

Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes

Flávia Guimarães Chaves

Territorialidade e ecologia reprodutiva de *Formicivora littoralis* (Aves: Thamnophilidae) na Restinga da Massambaba, RJ

Rio de Janeiro 2014

Flávia Guimarães Chaves

Territorialidade e ecologia reprodutiva de *Formicivora littoralis* (Aves: Thamnophilidae) na Restinga da Massambaba, RJ

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria Alice dos Santos Alves

Coorientador: Prof. Dr. Maurício Brandão Vecchi

CATALOGAÇÃO NA FONTE UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

C512 Chaves, Flávia Guimarães

Territorialidade e ecologia reprodutiva de Formicivora littoralis (Thamnophilidae) na Restinga da Massambaba, RJ / Flávia Guimarães Chaves. — 2014.

145f.: il.

Orientadora: Maria Alice dos Santos Alves. Coorientador: Maurício Brandão Vecchi.

Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes.

Inclui bibliografia

1. Ave - Rio de Janeiro (RJ) - Teses. 2. Ave - Reprodução - Teses. 3. Ave - Comportamento - Teses. I. Alves, Maria Alice dos Santos. II. Vecchi, Maurício Brandão. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes. IV. Título.

CDU 598.2 (815.3)

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e o tese, desde que citada a fonte.	científicos, a reprodução total ou parcial desta
Assinatura	Data

Flávia Guimarães Chaves

Territorialidade e ecologia reprodutiva de *Formicivora littoralis* (Aves: Thamnophilidae) na Restinga da Massambaba, RJ

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 2	4 de fevereiro de 2014.
Banca Examina	adora:
	Prof. ^a Dra. Maria Alice dos Santos Alves (Orientadora) Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes - UERJ
	Prof. ^a Dra. Regina Helena Ferraz de Macedo Universidade de Brasília
	Prof. ^a Dra. Maja Kajin Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes - UERJ
	Prof. ^a Dra. Denise Monnerat Nogueira Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

DEDICATÓRIA

Ao bando misto de seres humanos que acreditam e atuam em prol da conservação de nossas espécies.

AGRADECIMENTOS

Diversos foram aqueles que contribuíram de maneira substancial à esta tese que agora defendo. Os primeiros da lista são, sem sombra de dúvidas, as minhas famílias. Tenho sorte, tive várias. Consideremos aqui família, àqueles que de uma forma bem simples me aceitaram em seus lares. A primeira família é a minha família genética, meus pais Fausto Ivan de Oliveira Chaves e Janete Vieira Guimarães que me apoiam desde 2003, em todas as minhas realizações e frustações. É um orgulho ser filha de vocês. Agradeço cada oração realizada para que meus trabalhos de campo ocorressem naturalmente bem e cada entusiasmo com um ninho encontrado. Ótimos "avós" de *Formicivora littoralis*. Nesta família também estão presentes meus irmãos Fábio G. Chaves, Fabrízia Chaves e Felipe Chaves e tios Ivanise O. Chaves, Wilton P. Albuquerque, Jane Guimarães, Jolinda Guimarães, Jorildo Guimarães e primos Isabela, Yuri, André, Carolina, Saimon e Luan. Obrigada pelo carinho, compreensão nas ausências e presença em casa sempre quando eu ia à Resende vê-los.

Minha segunda família é composta por aquele e sua respectiva família com quem convivo diariamente sob o mesmo teto na cidade maravilhosa. Obrigada Thiago Felipe da Silva Laurindo por fazer a minha vida mais leve com sua constante e alegre presença. Obrigada Teresinha da Silva Laurindo, Paulo Laurindo da Silva e Raphael da Silva Laurindo pelo aconchego, preocupação e orações.

Minha terceira família é responsável pelo "lar doce lar" de campo - Reynaldo Fortes e Luzia Bogel. Foram nada mais, nada menos que 306 dias de ótimo convívio. Vocês me adotaram juntamente com as "crianças Formicivoras", apoiaram incondicionalmente o projeto e acreditaram nele. Meus sinceros agradecimentos.

Minha quarta e última família, é formada por aqueles com quem convivi durante o período no exterior. Como não amar o simpático casal Tom e Michi Schulenberg? E a irmã que levei comigo do Brasil, Maíra Moraes Pereira? Obrigada por se preocuparem conosco e por nos adotarem. Por nos mostrarem com entusiasmo a América, os esportes, as comidas típicas e, obviamente, as aves. Obrigada pela maravilhosa e perfeita biblioteca sobre aves do mundo disponível em meu quarto. Fantástico! Sem dúvidas, formamos uma família completa e feliz, com direito aos *pets* Rufous (cão), Poufy (gato) e os peixinhos (todos sem nome).

Depois das famílias, gostaria de agradecer à minha querida orientadora (Maria Alice dos Santos Alves) e queridos co-orientadores (Maurício Brandão Vecchi e Michael S. Webster) - "M&M's" – que toparam o desafio de me orientar. Vocês possuem trabalhos

científicos incríveis que, simplesmente, inspiram. Obrigado pelo compartilhamento de ensinamentos, discussões e paciência. Palavras não são suficientes para expressar toda a minha gratidão.

Na sequência, gostaria de agradecer ao grupo de pesquisadores, cientistas e professores que aceitaram avaliar esta tese. As críticas e sugestões contribuíram de maneira significativa para o resultado final. Meus sinceros agradecimentos à Dra. Regina H.F. Macedo, Dra. Denise M. Nogueira, Dra. Maja Kajin, Dra. Maria Alice S. Alves e aos suplentes, Dr. Augusto Piratelli e Dr Maurício B. Vecchi.

Essa tese também é fruto do suor e esforço de muitos amigos. Um salve e um abraço apertado aos guerreiros de base, que deram o pontapé inicial de construção e poda das trilhas na restinga — Fábio Silva, Vera Pittigliani, Luciano Almeida, Vítor Nelson, Maurício B. Vecchi, Tássia Nogueira, Maíra Moraes, Paula Martins, Edvandro Ribeiro, Thiago Felipe S. Laurindo, Erli S. Costa, Moacir, Marlon Almeida e Caio Missagia. Sem palavras pra vocês.

Também merece um obrigado enorme, um abraço apertado e um super beijo aos que me acompanharam nos intensos trabalhos de campo de captura, observação e procura por ninhos. A companhia de vocês tornou mais prazeroso o que já é maravilhoso. Obrigada Thiago Felipe S. Laurindo, Reinaldo T. M. Junior, Adriana Cavalcanti, Maurício B. Vecchi, Luciana Barçante, Maíra Moraes, Paula Martins, Edvandro Ribeiro, Carlos Humberto de Oliveira, Cristiane M. Medeiros, Christiano Pinheiro, Priscila Borges, Rafael da Matta, Livia Dias, Tatiana C. Rubio, Rodrigo Guerra, Amaral Alves, Carlos Eduardo (Jacó), Yair G. M. Martinez, Dayana Grayce, Luís Eduardo, Evair Legal, Luiz Freire, Belisa Abranches, Heideger Nascimento, Vítor Fernandes, Tonny Marques, David McDonald, Michael Webster e Maria Alice S. Alves.

Recebam também o meu carinho e meus sinceros agradecimentos aqueles dos laboratórios de ecologia de aves, anfíbios e répteis, mamíferos e peixes, que de uma maneira simples, também auxiliaram em minha formação com questionamentos sobre o trabalho, discussões ecológicas, auxílios com a estatística e obviamente, boas risadas – Maurício B. Vecchi, Natalie Meurer-Freret, Erli S. Costa, Luciana Barçante, Vanessa Tomaz, Vítor Fernandes, Caio Missagia, Caio Ferreira, Livia Dias, Heideger Nascimento, Liliane Seixas, Glória Denise A. Castiglioni, Belisa Abranches, Cristiane M. Medeiros, Christiano P. Silva, Rodrigo Tardin, Luciene Saar, Tatiana C. Rubio, Rafael Saint Clair, Jimi Martins, Emily Toriani, Luciene Saar, Yasmin, Ana Carolina, Keila, Adriana Cavalcanti, Vanderlaine A. Menezes, Carla Siqueira, Davor Vrcibradic, Luciana Fusinatto, Patrícia Santos, Paulo Nogueira, Marlon Almeida, Rafael Laia, Maurício Gomes, Felipe Bottona, Gisele Winck,

Mara Kiefer, Aline Dias, Adarene, Maria Carlota Enrici, Paula Martins, Isadora Motta, Maíra Moraes, Luisa Manna, Carla Rezende e Piatã Marques.

Aos amigos de Cornell que aos poucos me aceitaram no time, me ensinaram inglês e compartilharam todo o conhecimento sobre comportamento animal, genética e bioacústica. Muito obrigado de coração. Sinto saudades enormes de vocês - Websterfarians e WebSTAR – Emma Greig, Sara Kaiser, Derrick Trasher, Dan Baldassarre, Jénelle Dowling, Rebecca Brunner, Paulo Moreira e Mike Webster; Lovette's lab – Laura Stenzler, Amanda Talaba, Scott Taylor, Yula Kapetanakos e Irby Lovette; Macaulay Library – Matthew Medler, Jay McGowen, Ann Warde, Russ Chariff, Greg Budney e Brad Walker; Zamudio's lab – David Rodriguez, Bryan Maritz, Benjamin Johnson, Ana Longo-Berríos, Gabriel Paganini, Renato e Kelly Zamudio.

Aos brasileiros, que me fizeram sentir mais perto de casa durante os 7 meses e 15 dias no exterior, com quem muitas alegrias, churrascos e cervejas partilhei. Obrigado por simplesmente existirem – Bárbara Hufnagel, Jussara Moreira, Maíra Moraes, Roberto Cidade, Paulo Roberto Kuhnem Junior, Ana Cecília B. Figueira, Brunna Boaventura, Gabriel Paganini, Fabiana Duarte, Juliana Magdalon, José Renato Cussiol, Guilherme França e Guilherme Pinto. Ah, as cervejas também partilhei com os gringos.

Aos amigos biólogos e não biólogos que atuaram na torcida – Ana Oliveira, Thaís Lopes, Ellen Dantas, Bruno Cruz, Lilian Flores, Samia Paiva, Jussiara Linhares, Carla Rezende, Lorenzo Zanetti, Leonardo M. Souza, Arnaldo Vieira-Filho, Cid Espínola, Amaral Alves, Rafaela Antonini, André N. Freitas, Hermes R. Luz, Antonio Carlos Junior, Aline Gaglia, Emanuelle Lack, Priscilla Cobra, Michel Shutte, Roberta Araújo, Beatriz Lins, Andrea Maas, Daniel Souza, Otto Maas, Célia Sicotti, Célia Maria, Edicarlos Pralon, Izabel Cristina Bezerra e Diogo Avelino. A torcida tem o poder de animar e mover um time. Obrigada.

A Leonardo M. Souza pelo desenho esquemático das medidas de ninhos, Luiz Freire pelas lindas fotos de *Formicivora littoralis* que ilustram essa tese, às amigas especialistas no programa Mark e Cervus, respectivamente - Kelly Hallinger e Sara Kaiser pela incomparável ajuda na análise do sucesso de ninhos e paternidade e, aos *experts* no Programa ArcGis, Mariana M. Vale e Clinton N. Jenkins por não desistirem de me ensinar a mexer no programa.

Estão no final da lista, mas não são menos importantes os amigos funcionários do departamento de Ecologia e da pós-graduação em Ecologia e Evolução – Paulo José, Isabela Barcelos, Maria Carlota Enrici, Henrique Garcia e Sônia Pereira. Obrigada por me lembrarem

dos prazos, pelos bom-dias diários e por desenvolverem com maestria suas respectivas funções.

Também agradeço as agências de fomento que financiaram diretamente o projeto – SAVE Brasil/BirdLife International e Idea Wild, além dos auxílios concedidos diretamente à minha orientadora – FAPERJ Cientista do Nosso Estado e CNPq. Agradeço em especial por financiarem minha bolsa de doutorado, o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela bolsa de estágio no exterior, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Por fim, agradeço ÀQUELE, que cuida de todos nós, por ter sempre me mostrado o caminho.

RESUMO

CHAVES, Flávia Guimarães. **Territorialidade e ecologia reprodutiva de** *Formicivora littoralis* (**Thamnophilidae**) na **Restinga da Massambaba, RJ.** 2014. 145f. Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

A distribuição espacial dos indivíduos é decorrente da presença e ausência de microhábitats adequados, sendo aqueles que se estabelecem nas melhores manchas favorecidos pela seleção natural. A aquisição de um território permite a manutenção do indivíduo e o sucesso reprodutivo. A reprodução é considerada de alto custo energético, pois há deslocamento dos recursos para a manutenção de uma prole em vez de serem incorporados no crescimento individual. Investir em uma prole não significa alcançar o sucesso reprodutivo. O sucesso reprodutivo pode ser afetado, por exemplo, por eventos de predação, disponibilidade de alimento e cuidado parental. Este último pode ser realizado por ambos os membros do par reprodutor ou por apenas um deles. A deserção do cuidado parental por um dos sexos pode ser uma resposta à cópulas extra-par. Formicivora littoralis tem distribuição muito restrita. É a única espécie de ave considerada endêmica de restinga e se encontra ameaçada de extinção, embora seja localmente abundante. O presente estudo teve como objetivos: 1) estimar os tamanhos de territórios e compara-los entre estação reprodutiva e não reprodutiva; 2) testar a influência do tamanho dos indivíduos e quantidade de vizinhos no tamanho do território; 3) descrever ninhos, ovos, filhotes e determinar o sucesso reprodutivo; 4) quantificar o cuidado parental; 5) desenvolver marcadores moleculares de microssatélites para determinar paternidade. Para os indivíduos capturados e marcados individualmente, foram obtidas amostras de sangue e medidas morfométricas (tarso, asa, cauda, comprimento total), além do peso. Os tamanhos dos territórios foram estimados pelo método do mínimo polígono convexo (unindo pontos onde machos foram registrados vocalizando). A densidade foi estimada com base no tamanho dos territórios. Aspectos da reprodução foram acessados por meio de busca mensal por ninhos e acompanhamento destes por dois dias consecutivos. Foram obtidas as taxas de predação e a quantificação do cuidado parental. Para a paternidade foram utilizados sete marcadores de microssatélites, desenvolvidos para este fim. Formicivora littoralis possui território pequeno (0,008 a 0,32ha), que varia de acordo com a estação (menor na estação reprodutiva). O tamanho do território não foi relacionado com o tamanho do indivíduo, mas apresentou resultado significativo quando comparado com a quantidade de territórios vizinhos, mostrando ser menor quanto maior o número de vizinhos. A espécie apresentou elevada densidade (0,53 a 1,15 indivíduos/km²). Com relação à reprodução, ninhos tem o formato de cesto aberto onde foram postos no máximo dois ovos. Os filhotes nasceram sem penas. A razão sexual no ninho foi igual em ambos os sexos. A taxa de predação foi elevada na fase de incubação quando comparada à fase no ninho após a eclosão. O cuidado parental (durante a incubação e com os filhotes) foi realizado pelos dois sexos, sem diferenças na proporção do investimento realizado. Dos nove ninhos analisados, todos contiveram pelo menos um ninhego proveniente de fertilização extra-par. Um total de 81,2% dos ninhegos (13 em 16) não foram prole biológica do macho do par reprodutor que realizava o cuidado parental e que se encontrava pareado socialmente com a fêmea. Essa taxa foi a mais elevada entre os estudos já realizados nos neotrópicos.

Palavras-chave: Aves. Formigueiro-do-litoral. Distribuição espacial. História de vida. Paternidade

ABSTRACT

CHAVES, Flávia Guimarães. **Territoriality and breeding ecology of the Restinga Antwren** (**Thamnophilidae**) at Massambaba Restinga, RJ. 2014. 145f. Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

The spatial distribution of individuals results from the presence and absence of suitable microhabitats and individuals that settle in the best patches of habitat are favored by natural selection. Territory acquisition allows individuduals to survive and reproduce. Reproduction has a high energetic cost because resources are shifted towards maintaining offspring instead of being incorporated into individual growth. However, investing in an offspring does not mean achieving reproductive success. Reproductive success can be affected by predation events, food availability and parental care. The latter can be performed by both members of the breeding pair or by only one of them. Parental desertion by one sex may be a response to extra-pair copulations. Formicivora littoralis has a very limited distribution and is the only bird species considered endemic of the Restinga ecosystem. Although it is locally abundant, this species is threatened by extinction. Between 2010-2013, this study aimed to: 1) estimate territory sizes and compare these between breeding and nonbreeding seasons, 2) test the influence of individual size and number of neighbors on territory size, 3) describe nest, eggs, and nestlings and determine reproductive success, 4) quantify parental care, and 5) develop microsatellite molecular markers to determine paternity. Blood samples, morphometric measurements (tarsus, wing, tail, total length) and body mass were obtained from individuals that were captured and marked. Territory size was estimated by the minimum convex polygon method (joined points where males were recorded singing). Density was estimated based on the size of the territories. Aspects of reproduction were evaluated through monthly nest searches and monitoring for two consecutive days. Predation rates and parental care were quantified. Paternity was determined by seven microsatellite markers developed for this purpose. Formicivora littoralis has a small territory (from 0.008 to 0.32ha), which varies according to the season (smaller in the breeding season). Territory size was not related to individual bird size but it was associated with the number of neighboring territories. Density of this species was high (0.53 to 1.15 individuals/km²). Regarding reproduction, nests had an open cup format with a maximum of two eggs. Nestlings were born without feathers, and sex ratio in the nest was similar. Predation rate was higher during incubation than during the nestling stage. Parental care (incubation and nestling) was performed by both sexes with no differences in the proportion of investment. Among the nine nests analyzed, all contained at least one nestling from extra-pair fertilization. A total of 81.2% nestlings (13 in 16) were not the biological offspring of the male that performed parental care and was socially paired with the female. This rate is the highest among studies in the Neotropics.

Keywords: Aves. Restinga Antwren. Spatial distribution. Life history. Paternity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Adultos de Formicivora littoralis	22
Figura 2 –	Estado do Rio de Janeiro, com ênfase na Região dos Lagos, RJ	24
Figura 3 –	Formação arbustiva fechada pós-praia, Massambaba, RJ	25
Figura 4 –	Degradação antrópica na Restinga da Massambaba, RJ	26
Figura 5 –	Imagem de satélite de uma parte do distrito de Praia Seca, Araruama/RJ	28
Figura 6 –	Trilha dentro da grade de estudos na restinga da Massambaba, RJ	28
Figura 7 –	Macho adulto de Formicivora littoralis capturado na rede de neblina	33
Figura 8 –	A - Radiotransmissor mostrando a adaptação para ser acoplado no indivíduo; B - Indivíduo macho de <i>Formicivora littoralis</i> com radiotransmissor	35
Figura 9 –	Esquema ilustrativo de coleta de dados pelo método de radiotelemetria	37
Figura 10 –	Territórios de <i>Formicivora littoralis</i> no ano de 2010 estimado pelo método do Mínimo Polígono Convexo	39
Figura 11 –	Territórios de <i>Formicivora littoralis</i> no ano de 2011 estimado pelo método do Mínimo Polígono Convexo	40
Figura 12 –	Territórios de <i>Formicivora littoralis</i> no ano de 2012 estimado pelo método do Mínimo Polígono Convexo	40
Figura 13 –	Territórios de <i>Formicivora littoralis</i> no ano de 2013 estimado pelo método de triangulação por radiotelemetria	41
Figura 14 –	Territórios de <i>Formicivora littoralis</i> na estação não-reprodutiva durante três anos (2010 – 2012) pelo método do mínimo polígono convexo	41
Figura 15 –	Territórios de <i>Formicivora littoralis</i> na estação reprodutiva durante três anos (2010 – 2012) pelo método do mínimo polígono convexo	42
Figura 16 –	Relação entre o tamanho do indivíduo de <i>Formicivora littoralis</i> e seu respectivo território	46

Figura 17 –	Influência do número de vizinhos sobre o tamanho dos territórios de Formicivora littoralis	47
Figura 18 –	Esquema das medidas de ninhos tomadas de Formicivora littoralis	60
Figura 19 –	Marcação de identificação dos ovos de Formicivora littoralis	61
Figura 20 –	Ninhego de Formicivora littoralis anilhado com um par de anilhas coloridas	62
Figura 21 –	Códigos dos ninhos ativos de Formicivora littoralis	69
Figura 22 –	Etapas do desenvolvimento de Formicivora littoralis	73
Figura 23 –	Desenvolvimento dos ninhegos de Formicivora littoralis após a eclosão	75
Figura 24 –	Gel de poliacrilamida a 15% corado com nitrato de prata com as bandas de DNA para identificação do sexo por PCR para <i>Formicivora littoralis</i> .	77
Figura 25 –	Tempo em minutos em que cada ninho de <i>Formicivora littoralis</i> foi assistido pelo par reprodutor ou permaneceu desassistido na fase de incubação	105
Figura 26 –	Comparação entre a quantidade de vezes em que machos e fêmeas de <i>Formicivora littoralis</i> assistiram os ninhegos nas tarefas de limpeza do ninho e alimentação	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Tamanho dos territórios de indivíduos machos de <i>Formicivora littoralis</i> em m²/ha em cada um dos anos e estações amostradas	43
Tabela 2 –	Tamanho mínimo e máximo, desvio padrão e resultado do teste de Wilcoxon entre as estações amostradas por ano de amostragem de territórios de <i>Formicivora littoralis</i>	45
Tabela 3 –	Densidade de indivíduos por hectare/km² de restinga da Massambaba, RJ baseados na quantidade de territórios por ano de amostragem e tamanho máximo do território no ano amostrado	48
Tabela 4 –	Tamanho de territórios, massa corpórea e comprimento total de espécies da família Thamnophilidae	49
Tabela 5 –	Código dos ninhos de <i>Formicivora littoralis</i> com respectivas datas de encontro e períodos de acompanhamento para a estimativa do sucesso reprodutivo	68
Tabela 6 –	Plantas suporte e respectivas medidas morfométricas dos ninhos encontrados em estado ativo de <i>Formicivora littoralis</i>	71
Tabela 7 –	Sucesso reprodutivo dos ninhos de <i>Formicivora littoralis</i> de acordo com o ano de observação do período reprodutivo	76
Tabela 8 –	Período de incubação e localização dos respectivos estudos com espécies da família Thamnophilidae	81
Tabela 9 –	Duração do período de alimentação da prole e respectivo local do estudo para diversas espécies da família Thamnophilidae	83
Tabela 10 –	Exemplo de uma sequencia polimórfica de microssatélites desenvolvimento para se testar a paternidade de <i>Formicivora littoralis</i>	95
Tabela 11 –	Informações relativas aos primers de microssatélites marcados com fluorescência desenvolvidos a partir de DNA de <i>Formicivora littoralis</i> para análise de parentesco.	99
Tabela 12 –	Famílias de indivíduos de <i>Formicivora littoralis</i> com informações dos números das anilhas, idade e amostras de DNA	101
Tabela 13 –	Resultado do teste de frequência dos alelos presentes em cada locus de <i>Formicivora littoralis</i> e respectivos números de alelos amplificados, heterozigosidade observada e esperada, média de informação polimórfica e frequência de alelos nulos,	103
Tabela 14 –	Resultado da análise de paternidade e maternidade de <i>Formicivora littoralis</i> e respectivo sucesso reprodutivo do par reprodutor	103

