela 1). O segundo CP de canto mostra uma tendência para aumentar com a latitude, e o terceiro CP não é afectado pela latitude ou altitude dos habitats mas aumenta com a densidade do coberto vegetal (Tabela 1). A elaboração de coloração mostra apenas uma tendência não significativa para o primeiro CP aumentar com a latitude (Tabela 1).

Análises idênticas utilizando contrastes independentes mostraram menor poder estatístico devido ao menor tamanho de amostra, que é inferior a 60% da anterior, mas não devido a efeitos filogenéticos uma vez que os coeficientes de regressão parciais foram

Tabela 1 – Efeitos de características do habitat das espécies de *Serinus* na complexidade do canto (três CPs) e elaboração da plumagem (dois CPs). A tabela mostra os coeficientes parciais estandardizados (B_{st}) de regressões múltiplas e a sua significância (P). O tamanho da amostra das regressões múltiplas de canto e coloração é de 24 e 23 espécies, respectivamente.

Variáveis independentes	Variável dependente									
	CP1 canto		CP2 canto		CP3 canto		CP1 cor		CP2 cor	
	B_{st}	P	B_{st}	P	B_{st}	P	B_{st}	P	B_{st}	P
Latitude	0.46	0.03	0.40	0.08	0.04	0.85	0.38	0.09	-0.17	0.48
Altitude	0.34	0.10	-0.18	0.41	0.09	0.66	0.33	0.15	0.10	0.68
Coberto vegetal	-0.14	0.50	-0.09	0.70	0.46	0.04	-0.19	0.41	0.01	0.96

Tabela 2 – Efeitos de características do habitat na complexidade do canto e elaboração da plumagem controlando o efeito da filogenia. A tabela mostra os coeficientes parciais estandardizados (B_{st}) de regressões múltiplas pela origem de contrastes independentes e a sua significância (P). O tamanho da amostra das regressões múltiplas de canto e coloração é de 14 e 13 contrastes, respectivamente.

Variáveis independentes	Variável dependente									
	CP1 canto		CP2 canto		CP3 canto		CP1 cor		CP2 cor	
	B_{st}	P	B_{st}	P	B_{st}	P	B_{st}	P	B_{st}	P
Latitude	0.41	0.18	0.03	0.93	0.11	0.67	0.36	0.21	0.15	0.66
Altitude	0.40	0.21	-0.25	0.46	0.13	0.63	0.64	0.047	0.34	0.35
Coberto vegetal	-0.31	0.35	-0.16	0.65	0.50	0.11	-0.37	0.26	-0.59	0.57

semelhantes aos anteriormente significativos (Tabelas 1 e 2). As regressões de contrastes revelaram ainda um efeito positivo do aumento de altitude no primeiro CP de coloração (Tabela 2), que não fora detectado anteriormente.

Os primeiros CPs de complexidade do canto e elaboração da coloração estão fortemente relacionados entre espécies ($r_p = 0.58$, $P = 0.005$, $N = 22$, Figura 1a). Os restantes CPs não estão significativamente correlacionados (todos os $r_p < 0.31$, todos os $P > 0.17$, $N = 22$, Tabela 3). A correlação dos primeiros CPs permanece significativa após correcção de Bonferroni para comparações múltiplas ($P < 0.008$). Regressões de contrastes pela origem mostram o mesmo padrão: os primeiros CPs significativamente relacionados ($B_{st} = 0.56$, $P = 0.03$, $N = 14$, Figura 1b), e não os restantes. O coeficiente de regressão estandardizado entre os contrastes dos primeiros CPs é idêntico ao coeficiente de correlação obtido com os dados específicos simples mas, devido ao menor tamanho da amostra (cerca de 63% da anterior), o resultado da análise com contrastes não suporta correcção de Bonferroni.

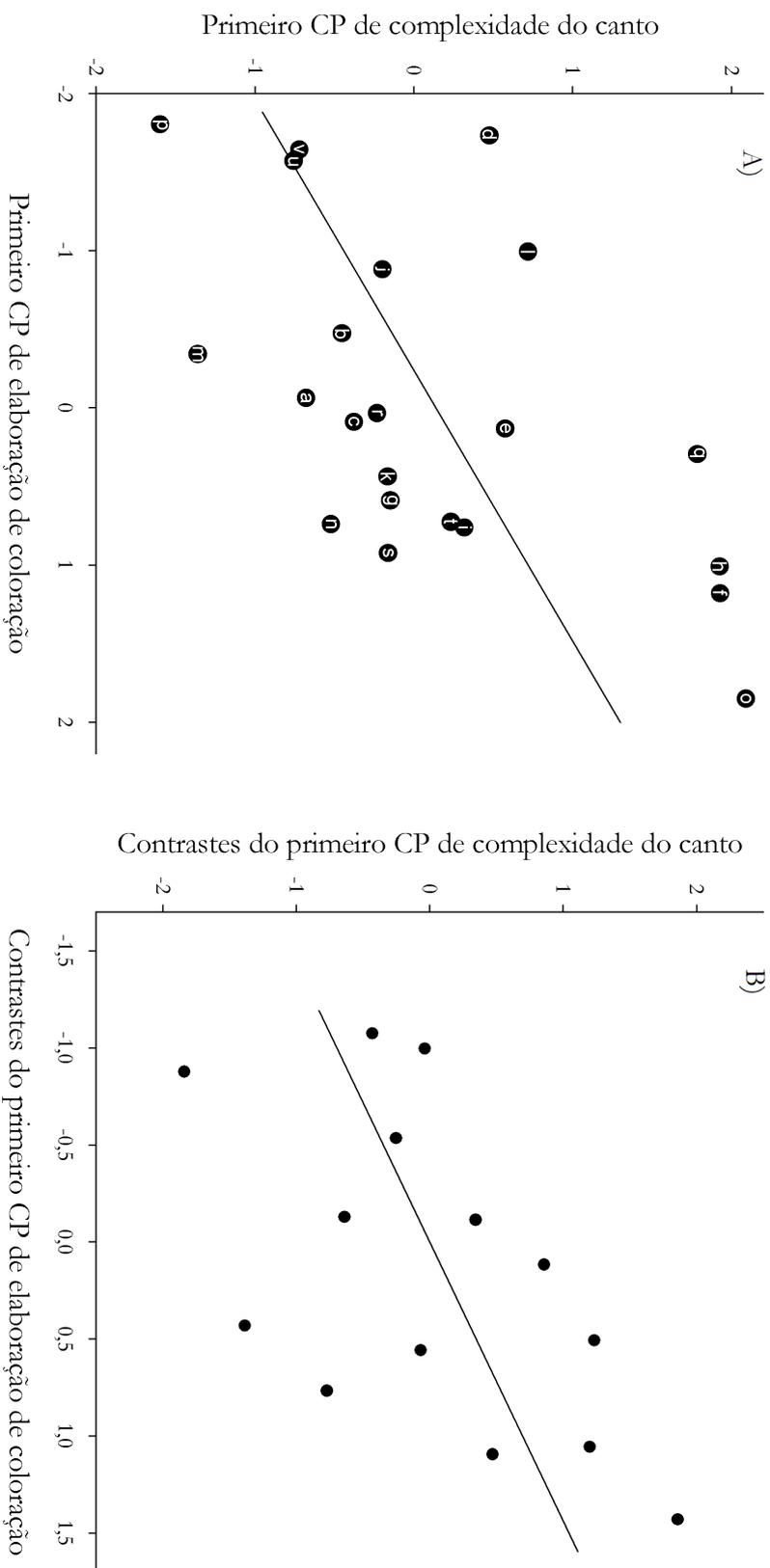


Figura 1 – (A) Relação entre os principais eixos de elaboração do canto e coloração (CPs) em 22 espécies de *Serinus*. A linha de regressão está justaposta ao gráfico. As espécies são: a) *S. alario*, b) *S. albogularis*, c) *S. atrigularis*, d) *S. burtoni*, e) *S. canaria*, f) *S. canicollis*, g) *S. capistratus*, h) *S. cirrhiloides*, i) *S. flaviventris*, j) *S. gularis*, k) *S. kolbenzii*, l) *S. leucopygius*, m) *S. menellii*, n) *S. mozambicus*, o) *S. pusillus*, p) *S. rufobrunneus*, q) *S. serinus*, r) *S. striolatus*, s) *S. sulphuratus*, t) *S. thibetanus*, u) *S. totia* e v) *S. tristriatus*. (B) Relação entre contrastes independentes dos primeiros CPs de complexidade do canto e coloração. A linha de regressão pela origem está justaposta ao gráfico.

Tabela 3 – Correlações entre complexidade do canto e elaboração da coloração em *Serinus* spp. São indicados os coeficientes de correlação de Pearson (r_p) e a sua significância (P). O tamanho da amostra é de 22 espécies; ver legenda da Figura 1 para os nomes das espécies.

	CP1 canto		CP2 canto		CP3 canto	
	r_p	P	r_p	P	r_p	P
CP1 cor	0.57	0.005*	0.02	0.92	-0.003	0.99
CP2 cor	-0.02	0.93	-0.30	0.17	0.10	0.90

* - significativo após correcção de Bonferroni para comparações múltiplas (< 0.008)

Discussão

Seleccção sexual e a evolução do canto e coloração em Serinus spp.

Como previsto pela hipótese de evolução conjunta de ornamentos múltiplos, os principais eixos de variação da complexidade de canto e elaboração da coloração covariam positivamente entre as espécies do género *Serinus*. Esta hipótese é também apoiada pela relação positiva dos principais eixos de variação do canto e coloração com características de habitat associadas a maior intensidade de selecção sexual (latitude mais distante do equador e altitude mais elevada). Selecção sexual é, aliás, o único processo conhecido capaz de seleccionar simultaneamente a elaboração destes dois tipos de ornamento: sendo o canto e a coloração características de ontogenia distinta, a sua evolução conjunta não se deverá a correlações genéticas ou outros constrangimentos de desenvolvimento, mas apenas a respostas independentes à variação em intensidade de selecção sexual. A elevada labilidade evolutiva do canto e coloração em *Serinus* spp. (Capítulos 7 e 8) sugere que estas características podem facilmente responder a variações na intensidade de selecção, possibilitando assim o padrão de evolução correlacionada que observámos.

Quer a complexidade do canto, quer a elaboração de coloração em *Serinus* spp. variam em mais que um eixo de complexidade (*i.e.* têm mais que um CP interpretável, ver Métodos). O facto de a relação positiva se verificar entre os principais eixos de variação constitui evidência de que a selecção sexual é o principal determinante da evolução do canto e coloração neste género. Os restantes eixos de variação do canto parecem ser explicados por factores que não selecção sexual: o segundo eixo de variação está relacionado com o tamanho corporal das aves (Capítulo 7); o terceiro eixo de variação aumenta com a densidade da cobertura vegetal, e as suas características principais (repetição de sílabas e intervalos longos) são adaptações prováveis para transmissão de som em habitats com maior reverberação acústica (Richards & Wiley 1980).

Comparação com estudos prévios e conclusões

O nosso resultado é contrário à associação negativa encontrada por Badyaev *et al.* (2002) em Carduelinae. Estes resultados opostos são inesperados uma vez que *Serinus* é um género desta subfamília. A diferença de resultados não parece dever-se a questões de medição do canto ou coloração: as quatro características que definem a complexidade de canto em Badyaev *et al.* (2002) estão positivamente correlacionadas com o primeiro eixo de variação do canto em *Serinus* spp. (Capítulo 7), e a avaliação de coloração usada por Badyaev *et al.* (2002) correlaciona-se fortemente com a nossa classificação de cor (dados em Badyaev 1997 e Capítulo 8, respectivamente; PC1: $r_p = 0.70$, $P = 0.0001$; PC2 $r_p = 0.39$, $P = 0.05$; $N = 25$ espécies). A relação negativa encontrada por Badyaev *et al.* (2002) pode ser um artefacto metodológico: a medida de complexidade de canto desse estudo está forte e negativamente relacionada com o tamanho corporal; por isso, os autores decidiram utilizar a medida de complexidade corrigida quanto ao tamanho corporal; como a coloração em carduelíneos também se correlaciona forte e negativamente com o tamanho corporal (Tabela 1 de Badyaev 1997), corrigir a medida de complexidade de canto faz diminuir os valores das espécies mais coloridas relativamente às menos coloridas, produzindo um enviesamento negativo na relação canto/coloração. Aliás, o facto de as medidas de Badyaev *et al.* (2002) para a elaboração do canto e coloração se relacionarem ambas negativamente com o tamanho corporal faz prever a existência de uma relação positiva entre elas, não negativa. O resultado de Badyaev *et al.* (2002) é, portanto, incerto e necessita de reavaliação.

O nosso resultado é contrário à hipótese de transferência entre ornamentos múltiplos, que prevê correlações negativas entre a elaboração de diferentes categorias de ornamentos. A hipótese de transferência foi inicialmente sugerida por Darwin (1871), baseado na sua impressão de que “aves que cantam bem são raramente decoradas com cores brilhantes”, e formulada como uma compensação de constrangimentos à evolução de coloração conspícua nos machos pela elaboração do seu canto. Tais constrangimentos podem dever-se, por exemplo, a risco de predação elevado ou ao papel activo dos machos na incubação e alimentação das crias. A variação em tais constrangimentos é minimizada na nossa análise porque usamos um género comportamental e ecologicamente bastante homogéneo. Por esta razão, o nosso estudo não constitui uma refutação da hipótese de transferência enquanto compensação de constrangimentos de ornamentação. No entanto, de Repentigny *et al.* (2000) utilizaram um conjunto taxonómico e ecologicamente diverso de aves canoras e também encontraram uma relação positiva entre elaboração do canto e coloração, sugerindo que o fenómeno de compensação, embora plausível, é relativamente pouco importante.

Modelos teóricos prevêem que transferência possa ser também uma consequência do balanço entre custos e benefícios de ornamentos múltiplos (ver introdução). Ao contrário da situação anterior, a nossa análise está desenhada para detectar transferência neste contexto porque utiliza medidas de complexidade do canto e elaboração da coloração que

a tornam sensível a pequenas variações quantitativas, e por minimizar a influência de factores como variações em sistemas ou comportamentos reprodutores pela utilização de um só género de aves. A correlação positiva que encontramos mostra que canto e coloração respondem de forma independente à selecção, pelo que as condições conducentes a transferência não devem ser geralmente aplicáveis à evolução destes ornamentos em *Serinus* spp.

Uma destas condições é o aumento dos custos de avaliação de ornamentos múltiplos (Candolin 2003). No entanto, porque o canto é normalmente detectável a distâncias maiores que a coloração, é possível que estes sejam avaliados sequencialmente de forma que o custo de avaliação, em tempo gasto e quantidade de machos inspeccionados, não aumente ou possa mesmo diminuir (Candolin 2003). A avaliação do canto e coloração necessita de capacidades sensoriais e cognitivas distintas, o que implica outro tipo de custos; no entanto, porque a ornamentação visual e a comunicação acústica são comuns em aves e por existirem casos em que as preferências das fêmeas se mantêm mesmo após perda evolutiva da ornamentação na espécie (*e.g.* Gray & Hagelin 1996), tal não parece representar um custo significativo. A outra condição que dificulta a evolução de ornamentos múltiplos é o decréscimo de informação sobre aptidão que cada ornamento veicula (incluindo informação sobre sucesso reprodutor, *i.e.* ornamentos Fisherianos, van Doorn & Weissing 2004). Vários aspectos do canto e coloração podem conter informação sobre condição e componentes de aptidão distintos (revisto em Hill 1996 e Gil & Gahr 2002), e cada um deles pode também despoletar processos Fisherianos, pelo que é verosímil que exista um ganho substancial de informação veiculado por cada um destes ornamentos.

Assim, a evidência actualmente existente sugere que a complexidade do canto e a ornamentação da plumagem em passeriformes é geralmente livre de evoluir simultaneamente por selecção sexual.

Conclusões

Podemos agrupar as conclusões principais desta tese quanto ao seu impacto teórico em três categorias: a) as conclusões que confirmam teoria existente, b) as que expandem teoria ou metodologia existentes, e c) as que contradizem e sugerem alternativas a hipóteses actualmente presentes na literatura.

a)

A conclusão do Capítulo 9 de que a selecção sexual é importante para a evolução do canto e conspicuidade da coloração não é surpreendente; confirma uma opinião generalizada desde que a teoria de selecção sexual foi formulada por Darwin. No entanto, a análise do Capítulo 9 tem o mérito de avaliar pela primeira vez a importância relativa de selecção sexual e de outros factores influentes na evolução do canto, como o tamanho corporal e propriedades de transmissão acústica dos habitats, tendo concluído que no género *Serinus* o efeito da selecção sexual se sobrepõe a estes.

Outra conclusão que confirma a teoria existente é a de que diferenças entre respostas de machos e fêmeas a características de canto não resultam de capacidade de discriminação mas antes de regras de decisão (Capítulos 3 a 6). Esta conclusão foi apoiada por outros estudos que procuraram testar ambos os sexos com metodologias comparáveis (referências no Capítulo 6).

b)

As evidências de preferência feminina por frequências agudas e de função agonística da velocidade de canto obtidas no Capítulo 3, e a sua confirmação no Capítulo 6, constituem expansões da teoria existente sobre selecção sexual e evolução do canto. Estas características das canções não tinham sido ainda estudadas no contexto de selecção intra- ou inter-sexual noutras espécies. No entanto, a sua saliência nas canções e o seu potencial como indicadores de condição ou qualidade dos machos torna-as alvos possíveis de selecção sexual, de forma que o conhecimento das pressões selectivas a que estão sujeitas pode ser importante para explicar a diversidade fonológica das canções de passeriformes. São agora necessários trabalhos com outras espécies para averiguar quão gerais são os efeitos que descrevemos para o serino. No caso particular do género *Serinus*, obtivemos dados que sugerem que estas duas características foram determinantes na sua história evolutiva: características de velocidade são as que mais fortemente definem o principal eixo de variação no género, e a evolução da frequência foi intensa o suficiente para contrariar a sua dependência fisiológica do tamanho corporal (Capítulo 7).

No Capítulo 7 utilizámos a amplitude relativa das sílabas como medida de desempenho vocal, o que nos permitiu avaliar a adaptação vocal das espécies a diferentes características de complexidade das sílabas. Embora muito simples, este tipo de análise não fora utilizado antes e constitui, por isso, um novo instrumento para estudos de adaptação e constrangimento de produção vocal. Estudos comparativos anteriores investigaram constrangimento vocal por correlação entre características físicas e propriedades das canções dependentes destas (*e.g.* Wallschläger 1980, Podos 2001), ou por correlação de características de canto entre as quais existe um compromisso de produção vocal (Podos 1997). Esta nova técnica permite expandir o âmbito dos estudos comparativos sobre constrangimento vocal a virtualmente todas as características de complexidade silábica. No caso concreto do género *Serinus*, pudemos documentar com esta técnica um padrão de adaptação incompleta à diversificação vocal do género, e detectar casos de especialização vocal por certas características de canto.

c)

Na década de 1990 formou-se a opinião actualmente corrente de que nas aves a ornamentação das fêmeas evolui sobretudo por selecção positiva nestas, independentemente dos machos (revisto em Amundsen 2000a,b, Badyaev & Hill 2003). No Capítulo 8 não só apresentamos resultados contrários a esta opinião, como também apontamos enviesamentos analíticos importantes nos estudos comparativos sobre os quais esta se baseia. Embora sejam desejáveis estudos noutros grupos taxonómicos para verificar a generalidade das nossas conclusões, bem como a reanálise dos estudos que nós criticamos, o nosso trabalho é suficiente para causar um retorno à explicação de ornamentação feminina nas aves como resultando essencialmente de pleitropia com os machos. Não será um retorno exacto à teoria existente na década de 1980 uma vez que entretanto se acumularam exemplos de ornamentação feminina funcional (referências no Capítulo 8). Antes, o desafio que agora se coloca é o de estudar a evolução e ecologia comportamental dos ornamentos nas fêmeas, não segundo uma lógica adaptacionista simples, mas num contexto mais realista de selecção e constrangimento sexual.

A forte correlação positiva entre elaboração do canto e da coloração que descrevemos no Capítulo 9 é contrária à hipótese de transferência entre canto e ornamentação da plumagem. Esta hipótese está presente na literatura sob a forma de argumento verbal desde Darwin, e foi formalizada por Iwasa & Pomiankowski (1994) no seu modelo de evolução de ornamentos múltiplos pelo mecanismo indicador. Desde então, e dada a frequente existência de ornamentos múltiplos, têm-se investigado as condições teóricas em que a hipótese de transferência não funciona e em que, portanto, ornamentos múltiplos podem evoluir (revisto em Candolin 2003, ver também van Doorn & Weissing 2004). O nosso resultado sugere que essas condições sejam comuns no género *Serinus* porque, ao invés de transferência, o canto e a coloração geralmente evoluem em conjunto. Também clarificamos os resultados contraditórios presentes na literatura recente sobre

evolução de canto e coloração, ao detectar um problema analítico importante no único estudo comparativo que suportara a hipótese de transferência. Assim, a evidência existente é contrária à hipótese de transferência entre canto e ornamentação da plumagem em aves.

Outros dois resultados nossos contrariam duas hipóteses sobre a função de certos tipos de variação do canto que, porém, tinham um suporte empírico débil:

Lambrechts & Dhondt (1988) propuseram a hipótese de anti-exaustão, segundo a qual a repetição da mesma sílaba causa fadiga muscular que é aliviada quando as aves trocam de sílaba e, portanto, passam para um padrão de movimentos da siringe diferente. A hipótese de anti-exaustão é baseada em dados de chapins-reais (*Parus major*), que quando cantam prolongadamente a mesma sílaba tendem a ir diminuindo um pouco a sua frequência e a deteriorar a fonologia, mas quando trocam de sílaba frequentemente mantêm uma fonologia mais constante. No entanto, este padrão pode igualmente ser explicado por diferenças de motivação, se as trocas mais frequentes de sílaba e a fonologia correcta forem duas consequências independentes de as aves estarem a cantar mais intensamente (Weary *et al.* 1988, 1991). A nossa descoberta de que sintaxe repetida em *Serinus* spp. contribui para maior amplitude das sílabas (Capítulo 7) sugere que, contrariamente ao previsto pela hipótese de anti-exaustão, a simplicidade sintáctica da repetição de uma mesma sílaba, ao invés de dificultar, potencia o desempenho vocal.

Searcy *et al.* (2000) sugeriram que desvios à sequência modal de sílabas tivessem uma função comunicativa como sinal agonístico, porque estes desvios aumentam durante intrusões territoriais simuladas em escrevedeira-dos-pântanos. No entanto os autores reconhecem que os desvios podem ser explicados simplesmente como erros de produção devidos à perturbação causada pelas intrusões territoriais. No serino, os desvios à estrutura modal das canções ocorrem mais frequentemente junto de vocalizações de alarme, que indicam circunstâncias stressantes e não especificamente agonísticas (Capítulo 2). Assim, a explicação de erro de produção, para além de ser a mais simples, é a única aplicável aos padrões de variação descritos para ambas as espécies.

Referências

- Adret, P. (1993) Operant conditioning, song learning and imprinting to taped song in the zebra finch. *Animal Behaviour* 46:149-159.
- Airey, D.C. & DeVoogd, T.J. (2000) Greater song complexity is associated with augmented song system anatomy in zebra finches. *NeuroReport* 11:2339-2344.
- Amundsen, T. (2000a) Why are female birds ornamented? *Trends in Ecology and Evolution* 15:149-155.
- Amundsen, T. (2000b) Female ornaments: genetically correlated or sexually selected? Em: Signalling and signal designs in animal communication (eds. Espmark, Y., Amundsen, T. & Rosenqvist, G.) p. 133-154. Tapir Academic Press, Trondheim.
- Amundsen, T., Forsgren, E. & Hansen, L. T. T. (1997) On the function of female ornaments: male bluethroats prefer colourful females. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 264:1579-1586.
- Andersson, M. (1994) *Sexual Selection*. Princeton University Press, Princeton.
- Andersson, M. & Norberg, R.Å. (1981) Evolution of reversed sexual size dimorphism and role partitioning among predatory birds, with a size scaling of flight performance. *Biological Journal of the Linnean Society* 15:105-130.
- Andersson, S. (1999) Morphology of UV and violet reflectance in a whistling-thrush: implications for the study of structural colour signalling in birds. *Journal of Avian Biology* 30:193-204.
- Andersson, S., Pryke, S.R., Örnborg, J., Lawes, M.J. & Andersson, M. (2002) Multiple receivers, multiple ornaments, and a trade-off between agonistic and epigamic signalling in a widowbird. *The American Naturalist* 160:685-691.
- Anscombe, F. J & Glynn, W. W. (1983) Distribution of the kurtosis statistic b_2 for normal statistics. *Biometrika* 70:227-234.
- Arnaiz-Villena, A., Álvarez-Tejado, M., Ruíz-del-Valle, V., García-de-la-Torre, C., Varela, P., Recio, M. J., Ferre, S. & Martínez-Laso, J. (1999) Rapid radiation of canaries (genus *Serinus*). *Molecular Biology and Evolution* 16:2-11.
- Autumn, K., M. J. Ryan & D. B. Wake (2002) Integrating historical and mechanistic biology enhances the study of adaptation. *Quarterly Review of Biology* 77:383-408.
- Badyaev, A.V. (1997) Altitudinal variation in sexual dimorphism: a new pattern and alternative hypotheses. *Behavioral Ecology* 8:675-690.
- Badyaev, A. V. & Hill, G. E. (2000) Evolution of sexual dichromatism: contribution of carotenoids- versus melanin-based coloration. *Biological Journal of the Linnean Society* 69:153-172.
- Badyaev, A.V. & Hill, G.E. (2003) Avian sexual dichromatism in relation to phylogeny and ecology. *Annual Reviews in Ecology, Evolution and Systematics* 34:27-49.