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIC Critério de Informação de Akaike

ATP Adenosina trifosfato

CEMAVE Centro Nacional de Pesquisa para a Conservação das Aves Silvestres

CYD Gene mitocondrial

DNA Ácido desoxirribonucleico

dNTP Desoxirribonucleotídeos trifosfato

DP Desvio padrão

FEP Fertilização extra-par

FoLi Formicivora littoralis

GPS Sistema de Posicionamento Global

GT Guanina-timina

GTA Guanina-timina-adenosina

GTC Guanina-timina-citosina

GTT Guanina-timina

GATA Guanina-adenosina-timina-adenosina

GATG Guanina-adenosina-timina-guanina

He Heterozigosidade esperada

Ho Heterozigosidade observada

HSR Hipótese da Sincronia Reprodutiva

JBRJ Jardim Botânico do Rio de Janeiro

MgCl₂ Cloreto de Magnésio

MPC Mínimo Polígono Convexo

ND2 Gene mitocondrial

ND3 Gene mitocondrial

PB Pares de base

PCR Reação em Cadeia de Polimerase

PIC Informação Polimórfica

SISBIO Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

TC Timina-citosina

TTC Timina-timina-citosina

TCC Timina-citosina-citosina

TTTC Timina-timina-citosina

TTAC Timina-timina-adenosina-citosina

TTTG Timina-timina-guanina

TTTTG Timina-timina-timina-guanina

TTTTC Timina-timina-timina-citosina

TMD Taxa de Mortalidade Diária

TSD Taxa de Sobrevivência Diária

WGS World Geographic System

SUMÁRIO

	INTRODUÇAO GERAL	
1	DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE FORMICIVORA LITTORALIS EM	
	DENSIDADE, INTERAÇÕES ENTRE VIZINHOS E TAMANHOS DE	
	TERRITÓRIOS	
1.1	Introdução.	
1.2	Objetivos	
1.3	Material e métodos	
1.4	Resultados	
1.5	Discussão.	
1.6	Considerações gerais	
2	BIOLOGIA REPRODUTIVA DE FORMICIVORA LITTORALIS:	
	DESCRIÇÃO E PARÂMETROS DE HISTÓRIA DE VIDA	
2.1	Introdução	
2.2	Objetivos	
2.3	Métodos	
2.3.1	Determinação do período reprodutivo e das fases de construção, nidificação	
	e cuidado da prole	
2.3.2	Caracterização dos ninhos quanto à planta suporte, material constituinte e	
	medidas de forma.	
2.3.3	Descrição dos ovos e ninhegos.	
2.3.4	Descrição qualitativa e quantitativa da postura, incubação, eclosão dos ovos,	
	cuidado parental e comparação com os dados disponíveis na literatura	
	científica para outras espécies da família Thamnophilidae, a qual pertence	
	Formicivora littoralis.	
2.3.5	Sucesso reprodutivo anual da espécie	
2.3.6	Razão sexual no ninho	
2.3.7	Possíveis causas de insucesso de ninhos	
2.4	Resultados	
2.4.1	Determinação do período reprodutivo e das fases de construção, nidificação	
	e cuidado da prole	
2.4.2	Caracterização dos ninhos quanto à planta suporte, material constituinte e	
	medidas de forma	

2.4.3	Descrição dos ovos e ninhegos	72
2.4.4	Descrição qualitativa e quantitativa da postura e ovos, incubação e	
	eclosão.	7
2.4.5	Sucesso reprodutivo.	7
2.4.6	Razão sexual no ninho.	7
2.4.7	Causas de insucesso de ninhos.	7
2.5	Discussão.	7
2.6	Considerações finais	8
3	INVESTIMENTO PARENTAL E PATERNIDADE EXTRA-PAR DE	
	FORMICIVORA LITTORALIS (AVES: THAMNOPHILIDAE)	8
3.1	Introdução	8
3.2	Objetivos	9
3.3	Material e métodos	9
3.3.1	Desenvolvimento de marcadores de microssatélites	9
3.3.2	Análise molecular para acessar a paternidade e análise do comportamento	
	dos pares reprodutores	9
3.3.3	Comparação entre os machos da população	9
3.4	Resultados	9
3.4.1	Desenvolvimento dos primers	9
3.4.2	Análises de paternidade e de comportamento	1
3.4.3	Comparação entre indivíduos machos quanto à morfometria e tamanhos de	
	territórios.	1
3.5	Discussão	1
3.6	Considerações finais	1
	CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS	1
	REFERÊNCIAS	1
	ANEXO A - Artigo publicado referente a tese	1
	ANEXO B - Protocolo de extração do DNA	1
	ANEXO C - Receita de multiplex para uma amostra de DNA	1

INTRODUÇÃO GERAL

A região neotropical é a que detém a maior riqueza de aves sendo esta, também, uma das regiões do globo com constantes perdas de habitats naturais que, reduzem os espaços disponíveis para a sobrevivência da fauna resultando em declíneos populacionais (HOSTETLER e KNOWLES-YANEZ 2003). Informações sobre a biologia e ecologia de uma espécie são a base para se compreender qualquer dinâmica populacional e subsidiar ações de manejo e conservação. Diferentes espécies ocorrem em um mesmo hábitat, mas o exploram de maneira diferenciada. Por exemplo, a distribuição espacial de uma dada população responde à presença e ausência de microhábitats adequados, os quais são disputados entre os indivíduos. A aquisição de um território (área defendida e exclusiva) (BURT 1943; MAHER e LOTT 1995) assegura ao "dono" os recursos alimentares necessários à sua manutenção e sobrevivência e, indiretamente, o auxiliam na aquisição de potenciais parceiros reprodutivos (PERRINS e BIRKHEAD 1983). Estabelecer um território é viável quando as vantagens de sua aquisição não superam os gastos energéticos oriundos de sua defesa (BROWN 1964). Esses gastos energéticos são menores quanto menos frequentes forem os contatos agressivos entre os competidores, assim como ou/e quanto mais frequentes forem as demonstrações de comportamentos reconhecíveis como de defesa (BROWN 1964). O custo apresenta, portanto, uma relação direta com o tamanho da área defendida que, por sua vez, influencia na quantidade de interações que venham a ocorrer com indivíduos de territórios vizinhos (STAMPS 1991) e com indivíduos sem territórios (ADAMS 2001). Portanto, as principais variáveis reconhecidas como influentes no tamanho dos territórios são: distribuição espacial dos recursos essenciais (alimento e locais para construção de ninhos, por exemplo) (BUTCHART et al. 1999), densidade de potenciais indivíduos competidores (SUTHERLAND 1996), tamanho do corpo do indivíduo (BUTCHART et al. 1999) e nível de visibilidade para detectar os intrusos (WATSON e MOSS 1972).

Se a seleção natural favorece a reprodução dos indivíduos que adquiriram um território, espera-se que a territorialidade exerça efeitos sobre a dinâmica populacional, modelando a taxa de natalidade e de mortalidade, por exemplo (ADAMS 2001). O sucesso de um episódio reprodutivo para espécies de comportamento territorial pode, portanto, responder diretamente à aquisição de um território. Em espécies que apresentam comportamento territorial, a reprodução requer uma divisão de energia entre: 1) manutenção do próprio organismo, 2) defesa de seu território, 3) investimento na corte e na produção de gametas, e 4)

investimento no cuidado parental para a sobrevivência de seus descendentes (HANSSEN et al. 1995). Por necessitar de uma grande quantidade de energia, um evento reprodutivo é considerado de alto custo energético, pois envolve alocar a energia na aquisição de recursos (territórios, parceiros reprodutivos e alimento) que geralmente se encontram limitados no ambiente, na sobrevivência do próprio indivíduo e, por último, na sobrevivência de sua prole. Informações acerca de quando começar a reproduzir, quantos descendentes gerar por episódio reprodutivo e, quantos episódios reprodutivos realizar em um determinado período de tempo, por exemplo, fazem parte da caracterização da biologia reprodutiva e da história de vida. Além dessas informações, as histórias de vida das aves ainda são caracterizadas por informações descritivas de ninhos, ovos e ninhegos, determinação do investimento em cada fase do evento reprodutivo, além de estimativas do sucesso reprodutivo (BENNETT e OWENS 2002). O sucesso reprodutivo não depende apenas do esforço do indivíduo, mas também das características do ambiente selecionado para a construção do ninho, do formato do ninho construído, da disponibilidade de alimento no ambiente e da densidade de predadores (MARTIN 1987, 1993, 1995; MARTIN e LI 1992; NORTH et al. 2000; KAUHALA et al. 2000; BERRY e LILL 2003; THOMPSON III e BURHANS 2004; DAVIS et al. 2005; EGGERS et al. 2006; BECKER et al. 2007; MAGI et al. 2009; MURRAY e BEST 2014). Dentre todos estes fatores, a predação de ovos e ninhegos é considerada o principal agente de insucesso de ninhos nos trópicos (SKUTCH 1996), podendo, ao longo do tempo, indiretamente afetar características das histórias de vida dos indivíduos, como por exemplo, diminuição na fecundidade (número de ovos postos por episódio reprodutivo) de modo a haver um maior investimento em episódios de parição (número de eventos reprodutivos por um determinado período de tempo) (SLAGSVOLD 1984).

Respondendo ou não a eventos de predação, sabe-se que o número de ovos postos por episódio reprodutivo (fecundidade) e, o número de eventos reprodutivos realizados por um determinado período de tempo (parição) refletem o potencial reprodutivo de cada indivíduo em um dado momento. Na maioria das espécies, as fêmeas apresentam um potencial reprodutivo limitado devido à baixa produção de gametas, enquanto que os machos apresentam um potencial reprodutivo mais elevado, que se encontra associado ao número de gametas femininos que conseguem fertilizar (EMLEN e ORING 1977). Essa diferença entre os sexos no potencial reprodutivo gera, normalmente, uma maior competição entre os machos pelo sexo oposto e uma maior seletividade por parte das fêmeas (ANDERSSON 1994). Portanto, é de se esperar que machos invistam em características que os façam ser "escolhidos" pelas fêmeas como, por exemplo, adquirir um território e realizar com maior

frequência *displays* relativos à corte. Apesar da existência dessa diferença no potencial reprodutivo, a monogamia – sistema de acasalamento em que um macho e uma fêmea se associam de forma prolongada e geralmente exclusiva, havendo um compartilhamento entre os sexos no cuidado da prole (GOWATY, 1996) – foi durante longo tempo considerado o sistema de acasalamento mais frequente (mais de 90%) entre as aves (LACK, 1968; GILL, 2007). Entretanto, estudos recentes utilizando técnicas moleculares têm evidenciado que a aparente monogamia observada não significa pareamento reprodutivo exclusivo (GRIFFITH et al., 2002). As fertilizações extra-par têm sido identificado em maior frequencia em aves coloniais (BIRKHEAD e MOLLER 1992; KEMPENAERS et al. 2001; BIRKHEAD et al. 2001; JOUVENTIN et al. 2006) e, em aves territoriais que apresentam alta densidade de indivíduos se reproduzindo (GIBBS et al. 1990; RICHARDSON et al. 2005; BOUWMAN et al. 2006; PEARSON et al. 2006).

Formicivora littoralis, a espécie alvo deste estudo, aparenta ser um bom modelo para estudos ecológicos, como os de territorialidade e sistema de acasalamento, pois foi recentemente descrita (há poucas informações sobre a espécie), defende territórios e apresenta alta densidade de indivíduos em sua restrita área de distribuição (GONZAGA e PACHECO 1990). A presente tese é apresentada em três capítulos. O capítulo 1 aborda a territorialidade. O capítulo 2, a biologia reprodutiva e o capítulo 3, o sistema de acasalamento. Todos esses temas fazem parte do plano nacional de conservação da espécie (ALVAREZ et. al. 2010).

A espécie objeto deste estudo: o Formigueiro-do-litoral, Formicivora littoralis

Formicivora littoralis, cujo nome popular é formigueiro-do-litoral, é uma espécie de ave da família Thamnophilidae, uma das mais representativas em riqueza de espécies e sub-espécies (n = 644) (CLEMENTS et al. 2013) da região Neotropical (ZIMMER e ISLER 2003). Essa família é caracterizada por agregar espécies predominantemente silvestres que apresentam hábito alimentar uniformemente insetívoro (SIGRIST 2009). Um comportamento comum da maioria das espécies dessa família é seguir correições de formigas e se alimentar dos insetos que elas espantam (WILLIS e ONIKI 1978). Entretanto, as sete espécies de Formicivora são exceções a este comportamento, raramente seguindo as correições (ZIMMER e ISLER 2003; SIGRIST 2009).

Formicivora littoralis foi descrita em 1990, inicialmente como subespécie de Formicivora serrana (GONZAGA e PACHECO 1990). Collar e colaboradores (1992),

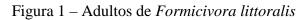
baseados em diferenças morfológicas e ecológicas relatadas no trabalho de Gonzaga e Pacheco (1990) e consultas diretas a outros especialistas, a consideraram como espécie. Recentemente, Firme e Raposo (2011) analisaram caracteres morfológicos, de plumagem e de vocalização, e não encontraram caracteres únicos diagnosticáveis que permitissem considerar o táxon como espécie válida. Portanto, segundo esses autores, *F. littoralis* seria ainda subespécie de *Formicivora serrana*. Entretanto, por análise genética três principais genes mitocondriais que buscam elucidar a taxonomia de complexos de espécies: ND2, ND3 e CYB. *Formicivora serrana* e *F. littoralis* compartilham haplótipos para ND2 e ND3 mas não para o gene CYB. Estes três genes mitocondriais são interligados, mas o CYB apresenta uma mais rápida taxa de evolução. Essa diferenciação (não compartilhamento do gene CYB) pode ser considerada um indicativo de uma diferenciação recente entre esses dois táxons (BELMONTE-LOPES 2013), que precisa ser melhor explorada com um aumento na amostragem para se confirmar geneticamente a diferenciação entre esses dois táxons.

Formicivora littoralis apresenta distribuição geográfica restrita ao Estado do Rio de Janeiro. Ao contrário de Formicivora serrana, que ocorre nos municípios serranos do estado do Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo, F. littoralis habita apenas o litoral, particularmente os fragmentos remanescentes do ecossistema de restinga (MATTOS et al. 2009). A especificidade do táxon ao ecossistema de restinga foi quantificada por Mattos e colaboradores (2012) que mostraram haver uma forte associação na ocorrência de F. littoralis com a vegetação de restinga e, uma associação positiva, porém não tão forte com a vegetação savana estépica, e ausência desta espécie na vegetação de floresta semi-decídua. Mattos e colaboradores (2009) atualizaram a distribuição geográfica do táxon, que se restringe a sete municípios da Região dos Lagos – Saquarema, Araruama, São Pedro da Aldeia, Iguaba Grande, Arraial do Cabo, Cabo Frio e Armação dos Búzios, além de ilhas adjacentes – Comprida e de Cabo Frio (GONZAGA e PACHECO 1990).

As restingas do litoral fluminense se encontram altamente fragmentadas, e vêm desaparecendo rapidamente nos últimos anos devido a diversas ações antrópicas. O fato da espécie ser mais facilmente encontrada em um hábitat que vem sendo suprimido de maneira acelerada fez com que a ave fosse categorizada como Criticamente Ameaçada de Extinção em nível nacional (MACHADO et al. 2008), e como Em Perigo nos níveis global (IUCN 2014) e regional (ALVES et al. 2000). *Formicivora littoralis* ainda é considerada a única espécie de ave endêmica (GONZAGA e PACHECO 1990) e típica do ecossistema de restinga (Decreto 41.612 de 23 de dezembro 2008).

Apesar da distribuição restrita, a espécie é localmente abundante, fato observado por Gonzaga e Pacheco (1990) e corroborado por Mattos e colaboradores (2009). Neste último estudo mencionado, os autores estimaram o tamanho populacional da espécie entre 2.509 e 3.837 indivíduos em uma área de ocupação de 148 km². De acordo com esses dados, os autores propuseram, baseados nos critérios da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), rebaixamento da categoria de ameaça que a espécie se encontrava de "Criticamente Ameaçada" para "Em Perigo" de extinção. Entretanto ressaltam que, caso a perda de hábitat continue ocorrendo, a espécie rapidamente voltaria ao *status* anterior.

Machos e fêmeas de F. littoralis são distinguíveis pela coloração da plumagem (apresentam dimorfismo sexual aparente) (SICK 1997). Machos são escuros, apresentando uma coloração branca nas coberteiras superiores das asas, pontas das retrizes e nos flancos (Figura 1A). Fêmeas possuem a plumagem do dorso em tom de marrom, faixa supra-ocular branca bem marcada e ventre creme (Figura 1B). Sobre a biologia da espécie, existem informações sobre a dieta, comportamento alimentar e morfometria, dados estes comparados entre os sexos (Chaves 2010) e descrição dos ninhos, ovos e ninhegos (CHAVES e ALVES et. al. 2013). Os dados sobre dieta corroboram com o que é esperado para a família, pois F. littoralis é exclusivamente insetívora, se alimentando principalmente de Coleoptera e Formicidae (CHAVES e ALVES 2013). As aves capturam estes insetos principalmente na folhagem, desempenhando uma tática considerada de baixo custo energético ("parar e bicar"). Espacialmente, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os sexos na altura em que capturavam os insetos, com machos ocupando principalmente maiores alturas sobre o solo do que fêmeas. Além disso, Chaves e Alves (2013) também encontraram diferenças morfométricas entre os sexos (três variáveis de tamanho de corpo e três no bico), com machos apresentando medidas maiores que fêmeas (CHAVES e ALVES 2013). Segundo as autoras, essas diferenças na altura de forrageamento e nas medidas morfométricas podem ser resultado de ação de seleção sexual atuando na partição do hábitat entre os sexos, como uma forma de evitar competição intraespecífica por recursos, hipótese não testada.







Legenda: (A) – Macho; (B) – Fêmea. Foto: Luiz Freire, 2014.

A RESTINGA DA MASSAMBABA: HÁBITAT DO FORMIGUEIRO-DO-LITORAL, FORMICIVORA LITTORALIS

Formicivora littoralis é mais facilmente encontrada em áreas de restinga. Restingas são planícies arenosas costeiras de origem marinha que incluem praias, cordões arenosos, dunas, depressões entre-cordões e entre dunas com possível presença de brejos, alagados e lagoas, cuja flora e fauna se encontram adaptadas às condições ambientais locais (Decreto 41.612 de 23 de dezembro 2008). Ao longo da costa brasileira, as restingas são distintas pois são compostas por diferentes formações vegetais (ARAUJO 2000). As formações vegetais são consideradas um tipo de comunidade, cujas definições encontram-se relacionadas às formas de crescimento dominantes e pelas características principais presentes em cada ambiente (BEARD 1978).

A Restinga da Massambaba, compreendida entre a Barra da Lagoa de Saquarema (pertencente ao município de Saquarema) e o Pontal do Atalaia (pertencente ao município de Arraial do Cabo) (Figura 2) possui 48km de extensão (ARAUJO et al. 2009), ou seja, 2833,54 hectares (cálculo baseado em análises de imagens de satélite) (ROCHA et al. 2007). Esta restinga, presente nos municípios de Saquarema, Araruama e Arraial do Cabo é considerada uma das principais áreas de ocorrência da espécie, com elevada densidade registrada (MATTOS et al. 2009).

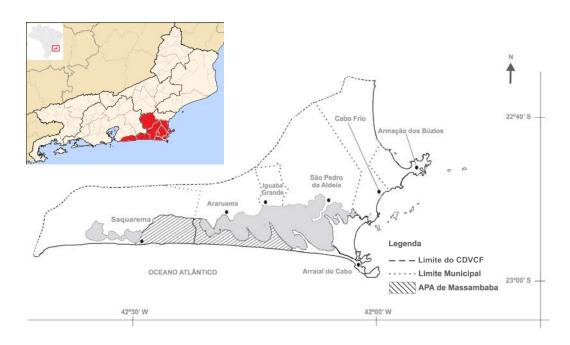


Figura 2 – Estado do Rio de Janeiro, com ênfase na Região dos Lagos, RJ (vermelho).

Legenda: Em maior destaque, hachurado, encontra-se a Restinga da Massambaba. Em cinza, corpos d'água presentes na região.

Fonte: Adaptado de ARAÚJO et al., 2009.

Na Restinga da Massambaba são encontradas, de acordo com Araújo e colaboradores (2009), dez formações vegetais, a saber: 1) Formação psamófila-reptante; 2) Formação arbustiva-fechada pós-praia; 3) Formação arbustiva aberta não inundável (fácies baixa); 4) Formação herbácea aberta inundável; 5) Formação arbustiva aberta não inundável (fácies alta); 6) Formação arbustiva aberta inundável; 7) Formação florestal não inundável; 8) Formação florestal inundada; 9) Formação florestal inundável e, 10) Formação herbácea/arbustiva salina. *Formicivora littoralis* é considerada comum na segunda formação vegetal citada – Formação arbustiva-fechada pós-praia (Decreto 41.612 de 23 de dezembro 2008; MATTOS et al., 2009).

A formação arbustiva fechada pós-praia é caracterizada por espécies vegetais com até 2 a 3 metros de altura que constituem aspecto adensado, com seus arbustos apresentando muitas ramificações e espinhos, que formam uma barreira que impede a penetração da luz (ARAUJO et al. 2009) (Figura 3). Esses mesmos autores informam que esta formação é encontrada na parte central da Restinga da Massambaba e, por seu aspecto adensado, constituiria uma área de baixa pressão antrópica. Entretanto, este fato não é o observado em toda a área de distribuição do formigueiro-do-litoral. As principais fontes de degradação antrópica são, de acordo com Rocha e colaboradores (2007), a remoção da vegetação para

construção de estradas e calçadas, construção de trilhas (atalhos) para acesso à praia, ocupação irregular, tráfego de veículos sobre a areia e dunas, presença de plantas exóticas/invasoras, presença de detritos (lixo), queimadas, remoção de espécies de plantas nativas para jardinagem e remoção de vegetação para pastagem. A degradação pode ser observada na figura 4.

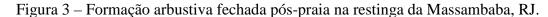






Foto: (A) Juliana C.F. Mattos, 2009; (B) Adriana C.S. Cavalcanti, 2013



Figura 4 – Degradação antrópica na Restinga da Massambaba, RJ.



Legenda: (A) - Avanço da ocupação humana ; (B) - Queimada da vegetação Foto: (A) Marco Antônio Guimarães, 2008 ; (B) Adriana C.S. Cavalcanti , 2007.

A elevada degradação observada, associada à alta pressão antrópica existente e à ocorrência de uma riqueza expressiva da biota fez com que em 2011, fosse criado o Parque Estadual da Costa do Sol (Decreto 42.929 de 18 de abril de 2011) com o intuito de se preservar os fragmentos restantes de restinga. O parque, que possui 9.840,90 hectares (distribuídos entre os municípios de Araruama, Armação dos Búzios, Arraial do Cabo, Cabo Frio, Saquarema e São Pedro da Aldeia), abriga quase toda a Restinga da Massambaba, uma das principais áreas de restinga contínua com ocorrência de *F. littoralis*. Com relação à florística, a Restinga da Massambaba apresenta 664 espécies de plantas vasculares (Araujo et al. 2009). Dentre as formações que compõem esta restinga, a formação vegetal arbustiva póspraia apresenta 160 espécies (CAVALCANTI 2013).

Por se tratar de uma das principais áreas de ocorrência da espécie, um pequeno fragmento de cerca de 13 hectares foi escolhido como área do presente estudo (figura 5). O fragmento em questão encontra-se localizado no distrito de Praia Seca, pertencente ao município de Araruama, sob as coordenadas geográficas 22°56'21.9"S e 42°17'58.0"W. Neste fragmento, 17 trilhas perpendiculares, distantes 25m entre si foram cortadas, além de uma trilha central que percorre todo o fragmento (figura 6). Este fragmento foi escolhido como área de estudo, por ser relativamente pequeno (já que toda a área foi recortada por trilhas de modo a permitir o acompanhamento do deslocamento dos indivíduos na vegetação), concentrar uma grande quantidade de indivíduos, e encontrar-se isolada por bairros que podem vir a ser barreiras ao deslocamento dos indivíduos, algo que ainda necessita ser investigado.

Lagoa de Araruama

Restinga da Massambaba
maior cordão contínuo de restinga

Salinas desativadas

COOSIC earth

Image © 2013 MapLink
Image © 2013 Digital clobe

Lagoa da Pernambuca

Restinga da Massambaba
maior cordão contínuo de restinga

Figura 5 – Imagem de satélite de uma parte do distrito de Praia Seca, Araruama/RJ.

Legenda: Destacado em amarelo, a área de estudo de *Formicivora littoralis* na restinga de Massambaba. Fonte: Google Earth, 2014.



Figura 6 – Trilha dentro da grade de estudos na restinga da Massambaba, RJ.

Foto: Reinaldo M.T. Junior, 2012.

1 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE *FORMICIVORA LITTORALIS* EM DENSIDADE, INTERAÇÕES ENTRE VIZINHOS E TAMANHOS DE TERRITÓRIOS

1.1 Introdução

A organização no espaço e no tempo dos animais é uma das questões ecológicas centrais. A dinâmica de populações responde de maneira direta à distribuição espacial e ao deslocamento dos indivíduos, sendo que a distribuição espacial é determinada pela presença e ausência de microhábitats adequados. Aqueles indivíduos que se estabelecem nos melhores microhábitats são favorecidos pela seleção natural (PIANKA 1994; MARTIN 1998). A aquisição desses microhábitats considerados de boa qualidade envolve e reflete as características intrínsecas de cada indivíduo, como as condições físicas/nutricionais. Dentre essas características, pode-se citar a maior capacidade de vôo, que, para as espécies migratórias, permite chegar na frente dos concorrentes e se estabelecer nas melhores manchas da vegetação, e consequentemente ter maiores chances de um sucesso reprodutivo (KOKKO 1999). Para as espécies não-migratórias, o comportamento territorial é, muitas vezes, a chave para a aquisição dos recursos necessários à sobrevivência e aptidão reprodutiva. Portanto, o comportamento territorial é uma forma de competição intraespecífica por recursos (como por exemplo, alimento, parceiro sexual ou locais seguros para a nidificação) consideradas essencial para a manutenção e reprodução dos indivíduos de uma determinada espécie (BROWN 1964; VERNER 1977; PERRINS e BIRKHEAD 1983), e pode ocorrer ao longo de todo o ano ou apenas na estação reprodutiva (STUTCHBURY e MORTON 2001). Sob esse ponto de vista, a territorialidade pode exercer fortes efeitos sobre a dinâmica de populações de animais (PATTERSON 1980; SUTHERLAND 1996), influenciando parâmetros como densidade, taxas de crescimento e taxas de mortalidade (ADAMS 2001).

Inúmeros são os conceitos na literatura sobre territórios (NICE 1941; MAHER e LOTT 1995), sendo a definição mais utilizada, de acordo com a revisão sobre o tema (TOMAZ e ALVES 2009), a de uma área defendida por um indivíduo ou um grupo de indivíduos por meio de intimidação a co-específicos evidenciada por algum comportamento (display) visual ou sonoro ou por ataque direto (perseguição). Burt (1943) complementou esta definição informando que esta área defendida não deve se sobrepor à área de outros

indivíduos, e que esta encontra-se inserida em uma área mais abrangente (chamada de área de vida), compartilhada por outros indivíduos da mesma espécie.

O estabelecimento de um território é viável quando as vantagens provenientes de sua aquisição superam os gastos energéticos despendidos com sua defesa (BROWN 1964). As principais desvantagens da manifestação deste comportamento territorial são o tempo despendido em sua defesa que ocasiona uma diminuição da energia, a tendência a uma vida mais curta ocasionada por lesões corpóreas provenientes dos intensos e desgastantes confrontos territoriais, além de manifestações hormonais que impõem uma penalidade através da redução do cuidado parental (por exemplo, a diminuição/redução da produção de prolactina leva a interrupções na incubação dos ovos) (BUNTIN et al. 1996; WINGFIELD et al. 1997 apud ALCOCK 2011). Sabe-se que os custos são menores quanto menos frequentes forem os contatos agressivos entre os competidores e, quanto maior for a demonstração de comportamentos que sejam reconhecíveis como de defesa (BROWN 1964; WOLF 1969). Em aves, um dos comportamentos mais frequentes de defesa de territórios é a elaboração de cantos (PEEK 1972). De acordo com este autor, o canto é o primeiro comportamento de advertência emitido, proclamado pelo dono do território almejado quando algum potencial intruso encontra-se a uma certa distância dos limites do território; displays visuais são utilizados na sequência, quando o intruso resolve disputar uma parte do território não respeitando o sinal de alerta sonoro emitido, e perseguições e ataques ocorrem por último, quando os sinais previamente emitidos não surtem efeito.

Para as espécies de animais que se orientam visualmente, como no caso das aves, a escolha dos locais, dentro dos territórios, que facilitam a detecção de intrusos e onde são emitidos os sinais/comportamentos de advertência são primordiais para a diminuição dos custos da defesa desses espaços (WATSON e MOSS 1972; EASON e STAMPS 1991). O custo também apresenta uma relação direta com o tamanho/forma dos territórios, que influenciam na quantidade de interações que venham a ocorrer com vizinhos (STAMPS 1991) e com indivíduos flutuantes (que não possuem territórios fixos mas, encontram-se dispostos a obtê-los) (NORMAN e JONES 1984; ADAMS 2001). Sabe-se que, variações intraespecíficas no tamanho de territórios podem levar a divisões desiguais dos recursos entre competidores, com consequências refletidas por exemplo, nas taxas de crescimento, mortalidade e reprodução (ADAMS 2001). As principais variáveis que afetam o tamanho dos territórios são: 1) distribuição heterogênea dos recursos essenciais (HIRATA e SENO 1997; BUTCHART et al., 1999), 2) densidade de potenciais competidores (FRETWELL e LUCAS 1970; TURPIE 1995; SUTHERLAND 1996), 3) o tamanho do corpo do indivíduo residente

(SCHOENER 1968; PETRIE 1984; BUTCHART et al., 1999) ou o tamanho do grupo, para espécies que possuem a estratégia social de defesa de territórios (ALVAREZ 1975 apud GAYOU 1986) e, 4) nível de visibilidade para detectar os intrusos (WATSON e MOSS 1972).

Perante tantas variáveis que influenciam no tamanho dos territórios de aves, questiona-se qual o melhor método de registro do comportamento territorial. Vários são os métodos encontrados na literatura, sendo os mais utilizados a procura ativa por indivíduos marcados em transecções (DUCA et al. 2006), o *playback* ou chama-eletrônica (FARIA et al. 2007; RIBON et al. 2007; DAMASCENO 2011) e a triangulação por radiotelemetria (FREITAS 2011).

O primeiro método consiste na realização de transecções e registro em GPS das coordenadas onde os indivíduos foram avistados e/ou vocalizaram. O segundo método consiste em reproduzir o canto da espécie em um ponto da área de estudo, de maneira a "chamá-lo". O terceiro método, a triangulação por radiotelemetria, consiste em encontrar o indivíduo por meio dos sinais de rádio em um transmissor acoplado no animal. Para todos os métodos, diversas são as variações para o registro de comportamento territorial, como por exemplo, registrar apenas o aparecimento do indivíduo (FARIA et al., 2007; BORNSCHEIN 2013) ou registrar apenas se houve vocalização (RIBON et al. 2007; DAMASCENO 2011) e partir em busca de outro indivíduo, ou seguir aquele indivíduo por um tempo determinado (WIENS et al. 1985; BORNSCHEIN 2013), anotando os registros, por exemplo, a cada deslocamento de x metros, ou a cada x minutos (BARG et al. 2005), ou a cada x dias (FREITAS 2011). Não há um consenso em relação ao melhor entre os diversos métodos disponíveis na literatura científica.

Formicivora littoralis apresenta comportamento territorial durante todo o ano e densidade elevada de indivíduos em toda a sua área de distribuição (GONZAGA e PACHECO 1990). Baseados nos aspectos teóricos expostos e na informação sobre a espécie, pergunta-se: como se encontram distribuídos espacialmente os indivíduos de F. littoralis no fragmento amostrado? Quais são os fatores que podem estar influenciando nos tamanhos de territórios encontrados? Há diferenças entre os tamanhos de territórios estimados por dois métodos diferentes? Estas são as questões gerais que norteiam o primeiro capítulo da presente tese.

1.2 **Objetivos**

Os objetivos e as hipóteses do presente capítulo são:

a) Estimar o tamanho de territórios de indivíduos de *F. littoralis* e comparar este tamanho entre as estações reprodutiva e não-reprodutiva.

Hipótese testada: Os territórios diferem em tamanho entre as estações comparadas.

b) Comparar o tamanho estimado entre os métodos de *playback* com acompanhamento do indivíduo (método do indivíduo focal adaptado ao método de amostragem do comportamento) e o método de triangulação por radiotelemetria.

Hipótese testada: Não há diferença nos tamanhos dos territórios estimados pelos dois métodos.

c) Investigar a relação entre o tamanho do território e o tamanho do indivíduo.

Hipótese testada: Indivíduos maiores mantêm territórios maiores.

d) Investigar a relação entre a quantidade de vizinhos e o tamanho dos territórios.

Hipótese testada: Territórios menores apresentam maior número de vizinhos pois refletem maior número de interações/atividades de defesa.

e) Estimar a densidade da espécie na área, com base no tamanho dos territórios.

1.3 Material e métodos

Para se estimar os territórios de *F. littoralis*, os indivíduos foram individualmente marcados com anilhas metálicas (CEMAVE/SISBIO licenças número 1237 e 15378-3) e com uma combinação única de duas anilhas coloridas, o que permite a posterior identificação e acompanhamento dos indivíduos sem a necessidade de recaptura-los. Para proceder ao anilhamento, as capturas foram feitas mensalmente desde o ano de 2007 até 2012 por meio de seis redes ornitológicas (12 x 2,5m; malha 36mm) (figura 7) dispostas aleatoriamente na

grade de estudo. Para atrair os indivíduos até as redes foi utilizada a técnica do *playback*, que consiste na reprodução da vocalização da espécie por um tempo pré-determinado. Utilizando-se um Ipod® e uma caixa amplificadora Radioshack®, reproduziu-se próximo às redes montadas, por um período de cinco minutos, o canto da espécie. Caso o indivíduo não fosse capturado durante este período, aguardava-se 30 minutos até o *playback* ser reproduzido novamente. As redes ficaram expostas entre 6-10h e 15-18h, períodos considerados de maior atividade das aves, além de serem os de temperatura mais amena na área de estudo. Após os indivíduos serem capturados e anilhados, foram obtidas 12 medidas morfométricas de cada indivíduo: tarso esquerdo, asa direita, cauda, comprimento total, do final da cabeça à ponta do bico, narina ponta, cúlmen exposto, largura e altura no nível da narina e largura e altura no nível da base do bico e, peso. Estas foram registradas utilizando-se dinamômetro do tipo Pesola® (precisão 0,5g), régua (1mm) e paquímetro (1mm). Após obtidas as medidas morfométricas, foi coletado o sangue dos indivíduos, método que será especificado no capítulo 2 desta tese. Após este procedimento, o indivíduo foi liberado no mesmo local (trilha) onde foi capturado.



Figura 7 – Macho adulto de *Formicivora littoralis* capturado na rede de neblina.

Foto: Luiz Freire, 2012.

Para proceder à determinação dos territórios, dois métodos amplamente utilizados (KNAPTON e KREBS 1974; FALLS 1981; ALLOUCHE 1999) foram realizados: 1) playback e 2) triangulação por radiotelemetria. O primeiro método foi realizado nos anos de 2010, 2011 e 2012 e consiste em se adentrar cada uma das trilhas existentes na grade de estudos e reproduzir a vocalização da espécie (playback) por um minuto, de modo a localizar o macho. Se durante a reprodução da vocalização ou após esta o indivíduo respondia ao som com o seu canto, este comportamento foi considerado de alerta e defesa. Após o tempo de um minuto o playback foi desligado e, na sequência, o indivíduo foi acompanhado por no máximo 30 minutos baseado no método do indivíduo focal (ALTMANN 1974) adaptado ao método de amostragem do comportamento (do inglês behaviour sampling) (MARTIN e BATESON 2007). O método do indivíduo focal consiste em observar um indivíduo por uma quantidade de tempo específico e anotar sequencialmente todos os comportamentos executados. Já o método de amostragem do comportamento consiste em se analisar todo um grupo e se registrar a ocorrência de um tipo particular de comportamento. No caso de F. littoralis, cada indivíduo foi acompanhado por 30 minutos (método do indivíduo focal), mas foram registrados em caderneta de campo apenas os momentos de vocalização (canto) e as perseguições de expulsão de co-específicos (método de amostragem do comportamento). Durante o acompanhamento, todos os poleiros utilizados para vocalizar assim como os locais onde foram observadas perseguições, tiveram suas coordenadas geográficas registradas com o uso de GPS Map 60CSx.

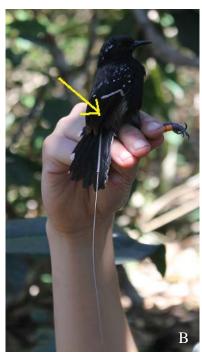
O segundo método de amostragem foi a triangulação por radiotelemetria, utilizada apenas em 2013, e consistiu na localização espacial por meio do acoplamento de um radiotransmissor com frequência pré-determinada no animal e sua localização precisa foi determinada utilizando-se uma antena direcional e um receptor. O radiotransmissor emite sinais por um período pré-determinado; quanto mais próximo do rádio, maior é a intensidade do sinal, percebido no receptor. Fazendo-se uma triangulação, tem-se na interseção a localização do indivíduo (PACE III 2001).

Os radiotransmissores (peso entre 0.50-0.75g, Wildlife Materials©) foram acoplados próximo à glândula uropigial, no dorso dos indivíduos machos (figura 8b) pelo método do "arreio de pernas" (RAPPOLE e TRIPTON 1991), após estes terem suas medidas morfométricas registradas e seu sangue coletado. O método de "arreio de pernas" consiste em acoplar o transmissor utilizando-se laços de fitas nas coxas dos indivíduos. Para proceder à fixação dos radiotransmissores, alças feitas de fita flexível de politetrafluoretileno

(popularmente chamada de veda rosca) foram adaptadas aos radiotransmissores (figura 8a). As alças foram cuidadosamente encaixadas em cada uma das coxas do indivíduo.

Figura 8 - Radiotelemetria





Legenda: (A) - Radiotransmissor mostrando a adaptação para ser acoplado no indivíduo; (B) - Indivíduo macho de *Formicivora littoralis* com radiotransmissor. A seta amarela indica o local onde o transmissor foi acoplado.

Foto: Thiago Felipe S. Laurindo, 2013

Cada indivíduo foi seguido entre 7h – 17h, a cada dois dias, totalizando seis dias de coleta de dados em cada uma das estações (reprodutiva e não-reprodutiva). O período de seis dias foi o tempo máximo possível para a coleta dos dados pois o baixo peso corpóreo dos indivíduos de *F. littoralis* (12 a 15g) não permite a aquisição de radiotransmissores de maior duração. De acordo com Murray e Fuller (2000), cada transmissor não deve ultrapassar 5% do peso da ave estudada. Após o radiotransmissor ter sido acoplado, foi delimitado dois dias de aclimatação antes do início da coleta de dados. A figura 9 ilustra esquematicamente como foi realizada a coleta de dados pelo método de triangulação por radiotelemetria. Os pontos de localização foram marcados em GPS Map 60 CSx em intervalos mínimos de 15 minutos. Esse intervalo mínimo foi o mesmo utilizado para a coleta de pontos estatisticamente independentes em um estudo com uma ave de pequeno porte – *Dendroica caerulea* (Barg et al. 2005), que se assemelha em muitas características à *F. littoralis*. Por exemplo, ambas possuem baixo peso corpóreo, se alimentam de artrópodes que capturam vasculhando a folhagem, apresentam comportamento críptico e encontram-se ameaçadas de extinção

(BUEHLER et. al. 2013). Para localizar os indivíduos utilizou-se uma antena Yagi de três elementos e um receptor na frequência entre 149-151mHz (ambos da Titley Northtronics USA©). Cada radiotransmissor apresentou uma frequência específica dentro da faixa de frequência do receptor. O número mínimo de pontos a ser coletados para ambos os métodos varia entre estudos (SEAMAN et al. 1999; BARG et al. 2005; BÖRGER et al. 2006; ANICH et al. 2009). No presente estudo considerou-se o mínimo de 10 pontos para se determinar o tamanho de qualquer território (BÖRGER et al. 2006). Foram estimados apenas territórios de indivíduos machos.

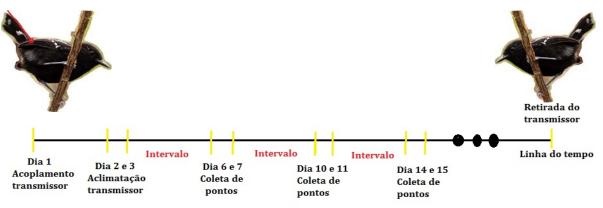
A área de cada território, independente do método de coleta de dados, foi calculada baseado no método do Mínimo Polígono Convexo (MPC). O método de MPC (MOHR 1947), consiste em traçar uma linha entre os pontos de registro de determinado indivíduo formando ângulos internos obtusos dentro da grade de pontos referentes a esse indivíduo. Os territórios foram determinados apenas para indivíduos machos, já que as fêmeas quase não cantam e, quando o fazem, geralmente estão respondendo aos machos com quem se encontram socialmente pareadas (F.G.Chaves, observação pessoal). Todos os indivíduos dos quais foram registrados mais de dez pontos de comportamento territorial tiveram seus territórios calculados. Para o cálculo, foi utilizado o programa ArcGis 10.2 por meio da ferramenta "Minimum Boundery Geometry". O método do MPC foi utilizado para a determinação dos tamanhos de território nos anos de 2010, 2011, 2012 e 2013. Ressalta-se que toda a área de estudo foi vasculhada mensalmente e que acredita-se que todos os territórios ou a grande maioria destes foram estimados.

A determinação das estações (reprodutiva e não-reprodutiva) seguiu Chaves e colaboradores (2013) (anexo I – artigo publicado referente ao segundo capítulo desta tese). Os autores determinaram como estação não-reprodutiva os meses de janeiro a abril e, como estação reprodutiva, os meses de maio a dezembro.

Cada território demarcado recebeu um código que se referia às iniciais do nome científico da espécie (Fl) seguido do número da amostra de sangue daquele indivíduo. Para se testar se há uma relação entre o tamanho do indivíduo e o tamanho dos territórios, uma correlação de Pearson foi calculada. Para se testar a influência do número de indivíduos vizinhos sobre o tamanho dos territórios, foi considerado vizinho, todo indivíduo com território adjacente à uma distância máxima de 50m das bordas dos territórios. A existência de influência da quantidade de vizinhos sobre o tamanho de territórios foi testada através de uma análise de regressão simples entre tamanho de território e número de vizinhos.