- Badyaev, A.V., Hill, G.E., Dunn, P.O. & Glen, J.C. (2001) Plumage colour as a composite trait: developmental and functional integration of sexual ornamentation. *The American Naturalist* 158:221-235.
- Badyaev, A.V., Hill, G.E. & Weckworth, B.V. (2002) Species divergence in sexually selected traits: increase in song elaboration is related to decrease in plumage ornamentation in finches. *Evolution* 25:412-419.
- Bailey, S.F. (1978) Latitudinal gradients in colours and patterns of passerine birds. *Condor* 80:372-381.
- Baker, M.C. (1996) Depauperate meme pool of vocal signals in an island population of singing honeyeaters. *Animal Behaviour* 51:853-858.
- Baker, M.C. & Cunningham, M.A. (1985) The biology of bird-song dialects. *Behavioral and Brain Sciences* 8:85-133.
- Baker, M.C., Spitler-Nabors, K.J. & Bradley, D.C. (1981) Early experience determines song dialect responsiveness of female sparrows. *Science* 214:819-821.
- Baker, R.H. & Wilkinson, G.S. (2001) Phylogenetic analysis of sexual dimorphism and eye-span allometry in stalk-eyed flies (Diopsidae). *Evolution* 55:1373-1385.
- Balaban, E. (1988) Bird song syntax: learned intraspecific variation is meaningful. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85:3657-3660.
- Ballentine, B., Badyaev, A. & Hill, G.E. (2003) Changes in song complexity correspond to periods of female fertility in blue grosbeaks (*Gniraca caerulea*). *Ethology* 109:55-66.
- Ballentine, B., Hyman, J. & Nowicki, S. (2004) Vocal performance influences female response to male bird song: an experimental test. *Behavioral Ecology* 15:163-168.
- Baptista, L.F. (1975) Song dialects and demes in sedentary populations of the white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys nuttalli*). *University of California Publications in Zoology* 105:1-52.
- Barraclough, T.G., Harvey, P.H. & Nee, S. (1995) Sexual selection and taxonomic diversity in passerine birds. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 259:211-215.
- Becker, P.H. (1982) The coding of species-specific characteristics in birds sounds. Em: *Acoustic communication in birds*, vol. 1 (eds. Kroodsma, D.E. & Miller, E.H.) p. 214-252. Academic Press, New York.
- Beecher, M.D., Campbell, S.E. & Nordby, J.C. (1997) Territory tenure in song sparrows is related to song sharing with neighbours, but not to repertoire size. *Animal Behaviour* 59:29-37.
- Bell, B.D., Borowiec, M., Lontkowski, J. & Pledger, S. (2004) Short records of marsh warbler (*Acrocephalus palustris*) song provide indices that correlate with nesting success. *Journal of Ornithology* 145:8-15.
- Bennet-Clark, H.C. & Ewing, A.W. (1969) The wing mechanism involved in the courtship of *Drosophila*. *Journal of Experimental Biology* 49:117-128.
- Berglund, A., Bisazza, A. & Pilastro, A. (1996) Armaments and ornaments: an evolutionary explanation of traits of dual utility. *Biological Journal of the Linnean Society* 58:385-399.

- Björklund, M. (1991a) Patterns of morphological variation among cardueline finches (Fringillidae: Carduelinae). *Biological Journal of the Linnean Society* 43:239-248.
- Björklund, M. (1991b) Coming of age in Fringillid birds: heterochrony in the ontogeny of secondary sexual characters. *Journal of Evolutionary Biology* 4:83-92.
- Björklund, M. (1994) Processes generating macroevolutionary patterns of morphological variation in birds: a simulation study. *Journal of Evolutionary Biology* 7:727-742.
- Björklund, M. & Merilä, J. (1993) Morphological differentiation in *Carduelis* finches: adaptive vs. constraint models. *Journal of Evolutionary Biology* 6:359-373.
- Bloomberg, S.P., Garland, T., Jr. & Ives, A. R. (2003) Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution* 57:717-745.
- Brackenbury, J.H. (1978) A comparison of the origin and temporal arrangement of pulsed sounds in the songs of the Grasshopper and Sedge warblers, *Locustella naevia* and *Acrocephalus schoenobaenus*. *Journal of Zoology* 184:187-206.
- Bradbury, J.W. & Vehrencamp, S.L. (1998) Principles of animal communication. Sinauer Associates, Sunderland.
- Brawner, W. R., III, G. E. Hill & C. A. Sundermann (2000) Effects of coccidial and mycoplasmal infections on carotenoid-based plumage pigmentation in male house finches. *Auk* 117:952-963.
- Brémond, J.-C. (1976) Specific recognition in the song of Bonelli's warbler (*Phylloscopus bonelli*). *Behaviour* 58:99-116.
- Brown, W.D., Wideman, J., Andrade, M.C.B., Mason, A.C. & Gwynne, D.T. (1996) Female choice for an indicator of male size in the song of the black-horned tree cricket *Oecanthus nigricornis* (Orthoptera: Gryllidae: Oecanthinae). *Evolution* 50:2400-2411.
- Buchanan, K.L. (2000) Stress and the evolution of condition-dependent signals. *Trends in Ecology and Evolution* 15:156-160.
- Burns, K.J. (1998) A phylogenetic perspective on the evolution of sexual dichromatism in tanagers (Thraupidae): the role of female versus male plumage. *Evolution* 54:1219-1224.
- Candolin, U. (2003) The use of multiple cues in mate choice. *Biological Review* 78:575-595.
- Cardoso, G.C. & Mota, P.G. (2004) Female serin (*Serinus serinus*) responses to song do not favour the predominant song syntax. *Ethology, Ecology and Evolution* 16:329-338.
- Cardoso, G.C. & Mota, P.G. (submetido, a) Correlated evolution of male and female coloration in the passerine genus *Serinus*.
- Cardoso, G.C. & Mota, P.G. (submetido, b) The evolution of song in the genus *Serinus*. I. Song complexity and diversification.
- Cardoso, G.C. & Mota, P.G. (submetido, c) The evolution of song in the genus *Serinus*. II. Vocal adaptation and correlates of song syntax.
- Cardoso, G.C., Mota, P.G. & Depraz, V. (submetido) Female responses to two derived song characteristics of the serin (*Serinus serinus*): song frequency and speed.
- Catchpole, C.K. (1976) Temporal and sequential organisation of song in the sedge warbler (*Acrocephalus schoenobaenus*). *Behaviour* 59:226-246.
- Catchpole, C.K. (1980) Sexual selection and the evolution of complex songs among european warblers of the genus *Acrocephalus*. *Behaviour* 74:149-167.

- Catchpole CK (1982). The evolution of bird sounds in relation to mating and spacing behaviour. Em: Acoustic communication in birds, vol. 1 (eds. Kroodsma, D.E. & Miller, E.H.) p. 297-319. Academic Press, New York.
- Catchpole, C.K. (1983) Variation in the song of the great reed warbler *Acrocephalus arundinaceus* in relation to mate attraction and territorial defence. *Animal Behaviour* 31:1217-1225.
- Catchpole, C.K. & Slater, P.J.B. (1995) Bird song. Biological themes and variations. Cambridge University Press, Cambridge.
- Catchpole, C.K, Leisler, B. & Dittami, J (1986) Sexual differences in the responses of captive great reed warblers (*Acrocephalus arundinaceus*) to variation in song structure and size. *Ethology* 73:69-77.
- Cheverud, J.M., Dow, M.M. & Leutenegger., W. (1985) The quantitative assessment of phylogenetic constraints in comparative analyses: sexual dimorphism in body weight among primates. *Evolution* 39:1335-1351.
- Clayton, N.S. (1988) Song discrimination learning in zebra finches. *Animal Behaviour* 36:1016-1024.
- Clement, P., Harris, A. & Davies, J. (1993) Finches and Sparrows. Princeton University Press, Princeton.
- Collins, S.A. (1999) Is female preference for male repertoires due to sensory bias? *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 266:2309-2314.
- Cramp, S. & Perrins, C.M. (1994) The birds of the Western Palearctic (vol. VIII). Oxford University Press, Oxford.
- Cubo, J. (2003) Evidence for speciation change in the evolution of ratites (Aves: Palaeognathae). *Biological Journal of the Linnean Society* 80:99-106.
- Cuervo, J.J. & Møller, A.P. (1999) Evolutionary rates of secondary sexual and non-sexual characters among birds. *Evolutionary Ecology* 13:283-303.
- Cuervo, J.J. & Møller, A.P. (2000) Sex-limited expression of ornamental feathers in birds. *Behavioral Ecology* 11:246-259.
- Cuervo, J.J., deLope, F. & Møller, A. P. (1996) The function of long tails in female barn swallows (*Hirundo rustica*): an experimental study. *Behavioral Ecology* 7:132-136.
- Cunningham, C.W., Omland, K.E. & Oakley, T.H. (1998) Reconstructing ancestral character states: a critical reappraisal. *Trends in Ecology and Evolution* 13:361-366.
- Cynx, J, & Nottebohm F. (1992) Role of gender, season, and familiarity in discrimination of conspecific song by zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89:1368-1371.
- Dabelsteen, T., McGregor, P.K., Shepherd, M, Whittaker, X & Pedersen, S.B. (1996) Is the signal value of overlapping different from that of alternating during matched singing in great tits? *Journal of Avian Biology* 27:187-194.
- Dabelsteen, T., McGregor, P.K., Holland, J. & Tobias, J.A. (1997) The signal function of overlapping singing in male robins. *Animal Behaviour* 53:249-256.
- Dabelsteen, T. & Pedersen, S.B. (1985) Correspondence between messages in the full song of the blackbird *Turdus merula* and meanings to territorial males, as inferred from

- responses to computerized modifications of natural song. *Zeitschrift für Tierpsychologie* 69:149-165.
- Dabelsteen, T. & Pedersen, S.B. (1993) Song-based discrimination and behaviour assessment by female blackbirds, *Turdus merula*. *Animal Behaviour* 45:759-771.
- D'Agostino, R.B. & E.S. Pearson (1973) Tests of departure from normality. Empirical results for the distribution of b_2 and $\sqrt{b_1}$. *Biometrika* 60:613-622.
- Darwin, C. (1871) *The descent of man, and selection in relation to sex*. Murray, London.
- Davies, N.B. & Halliday, T.R. (1978) Deep croaks and fighting assessment in toads *Bufo bufo*. *Nature* 274:683-685.
- de Queiroz, A. & Wimberger, P.H. (1993) The usefulness of behavior for phylogeny estimation: levels of homoplasy in behavioral and morphological characters. *Evolution* 47:46-60.
- de Repentigny, Y., Ouellet, H. & McNeil, R. (1997) Quantifying conspicuousness and sexual dimorphism of the plumage in birds: a new approach. *Canadian Journal of Zoology* 75:1972-1981.
- de Repentigny, Y., Ouellet, H. & McNeil, R. (2000) Song versus plumage in some north american oscines: testing Darwin's hypothesis. *Écoscience* 7:137-148.
- DeVoogd, T.J., Krebs, J.R., Healy, S.D. & Purvis, A. (1993) Relations between song repertoire size and the volume of brain nuclei related to song: comparative evolutionary analyses amongst oscine birds. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 254:75-85.
- Diehl, P. & Helb, H.-W. (1986) Radiotelemetric monitoring of heart-rate responses to song playback in blackbirds (*Turdus merula*). *Behavioural Ecology and Sociobiology* 18:213-219.
- Drăgănoiu, T.I., Nagle, L. & Kreutzer, M. (2002) Directional female preference for an exaggerated trait in canary (*Serinus canaria*) song. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 269:2525-2531.
- Edwards, A. W. F. (1992) *Likelihood*. John Hopkins University Press, Baltimore.
- Eens, M., Pinxten, R. & Verheyen, R.F. (1991) Organisation of song in the European starling: species specificity and individual differences. *Belgian Journal of Zoology* 121:257-278.
- Endler, J.A. (1993) Some general comments on the evolution and design of animal communication systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 340:215-225.
- Endler, J.A. & Basolo, A.L. (1998) Sensory ecology, receiver biases and sexual selection. *Trends in Ecology and Evolution* 13:415-420.
- Endler J.A. & Théry, M (1996) Interacting effects of lek placement, display behavior, ambient light, and color patterns in three neotropical forest-dwelling birds. *The American Naturalist* 148:421-452.
- Enquist, M. & Arak, A. (1993) Selection of exaggerated male traits by female aesthetic senses. *Nature* 361:446-448.
- Evans, M.R. & Hatchwell, B.J. (1992) An experimental study of male adornment in the scarlet-tufted malachite sunbird. I. The role of pectoral tufts in territorial defence. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 29:413-420.

- Falls, J.B (1992) Playback: a historical perspective. Em: Playback and studies of animal communication (ed. McGregor, P.K.) p. 11-33. Plenum Press, New York.
- Felsenstein, J. (1985) Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist* 125:1-15.
- Felsenstein, J. (2000) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6(alpha). Distribuído pelo autor. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- Figuerola, J. & Green, A.J. (2000) The evolution of sexual dimorphism in relation to mating patterns, cavity nesting, insularity and sympatry in the Anseriformes. *Functional Ecology* 14:701-710.
- Fisher, R.A. (1930) *The Genetical Theory of Natural Selection*. Clarendon Press, Oxford.
- Forstmeier, W., Kempanaers, B., Meyer, A. & Leisler, B. (2002) A novel song parameter correlates with extra-pair paternity and reflects male longevity. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 269:1479-1485.
- Galeotti, P., Saino, N., Sacchi, R. & Møller, A.P. (1997) Song correlates with social context, testosterone and body condition in male barn swallows. *Animal Behaviour* 53:687-700.
- Garamszegi, L.Z. & Eens, M. (2004) Brain space for a learned task: strong intraspecific evidence for neural correlates of singing behavior in songbirds. *Brain Research Reviews* 44:187-193.
- Garamszegi, L.Z. & Møller, A.P. (2004) Extrapair paternity and the evolution of bird song. *Behavioral Ecology* 15:508-519.
- Garamszegi, L.Z., Møller, A.P. & Erritzøe, J. (2003) The evolution of immune defense and song complexity in birds. *Evolution* 57:905-912.
- Garamszegi, L.Z., Balsby, T.J.S., Bell, B.D., Borowiec, M., Byers, B.E., Drăgănoiu, T., Eens, M., Forstmeier, W., Galeotti, P., Gil, D., Gorissen, L., Hansen, P., Lampe, H.M., Leitner, S., Lontkowski, J., Nagle, L., Nemeth, E., Pinxten, R., Rossi, J., Saino, N., Tanvez, A., Titus, R., Török, J., Van Duyse, E. & Møller, A.P. (2005) Estimating the complexity of bird song by using capture-recapture approaches from community ecology. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 57:305-317.
- Gardner, T.J., Naef, F. & Nottebohm, F. (2005) Freedom and rules: the acquisition and reprogramming of a bird's learned song. *Science* 308:1046-1049.
- Garland, T., Jr., Huey, R.B. & Bennett, A.F. (1991) Phylogeny and coadaptation of thermal physiology in lizards: a reanalysis. *Evolution* 45:1969-1975.
- Garland, T., Jr., Dickerman, A.W., Janis, C.M. & Jones, J.A. (1993) Phylogenetic analysis of covariance by computer simulation. *Systematic Biology* 42:265-292.
- Garland, T., Jr., Midford, P.E. & Ives, A.R. (1999) An introduction to phylogenetically based statistical methods, with a new method for confidence intervals on ancestral values. *The American Zoologist* 39:374-388.
- Gavrilets, S., Arnqvist, G. & Friberg, U. (2001) The evolution of female mate choice by sexual conflict. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 268:531-539.
- Gil, D. & Gahr, M. (2002) The honesty of bird song: multiple constraints for multiple traits. *Trends in Ecology and Evolution* 17:133-141.