Para a comparação entre os tamanhos dos territórios entre os anos e entre as estações (reprodutiva e não-reprodutiva) foi realizada uma análise de Wilcoxon (dados não paramétricos). A comparação entre os métodos para estimar o tamanho dos territórios foi feita apenas visualmente, uma vez que o número amostral foi baixo para a realização de um teste estatístico. A normalidade e homocedasticidade dos dados foram testadas utilizando-se o programa Systat® 13.1 (2009). Todas as análises estatísticas seguiram Zar (1984).

Figura 9 – Esquema ilustrativo de coleta de dados pelo método de radiotelemetria.



Nota: Os três pontos pretos simbolizam a continuidade do método de coleta até o dia de retirada do transmissor. Fonte: CHAVES, 2014.

Para se estimar a densidade da espécie na área estudada, tanto na estação reprodutiva quanto na estação não-reprodutiva, os territórios foram utilizados como parâmetros, embora, segundo Carpenter (1987) não sejam unidades com limites fixos. Assumiu-se que o número de territórios presentes em uma área pré-determinada indica o número de pares reprodutivos que consegue se estabelecer, partindo-se da premissa que os microhábitats favoráveis à espécie estejam todos ocupados (WIENS et al. 1985). Portanto, a densidade foi acessada de duas formas: 1) por meio do número de territórios estabilizados anualmente e 2) com base no tamanho máximo dos territórios. A fórmula abaixo, retirada de Begon e colaboradores (2007) foi utilizada para a estimativa da densidade.

$$D = \frac{n}{A}$$

Onde, "D" se refere à medida da densidade populacional, "n" o número total de territórios estabilizados ou o tamanho máximo dos territórios e "A", a área estudada em hectares (ha). O

resultado desta divisão foi multiplicado por 2 (um par de indivíduos por hectare, devido a cada território ter um par reprodutor).

1.4 **Resultados**

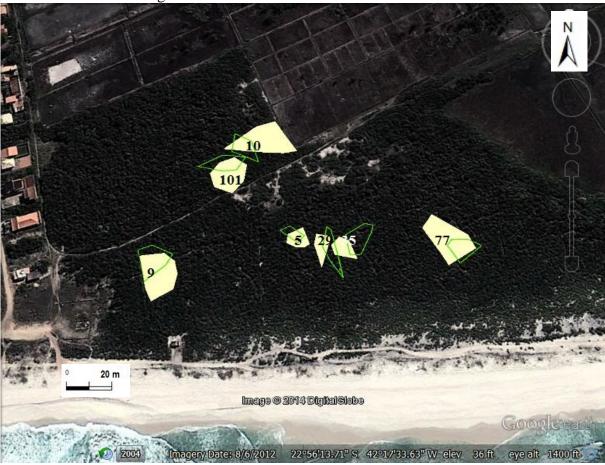
Foram capturados e anilhados na grade de estudo 169 indivíduos de *F. littoralis* (93 machos e 76 fêmeas) de 2007 até 2012. Destes 93 machos anilhados, 22 estabilizaram territórios na grade de estudo em algum dos anos estudados. Dentre esses 22 indivíduos, cinco receberam radiotransmissores na estação não reprodutiva e quatro receberam na estação reprodutiva (ano de 2013).

Espacialmente, foram registrados territórios em toda a grade de estudo, em todos os anos amostrados (2010, 2011 e 2012) (figuras 10, 11 e 12). O tamanho dos territórios dos machos, utilizando-se o método de *playback*, variou bastante entre os anos amostrados (tabela 1). O menor território, estimado com o uso do método do *playback* associado ao acompanhamento focal do indivíduo, encontrado para a estação não-reprodutiva foi 274,34 m² (0,027ha) pertencente ao indivíduo Fl35 (ano 2010) e o maior foi 3.204,96 m² (0,32ha), referente ao indivíduo Fl101 (ano 2012). Quanto à estação reprodutiva, o menor território estimado foi 88,14 m² (0,008ha) pertencente ao indivíduo Fl73 (ano 2011), enquanto que o maior território foi 1.766,28 m² (0,17ha), o qual foi estimado no ano de 2011 e pertenceu ao indivíduo Fl31.

Apesar do acoplamento de nove radiotransmissores, não foi possível determinar o tamanho dos territórios de todos os indivíduos que os receberam. Três radiotransmissores (um na estação não-reprodutiva e dois na estação reprodutiva) perderam o sinal no período de acomodação (dois dias subsequentes ao acoplamento do radiotransmissor) o que inviabilizou a coleta de dados. Três radiotransmissores (dois na estação não-reprodutiva e um na estação reprodutiva) desprenderam-se e foram encontrados no solo ou entre os galhos dos arbustos da vegetação, também no período de acomodação. Em um dos casos, o indivíduo foi provavelmente predado, já que diversas rêmiges e retrizes foram localizadas ao redor. Quanto aos radiotransmissores encontrados, dois foram recolocados em novos indivíduos mas, também falharam nos dias subsequentes de coleta de dados, quando foram registradas entre 4 a 6 coordenadas geográficas. Portanto, apenas dois indivíduos tiveram territórios demarcados por este método na estação não-reprodutiva e um na estação reprodutiva (figura 13, tabela 1).

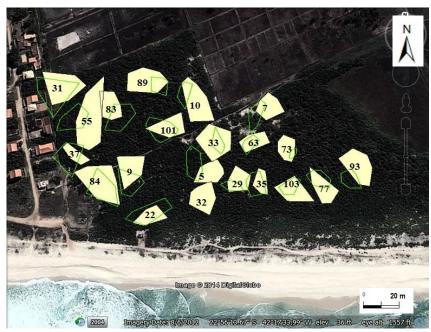
Formicivora littoralis aparentou fidelidade ao território, defendendo uma mesma área, dentro da grade de estudos, ao longo das estações (reprodutiva e não-reprodutiva) e ao longo dos anos (figuras 14 e 15). O tamanho dos territórios apresentou variações entre as estações amostradas (reprodutiva e não-reprodutiva), sendo este menor na estação reprodutiva (tabela 2). Essa variação significativa no tamanho dos territórios não se restringiu a apenas um ano de amostragem. Apenas em 2013 não houve diferença entre os tamanhos dos territórios, que foram amostrados somente pelo método de triangulação de radiotelemetria.

Figura 10 - Territórios de *Formicivora littoralis* no ano de 2010 estimado pelo método do Mínimo Polígono Convexo.



Legenda: Territórios identificados com os números dos detentores destes na grade de estudos na restinga da Massambaba. Em amarelo estação não-reprodutiva e delimitado em verde, estação reprodutiva. Fonte: CHAVES, 2014.

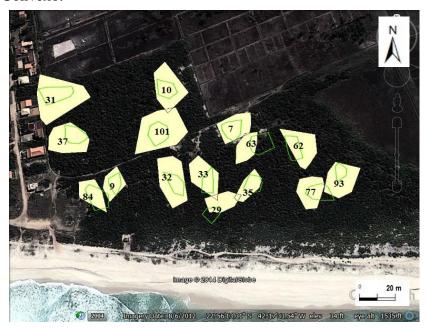
Figura 11 - Territórios de *Formicivora littoralis* estimado pelo método do Mínimo Polígono Convexo



Legenda: Números referentes aos detentores dos território, no ano de 2011 na grade de estudos na restinga da Massambaba, RJ. Em amarelo, estação não reprodutiva e, delimitado em verde, estação reprodutiva.

Fonte: CHAVES, 2014

Figura 12 - Territórios de *Formicivora littoralis* estimado pelo método do Mínimo Polígono Convexo.



Legenda: Números referentes aos detentores dos território, no ano de 2012 na grade de estudos na restinga da Massambaba, RJ. Em amarelo, estação não reprodutiva e, delimitado em verde, estação reprodutiva.

Fonte: CHAVES, 2014.

Figura 13 - Território de *Formicivora littoralis* estimado pelo método da triangulação por radiotelemetria no ano de 2013.



Legenda: Os números referem-se aos detentores do território. Delimitado em verde encontrase a estação reprodutiva e em colorido a estação não-reprodutiva.

Fonte: CHAVES, 2014.

Figura 14 - Territórios de *Formicivora littoralis* de acordo com o método do Mínimo Polígono Convexo na estação não-reprodutiva nos anos de 2010, 2011 e 2012.



Legenda: Territórios encontram-se identificados pelos respectivos defensores da área. Ano de 2010 delimitado em branco, 2011 em amarelo e 2012 em laranja. Fonte: CHAVES, 2014.



Figura 15 - Territórios de *Formicivora littoralis* de acordo com o método do Mínimo Polígono Convexo na estação reprodutiva nos anos de 2010, 2011 e 2012.

Legenda: Territórios identificados pelos respectivos defensores da área. Ano de 2010 delimitado em branco, 2011 em amarelo e 2012 em laranja.

Fonte: CHAVES, 2014.

Tabela 1 - Tamanho dos territórios de indivíduos machos de *Formicivora littoralis* em m²/ha em cada um dos anos e estações amostradas e variação entre os tamanhos encontrados para cada indivíduo (continua).

Estação	Ind	Ano			Variação	
		2010	2011	2012	2013***	
Não- reprodutiva	10	1294,37/0,12	1675,85/0,16	2161,89/0,21		867.52/0.09
Reprodutiva		368,36/0,036	439,31/0,043	556,55/0,055		188.19/0.019
Não- reprodutiva	101	818/0,081	993,34/0,099	3204,96/0,32		2.387/0.239
Reprodutiva		414,59/0,041	919/0,091	664,79/0,066		504.41/0.05
Não- reprodutiva	29		724,02/0,072			617.12/0.062
Reprodutiva		287,76/0,028	250,23/0,025	284,74/0,028		37.53/0.003
Não- reprodutiva	35	274,34/0.027	452,77/0,045	795,57/0,079		521.23/0.052
Reprodutiva		403,25/0,040	580,4/0,058	421,57/0,042		177.15/0.018
Não- reprodutiva	5	256.53/0.025		*		559/0.056
Reprodutiva	3	141,75/0,014	724,23/0,074	*		582.47/0.06
Não- reprodutiva	77	1059,47/0,10	847,89/0,084	1198,22/0,11		350.33/0.026
Reprodutiva	, ,	338,97/0,033	500,62/0,050	562,26/0,056		223.29/0.023
Não- reprodutiva	7	939,71/0,093	911,15/0,091	1447,19/0,14		536.04/0.047
Reprodutiva		**	556,2/0,055	583,69/0,058		27.49/0.03
Não- reprodutiva	9	**		829,92/0,082		230.82/0.018
Reprodutiva		516,69/0,051	740,6/0,074	306,47/0,030		434.13/0.044
Não- reprodutiva	103		934,79/0,093	*		-
Reprodutiva	100		370,96/0,037	*		-
Não- reprodutiva	22		598,42/0,059	*		-
Reprodutiva	22		958,44/0,095	*		-

(continuação)

(continuação						*7 • ~
Estação	Ind	Ano		Variação		
		2010	2011	2012	2013***	
Não-			1020 27/0 10	251406/025		1684.69/0.17
reprodutiva			1830.27/0,18	3514,96/0,35		
	31					064 40/0 00
Reprodutiva			1766,28/0,17	901,8/0,090		864.48/0.08
Não-			052 8/0 005	1000 00/0 10		1027.28/0.09
reprodutiva	32		952,8/0,095	1980,08/0,19		3
D 14:	32		(77 57/0 0/7	440.79/0.044		234.79/0.023
Reprodutiva Não-			677,57/0,067	442,78/0,044		123.76/0.023
reprodutiva			1554,6/0,15	1430,84/0,14		123.70/0.01
reprodutiva	33		1334,0/0,13	1430,04/0,14		
Reprodutiva	33		324 67/0 032	387,87/0,038		63.2/0.06
Não-			324,0770,032	307,0770,030		1461.09/0.14
reprodutiva			454,38/0,045	1915,47/0,19		5
F	37		- ,: -, -	,, -		
Reprodutiva	Ο,		1003,68/0,10	**		-
Não-						-
reprodutiva			2616,81/0,26	**		
_	55					
Reprodutiva			963,35/0,096	568,56/0,056		394.79/0.040
Não-						246.98/0.024
reprodutiva			690,56/0,069	937,54/0,093		
	63					
Reprodutiva			304,47/0,030	714,27/0,071		409.8/0.041
Não-						-
reprodutiva			647,71/0,064	*	2259,08/0,22	
	73					
Reprodutiva			88,14/0,008	*	*	-
Não-						-
reprodutiva			955,77/0,095	*	3545,9/0,35	
	83					
Reprodutiva			1020,43/0,10	*	*	-
Não-			1000 51/0 10	0.40 6/0.004		932.91/0.086
reprodutiva	0.4		1882,51/0,18	949,6/0,094		
	84					200 42/0 025
Reprodutiva			1046,94/0,10	658,52/0,065		388.42/0.035
Não-			1605 41/0 16	*		-
reprodutiva	00		1605,41/0,16	-4*		
D 1 ··	89		400 54/0 040	de de		
Reprodutiva			480,54/0,048	*		269 02/0 02
Não-			1334 1/0 12	1603 02/0 16		268.92/0.03
reprodutiva	02		1334,1/0,13	1603,02/0,16		
I	93					

(conclusão)

(conclusuo)						
Estação		Ano			Variação	
,	Ind	2010	2011	2012	2013***	
Reprodutiva			445,68/0,044	251,76/0,025		193.92/0.019
Não-						-
reprodutiva			1663,93/0,16			
	62					
Reprodutiva				561,81/0,56		-
Não-						-
reprodutiva						
	108					
Reprodutiva					2246,19/0,22	-

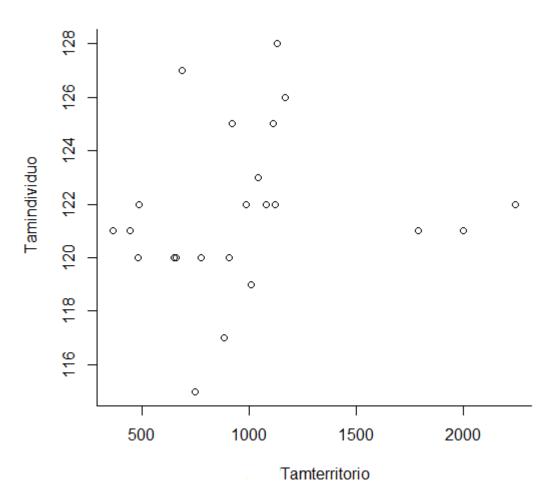
Legenda: Um asterisco (*) significa desaparecimento do indivíduo na grade de estudo, dois asteriscos (**) significa ausência de pontos suficientes para delimitar o território e três asteriscos (***) significa método de coleta de dados diferente dos anos anteriores.

Tabela 2 - Tamanho mínimo e máximo, desvio padrão e resultado do teste de Wilcoxon entre as estações amostradas por ano de amostragem de territórios de *Formicivora littoralis*.

Ano de	Tamanho (m²) mínimo /	Z	Valor de p
amostragem	máximo (±DP)		
2010	141,75 / 1059,47 (±292,8)	-3.29577	< 0.001
2011	88,14 / 1766,28 (±517,09)	-5.5578	< 0.001
2012	251,76 / 2161,89 (±753,32)	-3.9388	< 0.001
2013	2246,19 / 3545,9 (±889,9)	1.6035	0.1088

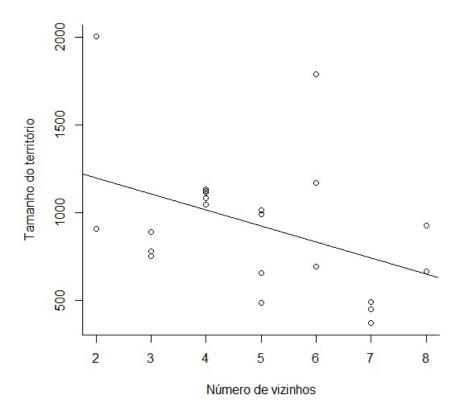
Devido à existência de diferenças entre os tamanhos de territórios entre indivíduos, buscou-se analisar se estas diferenças encontravam-se associadas ao tamanho do indivíduo e/ou à quantidade de vizinhos nas proximidades de cada território. O resultado do teste de correlação de Pearson (figura 16), revelou haver uma correlação positiva muito fraca entre o tamanho do indivíduo e o tamanho de seu território (r = 0.17; p = 0.44), não sendo esta significativa. Por esta correlação ter sido extremamente baixa (próxima do zero), pode-se considerá-la como inexistente. A análise entre a influência do número de vizinhos (baseado no número destes) e o tamanho do território apresentou uma relação marginalmente significativa (R^2 ajustado = 0.129; F = 4.109; P = 0.056) (figura 17).

Figura 16 – Relação entre o tamanho do indivíduo de *Formicivora littoralis* e seu respectivo território.



Fonte: CHAVES, 2014.

Figura 17 - Influência do número de vizinhos sobre o tamanho dos territórios de *Formicivora littoralis*.



Fonte: CHAVES, 2014.

Não foi possível comparar os tamanhos dos territórios entre os métodos utilizados para determina-los. O baixo número de territórios estimados pelo método da radiotelemetria (ano de 2013), impede uma avaliação estatística. Entretanto, percebe-se que os territórios estimados por este método são no mínimo, duas vezes maiores (média de 0,22ha) que os territórios estimados pelo método do *playback*.

Quanto à densidade de indivíduos na grade de estudos, estimada com base na quantidade e tamanho de territórios, a estimativa variou entre anos e entre métodos (tabela 3).

Tabela 3 - Densidade de indivíduos de *Formicivora littoralis* por hectare/km² na restinga da Massambaba, RJ, com base na quantidade de territórios por ano de amostragem e tamanho máximo do território no ano amostrado.

Ano	Quantidade territórios	Tamanho máximo
2010	1,06 / 106	0,018 / 1,8
2011	3,22 / 322	0,04 / 4
2012	2,30 / 230	0,053 / 5,3

1.5 Discussão

Formicivora littoralis defende um mesmo território ao longo de todo o ano, sendo estes territórios os menores já descritos para uma espécie da família Thamnophilidae (tabela 4). A defesa de um espaço ao longo de todo o ano é considerada comum para aves tropicais (STUTCHBURY e MORTON 2001), e, em especial para Thamnophilidae, esta área é considerada a mesma por anos (GREENBERG e GRADWOHL 1986). Entretanto, o tamanho deste espaço defendido varia enormemente na família, desde territórios menores com 0,5ha até territórios grandes, com mais de 10ha. O tamanho máximo de território encontrado no presente estudo para F.littoralis (0,32 ha - estação não reprodutiva) é, em muitos casos, similar ao tamanho mínimo encontrado para espécies com massa corpórea semelhante (tabela 4). Analisando apenas as espécies do mesmo gênero, vale ressaltar a aparente semelhança entre o tamanho dos territórios de F. littoralis e sua congênere F. rufa, que apresenta morfologia similar (massa corpórea e comprimento total). Os tamanhos máximo/mínimo do território de F. rufa (0,03/0,11ha) (ARAÚJO-LIMA 2013), estimados em uma área de restinga aberta no Espírito Santo encontram-se dentro da amplitude de valores de território para F. littoralis, estimados no presente estudo em uma área de restinga fechada no Rio de Janeiro. Formicivora grisea, que apresenta peso e comprimento total menores do que suas congêneres (tabela 4), habita ambientes amazônicos e, dentre as espécies do gênero, é, contraditoriamente, a que apresenta o maior território (2,49ha) (SILVA 1988). Diferenças no tamanho dos territórios são observadas não apenas entre espécies, mas também para um mesmo indivíduo, entre as estações reprodutiva e não-reprodutiva, dentro de um ano qualquer de amostragem. Formicivora littoralis apresentou, ao longo dos anos de amostragem, uma maior variação no tamanho de territórios na estação não-reprodutiva do que na estação

reprodutiva. Apenas um estudo (dentre os citados na tabela 4) compara os tamanhos de territórios entre as estações, não encontrando grandes variações nos tamanhos, o que se refletiu em inexistência de diferenças entre as estações no tamanho dos territórios das três espécies estudadas — *Dysithamnus mentalis*, *Thamnophilus caerulescens e Pyriglena leucoptera* (DUCA et al. 2006).

Tabela 4 - Tamanho de territórios (ha), massa corpórea (g) e comprimento total (cm) de espécies da família Thamnophilidae. Comprimento total de acordo com Sigrist (2009). Exceção: *Myrmeciza exsul* (Woltmann et al. 2010) (continua).

	Tamanho do território	Massa corpórea	Comprimento	
Espécie	(mínimo/máximo)*	(g)	total (cm)	Referência
Formicivora littoralis	0,008 / 0,32	14	14	Presente estudo
Formicivora grisea	2,49	10,5	12	Silva 1988
Formicivora rufa	0,03/0,11	14	13	Araújo-Lima 2013
Dysithamnus mentalis	0,3 / 1,0	12,2	10	Duca <i>et al</i> . 2006
Dysithamnus mentalis	0,8	12,2	10	Willis & Oniki 2001
Thamnophilus caerulescens	0,6 / 1,5	20,6	14	Duca <i>et al</i> . 2006
Pyriglena leucoptera	0,8 / 2,0	26,5	17	Duca <i>et al</i> . 2006
Pyriglena leucoptera	2,0 / 3,0	26,5	17	Willis & Oniki 2001
Myrmeciza longipes	0,7	-	16	Stutchbury et al. 2005
Myrmeciza longipes	2,3	ı	16	Fedy & Stutchbury 2004
Myrmeciza exsul	1,95	29	14	Losada-Prado 2012; Woltmann et al. 2010
Myrmeciza exsul	1,38	29	14	Losada-Prado 2012; Woltmann et al. 2010
Myrmeciza exsul	2,5	29	14	Willis & Oniki 1972; Woltmann et al. 2010
Myrmeciza fortis	15,4	-	17	Wilson 2004

(conclusão)

Espécie	Tamanho do território (mínimo/máximo)*	Massa corpórea (g)	Comprimento total (cm)	Referência
Myrmeciza ferruginea	6,62	26,1	15	Stouffer 2007
Myrmeciza disjuncta	1,77	-	15	Zimmer 1999
Myrmornis torquata	16,02	42	16	Stouffer 2007
Phlegopsis nigromaculata	49,5	43	17	Willson 2004

Nota: *Um único valor refere-se ao tamanho médio do território

Por que há uma variação inter e intraespecífica no tamanho dos territórios? Uma possível explicação versa sobre a relação existente entre 1) massa corpórea do indivíduo e tamanho de seu território. Schoener (1968), um dos pioneiros a encontrar esta relação, mencionou que massa corpórea e territórios variam em conjunto, em função da quantidade de alimento disponível no hábitat para um dado organismo. Assim, territórios grandes seriam aqueles considerados empobrecidos, onde os indivíduos necessitariam salvaguardar uma grande área para obterem seus recursos alimentares (PITELKA et al. 1955; MAHLER 1970; CODY e CODY 1972; WIENS e ROTENBERRY 1980; WIENS et al. 1985; ELPHICK et al. 2001). As diferenças, portanto, no tamanho de territórios indexariam a qualidade do hábitat da população analisada. A qualidade do hábitat da área do presente estudo não foi investigada nos mesmos anos em que foram mensurados os territórios de F. littoralis. Entretanto, a disponibilidade de recurso alimentar foi mensurada mensalmente por um ano, entre 2008 e 2009, utilizando-se armadilhas de queda no solo - pitfalls e esta oscilou consideravelmente (abundância variou de 100 a 450 artrópodes coletados nas armadilhas de queda) (CHAVES 2010). Um aumento da abundância de recursos foi registrada na estação reprodutiva de F. littoralis (maio a dezembro - período determinado no capítulo 2 desta tese). O efeito da abundância de alimento sobre o tamanho de territórios foi revisado por Adams (2001) que, em 40 estudos com espécies de invertebrados e vertebrados, encontrou que mais da metade destes estudos (n = 23) apresentou uma correlação negativa entre a disponibilidade de recurso alimentar e o tamanho dos territórios. Isso significa que, quanto mais alimento disponível, menor era o tamanho do território defendido. Diferenças entre os tamanhos dos territórios de F. littoralis foram encontradas entre as estações não reprodutiva e reprodutiva, sendo estes menores na estação reprodutiva, fato que corrobora o esperado, de acordo com a teoria. Entretanto, ausência de diferenças entre as estações reprodutiva e não-reprodutiva foram encontradas em um estudo (DUCA et al. 2006) com outras espécies pertencentes à família Thamnophilidae, o que mostra haver exceções.

Portanto, se o alimento é abundante, é de se esperar que a massa corpórea e o tamanho do indivíduo, variáveis correlacionadas com a abundância de recurso alimentar não influenciassem no tamanho dos territórios. De fato, a correlação entre essas variáveis mostrou-se fraca, praticamente inexistente. Este resultado encontrado para *F. littoralis* corrobora a revisão sobre o assunto feita por Willson (2004), que não encontrou uma relação direta entre tamanho de território e massa corpórea em 25 espécies de aves terrestres insetívoras.

Já que a massa corpórea/tamanho do indivíduo não influenciam no tamanho dos territórios de F. littoralis, uma segunda possível variável que pode influenciar na dinâmica territorial é 2) densidade de indivíduos na área amostrada (FRETWELL e LUCAS 1970; MYERS et al. 1979; TURPIE 1995; SUTHERLAND 1996). Sabe-se que territórios de tamanhos pequenos podem ser reflexo de elevada densidade de indivíduos na área, pois elevada abundância de recursos alimentares pode atrair potenciais competidores (HINDE 1956; LACK 1966; KREBS 1971; ADAMS 2001). Além dos recursos alimentares, esses competidores podem disputar outros valiosos recursos, adquiridos em muitos casos com a aquisição de um território, como possíveis parceiras reprodutivas e locais que assegurem um sucesso reprodutivo. A competição apenas existe quando um dado requisito ecológico encontra-se em uma quantidade menor do que o ótimo, comparado ao número total de indivíduos dispostos a explorar este dado recurso (BROWN 1964). Já que o recurso alimentar, aparentemente, não é o fator limitante, o espaço pode ser o recurso em questão. A relação negativa entre alta densidade de indivíduos e tamanho de território foi encontrada em um estudo com a espécie Amphispiza belli (Emberizidae) (WIENS et al. 1985), com os parulídeos Dendroica virens, D. fusca, D. coronata e D. magnolia (MORSE 1976), o icterídeo Agelaius phoeniceus (ORIANS 1961) e o passerídeo Melospiza melodia (TOMPA 1962). A influência da densidade de indivíduos também foi abordada por meio de experimentos de remoção de vizinhos, que culminaram em expansão de territórios préexistentes, os quais passaram a englobar o território do vizinho removido (KREBS 1971; BUTCHART et al. 1999) ou ausência de modificação no tamanho dos territórios quando, o território do vizinho removido é rapidamente ocupado por um indivíduo considerado flutuante na população (que até então não possuía território fixo) (EKMAN et al. 1981; PRICE et al. 1986).

Formicivora littoralis, apesar de se encontrar ameaçada de extinção, apresenta alta densidade de indivíduos em sua restrita área de ocorrência, fato primeiramente observado, mas sem quantificação, por Gonzaga & Pacheco (1990) e corroborado por Mattos (2009), que quantificaram a densidade da espécie em duas áreas no município de Arraial do Cabo, próximas à área do presente estudo, obtendo uma estimativa de 101,8 indivíduos/km² (Praia da Pernambuca) e 73,2 indivíduos/km² (Praia do Dentinho). A densidade da espécie, estimada no presente trabalho, em uma área que se localiza entre as duas áreas amostradas por Mattos (2009) encontra-se estimada entre 0,53 (106 pares de indivíduos) e 1,15 (230 pares) indivíduos por km². Este valor, baseado na quantidade de territórios é um pouco maior do que o valor estimado pelo método de pontos fixos realizado por Mattos et al. (2009). Esta elevada densidade em relação a outras espécies de Thamnophilidae influenciaria no tamanho dos territórios de F. littoralis?

Uma análise com base no número de territórios versus quantidade de territórios vizinhos mostrou que, quanto maior o número de vizinhos, menor é o tamanho dos territórios defendidos por *F. littoralis*. Portanto, os vizinhos poderiam ser considerados agentes de pressão com capacidades semelhantes de agressão e luta pelo espaço físico. Além dos vizinhos, outra constante pressão é realizada por indivíduos adultos flutuantes que não possuem territórios estabilizados e que, portanto, estão disponíveis a investir em adquirir um território a qualquer momento. De acordo com Adams (2001), a pressão dos indivíduos flutuantes é muitas vezes maior do que a de indivíduos com territórios vizinhos, pois estes já possuem territórios estabilizados. A pressão de intrusão por indivíduos flutuantes, no entanto, é de difícil quantificação.

Apesar desta constante pressão (presença de vizinhos e indivíduos flutuantes), outras variáveis não mensuradas, como 3) idade dos indivíduos envolvidos e 4) estrutura física de cada território, também podem ser explicativas para a variação de tamanho territorial. Inclusive, uma terceira hipótese sugerida para explicar esta variação entre indivíduos versa sobre a idade entre os envolvidos e sua experiência/capacidade de defender os recursos. A teoria da disputa, elaborada por Enquist and Leimar (1983), prediz que os indivíduos possuem habilidade de acessar o potencial competitivo do oponente, com base em escalas de maturação de características, como por exemplo, coloração externa e canto e, dessa maneira, direcionar mais precisamente os gastos energéticos dispendidos em defesa e nas outras atividades diárias. A capacidade de distinguir a idade e relacioná-la com disputa territorial foi estudada na espécie de ave *Zonotrichia leucophrys* (POESEL e NELSON 2012) e no lagarto *Platysaurus broadleyi* (STAPLEY e WHITING 2006). Para a espécie de ave, indivíduos com

territórios estabelecidos não responderam ou responderam de maneira fraca quando expostos a cantos de intrusos jovens, mas o oposto foi observado (resposta com agressividade) quando expostos a cantos de indivíduos mais velhos. Entre os jovens, a agressividade foi similar quando expostos a cantos de outros jovens ou de indivíduos mais velhos, demonstrando a inexistência de uma experiência prévia que auxiliassem na distinção entre os cantos e suas idades (POESEL e NELSON 2012). Já para a espécie de lagarto, sinais ultravioletas na coloração do corpo foram testados em relação a sua habilidade de luta pelo espaço e/ou fêmeas. Os resultados indicaram que os indivíduos cujos sinais de ultravioleta se encontravam reduzidos no corpo estavam mais propensos a serem desafiados pelos machos controle e, portanto, eram utilizados como sinalizadores da idade do rival (STAPLEY e WHITING 2006).

Por fim, a quarta hipótese explicativa para a existência de variação territorial é relacionada a diferenças na estrutura física do hábitat. Sabe-se que dentro de um determinado hábitat, espécies vegetais, quantidade de umidade, sombreamento e outros recursos não encontram-se distribuídos de maneira homogênea. Estas diferenças podem influenciar no tamanho dos territórios a serem defendidos, visto que presença de locais ótimos para a reprodução e de estruturas/poleiros-chave que facilitem a visibilidade a intrusos e, portanto, um menor gasto de energia no patrulhamento do território (NERO 1956; EWALD et al. 1980; WEATHERHEAD 1988; EASON e STAMPS 1992; YOSEF e GRUBB 1994) são recursos muitas vezes valiosos quando o objetivo é alcançar o sucesso reprodutivo. A estrutura física do hábitat tem sido amplamente reconhecida como um fator que influencia nos tamanhos dos territórios (ODUM 1941; ORIANS 1961; WIENS 1973), com a defesa de áreas de baixa visibilidade implicando em elevadas sobreposições com territórios vizinhos (EASON e STAMPS 1991). Para aves, poucos são os estudos que mensuraram a influência do hábitat sobre o tamanho dos territórios. Dentre estes poucos estudos, há evidências de que a heterogeneidade da paisagem modela o tamanho dos territórios (NICE 1943; CONDER 1956; NERO 1956; WEATHERHEAD 1988). Portanto, a influência da estrutura do hábitat sobre o tamanho dos territórios de F. littoralis, embora não mensurada na presente tese, é algo que necessita ser investigado de maneira a se obter um melhor panorama das variáveis que determinam a distribuição espacial de *F. littoralis* dentro dos fragmentos de restinga.

Importante é sempre ressaltar que territórios são unidades extremamente dinâmicas, que se alteram ao longo do tempo, em resposta à atuação de uma ou um conjunto de variáveis, como as expostas nos parágrafos anteriores. As consequências das variações nos tamanhos

dos territórios se refletem na dinâmica populacional da espécie, com alterações nas taxas de natalidade, mortalidade e sucesso reprodutivo (capítulo 2 da presente tese) além de implicações no sistema de acasalamento (capítulo 3 da presente tese).

1.6 Considerações finais

Territorialidade é um comportamento que emerge entre espécies quando um recurso considerado vital para o alcance do sucesso reprodutivo encontra-se escasso no ambiente. Formicivora littoralis é uma espécie considerada altamente territorial que defende um espaço (território) ao longo de todo o ano. Os territórios defendidos podem ser considerados pequenos (entre 0,008ha e 0,32ha) quando comparados aos de outras espécies da família Thamnophilidae. Os tamanhos de território de F. littoralis variaram significativamente entre as estações não-reprodutivas e reprodutivas durante três anos de amostragem (2010, 2011 e 2012), havendo uma diminuição no tamanho do território na estação reprodutiva. O tamanho do território defendido geralmente apresenta relação entre: 1) a massa corpórea/tamanho total do indivíduo, 2) interação entre potenciais competidores e/ou 3) estrutura do hábitat. A relação entre a massa corpórea/tamanho do corpo do indivíduo e o tamanho de seu respectivo território não apresentou resultados significativos no presente estudo, o que indica que essa relação parece não influenciar na determinação do tamanho dos territórios de F. littoralis. De fato, indivíduos com a mesmo valor de massa apresentaram territórios de tamanhos variados. A segunda relação - interações entre tamanho dos territórios e quantidade de vizinhos (interações entre co-específicos) - apresentou resultado significativo, e parece atuar no tamanho dos territórios de F. littoralis, embora não tenham sido medidas as interações com indivíduos flutuantes. Interações com indivíduos flutuantes são de difícil medição, pois as investidas em se conseguir um território podem ocorrer em qualquer momento das histórias de vida dos indivíduos flutuantes. A elevada densidade de indivíduos de F. littoralis na área de estudo (0,53 a 1,15 indivíduos/km²), comparada com outras espécies da mesma família, mostra que as interações com donos de territórios vizinhos podem ser constantes, além da pressão de intrusão ocasionada pelos indivíduos flutuantes. A terceira relação - estrutura do hábitat influenciando na determinação do tamanho dos territórios – não foi testada na presente tese, embora sejam reconhecidos que cada território apresenta suas peculiaridades com presença/ausência de características (exemplo: locais mais seguros para nidificação, poleiros mais altos que facilitam a defesa do recurso território, etc.) que determinam seus tamanhos. Portanto, a influência da estrutura do hábitat sobre o tamanho dos territórios de F. littoralis é algo que necessita ser investigado de maneira a se obter um melhor panorama das variáveis que determinam a distribuição espacial de *F. littoralis* no interior no seu hábitat.

2 BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *FORMICIVORA LITTORALIS*: DESCRIÇÃO E PARÂMETROS DE HISTÓRIA DE VIDA

2.1 Introdução

Todo ser vivo evolui de maneira a maximizar sua aptidão (*fitness*) no ambiente em que vive (RICKLEFS 2000). Esta maximização é influenciada por um conjunto de características próprias do indivíduo, como as condições físicas, a fisiologia do organismo e por características presentes no ambiente em que esse organismo vive, por exemplo, a disponibilidade de recursos alimentares e a presença de predadores. Os quatro principais atributos que compõem as histórias de vida são: 1) idade da maturidade, 2) parição, 3) fecundidade e 4) longevidade (BEGON et al. 2007).

A idade da maturidade refere-se ao período de tempo em que o indivíduo está apto a se reproduzir pela primeira vez. Em aves, algumas espécies estão aptas a se reproduzirem alguns meses após o nascimento (por exemplo, com um ano de idade) enquanto outras precisam de alguns anos para atingirem a maturidade sexual (como por exemplo, a espécie *Sterna hirundo*, cujos indivíduos necessitam de dois a seis anos para realizarem a reprodução – LUDWIG e BECKER 2002). Já a parição refere-se ao número de episódios reprodutivos realizados em um determinado período de tempo (por estação reprodutiva ou por ano). Em aves, esta estimativa é diretamente afetada pelas taxas de 1) predação, que, em muitos casos, possibilitam novas tentativas de nidificação (NAGY e HOLMES 2004), e 2) sincronia reprodutiva (densidade de indivíduos em condições de se reproduzirem em um determinado espaço e tempo), que é um dos possíveis fatores, entre outros, que possibilita investir em copulações extra-par (StUTCHBURY e MORTON 2001; ROWE et al. 2001). O terceiro principal parâmetro das histórias de vida – fecundidade, refere-se ao número de descendentes que são produzidos por episódio reprodutivo e o quarto principal parâmetro, longevidade, refere-se ao tempo de vida de um dado organismo.

Todos esses atributos encontram-se intimamente relacionados com o processo reprodutivo. A reprodução é um evento que requer um suprimento de energia suficiente para a sobrevivência de um indivíduo e de seus descendentes (HANSSEN et al. 1995; RICKLEFS 2000). Por necessitar de uma grande quantidade de energia, a reprodução é considerada de alto custo energético e ao mesmo tempo conflitante, já que há um deslocamento dos recursos

do crescimento/manutenção do indivíduo para sua prole - princípio de alocação da energia (HÖGLUND e SHELDON 1998). Sabe-se que os recursos necessários para a reprodução locais de nidificação, parceiros reprodutivos e alimento – muitas vezes se encontram limitados. Devido a isso, diversas combinações são possíveis e observadas entre os atributos da história de vida de qualquer espécie (BENNET e OWENS 2002). Para facilitar a compreensão dessas possíveis combinações, as histórias de vida foram classificadas ao longo de um contínuo eixo "lento-rápido". Para aves, na extremidade "lenta" encontram-se as histórias de vida onde o tamanho da ninhada é pequeno (fecundidade baixa), há alta predação de ninhos que leva a elevadas taxas de tentativa de se alcançar o sucesso reprodutivo (alta parição) e longos períodos de cuidado parental, inclusive com comportamento de cuidado parental estendido, presente em determinadas espécies (SKUTCH 1985; FOGDEN 1972). Na extremidade oposta – "rápida" – encontram-se as histórias de vida contrárias à previamente exposta. Apesar dos estudos que abordam aspectos da história de vida nos Trópicos ainda serem considerados poucos quando comparados à região temperada, os estudos até o presente enquadram as espécies tropicais como mais próximas do eixo "lento" enquanto que as espécies da zona temperada estariam enquadradas no eixo "rápido" (BENNETT e OWENS 2002).

Todas as informações acerca dos parâmetros da história de vida auxiliam na caracterização da biologia reprodutiva de uma dada espécie que, no caso de aves, também é composta das informações descritivas de ninhos, ovos e filhotes, determinação do seu tempo de desenvolvimento (duração dos períodos de construção, nidificação, cuidado parental no ninho e cuidado parental estendido) além das estimativas do sucesso reprodutivo (BENNETT e OWENS 2002).

O sucesso reprodutivo é um parâmetro que varia no tempo e no espaço (RICKLEFS 1969), influenciando diretamente na dinâmica populacional (ROTENBERRY e WIENS 1989) e na conservação de uma espécie (CRICK et al. 1994). As flutuações populacionais estão relacionadas à ocorrência de anos "bons" e "maus" (NOLAN 1978; BLANCHER e ROBERTSON 1985), que refletem a influência de características dos indivíduos e do ambiente onde vivem. O sucesso reprodutivo pode ser afetado, por exemplo, pela predação (MARTIN 1995; STUTCHBURY e MORTON 2001), disponibilidade de alimento (MARTIN 1987), local do ninho (MARTIN 1993), formato do ninho (MARTIN e LI 1992) e cuidado parental (MARTIN et al. 2000). Dentre esses fatores, a predação é considerada o principal agente de insucesso de ninhos (RICKLEFS 1969; 1970; ONIKI 1979; SKUTCH 1996) sendo o responsável por mais de 80% das perdas de ovos e ninhegos na região neotropical

(MARTIN 1993; STUTCHBURY e MORTON 2001). A predação pode afetar as características da história de vida, já que altas taxas de predação de ninhos podem favorecer uma diminuição no tamanho da ninhada, permitindo que a energia seja investida em mais de uma tentativa de cópula (SLAGSVOLD 1984). De fato, um padrão observado nos trópicos com relação às ninhadas é que estas são geralmente pequenas (dois a três ovos) (SKUTCH 1949; MARTIN 1995; STUTCHBURY e MORTON 2001) enquanto que na zona temperada as espécies colocam de quatro a seis ovos (JETZ et al. 2008).

A disponibilidade de recurso alimentar atua sobre o sucesso reprodutivo, principalmente na fase de desenvolvimento (crescimento) da prole (MARTIN 1987), enquanto que o local onde o ninho é construído e seu formato determinam o quão exposta a prole pode estar à predação e ao insucesso por conta de fatores abióticos (MARTIN e LI 1992). Além dos fatores abióticos que influenciam no sucesso reprodutivo, este ainda pode sofrer influência de ações antrópicas (ONMUS e SIKI 2013). Ações antrópicas como a fragmentação de hábitats, por exemplo, podem alterar a dinâmica espacial (diminuir as áreas disponíveis para fixação de territórios, onde são construídos os ninhos e obtidos os recursos alimentares), além de alterar características abióticas (aumentar a entrada de luz e facilitar os efeitos de borda). Levando-se em conta os diversos fatores que afetam o sucesso reprodutivo, são necessários estudos que acompanhem a dinâmica reprodutiva de qualquer espécie, o que é importante para ações de manejo e conservação. Este segundo capítulo teve como objetivo geral determinar os parâmetros da história de vida e da biologia reprodutiva de Formicivora littoralis, considerada a única espécie de ave endêmica de restinga (GONZAGA e PACHECO 1990), a qual atualmente encontra-se ameaçada de extinção nos níveis regional (ALVES et al. 2000), nacional (MACHADO et al. 2008) e global (IUCN 2014).

2.2 **Objetivos**

Os objetivos específicos deste segundo capítulo são:

a) Determinar o período reprodutivo de *F. littoralis* na área de estudo, informando a duração da estação reprodutiva em cada ano estudado (2010, 2011 e 2012), assim como as fases de construção, nidificação e alimentação da prole;

- b) Mapear e caracterizar os ninhos quanto à planta suporte, material constituinte e medidas de forma;
- c) Descrever os ovos e os ninhegos;
- d) Descrever qualitativamente e quantitativamente a postura, incubação e eclosão dos ovos;
- e) Estimar o sucesso reprodutivo anual da espécie, utilizando-se dois métodos: Protocolo de Mayfield e regressão logística (programa MARK®);
- f) Determinar a razão sexual dos ninhegos;
- g) Investigar as possíveis causas de insucesso de ninhos;

2.3 Material e métodos

2.3.1 <u>Determinação do período reprodutivo e das fases de construção, nidificação e cuidado</u> da prole

As buscas por ninhos de *F. littoralis* iniciaram-se em 2008 (por dois dias a cada mês) e foram intensificadas a partir do ano de 2010 até 2012, com buscas mensais por três dias consecutivos. Todas as 17 trilhas da grade de estudo foram cuidadosamente examinadas visualmente. Ao se detectar algum indivíduo carregando material para construção de ninho, este indivíduo era seguido e o ninho acompanhado diariamente até o final de sua construção. Ao se encontrar um ninho, este foi mensalmente acompanhado de maneira a se detectar se estava em estágio ativo ou inativo. O ninho foi considerado em estado ativo quando, ao se colocar uma folha de uma planta qualquer em seu interior, a folha foi removida por um indivíduo de *F. littoralis*, algumas horas depois. Também foi considerado ativo todo ninho encontrado com ovos ou filhotes de *F. littoralis*. Cada ninho ativo encontrado recebeu um código referente à sequência cronológica (número) em que foi encontrado, seguido do ano amostrado. Por exemplo, o código 1_2008 representa o primeiro ninho encontrado no ano de 2008. O local de cada ninho encontrado foi geolocalizado utilizando-se GPS Garmin Map60CSx (datum: WGS1984).