- Gil, D., Leboucher, G., Lacroix, A., Cue, R. & Kreutzer, M. (2004) Female canaries produce eggs with greater amounts of testosterone when exposed to preferred male song. *Hormones and Behaviour* 45:64-70.
- Gilliard, T. (1956) Bower ornamentation versus plumage characters in bower-birds. *Auk* 73:450-451.
- Gittleman, J.L. & Kot, M. (1990) Adaptation: statistics and a null model for estimating phylogenetic effects. *Systematic Zoology* 39:227-241.
- Gittleman, J.L., Anderson, C.G., Kot, M. & Luh, H.-K. (1996) Phylogenetic lability and rates of evolution: a comparison of behavioral, morphological and life history traits. Em: *Phylogenies and the comparative method in animal behavior*. (ed. Martins, E.P.) p. 166-205. Oxford University Press, Oxford.
- Goller, F. & Suthers, R.A. (1996) Role of syringeal muscles in controlling the phonology of bird song. *Journal of Neurophysiology* 76:287-300.
- Goodwin, T.W. (1984) *The biochemistry of carotenoids*. Chapman & Hall, New York.
- Gould, S. J. (2002) *The structure of evolutionary theory*. Belknap Press, Cambridge, Massachusetts.
- Gray, D.A. (1996) Carotenoids and sexual dichromatism in North American passerine birds. *The American Naturalist* 148:453-479.
- Gray, D.A. & Hagelin, J.C. (1996) Song repertoires and sensory exploitation: reconsidering the case of the common grackle. *Animal Behaviour* 52:795-800.
- Grether, G.F., Hudon, J. & Millie, D.F. (1999) Carotenoid limitation of sexual coloration along an environmental gradient in guppies. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 266:1317-1322.
- Griffith, S.C. (2000) High fidelity on islands: a comparative study of extrapair paternity in passerine birds. *Behavioral Ecology* 11:265-273.
- Griggio, M., Matessi, G. & Pilastro, A. (2003) Male rock sparrow (*Petronia petronia*) nest defence correlates with female ornament size. *Ethology* 109:659-669.
- Gross, J. (1987) *Pigments in fruits*. Academic Press, New York.
- Guilford, T. & Dawkins, M.S. (1991) Receiver psychology and the evolution of animal signals. *Animal Behaviour* 42:1-14.
- Güttinger, H.R. (1974) Gesang des Grölings (*Chloris chloris*). Lokale Unterschiede und Entwicklung bei Schallisolation. *Journal für Ornithologie* 115:321-337.
- Güttinger, H.R. (1985) Consequences of domestication on the song structures in the canary. *Behaviour* 94:254-278.
- Güttinger, H.R. & Clauss, G. (1982) Der Gesangsaufbau von Stieglitz-Kanarienvastarden (*Carduelis carduelis* x *Serinus canaria*) im Vergleich zu den Elternarten. *Journal für Ornithologie* 123:269-286.
- Hamao, S. & Ueda, K. (2000) Simplified song in an island population of the bush warbler *Cettia diphone*. *Journal of Ethology* 18:35-57.
- Hamilton, W.D. & Zuk, M. (1982) Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science* 218:384-387.
- Hamilton, W.J. & Poulin, R. (1997) The Hamilton and Zuk hypothesis revisited: a meta-analytical approach. *Behaviour* 134:299-320.

- Hanford, P. (1988) Trill rate dialects in the rufous-collared sparrow, *Zonotrichia capensis*, in northwestern Argentina. *Canadian Journal of Zoology* 66:2658-2670.
- Hartley, R.S. (1990) Expiratory muscle activity during song production in the canary. *Respiration Physiology* 81:177-188.
- Hartley R.S. & Suthers R.A. (1989) Airflow and pressure during canary song: Direct evidence for mini-breaths. *Journal of Comparative Physiology A-Sensory, Neural and Behavioral Physiology* 165:15-26.
- Hedenström, A., Møller, A.P. (1992) Morphological adaptations to song flight in passerine birds: a comparative study. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 247:183-187.
- Hill, G.E. (1993) Male mate choice and the evolution of female plumage coloration in the House Finch. *Evolution* 47:1515-1525.
- Hill, G.E. (1996) Redness as a measure of the production cost of ornamental coloration. *Ethology, Ecology and Evolution* 8:157-175.
- Hill, G.E. (1999) Is there an immunological cost to carotenoid-based ornamental coloration? *The American Naturalist* 154:589-595.
- Hill, G.E. (2000) Energetic constraints on expression of carotenoid-based plumage coloration. *Journal of Avian Biology* 31:559-566.
- Hill, G.E. (2002) *A red bird in a brown bag*. Oxford University Press, Oxford.
- Hill, G.E., Nolan, P.M. & Stoehr, A.M. (1999) Pairing success relative to male plumage redness and pigment symmetry in the house finch: temporal and geographic constancy. *Behavioral Ecology* 10:48-53.
- Hill, G.E., Inouye, C.Y. & Montgomerie, R. (2002) Dietary carotenoids predict plumage coloration in wild house finches. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 269:1119-1124.
- Holland, B. & Rice, W.R. (1998) Chase-away sexual selection: antagonistic seduction versus resistance. *Evolution* 52:1-7.
- Honda E. & Okanoya K. (1999) Acoustical and syntactical comparisons between songs of the white-backed munia (*Lonchura striata*) and its domesticated strain, the bengalese finch (*Lonchura striata* var. *domestica*). *Zoological Science* 16:319-326.
- Howard, R.D. & Young, J.R. (1998) Individual variation in male vocal traits and female mating preferences in *Bufo americanus*. *Animal Behaviour* 55:1165-1179.
- Huhta, E., Rytönen, S. & Solonen, T. (2003) Plumage brightness of prey increases predation risk: An among-species comparison. *Ecology* 84:1793-1799.
- Hunter, M.L. & Krebs, J.R. (1979) Geographical variation in the song of the great tit (*Parus major*) in relation to ecological factors. *Journal of Animal Ecology* 48:759-785.
- Hultsch, H. & Todt, D. (1989) Song acquisition and acquisition constraints in the Nightingale, *Luscinia megarhynchos*. *Naturwissenschaften* 76:83-85.
- Hurly, T.A., Ratcliffe, L., Weary, D.M. & Weisman, R. (1992) White-throated sparrows (*Zonotrichia albicollis*) can perceive pitch change in conspecific song by using the frequency ratio independent of the frequency difference. *Journal of Comparative Psychology* 106:388-391.

- Hutchinson, J.M.C., McNamara, J.M. & Cuthill, I.C. (1993) Song, sexual selection, starvation and strategic handicaps. *Animal Behaviour* 45:1153-1177.
- Ince, A.S. & Slater, P.J.B. (1985) Versatility and continuity in the songs of thrushes *Turdus* spp. *Ibis* 127:355-364.
- Ikebuchi, M. & Okanoya, K. (2000) Limited memory for conspecific songs in a non-territorial songbird. *NeuroReport* 11:3915-3919.
- Ikebuchi, M., Futamatsu, M. & Okanoya, K. (2003) Sex differences in song perception in Bengalese finches measured by cardiac response. *Animal Behaviour* 65:123-130.
- Irwin, R.E. (1990) Directional sexual selection cannot explain variation in song repertoire size in new world Blackbirds (Icterinae). *Ethology* 85:212-224.
- Irwin, R.E. (1994) The evolution of plumage dichromatism in the New World blackbirds: social selection on female brightness? *The American Naturalist* 144:890-907.
- Irwin, R.E. (1996) The phylogenetic content of avian courtship display and song evolution. Em: *Phylogenies and the comparative method in animal behavior.* (ed. Martins, E.P.) p. 234-252. Oxford University Press, Oxford.
- Irwin, D.E. (2000) Song variation in an avian ring species. *Evolution* 54:998-1010.
- Iwasa, Y. & Pomiankowski, A. (1994) The evolution of mate preferences for multiple sexual ornaments. *Evolution* 48:853-867.
- Iwasa, Y. & Pomiankowski, A. (1995) Continual changes in mate preferences. *Nature* 377:420-422.
- Iwasa, Y., Pomiankowski, A. & Nee, S. (1991) The evolution of costly mate preferences II. The "handicap" principle. *Evolution* 45:1431-1442.
- Jackson, D.A. (1993) Stopping rules in principal components analysis: a comparison of heuristical and statistical approaches. *Ecology* 74:2204-2214.
- Jawor, J.M., Linville, S.U., Beall, S.M. & Breitwisch, R. (2003) Assortative mating by multiple ornaments in northern cardinals (*Cardinalis cardinalis*). *Behavioral Ecology* 14:515-520.
- Johnson, J.B. & Omland, K.S. (2004) Model selection in ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 19:101-108.
- Johnson, K. (1988a) Sexual selection in pinyon jays I: female choice and male-male competition. *Animal Behaviour* 36:1038-1047.
- Johnson, K. (1988b) Sexual selection in pinyon jays II: Male choice and female-female competition. *Animal Behaviour* 36:1048-1053.
- Johnstone, R.A., Reynolds, J.D. & Deutsch, J.C. (1996) Mutual mate choice and sex differences in choosiness. *Evolution* 50:1382-1391.
- Johnstone, R.A. (1995) Honest advertisement of multiple qualities using multiple signals. *Journal of Theoretical Biology* 177:87-94.
- Johnstone, R.A. (1996) Multiple displays in animal communication: 'backup signals' and 'multiple messages'. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B* 351:329-338.
- Johnstrude, I.S., Weary, D.M., Ratcliffe, L.M. & Weisman, R.G. (1994) Effect of motivational context on conspecific song discrimination by brown-headed cowbirds (*Molothrus ater*). *Journal of Comparative Psychology* 108:172-178.

- Jones, I.L. & Hunter, F.M. (1993) Mutual sexual selection in a monogamous seabird. *Nature* 362:238-239.
- Kimball, R.T. & Ligon, J.D. (1999) Evolution of avian plumage dichromatism from a proximate perspective. *The American Naturalist* 154:182-193.
- Kimball, R.T., Braun, E.L., Ligon, J.D., Lucchini, V. & Randi, E. (2001) A molecular phylogeny of the peacock-pheasants (Galliformes: *Polyplectron* spp.) indicates loss and reduction of ornamental traits and display behaviours. *Biological Journal of the Linnean Society* 73:187-198.
- Kingston, J.J., Rosenthal, G.G. & Ryan, M.J. (2003) The role of sexual selection in maintaining a colour polymorphism in the pigmy swordtail, *Xiphophorus pygmaeus*. *Animal Behaviour* 65:735-743.
- Kirkpatrick, M. & Ryan, M.J. (1991) The evolution of mating preferences and the paradox of the lek. *Nature* 350:33-38.
- Kokko, H., Brooks, R., McNamara, J.M. & Houston, A.I. (2002) The sexual selection continuum. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 269:1331-1340.
- Kraaijeveld, K. (2003) Degree of mutual ornamentation in birds is related to divorce rate. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 270:1785-1791.
- Kraaijeveld, K., Gregurke, J., Hall, C., Komdeur, J. & Mulder, R.A. (2004) Mutual ornamentation, sexual selection and social dominance in the black swan. *Behavioral Ecology* 15:380-389.
- Krebs, J., Ashcroft, R. & Webber, M. (1978) Song repertoires and territory defence in great tits. *Nature* 271:539-542.
- Kroodsma, D.E. (1976) Reproductive development in a female songbird: differential stimulation by quality of male song. *Science* 192:574-575.
- Kroodsma, D.E. (1982) Song repertoires: problems with their definition and use. Em: *Acoustic communication in birds*, vol. 2. (eds. Kroodsma, D.E. & Miller, E.H.) p. 125-146. Academic Press, New York.
- Kroodsma, D.E. (1989) Suggested experimental designs for song playbacks. *Animal Behaviour* 37:600-609.
- Kroodsma, D.E. (1990) Using appropriate experimental designs for intended hypotheses in “song” playbacks, with examples for testing effects of song repertoire sizes. *Animal Behaviour* 40:1138-1150.
- Kroodsma, D.E. (1996) Ecology of passerine song development. Em: *Ecology and evolution of acoustic communication in birds* (eds. Kroodsma, D.E. & Miller, E.H.) p. 3-19. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Küppers, H. (1979) *Atlas de los colores*. Blume, Barcelona.
- Kusmierski, R., Borgia, G., Uy, A. & Crozier, R.H. (1997) Labile evolution of display traits in bowerbirds indicates reduced effects of phylogenetic constraint. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 264:307-313.
- Ladich, F. (1998) Sound characteristics and outcome of contests in male croaking gouramis (Teleostei). *Ethology* 104:517-529.