Para a determinação do início e fim do período reprodutivo da espécie foram registrados o primeiro e último evento observado ligado a cada fase (primeiro e último ninho

em construção, incubação e desenvolvimento dos ninhegos). Foi considerado o último evento da fase de incubação, o dia em que eclodiu o último ovo e o último evento da fase de desenvolvimento dos ninhegos quando estes foram observados nos arredores do ninho, recebendo alimento por parte do par reprodutor. Para a determinação precisa dessas fases foram realizadas transecções quinzenais para observação do comportamento dos indivíduos.

2.3.2 <u>Caracterização dos ninhos quanto à planta suporte, material constituinte e medidas de</u> forma

Após abandonado, cada ninho ativo encontrado foi medido utilizando-se paquímetro (mm) e trena (cm). As medidas tomadas foram: diâmetro interno e externo, profundidade (ou altura interna) e altura do ninho sobre o solo (medida a partir da base do ninho) (figura 18). Depois de terem as medidas registradas, os ninhos foram coletados e, em laboratório, foram desmanchados, de modo a se identificar o material constituinte. Um ramo da planta que serviu como suporte para o ninho foi coletado, e identificado por pesquisadores/especialistas do ambiente de restinga – em especial, Adriana C.S. Cavalcanti e Cyl Farney C. Sá. As plantas coletadas foram depositadas no Jardim Botânico do Rio de Janeiro (JBRJ).

Legenda
1 - altura em relação ao solo
2 - profundidade
3 - diâmetro externo
4 - diâmetro interno

Figura 18 - Esquema das medidas de ninhos tomadas de Formicivora littoralis.

Fonte: SOUZA, Leonardo Mello de, 2014.

2.3.3 <u>Descrição dos ovos e ninhegos</u>

Todos os ovos encontrados nos ninhos foram individualmente numerados (no pólo rômbico) com um lápis HB (figura 19). Após serem marcados, tiveram suas medidas aferidas utilizando-se paquímetro (precisão de 0,1mm) e dinamômetro do tipo pesola® (precisão de 0,2g). As medidas aferidas foram peso e diâmetro mínimo e máximo. Após este procedimento, foi inferido o estágio de incubação dos ovos por meio do grau de flutuação destes (WESTERSKOV 1950). O método do grau de flutuação consiste em se colocar os ovos dentro de uma vasilha plástica com água. Se os ovos ficarem no fundo da vasilha, significa que está no início do período de incubação e, se os ovos boiarem, a incubação encontra-se no final. Este método foi utilizado com sucesso em outros estudos (WESTERSKOV 1950; HAYS e LECROY 1971; CASTIGLIONI 1998).



Figura 19 - Marcação de identificação dos ovos de Formicivora littoralis.

Fonte: CHAVES, 2014

Quanto aos ninhegos, estes também tiveram medidas aferidas utilizando-se paquímetro (precisão 0,1mm) e dinamômetro do tipo Pesola® (precisão 0,2g). As medidas aferidas foram peso, cúlmen exposto e tarso esquerdo. Estas medidas foram retomadas a cada três dias, de modo a se acompanhar o crescimento/desenvolvimento dos ninhegos. Para individualizar os ninhegos recém-nascidos foram feitas pequenas marcas (círculo ou quadrado) na cabeça dos ninhegos utilizando-se corretivo líquido branco (atóxico). Após o quinto ou sexto dia de nascimento, o tarso dos ninhegos encontrava-se em tamanho suficiente para receber anilhas. Cada ninhego foi individualmente marcado com uma anilha metálica (licenças 1237 e 15378 do CEMAVE e SISBIO, respectivamente) e uma combinação única de duas anilhas coloridas (figura 20). O estado de crescimento da plumagem e o desenvolvimento do ninhego ao longo dos dias foram descritos até a saída do ninho.

Figura 20 - Ninhego de *Formicivora littoralis* anilhado com um par de anilhas coloridas aos seis dias de vida.



Fonte: CHAVES, 2014.

2.3.4 <u>Descrição qualitativa e quantitativa da postura, incubação, eclosão dos ovos, cuidado parental e comparação com os dados disponíveis na literatura científica para outras espécies da família Thamnophilidae.</u>

Para proceder à descrição qualitativa e quantitativa da postura, incubação, eclosão dos ovos e cuidado parental de *F. littoralis*, cada ninho ativo foi acompanhado por uma câmera de vídeo durante o período de 6-18h durante os dias de monitoramento/checagem dos ninhos. A descrição qualitativa incluiu a duração da postura dos ovos, período do dia em que este evento ocorreu, qual indivíduo incubou os ovos, qual indivíduo alimentou os filhotes e se houve ou não cuidado parental após deixarem o ninho. A descrição quantitativa incorporou informações acerca do número total de ovos de cada evento reprodutivo (tamanho da ninhada), a quantidade de ovos postos diariamente, quantos dias compuseram o período de incubação e da fase de ninhegos, quantos indivíduos incubaram os ovos e quantos alimentaram os ninhegos.

2.3.5 Sucesso reprodutivo anual da espécie

Considerou-se que o ninho obteve sucesso quando pelo menos um ninhego saiu do ninho e foi observado posteriormente na grade de estudo. Ninhos encontrados vazios antes da data esperada de saída dos ninhegos foram considerados predados, assim como aqueles em que foram encontrados vestígios de predação (exemplo: cascas dos ovos, penas, ninho destruído). Ninhos ativos cujos ovos não eclodiram foram considerados abandonados, e incluídos nas análises relativas ao sucesso reprodutivo da espécie.

O sucesso reprodutivo foi calculado por meio da taxa de sobrevivência diária (TSD) utilizando-se dois métodos – o primeiro, proposto por Mayfield (1961, 1975) e o segundo, calculado no programa MARK® (versão 7.1, 2013). A TSD proposta por Mayfield tem sido amplamente utilizada em estudos com aves (CASTIGLIONI 1998; BURK e NOL 2000; PIDGEON et al. 2003; BORGAMANN e RODEWALD 2004) e possui a vantagem de se poder incluir na análise as informações de ninhos que foram encontrados com ovos e/ou ninhegos, para os quais não se pode afirmar com precisão quando estes ovos foram postos ou quando os ninhegos nasceram. De acordo com este método, o número de dias perdidos em cada ano ou estação reprodutiva deve ser dividido pelo número de dias em que os ninhos ficaram expostos (ou seja, foram observados). Assim, para se determinar a taxa de sobrevivência diária, diminui-se o resultado encontrado de um. O valor encontrado deve ser elevado ao número de dias que compõem o período de incubação ou de desenvolvimento dos ninhegos. Exemplo (retirado de MAYFIELD 1961): 154 ninhos foram observados no período de incubação por 882 dias. Dentre todos os ninhos observados, 35 foram predados e/ou

abandonados. Portanto, o cálculo da perda de ninhos é 35 divididos por 882, cujo resultado é 0,04. Portanto, em um dia, a TSD de ninhos é 0,96 (1 – 0,04). Como a espécie estudada apresenta um período de incubação de 14 dias, eleva-se o valor da perda diária por 14 (0,96¹⁴). O resultado encontrado refere-se ao sucesso reprodutivo da espécie naquele período ou ano. De modo a se avaliar se há diferença significativa entre o sucesso reprodutivo de cada fase (incubação e cuidado parental) os valores da TSD foram submetidos ao teste t pareado, pois as amostras não são independentes (alguns valores da fase de ninhegos se encontram dependentes da fase de incubação).

O segundo método – regressão logística utilizando-se o programa MARK® (versão 7.1, 2013), vem recentemente sendo utilizado para se determinar o sucesso reprodutivo das espécies e apresenta a vantagem de se poder incluir nos modelos de regressão, variáveis que possam influenciar nas TSD da espécie (DINSMORE et al. 2002). Assim como no método de Mayfield, apresenta premissas, que são: 1) Deve ser determinada corretamente a idade de cada ninho no dia de seu encontro; 2) O que aconteceu com o ninho (sucesso ou predação), deve ser determinado corretamente; 3) O monitoramento do ninho pelo pesquisador não deve interferir na sobrevivência do ninho; 4) Cada evento de sucesso ou insucesso de cada ninho deve ser independente, e 5) as TSD devem ser homogêneas.

Todas essas premissas foram cumpridas, com exceção da primeira e da quarta, cumpridas parcialmente. Com relação à primeira premissa, nem todos os ninhos tiveram a idade determinada com precisão. Entretanto, com base no estado em que os ovos foram encontrados, determinados por meio do método de flutuação (detalhes no tópico 2.3.3 desta seção de resultados) pode-se inferir se estes se encontravam no início ou fim do período de incubação, assim como os ninhegos, que tiveram a idade estimada, baseando-se em características morfológicas, como o desenvolvimento da plumagem. Deste modo, todos os ninhos encontrados no estado ativo, foram utilizados na análise. Já com relação à quarta premissa, nem todos os ninhos utilizados na análise são, no sentido estrito da palavra, independentes, já que um mesmo casal fez mais de uma tentativa reprodutiva em uma mesma estação. Entretanto, foi considerado como independente cada evento de tentativa de reprodução, independente de ser de um mesmo casal, caso essa nova tentativa de reprodução não utilizasse o mesmo ninho construído e utilizado previamente.

Na construção dos modelos no programa Mark, foram incluídas informações relativas à data em que o ninho foi encontrado. Isto porque sabe-se que o sucesso reprodutivo das aves pode variar ao longo da estação reprodutiva em vista da diminuição de recursos alimentares, ou aumento na abundância de predadores. Além disto, o aumento nas atividades de cuidado

parental (que tendem a acontecer na fase de ninhegos, quando a idade do ninho encontra-se mais avançada) pode chamar a atenção de predadores. Com isso, é de se esperar uma diminuição nas TSDs dos ninhos ao longo da estação reprodutiva. Portanto, dois modelos foram criados - um constante e outro com a inclusão da variável data e, foram avaliados com base no Critério de Informação de Akaike corrigido para pequenas amostras (AICc). O melhor modelo é aquele que apresenta o menor valor de AICc (BURNHAM e ANDERSON 1998).

2.3.6 Razão sexual no ninho

A identificação do sexo dos ninhegos no ninho foi realizada por amplificação do gene CHD, por meio da técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Para tal, amostras de sangue (cerca de 50ul) foram coletadas da veia tíbio-tarsal com uso de agulhas descartáveis hipodérmicas de parede fina (calibre 0,30mm) e microcapilares heparinizados de 50ul. O sangue coletado foi armazenado e individualizado em tubos de *eppendorff* contendo etanol absoluto.

A extração de DNA seguiu o protocolo proposto por Nicholls e colaboradores (2000), utilizando-se o método de precipitação por Acetato de Amônio. O protocolo de extração do DNA encontra-se no Anexo II. Após o DNA ter sido extraído, este foi quantificado por meio do método de eletroforese em gel de agarose a 0.8%. Para a quantificação, foi utilizado apenas 1µl da amostra acrescida de 1µl de tampão (50% glicerol + 0.05% azul de bromofenol + 0.05% xilenocianol). A visualização da quantificação do DNA foi realizada em um equipamento transiluminador (luz violeta). A quantificação do DNA de *F. littoralis* foi baseada na concentração molecular conhecida para o bacteriófago Lambda (quantificação de referência). Com esta comparação, obteve-se uma estimativa subjetiva da concentração de DNA presente em cada amostra de *F. littoralis*.

Após este procedimento, as amostras referentes a ninhegos da espécie foram submetidas a uma PCR, de modo a se identificar o sexo. Foi preparado, para cada amostra, o volume de 10 μl de reação. Os 10 μl de volume referiram-se a: 5 μl de tampão (Green Master Mix, marca Promega), 1 μl do *primer* P2, 1 μl do *primer* P8, 2 μl de água Milli-Q e 1 μl de DNA. O Green Master Mix é uma solução comprada já preparada, que, contém a "Taq" DNA-polimerase, dNTPs (desoxirribonucleotídeos trifosfatos), MgCl₂ e solução tampão de

reação, necessários para a amplificação do DNA. Os primers P2 e P8 foram desenvolvidos por Griffiths e colaboradores (1998), necessários para a identificação do sexo e flanqueiam regiões intrônicas polimórficas dos genes CHD-Z e CHD-W. Nas aves, as fêmeas são heterogaméticas (ZW) e os machos, homogaméticos (ZZ). Por isso, ao se analisar o produto amplificado por PCR em gel de agarose, fêmeas apresentam duas bandas, enquanto machos, apenas uma. A sequência de bases do *primer* P2 é 5'-TCTGCATCGCTAAATCCTTT-3' enquanto que a do *primer* P8 é 5'-CTCCCAAGGATGAGRAAYTG-3'.

A solução de 10μl foi submetida à amplificação por PCR em um termociclador. Os ciclos de amplificação seguiram as diferentes etapas: 1) 30 segundos na temperatura de 95 °C; 2) 95 °C por 30 segundos; 3) 45 °C por 30 segundos; 4) 72 °C por 30 segundos. As etapas dois, três e quatro foram repetidas 40 vezes. Prosseguiu-se à quinta etapa, onde as amostras foram submetidas à temperatura de 72 °C por cinco minutos e por fim, à sexta etapa, onde as amostras foram resfriadas a 4 °C.

Após o PCR, 6 μl das amostras foram individualmente aplicadas nos poços do gel de agarose (concentração de 1%) seguindo a ordem em que os ninhos foram encontrados. O segundo poço recebeu o DNA *ladder* (mix contendo fragmentos de DNA de diversos tamanhos e concentrações conhecidas, de modo a permitir a quantificação do tamanho dos fragmentos de DNA de *F. littoralis*), no terceiro poço, inseriu-se o controle positivo (DNA de algum indivíduo cujo sexo era conhecido) e, nos poços subsequentes, as amostras de PCR de cada ninhego. O último poço refere-se ao controle negativo, onde apenas água foi aplicada. Posteriormente à corrida eletroforética, o gel foi analisado em um transiluminador.

O razão sexual foi acessada apenas qualitativamente, não sendo empregado nenhuma análise estatística.

2.3.7 Possíveis causas de insucesso de ninhos

De maneira a se detectar as possíveis causas de insucesso dos ninhos, cada ninho ativo de *F. littoralis* foi monitorado com uma câmera de vídeo, durante todo o período diurno em todos os dias de checagem de ninhos. Portanto, as câmeras registraram as atividades nos ninhos a cada 3 dias, permanecendo ligadas por 12h consecutivas (6-18h). As câmeras de vídeo – modelo Sony DCR-SX43 - foram postas a no mínimo 2 metros de distância do ninho, e de maneira a permanecerem camufladas na vegetação, não interferindo no comportamento

do par reprodutor nem atraindo a atenção de possíveis predadores. Um pano escuro e algumas folhas foram postos sobre o aparelho. De modo a se evitar influência do pesquisador na atração de predadores, cada câmera de vídeo recebeu uma bateria estendida de duração de 8 horas de gravação consecutivas. Portanto, a troca de baterias ocorria apenas uma vez por dia. Todos os vídeos foram analisados, de modo a se detectar os predadores de ninhos de *F. littoralis*.

2.4 **Resultados**

2.4.1 <u>Determinação do período reprodutivo e das fases de construção, nidificação e cuidado da prole</u>

No período de 2008 a 2012, foram encontrados 29 ninhos ativos (tabela 5) de *F. littoralis*. Dentre os 29 ninhos ativos, quatro foram encontrados na fase de construção, 17 na fase de incubação e sete na fase de desenvolvimento dos ninhegos. A localização de cada ninho ativo dentro do território de cada par reprodutor pode ser observada na figura 21. Notase que, a maior parte dos ninhos encontrados, localiza-se na borda dos territórios.

Tabela 5 - Códigos dos ninhos de Formicivora littoralis com respectivas datas de encontro e

períodos de acompanhamento para a estimativa do sucesso reprodutivo.

Ninho	Data de localização	Períodos acompanhados
1_2008	20/Maio/2008	Ninhego
2_2008	23/Agosto/2008	Ninhego/Extensão cuidado parental
3_2008	20/Novembro/2008	Ninhego
4_2008	9/Dezembro/2008	Ninhego/Extensão cuidado parental
1_2009	11/Agosto/2009	Ninhego
2_2009	3/Setembro/2009	Ninhego
3_2009	10/Outubro/2009	Ovo
1_2010	17/Junho/2010	Ovo/Ninhego/ Extensão cuidado parental
2_2010	5/Setembro/2010	Ovo
3_2010	12/Setembro/2010	Ovo
4_2010	23/Outubro/2010	Ovo
5_2010	23/Outubro/2010	Construção/ovo
6_2010	24/Outubro/2010	Ovo
1_2011	26/Maio/2011	Ovo/Ninhego/ Extensão cuidado parental
2_2011	15/Junho/2011	Ninhego/ Extensão cuidado parental
3_2011	4/Julho/2011	Ovo
4_2011	21/Julho/2011	Construção/Ovo
5_2011	22/Outubro/2011	Ovo
6_2011	26/Novembro/2011	Ovo
1_2012	27/Junho/2012	Construção/Ovo
2_2012	1/Setembro/2012	Ovo
3_2012	20/Setembro/2012	Construção/Ovo
4_2012	11/Julho/2012	Ovo
5_2012	5/Agosto/2012	Ovo
6_2012	3/Outubro/2012	Ovo
7_2012	21/Outubro/2012	Ovo/Ninhego/Extensão cuidado parental
8_2012	22/Outubro/2012	Ovo/Ninhego
9_2012	22/Outubro/2012	Ovo
10_2012	13/Novembro/2012	Ovo



Figura 21 - Localização dos ninhos ativos (estrelas vermelhas) de *Formicivora littoralis* dentro dos territórios na restinga da Massambaba, RJ.

Fonte: CHAVES, 2014.

O tempo despendido para a construção dos ninhos variou entre os quatro ninhos encontrados nesta fase. Apenas um ninho foi encontrado em fase que pode-se considerar inicial de construção; ou seja, quando os indivíduos de *F. littoralis* entrelaçavam as primeiras fibras vegetais no entorno do ramo suporte escolhido. Este ninho foi encontrado no dia 21 de outubro de 2012 e em cinco dias encontrava-se completamente pronto. Os outros três ninhos encontrados na fase de construção foram considerados prontos (fios de vegetação totalmente entrelaçados, com dificuldade de se observar lateralmente a parte interna do ninho) dois dias após terem sido encontrados. Machos e fêmeas foram observados carregando material e construindo o ninho durante cinco dias.

Com relação ao período de incubação dos ovos, apenas um ninho foi acompanhado desde o primeiro dia da postura do primeiro ovo. Este ninho foi monitorado no período da manhã (por volta das 7h) e, por conta de um dos indivíduos ter removido a folha deixada no ninho, o ninho foi novamente vistoriado por volta das 12h. No retorno, percebeu-se que o ninho continha um ovo. Este ovo eclodiu 18 dias após a fêmea ter realizado a postura. A postura do segundo ovo deste ninho foi filmada e é descrita no tópico 2.4.5 dos resultados da presente tese. Outros dois ninhos também tiveram seus ninhegos eclodidos 18 dias após terem

sido encontrados os ovos, o que permite inferir que estes foram encontrados no 1º dia do período de incubação. Já o período de cuidado parental foi acompanhado com datas precisas de eclosão e saída dos filhotes, em três ninhos. Em todos os três ninhos, os ninhegos deixaram seus respectivos ninhos após 10 dias de nascidos. Ao saírem dos ninhos, os filhotes foram alimentados pelo par reprodutor. Seis "famílias" foram acompanhadas após a saída dos filhotes dos ninhos. O cuidado parental estendido foi observado por até 53 dias após a saída dos filhotes do ninho. Após este período, os filhotes não foram mais observados junto aos pares reprodutores, mas foram esporadicamente observados na grade de estudo.

2.4.2 <u>Caracterização dos ninhos quanto à planta suporte, material constituinte e medidas de</u> forma

Os ninhos de F. littoralis possuem o formato de cesto aberto e foram localizados presos em forquilhas horizontais em três a cinco pontos. Nos pontos onde os ninhos se encontravam presos aos ramos das plantas foi encontrada uma fibra vegetal branca, macia, semelhante a algodão. Este mesmo material também foi observado entremeado entre as outras fibras vegetais que dão a forma ao ninho. Todos os ninhos foram encontrados totalmente ou parcialmente protegidos por folhas das árvores e arbustos (de ramos superiores, mas próximos dos ninhos) que fornecem sombra e proteção contra fatores abióticos (sol, chuva, vento) e possíveis predadores. Externamente, os ninhos foram compostos por fibras vegetais claras (tonalidades claras de marrom) e finas, principalmente as retiradas de indivíduos envelhecidos da espécie de cacto Pilosocereus arrabidae. Externamente, os ninhos ainda foram compostos por pedaços de cascas de árvores com liquens, folhas secas, teias de aranha e pupas de insetos. Internamente, alguns ninhos foram forrados com algumas fibras mais escuras, cuja identificação da espécie vegetal não foi possível. A média e o desvio padrão (DP) das medidas morfométricas relativas a todos os ninhos encontrados ativos (incluindo aqueles não presentes no artigo publicado – Anexo I da tese) são: altura em relação ao solo (1,04 \pm 0.73 m), diâmetro externo (73,35 \pm 6,93 mm), diâmetro interno (60,1 \pm 4,56 mm) e profundidade interna $(53.2 \pm 15.85 \text{ mm})$.

Os ninhos foram localizados a diferentes alturas, desde 0,27 até 3,45 m e, não apresentaram especificidade a nenhuma espécie vegetal. As medidas morfométricas e as espécies de plantas onde os ninhos foram construídos encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 - Plantas suporte e respectivas medidas morfométricas dos ninhos encontrados em estado ativo de *Formicivora littoralis* (continua).