- Lambrechts, M.M. (1996) Organisation of birdsong and constraints on performance. Em: Ecology and evolution of acoustic communication in birds (eds. Kroodsma, D.E. & Miller, E.H.) p. 305-319. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Lambrechts, M.M. (1997) Song frequency plasticity and composition of phrase versions in Great Tits *Parus major*. *Ardea* 85:99-109.
- Lambrechts, M. & Dhondt, A.A. (1988) The anti-exhaustion hypothesis: a new hypothesis to explain song performance and song switching in the great tit. *Animal Behaviour* 36:327-334.
- Lande, R. (1980) Sexual dimorphism, sexual selection, and adaptation in polygenic characters. *Evolution* 34:292-305.
- Lande, R. (1987) Genetic correlations between the sexes in the evolution of sexual dimorphism and mating preferences. Em: Sexual selection: testing the alternatives (eds. Bradbury, J.W. & Andersson, M.B.) p. 83-94. Wiley, Chichester.
- Leboucher, G., Depraz, V., Kreutzer, M. & Nagle, L. (1998) Male song stimulation of female reproduction in canaries: features relevant to sexual displays are not relevant to nest building or egg laying. *Ethology* 104:613-624.
- Leitão, A. & Riebel, K. (2003) Are good ornaments bad armaments? Male chaffinch perception of songs with varying flourish length. *Animal Behaviour* 66:161-167.
- Leitner S., Voigt C. & Gahr M. (2001) Seasonal changes in the song pattern of the non-domesticated island canary (*Serinus canaria*), a field study. *Behaviour* 138:885-904.
- Linville, S.U. & Breitwisch, R. (1997) Carotenoid availability and plumage coloration in a wild population of northern cardinals. *Auk* 114:796-800.
- Losos, J.B. (1999) Uncertainty in the reconstruction of ancestral character states and limitations on the use of phylogenetic comparative methods. *Animal Behaviour* 58:1319-1324.
- Marchetti, K. (1993) Dark habitats and bright birds illustrate the role of the environment in species divergence. *Nature* 362:149-152.
- Martin, T.E. & Badyaev, A.V. (1996) Sexual dichromatism in birds: importance of nest predation and nest location for females versus males. *Evolution* 50:2454-2460.
- Martins, E.P. (1999) *COMPARE 4.4*. Distribuído pelo autor. Department of Biology, Indiana University, Bloomington.
- Martins, E.P. & Garland, T., Jr. (1991) Phylogenetic analyses of the correlated evolution of continuous characters: a simulation study. *Evolution* 45:534-557.
- Martins, E.P. & Hansen, T.F. (1996) The statistical analysis of interspecific data: a review and evaluation of phylogenetic comparative methods. Em: Phylogenies and the comparative method in animal behaviour (ed. Martins, E.P.) p. 22-75. Oxford University Press, Oxford.
- Margoliash, D., Fortune, E.S., Sutter, M.L., Yu, A.C., Wren-Hardin, B.D. & Dave, A. (1994) Distributed representation in the song system of oscines: evolutionary implications and functional consequences. *Brain Behaviour and Evolution* 44:247-264.
- Marler, P. (1991) Song-learning behavior: the interface with neuroethology. *Trends in Neurosciences* 14:199-206.

- Marler P, Pickert R (1984) Species-universal microstructure in the learned song of the swamp sparrow (*Melospiza georgiana*). *Animal Behaviour* 32:673-689.
- Maynard-Smith, J. (1982) *Evolution and the Theory of Games*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Maynard-Smith, J. & Harper, D. (2003) *Animal Signals*. Oxford University Press, Oxford.
- McCraken, K.G. & Sheldon, F.H. (1997) Avian vocalizations and phylogenetic signal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:3833-3836.
- McGregor P.K. (1980) Song dialects in the corn bunting (*Emberiza calandra*). *Zeitschrift für Tierpsychologie* 54:285-297.
- McNamara, J.M., Mace, R.H. & Houston, A.I. (1987) Optimal routines of singing and foraging in a bird singing to attract a mate. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 20:399-405.
- Mead, L.S. & Arnold, S.J. (2004) Quantitative genetic models of sexual selection. *Trends in Ecology and Evolution* 19:264-271.
- Milder, S.L. & Schreiber, R.W. (1989) The vocalizations of the Christmas Island warbler, *Acrocephalus aequinoctialis*, an island endemic. *Ibis* 131:99-111.
- Møller, A.P. (1986) Mating systems among European passerines: a review. *Ibis* 128:234-250.
- Møller, A.P. (1987) Variation in badge size in male house sparrows *Passer domesticus*: evidence for status signaling. *Animal Behaviour* 35:1637-1644.
- Møller, A.P. (1988) Female choice selects for male sexual tail ornaments in the monogamous swallow. *Nature* 332:640-642.
- Møller, A.P. & Birkhead, T.R. (1994) The evolution of plumage brightness in birds is related to extrapair paternity. *Evolution* 48:1089-1100.
- Møller, A.P. & Cuervo, J.J. (1998) Speciation and feather ornamentation in birds. *Evolution* 52:859-869.
- Møller, A.P. & Ninni, P. (1998) Sperm competition and sexual selection: a meta-analysis of paternity studies of birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 43:345-358.
- Møller, A.P. & Pomiankowski, A. (1993) Why have birds got multiple sexual ornaments? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 32:167-176.
- Mooers, A.Ø. & Schluter, D. (1999) Reconstructing ancestor states with maximum likelihood: support for one- and two-rate models. *Systematic Biology* 48:623-633.
- Mooers, A.Ø., Vamosi, S. & Schluter, D. (1999) Using phylogenies to test macroevolutionary models of trait evolution: sexual selection and speciation in Cranes (Gruinae). *The American Naturalist* 154:249-259.
- Morrow, E.H., Pitcher, T.E. & Arnqvist, G. (2003) No evidence that sexual selection is an 'engine of speciation' in birds. *Ecology Letters* 6:228-234.
- Morton, E.S. (1975) Ecological sources of selection on avian sounds. *The American Naturalist* 109:17-34.
- Morton, E.S. (1986) Predictions from the ranging hypothesis for the evolution of long-distance signals in birds. *Behaviour* 99:65-86.

- Mota, P.G. (1995) Ecologia Comportamental da Reprodução no Serino (*Serinus serinus* Aves: Fringillidae). PhD thesis, University of Coimbra, Coimbra.
- Mota, P.G. (1998) Adaptation and the study of function in ethology and behavioural ecology. *Acta Ethologica* 1:19-31.
- Mota, P.G. (1999) The functions of song in the Serin. *Ethology* 105:137-148.
- Mota, P.G. & Cardoso, G.C. (2001) Song organisation and patterns of variation in the serin (*Serinus serinus*). *Acta Ethologica* 3:141-150.
- Mota, P.G. & Depraz, V. (2004) A test of the effect of male song on female nesting behaviour in the serin (*Serinus serinus*): a field playback experiment. *Ethology* 110:841-850.
- Munding, P.C. (1995) Behaviour-genetic analysis of canary song: inter-strain differences in sensory learning, and epigenetic rules. *Animal Behaviour* 50:1491-1511.
- Murphy, C.G. (1998) Interaction-independent sexual selection and the mechanisms of sexual selection. *Evolution* 52:8-18.
- Nagle, L. & Kreutzer, M.L. (1997a) Adult female domesticated canaries can modify their song preferences. *Canadian Journal of Zoology* 75:1346-1350.
- Nagle, L. & Kreutzer, M.L. (1997b) Song tutoring influences female song preferences in domesticated canaries. *Behaviour* 134:89-104.
- Nagle, L., Kreutzer, M. & Vallet, E. (2002) Adult female canaries respond to male song by calling. *Ethology* 108:463-472.
- Narins, P.M., and Capranica, R.R. (1980) Neural adaptations for processing the two-note call of the Puerto-Rican treefrog *Eleutherodactylus coqui*. *Brain Behaviour and Evolution* 17:48-66.
- Nelson, D.A. (1989) The importance of invariant and distinctive features in species recognition of bird song. *Condor* 91:120-130.
- Nelson, D.A. & Marler, P. (1993) Innate recognition of song in white-crowned sparrows: a role in selective vocal learning? *Animal Behaviour* 46:806-808.
- Nelson, D.A. & Soha, J.A. (2004) Male and female white-crowned sparrows respond differently to geographic variation in song. *Behaviour* 141:53-69.
- Neubauer, R.L. (1999) Super-normal length song preferences of female zebra finches (*Taeniopygia guttata*) and a theory of the evolution of bird song. *Evolutionary Ecology* 13:365-380.
- Nolan, P.M. & Hill, G.E. (2004) Female choice for song characteristics in the house finch. *Animal Behaviour* 67:403-410.
- Nottebohm, F. (1972) The origins of vocal learning. *The American Naturalist* 106:116-140.
- Nottebohm, F., Kasparian, S. & Pandazis, C. (1981) Brain space for a learned task. *Brain Research* 213:99-109.
- Nottebohm, F., Nottenbohm, M.E., Crane, L. (1986) Developmental and seasonal changes in canary song and their relation to changes in the anatomy of song control nuclei. *Behavioral and Neural Biology* 46:445-471.
- Nowicki, S., Searcy, W.A., Hughes, M. & Podos, J. (2001) The evolution of bird song: male and female responses to song innovation in swamp sparrows. *Animal Behaviour* 62:1189-1195.

- Oakley, T.D. & Cunningham, C.W. (2000) Independent contrasts succeed where ancestor reconstruction fails in a known bacteriophage phylogeny. *Evolution* 54:397-405.
- Oberweger, K. & Goller, F. (2001) The metabolic cost of birdsong production. *Journal of Experimental Biology* 204:3379-3388.
- Ödeen, A. & Björklund, M. (2003) Dynamics in the evolution of sexual traits: losses and gains, radiation and convergence in yellow wagtails (*Motacilla flava*). *Molecular Ecology* 12:2113-2130.
- Olson, V.A. & Owens, I.P.F. (1998) Costly sexual signals: are carotenoids rare, risky or required? *Trends in Ecology and Evolution* 13:510-514.
- Omland, K.E. (1996a) Female mallard mating preferences for multiple male ornaments. I. Natural variation. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 39:353-360.
- Omland, K.E. (1996b) Female mallard mating preferences for multiple male ornaments. II. Experimental variation. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 39:361-366.
- Omland, K.E. (1997) Examining two standard assumptions of ancestral reconstructions: repeated loss of dichromatism in dabbling ducks (Anatini). *Evolution* 51:1636-1646.
- Omland, K.E. (1999) The assumptions and challenges of ancestral state reconstructions. *Systematic Biology* 48:604-611.
- Omland, K.E. & Lanyon, S.M. (2000) Reconstructing plumage evolution in orioles (*Icterus*): repeated convergence and reversal in patterns. *Evolution* 54:2119-2133.
- Owens, I.P.F. & Bennett, P.M. (1994) Mortality costs of parental care and sexual dimorphism in birds. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 257:1-8.
- Owens, I.P.F. & Hartley, I.R. (1998) Sexual dimorphism in birds: why are there so many different forms of dimorphism? *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 265:397-407.
- Owens, I.P.F. & Short, R.V. (1995) Hormonal basis of sexual dimorphism in birds: implications for new theories of sexual selection. *Trends in Ecology and Evolution* 10:44-47.
- Owens, I.P.F., Bennett, P.M. & Harvey, P.H. (1999) Species richness among birds: body size, life history, sexual selection or ecology? *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 266:933-939.
- Pacheco, C. (2002) Reconhecimento individual entre os membros do par e individualidade nas vocalizações de contacto na Milheirinha (*Serinus serinus*). MSc Thesis, University of Coimbra, Portugal.
- Päckert, M, Martens, J., Kosuch, J., Nazarenko, A.A. & Veith, M. (2003) Phylogenetic signal in the song of crests and kinglets (aves: *Regulus*). *Evolution* 57:616-629.
- Pagel, M. (1999a) The maximum likelihood approach to reconstructing ancestral character states of discrete characters on phylogenies. *Systematic Biology* 48:612-622.
- Pagel, M. (1999b) Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature* 401:877-884.
- Parisot, M., Vallet, E., Nagle, L. & Kreutzer, M. (2002) Male canaries discriminate among songs : call rate is a reliable measure. *Behaviour* 139:55-63.

- Pasteau, M., Nagle, L. & Kreutzer, M. (2004) Preferences and predispositions for intra-syllabic diversity in female canaries (*Serinus canaria*). *Behaviour* 141:571-583.
- Payne, R.B. (1984) Sexual selection, lek and arena behaviour, and sexual size dimorphism in birds. *Ornithological Monographs* 33:1-53.
- Peterson, A.T. (1996) Geographical variation in sexual dichromatism in birds. *Bulletin of the British Ornithologists' Club* 116:156-172.
- Podos, J. (1996) Motor constraints on vocal development in a songbird. *Animal Behaviour* 51:1061-1070.
- Podos, J. (1997) A performance constraint on the evolution of trilled vocalizations in a songbird family (Passeriformes: Emberizidae). *Evolution* 51:537-551.
- Podos, J. (2001) Correlated evolution of morphology and vocal signal structure in Darwin's finches. *Nature* 409:185-188.
- Podos, J., Nowicki, S. & Peters, S. (1999) Permissiveness in the learning and development of song syntax in swamp sparrows. *Animal Behaviour* 58:93-103.
- Podos, J., Peters, S., Rudnicki, T., Marler, P. & Nowicki, S. (1992) The organisation of song repertoires in song sparrows: themes and variations. *Ethology* 90:89-106
- Podos, J., Huber, S.K. & Taft, B. (2004) Bird song: the interface of evolution and mechanism. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35:55-87.
- Polly, P.D. (2001) Paleontology and the comparative method: ancestral node reconstructions versus observed node values. *The American Naturalist* 157:596-609.
- Pomiankowski, A. (1987) The costs of choice in sexual selection. *Journal of Theoretical Biology* 128:195-218.
- Pomiankowski, A. & Iwasa, Y. (1993) Evolution of multiple sexual preferences by Fisher's runaway process of sexual selection. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 253:173-181.
- Pomiankowski, A. & Iwasa, Y. (1998) Runaway ornament diversity caused by Fisherian sexual selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:5106-5111.
- Pomiankowski, A., Iwasa, Y. & Nee, S. (1991) The evolution of costly mate preferences I. Fisher and biased mutation. *Evolution* 45:1422-1430.
- Price, D.K. (1996) Sexual selection, selection load and quantitative genetics of zebra finch bill colour. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 263:217-221.
- Price, D.K. & Burley, N.T. (1994) Constraints on the evolution of attractive traits: selection in male and female zebra finches. *The American Naturalist*. 144:908-934.
- Price, J.J. & Lanyon, S.M. (2002) Reconstructing the evolution of complex bird song in the oropendolas. *Evolution* 56:1514-1529.
- Price, J.J. & Lanyon, S.M. (2004) Patterns of song evolution and sexual selection in the oropendolas and caciques. *Behavioral Ecology* 15:485-497.
- Price, T. & Birch, G.L. (1996) Repeated evolution of sexual color dimorphism in passerine birds. *Auk* 113:842-848.
- Price, T. & Pavelka M. (1996) Evolution of a colour pattern: history, development, and selection. *Journal of Evolutionary Biology* 9:451-470.

- Price, T. (1998) Sexual selection and natural selection in bird speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B* 353:251-260.
- Promislow, D. E. L., Montgomerie, R. & Thomas, T. E. (1992) Mortality costs of sexual dimorphism in birds. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 250:143-150.
- Pryke, S.R., Lawes, M.J. & Andersson, S. (2001a) Agonistic carotenoid signalling in male red-collared widowbirds: aggression related to the colour signal of both territory owner and model intruder. *Animal Behaviour* 62:695-704.
- Pryke, S.R., Andersson, S. & Lawes, M.J. (2001b) Sexual selection of multiple handicaps in red-collared widowbirds: female choice of tail length but not carotenoid display. *Evolution* 55:1452-1463.
- Purvis, A. & Garland, T., Jr. (1993) Polytomies in comparative analyses of continuous characters. *Systematic Biology* 42:569-575.
- Ratcliffe, L. & Otter, K. (1996) Sex differences in song recognition. Em: Ecology and evolution of acoustic communication in birds (eds. Kroodsma, D.E. & Miller, E.H.) p. 339-355. Cornell University Press, Ithaca.
- Read, A.F. & Weary, D.M. (1992) The evolution of bird song: comparative analyses. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B* 338:165-187.
- Richards, D.G. & Wiley, R.H. (1980) Reverberations and amplitude fluctuations in the propagation of sound in a forest: implications for animal communication. *The American Naturalist* 115:381-399.
- Ricklefs, R.E. (2004) Cladogenesis and morphological diversification in passerine birds. *Nature* 430:338-341.
- Riebel, K. (2000) Early exposure leads to repeatable preferences for male song in female zebra finches. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 267:2553-2558.
- Riebel, K. & Slater, P.J.B. (1998) Testing female chaffinch song preferences by operant conditioning. *Animal Behaviour* 56:1443-1453.
- Riebel, K., Smallegande, I.M., Terpstra, N.J. & Bolhuis, J. (2002) Sexual equality in zebra finch song preference: evidence for a dissociation between song recognition and production learning. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 269:729-733.
- Ritchie, M.G., Saarikettu, M., Livingstone, S. & Hoikkala, A. (2001) Characterization of female preference functions for *Drosophila montana* courtship song and a test of the temperature coupling hypothesis. *Evolution* 55:721-72.
- Rowe, C. (1999) Receiver psychology and the evolution of multicomponent signals. *Animal Behaviour* 58:921-931.
- Ryan, M.J. & Brenowitz, E.A. (1985) The role of body size, phylogeny, and ambient noise in the evolution of bird song. *The American Naturalist* 126:87-100.
- Schluter, D. & Price, T. (1993) Honesty, perception and population divergence in sexually selected traits. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 253:117-122.
- Schluter, D., Price, T., Mooers, A.Ø. & Ludwig, D. (1997) Likelihood of ancestor states in adaptive radiation. *Evolution* 51:1699-1711.

- Searcy, W.A. (1990) Species recognition of song by female red-winged blackbirds. *Animal Behaviour* 40:1119-1127.
- Searcy, W.A. (1992a) Song repertoires and mate choice in birds. *American Zoologist* 32:71-80.
- Searcy, W.A. (1992b) Measuring responses of female birds to male song. Em: Playback and studies of animal communication (ed. McGregor, P.K.) p. 175-189. Plenum Press, New York.
- Searcy, W.A. (1996) Sound-pressure levels and song preferences in female red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*) (Aves, Emberizidae). *Ethology* 102:187-196.
- Searcy W.A. & Andersson M. (1986) Sexual selection and the evolution of song. *Annual Review in Ecology and Systematics* 17:507-533.
- Searcy, W.A. & Brenowitz, E.A. (1988) Sexual differences in species recognition of avian song. *Nature* 332:152-154.
- Searcy W.A. & Marler P. (1981) A test for responsiveness to song structures and programming in female sparrows. *Science* 213:926-928.
- Searcy, W.A. & Nowicki, S. (2000) Male-male competition and female choice in the evolution of vocal signalling. Em: Signalling and signal designs in animal communication (eds. Espmark, Y., Amundsen, T. & Rosenqvist, G.) p. 301-315. Tapir Academic Press, Trondheim.
- Searcy, W.A. & Yasukawa, K. (1996) Song and female choice. Em: Ecology and evolution of acoustic communication in birds. (eds. Kroodsma, D.E. & Miller, E.H.) p. 454-473. Cornell University Press, Ithaca.
- Searcy WA, Nowicki, S. & Hogan, C. (2000) Song type variants and aggressive context. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 48:358-363.
- Searcy, W.A., Nowicki, S., Hughes, M. & Peters, S. (2002) Geographic song discrimination in relation to dispersal distances in song sparrows. *American Naturalist* 159:221-230.
- Seddon, N. (2005) Ecological adaptation and species recognition drives vocal evolution in neotropical subsocial birds. *Evolution* 59:200-215.
- Shuster, S. M. & Wade, M.J. (2003) Mating systems and strategies. Princeton University Press.
- Shutler, D. & Weatherhead, P.J. (1990) Targets of sexual selection: song and plumage of wood warblers. *Evolution* 44:1967-1977.
- Slagsvold, T., Dale, S. & Kruszewicz, A. (1995) Predation favours cryptic coloration in breeding male pied flycatchers. *Animal Behaviour* 50:1109-1121.
- Specht, R. (1999-2002) Avisoft-SASLab Pro: Sound Analysis and Synthesis Laboratory. Avisoft, Berlin.
- Staicer, C.A. (1996) Acoustical features of song categories of the Adelaide's warbler (*Dendroica adelaidae*). *Auk* 113:771-783.
- Stradi, R., Celentano, G., Rossi, E. & Pastore, M. (1995) Carotenoids in bird plumage – I. The carotenoid pattern in a series of Palearctic Carduelinae. *Comparative Biochemistry and Physiology* 110B:131-143.

- Suthers, R.A. & Goller, F. (1997) Motor correlates of vocal diversity in songbirds. Em: *Current Ornithology*, vol. 14 (eds. Nolan, V., Jr., Ketterson, E.D. & Thompson, C.F.) p. 235-288. Plenum Press, New York.
- Suthers, R.A., Vallet, E., Tanvez, A. & Kreutzer, M. (2004) Bilateral song production in domestic canaries. *Journal of Neurobiology* 60:381-393.
- Swaddle, J.P. (2000) Is fluctuating asymmetry a visual signal? Em: *Animal signals: signalling and signal design in animal communication*. (eds. Espmark, Y., Amundsen, T. & Rosenqvist, G.) p. 155-175. Tapir academic press, Trondheim.
- Thomas, R.J. (1999) Two tests of a stochastic dynamic programming model of daily singing routines in birds. *Animal Behaviour* 57:277-284.
- Thompson, N.S., LeDoux, K. & Moody, K. (1994) A system for describing bird song units. *Bioacoustics* 5:267-279.
- Thornhill, R. & Møller, A.P. (1998) The relative importance of size and asymmetry in sexual selection. *Behavioural Ecology* 9:546-551.
- Tubaro, P.L. & Mahler, B. (1998) Acoustic frequencies and body mass in New World doves. *Condor* 100:54-61.
- Uy, J.A.C. & Borgia, G. (2000) Sexual selection drives rapid divergence in bowerbird display traits. *Evolution* 54:273-278.
- Vallet E. & Kreutzer M. (1995) Female canaries are sexually responsive to special song phrases. *Animal Behaviour* 49:1603-1610.
- Vallet, E., Beme, I. & Kreutzer, M. (1998) Two-note syllables in canary songs elicit high levels of sexual display. *Animal Behaviour* 55:291-297.
- van Buskirk, J. (1997) Independent evolution of song structure and note structure in American wood warblers. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 264:755-761.
- van Doorn, G.S. & Weissing, F.J. (2004) The evolution of female preferences for multiple indicators of quality. *The American Naturalist* 164:173-186.
- Vehrencamp, S.L. (2000) Handicap, index, and conventional signal elements of bird song. Em: *Animal signals: signalling and signal design in animal communication*. (eds. Espmark, Y., Amundsen, T. & Rosenqvist, G.) p. 277-300. Tapir Academic Press, Trondheim.
- Vicario, D.S., Naqvi, N.H. & Raskin, J.N. (2001) Sex differences in discrimination of vocal communication signals in a songbird. *Animal Behaviour* 61:805-817.
- Wallace, A. R. (1889) *Darwinism: an exposition of the theory of natural selection with some of its applications*. Macmillan, London.
- Wallschläger, D. (1980) Correlation of song frequency and body weight in passerine birds. *Experientia* 36:412.
- Wasserman, F.E. & Cigliano, J.A. (1991) Song output and stimulation of the female in white-throated sparrows. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 29:55-59.
- Weary, D.M., Krebs, J.R., Eddyshaw, R., McGregor, P.K & Horn, A. (1988) Decline in song output in great tits: exhaustion or motivation? *Animal Behaviour* 36:1242-1244.
- Weary, D.M., Lambrechts, M.M. & Krebs, J.R. (1991) Does singing exhaust male great tits? *Animal Behaviour* 41:540-542.

- Webster, A. J. & Purvis, A. (2002) Testing the accuracy of methods for reconstructing ancestral states of continuous characters. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 269:143-149.
- Westneat, M.W., Long, J.H., Jr, Hoese, W. & Nowicki, S. (1993) Kinematics of birdsong: Functional correlation of cranial movements and acoustic features in sparrows. *Journal of Experimental Biology* 182:147-171.
- West-Eberhard, M.J. (1989) Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 20:249-278.
- Wiens, J.J. (2001) Widespread loss of sexually selected traits: how the peacock lost its spots. *Trends in Ecology and Evolution* 16:517-523.
- Wiley, R.H. (1991) Associations of song properties with habitats for territorial oscine birds of eastern North America. *The American Naturalist* 138:973-993.
- Wiley, R.H. & Poston, J. (1996) Indirect mate choice, competition for mates, and coevolution of the sexes. *Evolution* 50:1371-1381.
- Wolf, W.L., Casto, J.M., Nolan, V., Jr., & Ketterson, E.D. (2004) Female ornamentation and male mate choice in dark-eyed juncos. *Animal Behaviour* 67:93-102.
- Zahavi, A. (1975) Mate selection: a selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology* 53:205-214.
- Zahavi, A. & Zahavi, A. (1997) *The handicap principle*. Oxford University Press, Oxford.
- Zann R.A. (1993) Structure, sequence and evolution of song elements in wild Australian zebra finches. *Auk* 110:702-715.
- Zar, J.H. (1996) *Biostatistical Analysis*. 3rd ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Zimmer, U.E. (1982) Birds react to playback of recorded songs by heart rate alteration. *Zeitschrift für Tierpsychologie* 58:25-30.

Apêndices

Apêndice 1 – Tamanhos de amostra e médias de medições das sílabas e canções para as 27 espécies de *Serinus* spp. usadas neste estudo.