Ninho	Planta suporte	Med	didas mo	rfométri	cas
·			DE	DI	Profundidade
		Altura (m)	(mm)	(mm)	(mm)
	Erythroxylum subrotundum				
1	(Erytroxylaceae)	0,87	56,9	54,2	70
2	Zollernia glabra (Leguminosae)	2,76	75,3	63,7	60
	Arrabidae conjugata				
3	,	1,45	78,5	65	110
	Chrysophyllum lucentifolium				
4	(Sapotacea)	1,63	77,4	65,5	45
5	Justicia brasiliana (Acanthaceae)	0,27	69,9	61,1	55
6	Trichilia casaretti (Meliaceae)	0,67	79,9	65	45
	Myrrhinium atropurpureum				
7	(Myrtaceae)	0,91	63	54	55
	Aspidosperma parsifolium				
8	(Apocynaceae)	1,45	76	60	49
	Cyanophalla flexuosa				
9	, , ,	1,08	74	57,5	44
	Chrysophyllum lucentifolium				
	(Sapotacea)	0,39	70	58	43
	Eugenia umbelliflora (Myrtacea)	3,45	-	-	-
12	Justicia brasiliana (Acanthaceae)	0,4	90	72	52
	Myrrhinium atropurpureum				
13	(Myrtaceae)	0,45	70,5	61,2	51
	Chrysophyllum lucentifolium				
	(Sapotacea)	0,22	77,1	61,2	50
15	Não identificada	0,7	72	62,1	53
	Erythroxylum subrotundum				
	(Erytroxylaceae)	0,64	62	55,8	56
17	Zollernia glabra (Leguminosae)	1,53	75	54,3	49
	Aspidosperma parsifolium				
18	(Apocynaceae)	1,67	69,8	62,1	50
40	Cyanophalla flexuosa	2.5	70	64.0	50.0
19	(Capparaceae)	0,5	70	61,2	52.2
30	Cyanophalla flexuosa	0.63	72.2	66.5	61
20	(Capparaceae)	0,63	72,3	66,5	61
21	Não identificada	0,93	74	59,3	59
22	Justicia brasiliana (Acanthaceae)	1,01	73,8	58,9	55
2.5	Arrabidae conjugata			F.C. 1	
23	(Bignoniaceae)	0,41	75	56,1	55

(conclusão)

		Medidas morfométricas				
Ninho	Planta suporte		DE	DI	Profundidade	
		Altura (m)	(mm)	(mm)	(mm)	
24	Trichilia casaretti (Meliaceae)	0,52	76	57	62	
25	Não identificada	0,36	75,4	55,2	58	
	Myrrhinium atropurpureum					
26	(Myrtaceae)	0,52	62	54	53	
28	Zollernia glabra (Leguminosae)	1,5	74	58,2	47	
29	Trichilia casaretti (Meliaceae)	1,32	77	58,8	50	

Legenda: DE = diâmetro externo, DI = diâmetro interno.

2.4.3 <u>Descrição dos ovos e ninhegos</u>

Foram encontrados 22 ovos de F. littoralis. Estes, encontravam-se em ninhos com apenas um ovo (n = 2) ou dois ovos (n = 10). Os ovos de F. littoralis possuíram o formato oval, tonalidade esbranquiçada com manchas amarronzadas concentradas na porção mais larga do ovo (pólo rômbico) ou próximas do meio do ovo. Estas manchas amarronzadas formavam um anel, em volta de todo o ovo (figura 22). O diâmetro mínimo (\pm DP) foi em média 13,3 mm (\pm 0,30), o diâmetro máximo 18,2 mm (\pm 0,32) e o peso, 1,7 g (\pm 0,18).

Os ninhegos nasceram completamente sem penas e com os olhos inchados e fechados. No dia do nascimento o corpo apresentou tonalidade rósea e bico amarelado. No 4º dia de vida, surgiram os primeiros canhões das penas das asas, dorso (entre as asas) e cabeça, bem como as unhas. O tarso era róseo. Os olhos ainda permaneceram fechados e o bico com tonalidade amarelada. No sétimo dia após seu nascimento, os canhões já estavam nascendo em outras partes do corpo, como no peito. Os olhos já se encontravam menos inchados e parcialmente abertos e o bico começava a escurecer. No 10º dia de vida, quando os ninhegos saem do ninho, as penas já saíram dos canhões, os olhos já se encontravam abertos, o bico possuia apenas a comissura lateral amarelada e os tarsos já se encontravam em processo de escurecimento. Ao saírem do ninho os filhotes são observados no solo dando pequenos saltos e empoleirados em ramos de arbustos à baixa altura do solo. Um mês após saírem do ninho, os filhotes já voam com desenvoltura e já há dimorfismo sexual aparente na plumagem (figura 22).



Figura 22 - Etapas do desenvolvimento de *Formicivora littoralis*.

 $\label{eq:local_equation} Legenda: (A) - Ovo\ e\ primeiro\ dia\ de\ vida; (B) - Com\ seis\ dias\ de\ vida; (C) - Indivíduo\ macho\ ao\ sair\ do\ ninho; (D) - Indivíduo\ fêmea\ ao\ sair\ do\ ninho.$

Foto: (A, C, D) Luiz Freire, 2011; (B) Chaves, 2014.

2.4.4 <u>Descrição qualitativa e quantitativa da postura, incubação e eclosão dos ovos e, comparação com dados da literatura</u>

Formicivora littoralis põem no mínimo um e no máximo dois ovos. A postura de um ovo foi presenciada apenas uma vez, iniciou-se às 7h17 e teve a duração de 17 minutos e 5 segundos. Na ocasião da postura, a fêmea ao chegar no ninho, observou ao redor e sentou no interior do ninho (duração destas ações: 10 segundos). Ao sentar no ninho, vocalizou (duas notas na sequência do que é considerado seu chamado). Nos primeiros segundos dentro do

ninho, aparenta estar vigilante (movimentos rápidos com a cabeça de um lado para o outro), atenta a todos os movimentos ao redor do ninho. Após esses segundos iniciais, não aparenta mais estar vigilante. Permanece no ninho por 17 minutos e 5 segundos, quando voa sem emitir nenhuma vocalização e, o ovo pode ser observado. O dia da postura do segundo ovo variou entre os pares reprodutores. Foi registrada postura no dia seguinte (n = 1), com intervalo de um dia (n = 1) e com intervalo de até dois dias (n = 2).

O período de incubação da espécie foi acompanhado por completo em apenas um ninho e teve a duração de 18 dias. Outros três ninhos também foram acompanhados no período de incubação e, culminaram na eclosão dos ninhegos, enquanto 18 foram acompanhados e predados/abandonados em algum período desta fase. A incubação foi realizada tanto pelo macho quanto pela fêmea do par reprodutor. A proporção de investimento na incubação por cada sexo encontra-se no capítulo 3 da presente tese. Durante o período de incubação, machos e fêmeas foram observados em comunicação, por meio de chamados. Este chamado foi emitido com frequência mediana (48%, n = 10 ninhos), segundos antes de um dos sexos deixar o ninho desassistido. A incubação foi retomada pelo sexo oposto em 68% (n = 15) dos casos. Apenas fêmeas foram observadas pernoitando no ninho (n = 22).

O período de cuidado parental foi acompanhado em 11 ninhos, três dos quais com datas precisas de eclosão e saída dos filhotes. Nestes três ninhos, os ninhegos deixaram o ninho após 10 dias de nascidos. Logo ao nascimento, o par reprodutor além de iniciar a alimentação dos ninhegos, também os termoregula, continuando a sentar no ninho, como se incubassem ovos. A termoregulação ocorreu até o quinto dia de vida (n = 3) o que auxiliou na determinação da idade dos ninhegos, quando os ninhos foram encontrados já nesta fase. Machos e fêmeas continuaram a dividir o cuidado parental nesta fase. A proporção de investimento na fase de cuidado da prole por cada sexo encontra-se analisada no capítulo 3 desta tese. Foi observado apenas artrópodes sendo entregues aos ninhegos. Entre os alimentos que os membros dos pares reprodutores levaram aos ninhos, foi possível a identificação dos seguintes itens: gafanhoto (n = 5), larvas (n = 9), barata (n = 1), formiga (n = 2), lagarta (n = 1)2), mariposa (n = 3) e aranha (n = 3). Por ocasião da entrega de alimento, o ninho também era inspecionado pelos membros dos pares reprodutores que foram observados deglutindo sacos fecais em 27,3% dos ninhos acompanhados nesta fase. Quando não era ingerido pelos membros dos pares reprodutores, o saco fecal era retirado e carregado para longe do ninho. Os ninhegos, conforme o avanço da idade no ninho, vocalizavam com mais intensidade e constância. O desenvolvimento dos ninhegos, de acordo com a sua biomassa pode ser observada na figura 23. Os ninhegos nascem em média (\pm desvio padrão) com 2 g (\pm 0,38) (n = 6) e saem do ninho com média de 10,7 g (\pm 0,86) (n = 14).

Após a saída dos filhotes do ninho, observou-se que macho e fêmea continuaram a alimentar a prole por até 53 dias (n = 6), quando os filhotes não foram mais observados forrageando junto aos respectivos membros dos pares reprodutores. Esta fase não foi acompanhada com método padronizado. Ao saírem dos ninhos, os ninhegos foram observados saltitando na serapilheira e realizando pequenos vôos entre os ramos baixos dos arbustos. Cada filhote foi observado sendo cuidado por um dos membros do par reprodutor. A comunicação entre pares reprodutores e prole é constante, sendo emitidos chamados durante o forrageamento e, em situações de perigo (como, por exemplo, presença do observador). Os filhotes de *F. littoralis*, ao detectarem a presença do observador, se aproximavam a cerca de 2 m deste (n = 6). Ao contrário da prole, os membros dos pares reprodutores se mostraram arredios. A vocalização dos ninhegos nos primeiros dias após a saída dos ninhos não é alta, e, eles vocalizavam constantemente, solicitando alimento. Não foi observado comportamento de retorno aos ninhos para pernoite por parte dos ninhegos, nem dos membros dos pares reprodutores.

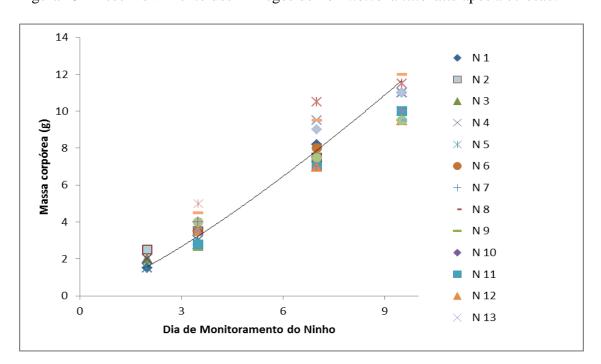


Figura 23 - Desenvolvimento dos ninhegos de Formicivora littoralis após a eclosão.

Legenda: N = ninhego Fonte: CHAVES, 2014.

2.4.5 <u>Sucesso reprodutivo</u>

Foram encontrados entre o período de 2008 a 2012, 29 ninhos de *F. littoralis*. No geral, o sucesso reprodutivo variou entre os anos de amostragem, e entre as fases de incubação e cuidado da prole, com maior perda de ninhos na fase de incubação (tabela 7). De fato, dos 22 ovos encontrados, apenas oito tiveram filhotes eclodidos. Quando a fase de incubação era ultrapassada, os ninhegos normalmente sobreviviam à rápida fase de cuidado parental no ninho (de 20 ninhegos, 14 saíram dos ninhos).

Tabela 7 - Sucesso reprodutivo dos ninhos de *Formicivora littoralis* em percentagem (n entre parêntesis), de acordo com o ano de observação do período reprodutivo.

Período	Ano						
	2008 2009 2010 2011 2012 Total						
Incubação	-	0 (3)	16 (6)	33 (6)	20 (10)	36	
Cuidado							
Parental	50 (2)	0(3)	100(1)	100(2)	50 (2)	54	

Com relação às taxas de mortalidade diárias (TMD), pelo método de Mayfield, estas oscilaram entre os anos amostrados. Analisando primeiramente apenas o período de incubação, em 2008, não foram encontrados ninhos nesta fase, o que impediu o cálculo. Em 2009, a TMD nesta fase foi 24%, decaindo em 2010 para 10%. Em 2011, esta subiu para 22% e, em 2012, decaiu novamente para 15%. Já na fase de cuidado com a prole, a TMD, em 2008 foi de 24%, decaindo em 2009 para 12%, aumentou em 2010 para 27% e decaiu em 2011 para 6% aumentando novamente em 2012 para 24%. Comparando-se estatisticamente as taxas de sobrevivência diárias (TSD) entre as duas fases do período reprodutivo (incubação e cuidado parental), não houve diferença significativa (t= -0.55; p = 0.607).

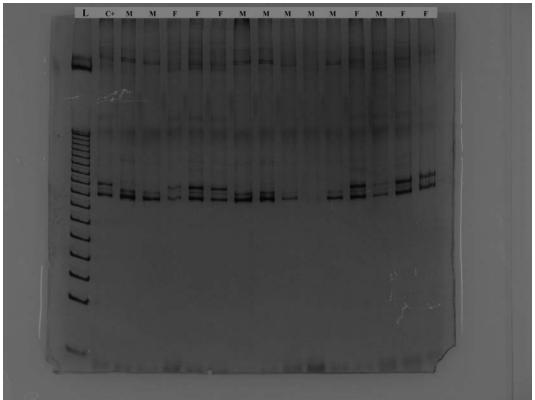
Os dados relativos ao sucesso reprodutivo também foram modelados no programa MARK. A estimativa média de sobrevivência dos ninhos foi de 0,31 para aqueles no início do processo reprodutivo (período de incubação) e de 0,62 para aqueles no final do processo reprodutivo (período de cuidado parental). O modelo em que a variável data (variável independente) foi incluída não apresentou um critério de Akaike baixo (Δ AICc = 16,93). Isto significa que a probabilidade do ninho ser predado é a mesma, independentemente do seu

estado (inicial ou avançado). O modelo constante foi, portanto, o que melhor explicou a variação no sucesso reprodutivo observado ($\Delta AICc = 2,53$).

2.4.6 Razão sexual no ninho

Dezesseis ninhegos tiveram seu sangue coletado, mas o sexo foi aferido apenas para quatorze deles. Em dois dos ninhegos, a quantidade de sangue coletada foi muito pequena e, priorizou-se utiliza-la para o capitulo 3 da tese. A razão sexual no ninho foi igual para ambos os sexos (50% dos nascimentos foram de indivíduos machos e 50% de indivíduos fêmeas), mostrando haver um padrão de razão sexual de um macho e uma fêmea nascidos por ninho (figura 24).

Figura 24 - Gel de poliacrilamida a 15% corado com nitrato de prata com as bandas de DNA para identificação do sexo por PCR para *Formicivora littoralis*.



Legenda: L = tamanho do fragmento padrão (pb) "DNA ladder" de 100pb; <math>C = controle positivo da reação; M = indivíduo macho; <math>F = indivíduo fêmea.

Fonte: CHAVES, 2014.

2.4.7 Causas de insucesso de ninhos

As câmeras de vídeo dispostas próximas ao ninho nos dias de monitoramento destes não registraram nenhuma predação. Entretanto, entre os dias de monitoramento, 16 ovos foram predados e seis ninhegos desapareceram dos ninhos. Não se pode afirmar as causas das predações dos ovos. Entretanto, no caso dos ninhegos, dois deles foram predados por uma espécie de ave (anu branco, *Guira guira*), dois por formigas e dois faleceram devido à fatores abióticos (chuva intensa) (observação em campo).

2.5 Discussão

Nas aves "O período da reprodução, para cada indivíduo e para o par reprodutor, ocorre em uma parte do ano e é caracterizado por uma maior intensidade do canto" (SICK 1997). Esta "parte do ano", segundo Sick (1997), refere-se à época em que a quantidade de recurso alimentar necessário para a sobrevivência do indivíduo e de sua respectiva prole encontra-se em abundância. Nos trópicos, estudos em ambientes florestais indicam que para aves insetívoras e frugívoras, este período corresponde à estação chuvosa, que provoca um aumento na quantidade de artrópodes e frutos (SICK 1997). No Brasil, a estação chuvosa e seca variam de acordo com a região. Por exemplo, no sul do país considera-se a estação chuvosa entre os meses de setembro a janeiro, e a estação seca entre fevereiro e agosto (SICK 1997), enquanto que na região norte (Amazônia), a estação chuvosa é considerada entre janeiro e junho, e a estação seca, de julho a dezembro (STOUFFER et al. 2013).

Com base nesta relação de recurso alimentar e reprodução, esperava-se que *F. littoralis*, por ter distribuição geográfica restrita ao sudeste do Brasil, iniciasse seu período reprodutivo em setembro, fato este não observado. Os primeiros ninhos de *F. littoralis* foram encontrados na estação seca (maio e junho) em diferentes anos. Registros isolados de ninhos encontrados fora do período esperado já foram reportados para algumas espécies no estado do Rio de Janeiro, em áreas abertas e/ou antropizadas, como por exemplo, de tico-tico (*Zonotrichia capensis*), bem-te-vi (*Pitangus sulphuratus*), tiririzinho-da-mata (*Hemitriccus orbitatus*), bemtevizinho (*Myiozetetes similis*) (SICK 1997), além do próprio formigueiro-do-litoral (*F. littoralis*, n = 1) (Soneghet 1991). Na Amazônia, Pantanal e América Central,

respectivamente, também já foram registrados ninhos na estação seca (julho a dezembro) (ONIKI e WILLIS 1982; 1983; STOUFFER et al. 2013), a saber: uma espécie do gênero *Formicivora – F. grisea* (setembro a fevereiro) (SILVA 1988), *Hypocnemoides maculicauda* (janeiro a abril) (PINHO et al. 2009) e *Z. capensis costaricences* (março a maio) (ADDIS et al. 2012).

A ocorrência de reprodução na estação considerada seca, parece ser mais comum do que se imaginava. Recentemente, Stouffer e colaboradores (2013), em uma análise das placas de incubação de diversas espécies de aves na Amazônia (Manaus), durante um estudo de 17 anos, encontrou um padrão geral de aumento da reprodução durante o curso da estação seca, seguido por uma diminuição na estação chuvosa. Este mesmo autor encontrou um predomínio de algumas famílias se reproduzindo preferencialmente em uma estação. A família Thamnophilidae, à qual pertence a espécie alvo da presente tese, se reproduziu mais frequentemente na estação seca. Muitas espécies dessa família se reproduziam durante quase ou todo o ano. É o caso do rendadinho (*Willisornis poecillinotus* – período reprodutivo de 12 meses, n = 136 capturas), do uirapuru-de-garganta-preta (*Thamnomanes ardesiacus* – período reprodutivo de 9 meses, n = 71 capturas), de seu congênere ipecuá (*T. caesius* – período reprodutivo de 10 meses, n = 61 capturas) (STOUFFER et al. 2013) e, da choca-barrada (*Thamnophilus dolliatus* – período reprodutivo de 12 meses, Trinidad e Tobago) (SNOW e SNOW 1964).

Períodos longos de nidificação, podem estar relacionados a mais de uma tentativa de reprodução, como consequência de sucesso ou insucesso da ninhada (RICKLEFS 1969). Em muitos casos, este fato é utilizado como justificativa para uma defesa anual de territórios (SICK 1997). *Formicivora littoralis* defende território anualmente (capítulo 1 da presente tese) e já foram observadas tentativas subsequentes de reprodução, como consequência de predação (n = 2).

No sudeste brasileiro, são inexistentes estudos publicados de longa duração sobre biologia reprodutiva de aves, o que não permite inferir se o padrão observado na Amazônia se repete na Mata Atlântica. Entretanto, é fato que isto pode vir a ocorrer para algumas espécies, tal como *F. littoralis* – período reprodutivo de oito meses, em três anos de estudos sistematizados, dados da presente tese).

Apesar da inexistência de estudos publicados de longa duração, estudos relacionados à descrição de ninhos e biologia reprodutiva de aves no sudeste e em países da América Central e do Sul revelaram que a maior parte das aves até o momento estudadas, apresentam período reprodutivo coincidente com a estação chuvosa, quando os recursos alimentares encontram-se

em maior abundância (ALVES 1990; CASTIGLIONI 1998; MARINI e DURÃES 2001; LOPES e MARINI 2005; MEDEIROS e MARINI 2007). É o caso das espécies da família Thamnophilidae, formigueiro-de-cabeça-negra (*F. erythronotos* – período reprodutivo: agosto a fevereiro) (MENDONÇA 2001), papa-formiga-vermelho (*F. rufa* – período reprodutivo: setembro) (WILLIS e ONIKI 1988), choca-de-asa-vermelha (*T. torquatus* – período reprodutivo: abril a junho) (ZIMMER e ISLER 2003), choca-de-chapéu-vermelho (*T. ruficapillus* – período reprodutivo: outubro a dezembro na Argentina e Brasil) (ZIMMER e ISLER 2003), choca-escura (*T. bridgesi* – período reprodutivo: junho na Costa Rica) (SKUTCH 1996), entre outros. Assim sendo, percebe-se que a busca por padrões (ou generalizações) é difícil, devendo-se, portanto, buscar por ninhos ao longo de todos os meses do ano, para que se possa determinar o período reprodutivo de uma determinada espécie. Isto porque, para uma mesma espécie, diferentes populações podem se reproduzir em épocas diferentes, como já documentado para *F. grisea*, por exemplo (HILTON e BROWN 1986).

A variação observada no período reprodutivo das espécies de Thamnophilidae nos trópicos parece não se confirmar quando o assunto é tempo despendido para a construção dos ninhos. Formicivora littoralis construiu seu ninho em 5 dias, mesmo período observado para T. bridgesi (SKUTCH 1996), Phlegopsis nigromaculata (CADENA et al. 2000) e período mínimo observado para F. erythronotos (variação de 5 a 7 dias) (MENDONÇA 2001) e Dysithamnus mentalis (variação de 5 a 6 dias) (SKUTCH 1969). Epinecrophylla fulviventris construiu seu ninho em 8 dias enquanto que Thamnistes anabatimus constrói dentre 9 a 10 dias (SKUTCH 1996), sendo este o período mais longo descrito dentre as referências encontradas. Embora sejam razoáveis as quantidades de trabalhos científicos (n = 12) que descrevem ninhos de Thamnophilidae, a maior parte destes não apresenta a informação relativa ao período de construção. Acredita-se que o comportamento discreto dos indivíduos associado ao rápido período de construção (baseando-se nos poucos trabalhos publicados sobre esse tema) dificulte o encontro de ninhos nesta fase e, consequentemente, comparações entre espécies.