<i>Serinus alario</i>	1	8	117	0.19	0.12	3.39	4.1	1.42	0.12	0.01	0.55	0.17	3.94	8.26	3.7	0.58	14.63	0.76	11.26	0.63	0.63
<i>S. albogularis</i>	4	32	438	0.2	0.07	4.71	3.75	1.58	2.96	0.04	0.22	0.04	2.4	9.1	3.49	0.76	13.69	0.88	12.88	0.49	0.49
<i>S. atrogularis</i>	2	20	356	0.13	0.07	3.99	3.35	1.16	2.79	0.09	0.20	0.05	3.06	10.64	3.16	0.65	17.8	0.87	22.28	0.4	0.4
<i>S. burtoni</i>	2	19	615	0.12	0.1	5.48	3.88	1.18	1.47	0.35	0.18	0.11	4.67	9.3	5.44	0.55	32.11	0.68	25.96	0.45	0.45
<i>S. canaria</i>	5	41	2241	0.15	0.09	4.03	3.17	1.90	0.66	0.17	0.13	0.09	4.93	8.23	9.78	0.6	52.48	0.74	35.79	0.32	0.32
<i>S. canicollis</i>	3	13	595	0.11	0.04	4.19	3.85	2.30	1.47	0.27	0.16	0.01	2	20.39	6.77	0.75	45.77	0.99	69.41	0.29	0.29
<i>S. capistratus</i>	1	2	47	0.15	0.07	3.72	3.7	1.55	1	0.2	0	0.09	10	11.77	2.72	0.7	23.5	0.67	6	0.33	0.33
<i>S. citrinelloides</i>	3	17	1171	0.08	0.05	4.47	2.96	1.45	0.82	0.18	0.09	0.02	3.77	15.83	9.17	0.62	68.88	0.98	112.49	0.1	0.1
<i>S. dorostriatus</i>	1	10	54	0.13	0.06	5.06	4.01	1.49	2.47	0.13	0.05	0	2.75	7.53	0.96	0.76	5.4	0.91	6.33	0.57	0.57
<i>S. estberae</i>	1	10	65	0.04	0.1	4.46	1.97	1.05	0.7	0.41	0	0	9.6	12.5	0.54	0.47	6.3	0.75	4	0	0
<i>S. flaviventris</i>	4	21	536	0.13	0.05	4.02	3.27	1.53	1.69	0.19	0.08	0.18	2.97	11.33	4.15	0.73	25	0.85	29.88	0.24	0.24
<i>S. gularis</i>	4	30	1225	0.2	0.11	4.04	3.35	1.44	1.76	0.22	0.13	0.05	5.92	7.15	8.53	0.7	40.6	0.52	14.78	0.42	0.42
<i>S. koliensis</i>	2	9	196	0.09	0.08	4.55	1.95	1.27	0.17	0.01	0.04	0	7.17	14.83	3.31	0.55	21.78	0.98	34.2	0.25	0.25

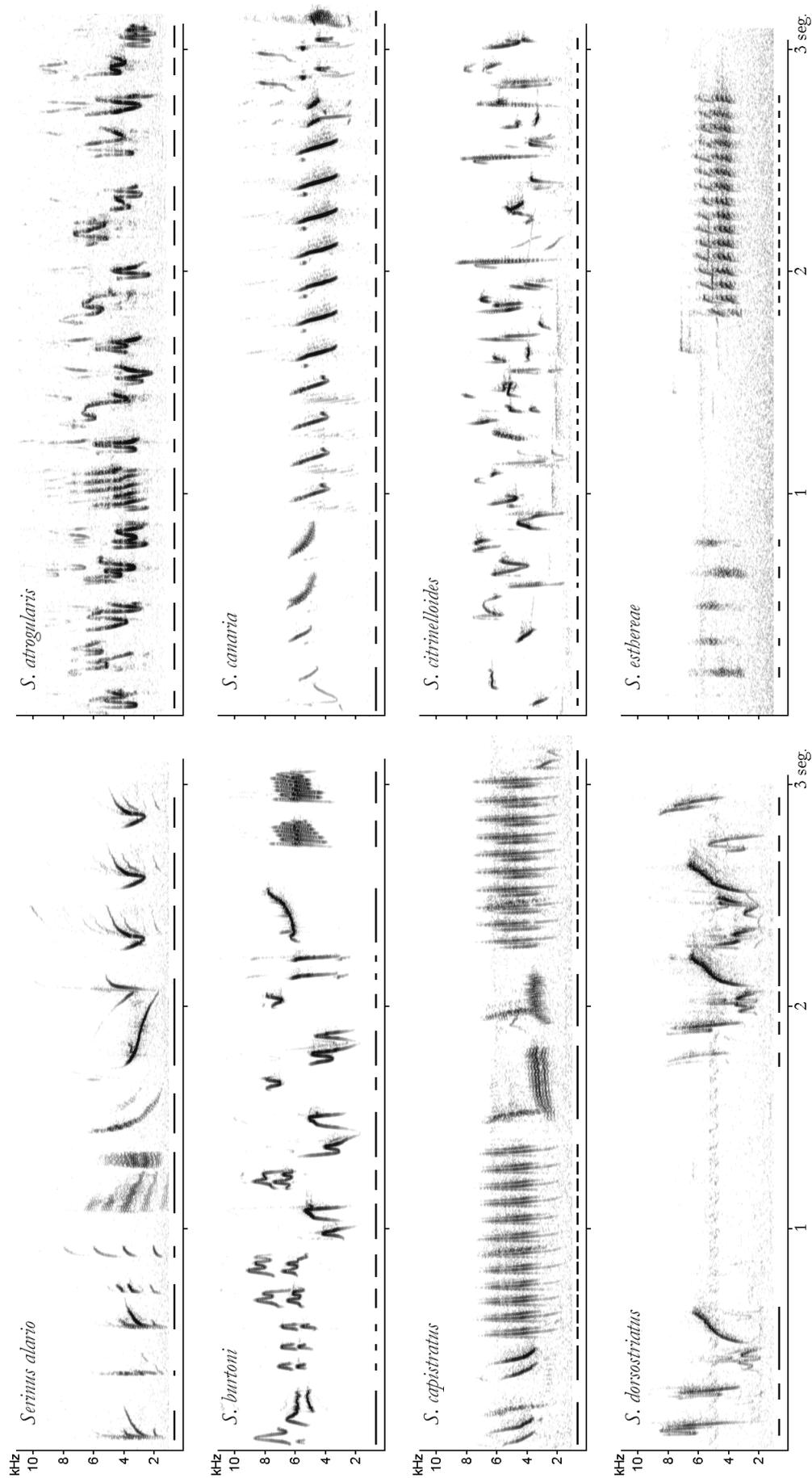
Apêndice 1 (continuação)

<i>S. leucopygus</i>	2	10	410	0.13	0.06	3.85	3.04	1.26	1.52	0.1	0.1	0.02	3.71	13.11	7.48	0.69	41	0.98	74.62	0.03
<i>S. leucopterus</i>	1	10	424	0.13	0.06	4	3.04	2.37	1.77	0.13	0.22	0.1	6.16	5.91	6.33	0.62	36.1	0.23	11.6	0.31
<i>S. menelli</i>	2	5	139	0.3	0.13	3.42	2.21	1.21	3.8	0.22	0.08	0	2.64	6.53	11.76	0.68	27.8	0.79	20.6	1
<i>S. moçambicus</i>	3	29	388	0.15	0.11	3.97	3.17	1.42	1.58	0.2	0.15	0.01	2.29	7.8	3.33	0.59	13.38	0.94	23.28	0.25
<i>S. pusillus</i>	3	10	598	0.1	0.05	4.69	4.17	1.73	1.01	0.46	0.38	0.02	4.98	19.44	6.26	0.6	59.8	0.7	48.28	0.34
<i>S. rothschildi</i>	1	3	88	0.1	0.05	4.45	2.17	1.26	0.65	0.01	0.04	0.04	3.56	8.03	3.9	0.64	26.67	0.84	20.92	0.9
<i>S. rufobrunneus</i>	3	16	195	0.21	0.22	4.13	2.69	1.42	0.94	0.04	0.01	0	3.86	6.67	3.99	0.5	12.19	0.76	12.96	0.32
<i>S. serinus</i>	3	28	939	0.1	0.03	5.7	4.61	1.83	1.45	0.29	0.2	0.07	3.56	20.96	3.64	0.77	33.5	0.9	33.35	0.42
<i>S. striolatus</i>	5	39	810	0.13	0.05	4.42	3.03	1.23	1.59	0.13	0.23	0.09	3.17	11.86	3.06	0.65	20.23	0.73	13.8	0.72
<i>S. sulphuratus</i>	3	30	567	0.17	0.06	3.99	3.66	1.58	2.17	0.14	0.2	0.11	2.35	7.67	3.62	0.73	18.27	0.74	20.07	0.35
<i>S. thibetanus</i>	1	4	112	0.11	0.08	3.97	2.79	1.68	1.46	0.3	0.03	0.05	2.72	9.31	5.95	0.44	28	0.28	25	0
<i>S. totta</i>	1	5	42	0.16	0.09	3.76	3.13	1.46	1.15	0.08	0.15	0.05	4	7.48	2.49	0.69	8.4	0.97	14.01	0.31
<i>S. tristriatus</i>	1	3	24	0.09	0.05	3.56	3.59	1.29	1.04	0.04	0.13	0	**	**	1.11	0.67	8	1	15	0.25
<i>S. xantholaema</i>	1	10	47	0.16	0.08	4.2	1.5	1.34	0.62	0.05	0.01	0	**	**	1	0.71	4.7	1	7.11	0.63

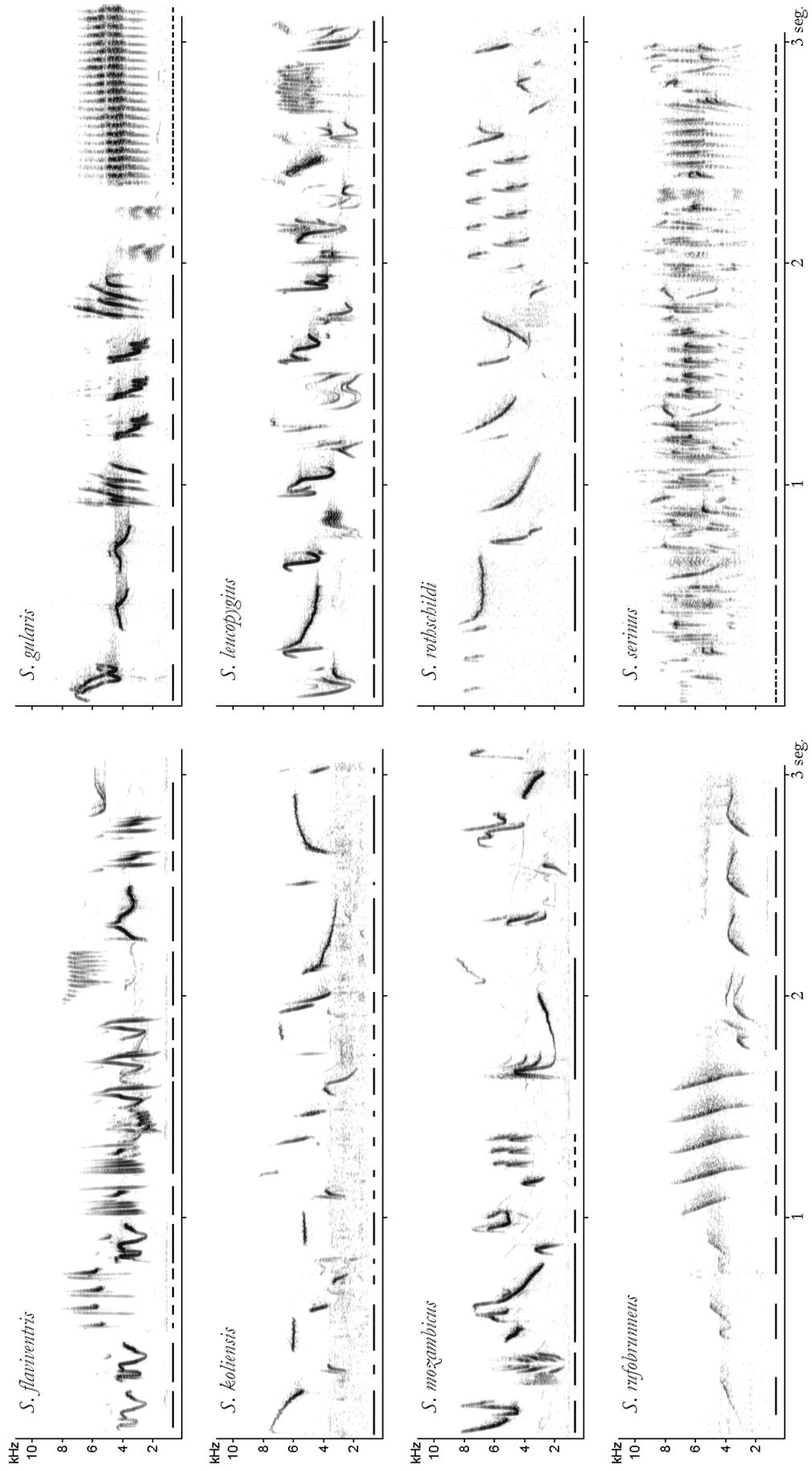
* - Os graus de liberdade para testes estatísticos dependem também da proporção de sílabas não repetidas nas canções, uma vez que as sílabas repetidas são contadas apenas uma vez, e da proporção de sílabas que são partilhadas entre canções.

** - Valores omissos, porque estas espécies não têm sintaxe repetida nas canções amostradas. Na ACP os valores omissos foram substituídos pela média do género ou, no cálculo de contrastes independentes e componentes específicos, por valores que mantêm as reconstruções de estados ancestrais inalteradas.

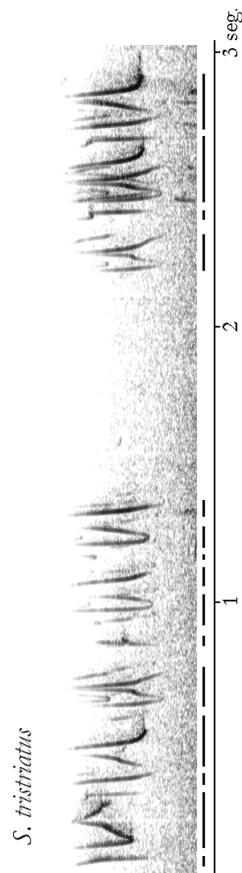
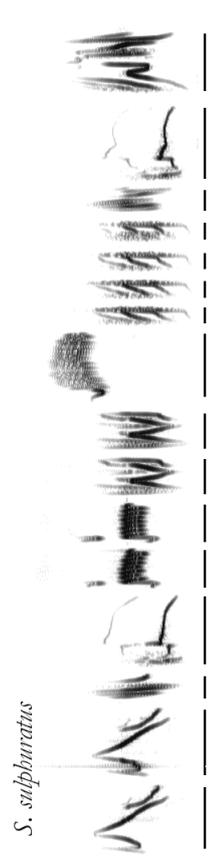
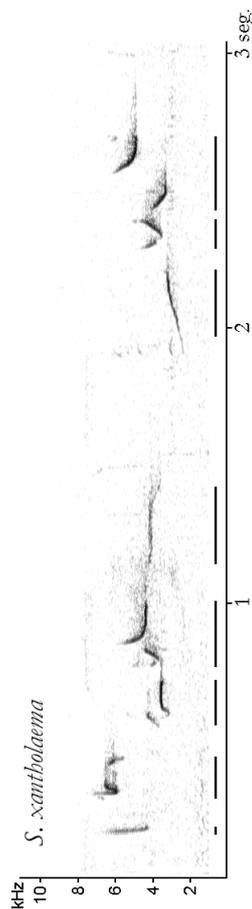
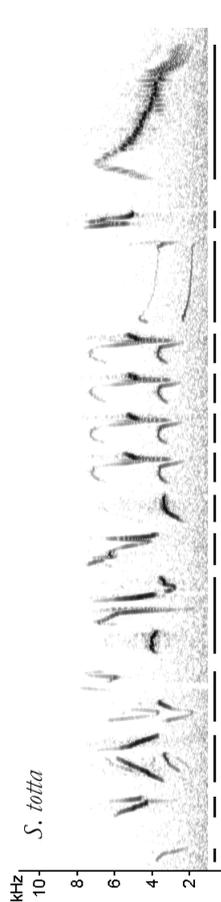
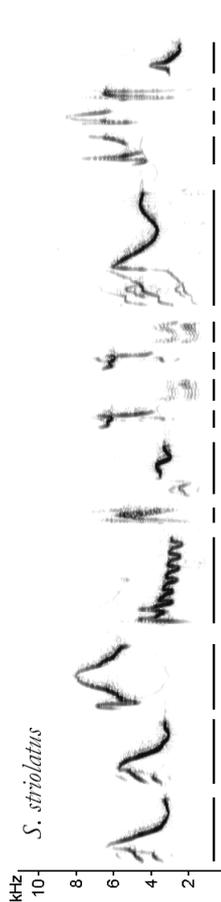
Apêndice 2 – Espectrogramas representativos das canções de *Serinus* spp. (apenas os primeiros 3 segundos de cada canção estão representados). As linhas horizontais por baixo dos espectrogramas identificam sílabas.



Apêndice 2 (continuação)



Apêndice 2 (continuação)



Apêndice 3 – Medições de cor em espécimens de *Serinus* spp. São dadas as médias dos espécimens de cada sexo. As definições das medições são dadas no fim da tabela.

	N	PAD.	SAT.	BRI.	EXT.	PAD.	SAT.	BRI.	PAD.	SAT.	BRI.	PAD.	SAT.	BRI.	MRC.	OUT.	CPN.	MPN.	CPN.	MPN.	PNM.	PNM.	COR.	COR.
	PT	PT	PT	PT	MT	MT	MT	UR	UR	UR	UR	SC	SC	SC	CB	MRC	CD	ASA	ASA	CD	ASA	ASA	BC	PAT
<i>Serinus alario</i>	Machos	5	3	0	100	34.63	3	54	65	3	53.33	58.67	3	0	100	1	7.5	0	0	0	0.67	1.83	2.67	
	Fêmeas	1	1	0	100		1	40	58	2	57	65	3	0	100	0	0	0	2	0.67	0.67	2	2	
<i>S. albogularis</i>	Machos	3	3	7	85	34.73	2.33	6.33	83	3	63.33	97	3	0	100	3	0	2	0.33	2	0.78	0	1.5	2
	Fêmeas	1	3	11	84	37	3	15	76	3	62	91	3	0	100	3	0	0	2	0.67	0	1.5	2	
<i>S. atrogularis</i>	Machos	3	1.33	2	97.67	34.33	1	5.67	91	3	69.33	100	3	0	100	2	0	2	1.67	2	0.78	0	1.5	2
	Fêmeas	1	2	0	100	38.7	1	5	87	3	64	100	3	0	100	3	0	2	2	2.5	1	0	2	2
<i>S. burtoni</i>	Machos	3	2.17	26.33	67	64.33	3	25	40	3	25	40	3	7	98	1	0	0	2	0.67	0	1.17	2	
	Fêmeas	1	2	24	67	70	3	25	40	3	25	40	3	6	93	1	0	0	2	1	0	1.5	2	
<i>S. canaria</i>	Machos	3	3	64	100	43.97	1	8	89.33	2	69.33	91	3	0	100	3.5	0	2	1	2	1	0	1.08	2
	Fêmeas	1	2	47	49	27	1	14	94	2	57	82	3	0	100	2	0	2	1	1.5	1	0	1	2
<i>S. canicollis</i> c.	Machos	3	3	54.67	100	41.9	3	13.67	78.67	3	69.33	91	3	51	100	3	0	3	1.33	2.83	1	1	2	2.67
	Fêmeas	1	3	36	100	19.6	3	15	76	3	52	91	3	36	100	2	0	3	2	2.67	1	1	2	3
<i>S. c. flavivertex</i>	Machos	3	3	79.33	97	44.87	2.33	44.33	69	2.33	81.67	97	3	23.67	96.67	5	0	3	1.67	3	1.22	1	2	3
	Fêmeas	1	3	56	100	40.2	2	37	69	3	73	91	3	0	100	5	0	3	2	2.5	1	1	2	3
<i>S. capistratus</i>	Machos	3	3	77	100	44.5	2.67	60	79.67	3	77	85	3	48	100	3	2.5	2.33	1	2.5	0.67	0.83	1.83	2
	Fêmeas	1	2	64	100	27	2.5	53	75	3	70	82	3	45	100	2	0	2	1	2	1	0.5	1.5	2
<i>S. citrinelloides</i>	Machos	3	3	92.33	100	36.5	1.83	87.33	81.33	2.83	90.33	88.33	3	72.67	100	2	4	2.17	1	2.17	1	0.67	2	2
	Fêmeas	1	2	54	100	29.5	1.5	60	92	2.5	70	82	3	54	100	2	0	2.5	1	2	1	0.5	1	2
<i>S. donaldsoni</i>	Machos	3	2.83	65	100	49.1	1.83	15.33	86	2.67	58	93.67	3	57.33	100	1.5	0	2.5	0.67	1.94	0.89	0	1.33	3
	Fêmeas	1	1	0	100	33	2	0	100	3	62	91	3	0	100	2	0	2.5	1	2	1	0	1	2

Apêndice 3 (continuação)

	N	PAD.	SAT.	BRI.	EXT.	PAD.	SAT.	BRI.	PAD.	SAT.	BRI.	MRC.	OUT.	CPN.	MPN.	CPN.	MPN.	PNM.	PNM.	COR.	COR.			
	PT'	PT'	PT'	PT'	PT'	MT'	MT'	UR	UR	UR	UR	SC	CB	MRC	CD	ASA	ASA	ASA	ASA	BC	PAT			
<i>S. flaviventris</i>	Machos	3	100	100	53.47	3	60.67	71	3	68	88	3	62	100	2.5	0	2.67	1	2.39	1	0.5	2	3	
	Fêmeas	1	0	100		3	15	76	3	42	90	3	0	100	2.5	0	2	1	2	1	0	2	3	
<i>S. gularis</i>	Machos	4	3	9.75	90.5	33.57	3	14	78	3	14	78	2.75	6.5	95	2.25	2.87	1.5	0.25	1.87	1	0	1.62	2
	Fêmeas	1	3	5	87	34.4	3	15	76	3	15	76	3	0	100	3	0	2	1	2	1	0	1.5	2
<i>S. koltensis</i>	Machos	3	1.83	76	100	37.25	1.83	59	72.5	2.17	63	82.5	3	76	100	1	0	2	0.67	2	1	0.5	1.83	2
	Fêmeas	1	1	54	100	21.9	1.5	52	71	2.5	57	82	3	54	100	0	0	2	1	2	1	0.5	1.5	2
<i>S. leucopygius</i>	Machos	3	2.17	0	100	31.17	2	5	87	3	0	100	3	0	100	0.67	0	2	0.33	2	0.67	0	1	1
	Fêmeas	1	2	0	100	20.7	2	5	87	3	0	100	3	0	100	1	0	0	2	1	0	0	1	1
<i>S. mennelli</i>	Machos	3	2	0	100	35.47	2	11	75.33	2.83	11	75.33	3	0	100	3	2	0	2	1	0	2	2.83	
	Fêmeas	1	2	0	100	46.9	2	9	75	2.5	9	75	3	0	100	3	2	0	2	1.5	0	2	2.5	
<i>S. mozambicus</i>	Machos	3	3	92	100	54.2	3	27	77.67	3	77	100	3	45	100	3	1	3	0.67	2.5	1	1	2	2
	Fêmeas	2	3	29	100		3	15	76	3	54	100	3	21	100	2	1	0	2.5	1	1	2	2	
<i>S. nigriceps</i>	Machos	3	3	46	94	20.9	3	68.33	88.33	3	70	94.67	3	14	100	0	7.33	2	1	2.06	1.3	1	3	3
	Fêmeas	1	3	36	100	30.6	3	48	80	3	73	91	3	14	100	0	2.5	2	2	2	1.3	1	2	2
<i>S. pusillus</i>	Machos	5	1	44	100	20.68	1	0	1.75	76.4	100	3	35.6	100	0.2	5.6	2	1.6	2.73	1.47	1	3	3	3
	Fêmeas	1	1	54	100	31.8	1	0	2	58	100	3	0	100	0	6	3	1	2.67	1.67	1	3	3	3
<i>S. rufobrunneus</i>	Machos	3	3	42.33	75.67	54.13	3	38.33	49.33	3	38.33	53	3	39	76	1	0	0	0	0	0	0	1.42	2
	Fêmeas	1	3	49	75	61.6	3	45	48	3	51	56	3	49	75	1	0	0	0	0	0	0	1.5	2
<i>S. serinus</i>	Machos	5	2.6	62.6	100	37.08	1	29.2	91	2.8	60	100	3	0	100	2.3	0	2	1	2	1	0	2	2
	Fêmeas	1	1	34	85	19.7	1	21	100	2	45	100	2	0	100	0	0	2	1	2	1	0	2	2

Apêndice 3 (continuação)

<i>S. striolatus</i>	Machos	4	1	9.33	96.33	28.27	1	4.67	98	1.5	1	9.33	96.33	3.17	0	2	0.67	2	0.67	0.33	1.67	2	
	Fêmeas	1	1	0	100	1	0	100	2	1	0	100	2.5	0	0	2	1	1	1.5	2			
<i>S. sulphuratus</i>	Machos	3	3	84	100	41.3	3	52.67	73.67	3	67	84.67	3	68.33	100	2.83	0	2.67	1	2.5	1	1	2
	Fêmeas	1	3	76	100	3	52	71	3	70	81	3	64	100	2.5	0	3	1	2.5	1	1	2	2
<i>S. gyriacus</i>	Machos	5	3	32	98.8	32.54	2	10.6	92.4	3	41.8	99.8	3	0	100	1.8	0	2.4	1.6	2.87	1.6	0	2
	Fêmeas	1	3	14	94	20.5	2	14	94	3	36	99	3	0	100	1	0	2.5	2	2.83	1.67	0	2
<i>S. thibetanus</i>	Machos	7	3	81	100	40.8	2.9	64.2	58	3	78.2	82.6	3	47	100	3.5	0	3	1.6	2.53	1.27	0	1.5
	Fêmeas	1	1	45	100	14.5	2.5	38	60	2	87	81	1	0	100	3	0	3	1	3	1	0	1.5
<i>S. totia</i>	Machos	3	2.67	60.67	100	44	3	36.33	55	3	51.33	78.33	2.67	8.5	84.5	1	0	0	0	0	0	1	2
	Fêmeas	1	3	48	68	44.8	3	39	49	3	48	68	3	24	67	0	0	0	0	0	0	0.5	2
<i>S. tristriatus</i>	Machos	3	3	16.33	79	49.3	3	15	58	3	15	58	3	7.5	88	2	0	0	0	0	0	2	2
	Fêmeas	1	3	19	85	47.7	3	24	67	3	24	67	3	11	84	2	0	0	0	0	0	2	2

N: número de espécimens medidos. Definições das medições: PAD.PT, PAD.MT, PAD.UR e PAD.SC – Categorização do padrão de pigmentação da plumagem, de fortemente malhado (1) a liso (3) no peito, manto, uropígio e subcaudais, respectivamente. SAT.PT, SAT.MT, SAT.UR e SAT.SC – Saturação da cor no peito, manto, uropígio e subcaudais, respectivamente. BRI.PT, BRI.UR e BRI.SC – Brilho da cor no peito, manto, uropígio e subcaudais, respectivamente. EXT.PT – Extensão vertical da área colorida do peito, em milímetros. MRC.CB – Número de partes da cabeça com cores brilhantes. As partes são coroa, garganta, risca ocular, risca supraciliar, auriculares e à volta das auriculares (quando as bochechas não as auriculares são claras, é contado como meia parte). OUT.MRC – Número de partes do corpo fortemente melanizadas. As partes são testa, loro, coroa, auriculares, nuca, queixo, garganta e peito. As partes parcialmente melanizadas são contadas como meia parte. CPN.CD e CPN.ASA – Cor das margens nas penas da cauda e asas, respectivamente. Categorizada como cinzentas (1), esbranquiçadas ou esverdeadas (2) e amarelas (3). MPN.CD e MPN.ASA – Existência de margens nas penas da cauda e asas, respectivamente. Categorizado como não existentes (0), pouco notórias (1), finas mas notórias (2) e largas (3). PNM.ASA – Existência de penas fortemente melanizadas nas asas; média das rémiges primárias, secundárias e terciárias. COR.BC e COR.PAT – Cor do bico e patas, respectivamente. Categorizada como esbranquiçado (1), castanho (2) e preto (3).