A ausência de grandes variações nos períodos de construção de ninho não se confirma quando se trata do período de incubação dos ovos. O menor tempo de incubação encontrado para a família Thamnophilidae foi de 11 dias enquanto que o maior, 20 dias (tabela 8). Dentre os períodos de incubação mais longos, encontra-se o de *F. littoralis* (18 dias – dados da presente tese).

Tabela 8 - Período de incubação e localização dos respectivos estudos com espécies da família Thamnophilidae

	Período de incubação		
Espécie	(dias)	Local	Referência
Formicivora littoralis	18	Araruama, Brasil	Este estudo
		Angra dos Reis,	
Formicivora erythronotos	14-15	Brasil	Mendonça 2001
Phlegopsis		PARNA Tinigua,	
nigromaculata	12	Colômbia	Cadena et al. 2000
Taraba major	17-18	Costa Rica	Sick 1997
Sakesphorus canadensis	14	Suriname	Sick 1997
Sakesphorus bernardi	15	Equador	Skutch 1996
Thamnophilus bridgesi	14-15	Costa Rica	Skutch 1945
Thamnophilus dolliatus	14	Costa Rica	Skutch 1996
Thamnophilus punctatus	14	Panamá	Skutch 1996
Dysithamnus mentalis	15	Costa Rica	Sick 1997
Dysithamnus striaticeps	14	Costa Rica	Skutch 1996
Myrmotherula axillaris	16	Panamá	Sick 1997
Myrmotherula			
schisticolor	15	Costa Rica	Skutch 1996
Gymnopithys leucaspis	15-16	Costa Rica	Skutch 1996
Hylophylax naevioides	15-16	Costa Rica	Skutch 1996
Formicarius analis	20	Costa Rica	Skutch 1996
Cercomacra tyrannina	11	Costa Rica	Skutch 1945

Nas aves, a duração do período de incubação pode variar de 11 dias até próximo de 90 dias (RAHN e AR 1974). Essa variação encontra-se relacionada a três fatores: 1) Períodos de incubação são considerados conservados filogeneticamente e fortemente determinados por restrições intrínsecas, impostas por trade-offs fisiológicos (RAHN e AR 1974). Mas, dentre os inúmeros trade-offs aos quais uma espécie está exposta, qual parece apresentar maior influência na variação da duração dos períodos reprodutivos entre espécies? Três são as possíveis explicações para esta questão. A primeira prediz que a variação observada no período de incubação é resultado do tamanho dos ovos (SKUTCH 1945; RAHN e AR 1974). A teoria prediz que o tempo de incubação para um dado ovo com um determinado peso é inversamente proporcional à condução de vapor de água na casca do ovo. Isto significa dizer que, quanto maior é a perda de água dentro do ovo menor é o período de incubação. O peso do ovo, por sua vez, refletiria a sua condição no momento da postura. Entende-se por condição, a quantidade de recurso (RICKLEFS 1974) investido em cada indivíduo da prole. Assim, ao nascimento, dependendo da quantidade de recurso que foi empregado, os ninhegos seriam classificados em dois grupos – altriciais e precociais. Os altriciais são aqueles que nascem sem penas e que necessitam de um cuidado parental maior para termoregularem (exemplo: aves da ordem Procellariformes). A quantidade de recurso presente no ovo não é tão elevada e, seu período de incubação é, portanto, longo. Os precociais, como o próprio nome diz, refere-se àqueles que já nascem com penas, desenvolvidos e com habilidade moderada de termoregularem sozinhos (exemplo: aves da ordem Coraciiformes), possuindo uma maior quantidade de recurso no interior do ovo e, consequentemente, período de incubação curto (BOERSMA 1982). Essa explicação foi aceita por muitos anos, até serem percebidos os primeiros casos entre espécies com tamanhos similares de ovos, mas tempo de incubação bem diferentes.

A segunda explicação versa sobre a probabilidade de predação dos ovos. Um maior investimento em incubação dependeria da probabilidade de sobrevivência dos ovos e do par reprodutor em um dado hábitat. Ambientes em que a taxa de predação fosse alta, favoreceria um desenvolvimento rápido da prole e, portanto, períodos de incubação curtos (NICE 1954; CASE 1978). É o caso dos trópicos, onde a predação é tida como elevada (SKUTCH 1949). Entretanto, inversamente ao esperado, são observados longos períodos de incubação (MARTIN 2002) em aves tropicais. Portanto esta parece não ser a melhor explicação para as diferenças entre as espécies no período de incubação. A terceira explicação relaciona período de incubação com o comportamento/investimento do par reprodutor em incubar os ovos. Os embriões das aves são ectotérmicos e, dependem da presença do par reprodutor para se manterem aquecidos e se desenvolverem (WHITE e KINNEY 1974). Pares reprodutores que investem pouco no processo de incubação levam a um desenvolvimento mais lento dos ovos, devido ao esfriamento da temperatura destes (MARTIN 2002). Interessados neste processo, Martin e colaboradores (2007) acompanharam o desenvolvimento de ovos em diversos países, para 80 espécies, determinando o período de incubação e o cuidado parental no período de incubação. Além destes dados, realizaram um experimento em que compararam, em laboratório, o desenvolvimento de dois grupos de ovos de pesos similares. O primeiro grupo se desenvolveu a temperaturas mais baixas, enquanto que o segundo, desenvolveu-se em temperaturas mais quentes. Como esperado, os ovos que se encontravam em temperaturas mais elevadas se desenvolveram mais rapidamente do que aqueles colocados a temperaturas mais amenas, mostrando a importância da temperatura sobre o ovo na determinação do período de incubação das aves. A temperatura dentro de cada ninho não foi medida para F. littoralis, o que nos impede de afirmar se a temperatura poderia ser a variável que ocasiona longos períodos de incubação na espécie. Entretanto, esta terceira explicação parece plausível de ocorrer para a espécie estudada.

Ao contrário do período de incubação, considerado longo (18 dias), a fase de cuidado parental no ninho é bem curta para *F. littoralis*, com os ninhegos abandonando os ninhos com cerca de 10 dias de vida. Essa curta fase de cuidado parental/alimentação dos ninhegos no ninho, parece ser comum para as espécies da família Thamnophilidae, com exceção de *Formicarius analis* (18 dias) (tabela 9).

Tabela 9 - Duração do período de alimentação da prole e respectivo local do estudo para diversas espécies da família Thamnophilidae.

Egnácia	Período de alimentação	Local	Referência
Espécie	(dias)		
Formicivora littoralis	10	Araruama, Brasil	Presente estudo
Formicivora erythronotos	10	Angra dos Reis, Brasil	Mendonça 2001
Phlegopsis nigromaculata	13	PARNA Tinigua, Colômbia	Zimmer & Isler 2003
Taraba major	12-13	Costa Rica	Sick 1997
Sakesphorus bernardi	11	Equador	Skutch 1996
Thamnophilus bridgesi	10-11	Costa Rica	Skutch 1945
Thamnophilus dolliatus	12-13	Costa Rica	Skutch 1996
Thamnophilus punctatus	9	Panamá	Skutch 1996
Dysithamnus mentalis	9	Costa Rica	Sick 1997
Dysithamnus striaticeps	11	Costa Rica	Skutch 1996
Myrmotherula axillaris	8	Panamá	Sick 1997
Gymnopithys leucaspis	13-15	Costa Rica	Skutch 1996
Hylophylax naevioides	11-12	Costa Rica	Skutch 1996
Formicarius analis	18	Costa Rica	Skutch 1996
Microrhopias quixensis	9	Panamá	Skutch 1996
Cercomacra tyrannina	11	Costa Rica	Skutch 1996
Myrmeciza exsul	10	Costa Rica	Skutch 1996

A saída do ninho com poucos dias de vida foi observada para diversas espécies por Skutch (1945, 1996), que afirmou ser comum, em aves altriciais, os indivíduos deixarem o ninho sem mesmo saberem voar. A saída tão prematura do ninho pode ser reflexo do tipo de ninho em que os ninhegos se encontram (aberto ou fechado, por exemplo) (NILSSON 1984; MARTIN e LI 1992), da taxa de mortalidade diária à qual estão sujeitos (LACK 1968; NICE 1957) ou até mesmo da capacidade de maturação dos músculos de cada ninhego (NOL 1986). Tem sido mostrado que ninhos abertos são mais vulneráveis à predação do que ninhos fechados ou aqueles construídos em cavidades naturais, como ocos de árvores (MARTIN e LI 1992; MARTIN e CLOBERT 1996; WILLSON et al. 2001). Portanto, seria de se esperar que as espécies que reproduzem-se em ninhos abertos investissem realmente em uma ninhada

pequena, e que esta permanecesse por um período mais curto no interior do ninho (LACK 1968). O ninho de *F. littoralis* é do tipo aberto e a espécie possui um tamanho de ninhada pequeno (até dois ovos), corroborando esta hipótese.

Além do tipo/formato do ninho, uma segunda variável (2) - taxa de mortalidade diária também pode influenciar e deve ser considerada quando se analisa o tempo em que a prole permanece no ninho. A taxa de mortalidade diária (TMD) tem relação direta com o desenvolvimento dos ninhegos. Conforme se desenvolvem, as necessidades energéticas diárias aumentam (NAEF-DAENZER e KELLER 1999) e consequentemente o suprimento alimentar da prole deve ser mais constante, o que aumenta a atividade no ninho e, com isto as chances deste ser detectado por um possível predador também aumentariam, como mostrado por Redondo e Castro (1992). No caso de F. littoralis, ao se analisar os dados de mortalidade diária tanto na fase de ovos quanto na fase de ninhegos pelo método de Mayfield e modelos no programa Mark, estas não diferiram significativamente, o que indica que a probabilidade do ninho ser predado é a mesma, independentemente do tempo de exposição deste (18 ou 10 dias, respectivamente). Este resultado também já foi encontrado por outros autores (NICE 1957; LACK 1968; RICKLEFS 1969; ROPER e GOLDSTEIN 1997), inclusive para espécies cujo formato do ninho não é de cesto aberto, como por exemplo, para o lenheiro-da-serra-do-Cipó - Asthenes luizae (23 dias de incubação e 20 dias de permanência no ninho após o nascimento) (COSTA 2011). Taxas de mortalidade similares, independentemente do formato dos ninhos leva a reflexão de quais seriam os principais agentes que impulsionam a saída precocemente ou não dos ninhegos dos ninhos. Uma das principais variáveis que atuam moldando o comportamento do par reprodutor e, consequentemente, o fitness das espécies é a taxa de predação. A predação é considerado o principal agente causador de perda de ninhos nos neotrópicos (RICKLEFS 1969; MARTIN 1992, 1995; SKUTCH 1996), sendo considerada responsável por mais de 80% do insucesso reprodutivo na família Thamnophilidae (SKUTCH 1996). Formicivora littoralis apresentou um sucesso reprodutivo baixo tanto no período de incubação (36%) quanto no período de cuidado parental (54%). Não foi possível determinar todos os agentes causadores de insucesso de ninhos para F. littoralis, sendo registrada uma perda por fatores abióticos e uma por predação causada por uma ave (Guira guira). A predação pela espécie G. guira ocorreu na fase de ninhegos. Na literatura científica há o registro de predação de ninhos de F. littoralis por uma espécie de cobra (Pseustes sulphureus) na fase de incubação (OLIVEIRA 2007).

Uma terceira (3) variável que, influenciaria no tamanho do período de incubação/filhotes no ninho é proposta por Alexander Skutch (1949). Para este autor, a

predação dos ninhos aumenta em resposta a um aumento da atividade no ninho, que aumenta de acordo com o tamanho da prole – Hipótese de Skutch (SKUTCH 1949). Este pesquisador considera como aumento da atividade do ninho, o elevado número de entregas de recurso alimentar para a prole, como consequência do desenvolvimento desta, independentemente dos ninhegos manifestarem comportamentos intensivos de pedido de alimento. Os maiores predadores seriam, portanto, diurnos pois necessitariam visualizar "a maior atividade no ninho". Este mesmo autor considerou as serpentes como os principais predadores de ninhos na região neotropical (SKUTCH 1949, 1985). Embora não tenha sido documentada a predação por serpente na grade de estudos, esta é um potencial predador. Outros possíveis predadores são os gaviões carijó e carrapateiro (Rupornis magnirostris e Milvago chimachima, respectivamente), lagartos (gênero Ameiva) e os mamíferos - gambá (gênero Didelphis), gato-doméstico (Felis catus) e a espécie exótica e invasora, mico-estrela (gênero Callithrix). A predação de ninhos de aves por estes animais já foi documentada em outros estudos (LAZO e ANABALÓN 1991; THOMPSON et al. 1999; TEIXEIRA et al. 2003; ALVES et al. 2005; RODRIGUES 2005; ALVAREZ e GALETTI 2007). Espécies de aves são consideradas em alguns estudos, como os principais predadores de ninhos de outras aves (MEZQUIDA e MARONE 2002). Analisando os possíveis predadores de ninhos de F. littoralis e sua relação com a percepção da atividade do ninho, poderia-se excluir os animais noturnos e as serpentes (que não se orientam visualmente), como os principais predadores de ninhos de F. littoralis. Entretanto, estudos (como os acima citados), mostram que tanto espécies de hábitos noturnos, quanto aquelas que não se orientam visualmente (exemplo, serpentes) são reais e potenciais predadores de ninhos, o que não nos faz refutar que, a hipótese de Skutch atue sobre a população de F. littoralis estudada. O fato de haver um registro de predação de ninho de F. littoralis por serpente (OLIVEIRA 2007) indica que essa hipótese se aplica apenas parcialmente.

A alta predação de ninhos nos neotrópicos também pode ser considerada como um fator que atua sobre a seleção dos possíveis locais para a construção dos ninhos (LI e MARTIN 1991; MARTIN 1998; CLARK e SHUTLER 1999). A seleção natural deve favorecer a construção em locais que reduzam a possibilidade dos ninhos serem predados. As espécies de plantas de um dado hábitat são diferentes quanto às características como altura, presença/ausência de espinhos, densidade da folhagem e espessura dos galhos, as quais podem influenciar na visibilidade dos predadores e na acessibilidade dos ninhos (LAZO e ANABALÓN 1991; FILLIATER et al. 1994). Uma densidade elevada de plantas com características similares àquelas onde uma espécie qualquer constrói seu ninho pode levar a

uma menor probabilidade deste ninho ser predado, como resultado de um efeito de diluição (MARTIN 1993).

Formicivora littoralis não apresentou especificidade de construção do ninho em nenhuma espécie vegetal presente na restinga arbustiva fechada de pós-praia. Entretanto construiu em forquilhas finas de ramos horizontais, em espécies com pouca quantidade de espinhos (CAVALCANTI 2013), nas proximidades de trilhas e à baixa altura do solo (média de 1m de altura). A ausência de seleção pelas espécies de aves para construção de ninhos em plantas com espinhos, assim como observado para F. littoralis, foi também registrada por MEZQUIDA e MARONE (2002) que, estudando uma comunidade de aves na Argentina, encontraram que a presença de espinhos nas plantas ao redor do ninho não conferiam proteção a este, não influenciando diretamente na escolha do local de construção do ninho pelas aves. Entretanto, o inverso também já foi registrado, com espécies de aves que nidificam frequentemente em espécies vegetais com espinhos (MARES et al. 1977), devido à proteção conferida por esta estrutura mecânica.

A localização dos ninhos na proximidade com as trilhas (bordas) na área do presente estudo e sua facilidade de encontro tanto pelo pesquisador quanto por predadores deve ser interpretado com cautela. Não se pode afirmar se a presença do observador influenciou nas taxas de predação de ninhos de *F. littoralis*, embora tenha-se evitado visitar os ninhos várias vezes ao dia e até mesmo circular nas proximidades destes. O efeito de borda sobre o sucesso reprodutivo das aves é um tópico bastante contraditório. Uma revisão sobre o tema com 54 estudos, mostrou que em apenas 13 o efeito de borda mostrou-se atuante sobre o insucesso reprodutivo das aves, sendo este mais frequente em paisagens altamente fragmentadas do que no interior de florestas (LAHTI 2001).

O fato do comportamento do predador figurar como um possível fator que atue na escolha do local para nidificação das espécies de aves, nos faz refletir sobre a altura e quão disfarçado encontram-se os ninhos de *F. littoralis* já que uma grande parte foi encontrada na borda das trilhas. É reconhecido que em muitos casos, o comportamento do predador é que prediz onde o ninho será construído (LAHTI 2001; COLOMBELLI-NÉGREL e KLEINDORFER 2008). Por exemplo, os ninhos de *Aegithalos caudatus* estudados na Inglaterra, tiveram uma maior probabilidade de serem predados quando construídos nas copas das plantas do que quando próximos do solo. O principal predador de ninhos desta espécie de ave é um marsupial (HATCHWELL et al. 1999). *Formicivora littoralis* constrói seu ninho a poucos metros do solo e apresenta proteção parcial ou total por folhas de ramos da própria espécie de planta suporte. A cobertura acima do ninho é tida como importante em relação à

predação por outras espécies de aves (REMES 2005) enquanto que a cobertura na base do ninho serviria para impedir predação por parte de serpentes (KLEINDORFER et al. 2003). Martin (1988) afirma que os predadores são específicos de uma parte do hábitat, ou seja, se encontram frequentemente associados a uma estratificação vertical, que corresponde a diferentes alturas onde o ninho pode ser construído, encontrado e predado.

Além da predação, um segundo fator que pode atuar moldando o sucesso reprodutivo e a evolução das histórias de vida das espécies é o recurso alimentar. O recurso alimentar atua diretamente sobre a fecundidade e a sobrevivência do par reprodutor e sua prole (LACK 1948; NUR 1990). Isto porque o número de descendentes gerados responde à limitação de alimento presente no ambiente (LACK 1966). Alguns estudos corroboram esta idéia (EGUCHI 1993; GONZÁLEZ et al. 2006; CRAWFORD et al. 2006) enquanto muitos outros mostram que um declínio no tamanho da ninhada continua a ocorrer, independente de haver ou não suplementação de alimento no ambiente (NEWTON e MARQUISS 1984; MURPHY 1986). Para estes autores, o sucesso reprodutivo depende primariamente de características inerentes ao par reprodutor (como por exemplo, habilidade de captura de alimento, experiência, etc.) do que de fatores como abundância de alimento e predação. O elevado insucesso de ninhos de *F. littoralis*, associado ao baixo número de identificações de predadores de ninhos e ausência de quantificação de abundância de recurso alimentar nos anos de amostragem impede uma análise mais completa de como predação, localização dos ninhos e abundância de recurso podem influenciar no sucesso reprodutivo da espécie.

Em vista das elevadas taxas de predação de ninhos de *F. littoralis*, faz-se de extrema importância analisar o quão equilibrada se encontra a população de estudo. Uma maneira de se acessar esta informação é por meio da razão sexual da prole. A razão sexual é a proporção de machos e fêmeas em uma população (PIANKA 1994). Sabe-se que uma razão sexual desigual pode levar à perda de variabilidade genética (PAXTON et al. 2002), o que, no longo prazo, diminui a viabilidade das populações. No geral, a maior parte das populações exibe uma razão sexual igual ao nascimento (número idênticos de machos e de fêmeas), e isto indica que a população encontra-se em um nível de evolução estável (ALONZO e KINDSVATER 2008). Desvios na razão sexual normalmente encontram-se associados ao sistema de acasalamento vigente na espécie e à diminuição no tamanho da população (CLUTTON-BROCK 1985). *Formicivora littoralis* teve uma razão sexual da prole equilibrada, com números idênticos de nascimentos de machos e fêmeas. Este fato corrobora a teoria da alocação do sexo, a qual prediz que indivíduos que investem na produção de uma prole "idêntica" quanto ao sexo tendem a apresentar um aumento de sua aptidão pois, tanto

filhotes machos quanto fêmeas possuem o mesmo valor reprodutivo para uma população (FISHER 1930). Apesar das elevadas taxas de predação, o fato da população de *F. littoralis* estudada estar sendo abastecida com números idênticos de machos e fêmeas é positivo, principalmente para uma espécie que se encontra categorizada como "Em Perigo" de extinção.

2.6 Considerações finais

Ninho em formato de cesto aberto, construído em forquilhas horizontais utilizando-se de diversos materiais onde são postos no máximo dois ovos brancos com máculas marrons são característicos de *F. littoralis* e estão de acordo com o esperado para a família Thamnophilidae. Anualmente, mais ninhos fracassam na fase de incubação do que na fase de alimentação da prole, não havendo confirmação das causas de insucesso desses ninhos. Entretanto, sabe-se que os ninhos podem ser perdidos devido a predações por aves e répteis e insetos, além de fatores abióticos. Apesar das elevadas taxas de insucesso dos ninhos, a taxa de natalidade (medida pela razão sexual no ninho) é similar para ambos os sexos, refletindo uma população estável. Uma vez que estudos da história natural são a principal fonte de informações sobre as espécies que vivem em condições naturais, seus resultados são relevantes pois permitem a elaboração de estratégias de conservação e manejo das espécies, particularmente de espécies endêmicas e ameaçadas de extinção, como é o caso de *F. littoralis*.

3 INVESTIMENTO PARENTAL E PATERNIDADE EXTRA-PAR DE FORMICIVORA LITTORALIS (AVES: THAMNOPHILIDAE)

3.1 Introdução

Machos e fêmeas investem de maneira diferenciada na busca da maximização dos seus sucessos reprodutivos (GILL 2007). Essa diferença encontra-se relacionada a características fisiológicas, mais especificamente, à quantidade de gametas que cada sexo consegue produzir. Machos apresentam uma produção de gametas numerosa e contínua em qualquer momento de sua história de vida. Fêmeas, por sua vez, possuem uma produção de gametas considerada sazonal (produzida apenas em uma época do ano - estação reprodutiva) e custosa quando comparada a dos machos. Nas aves, o peso da produção de um único óvulo, por exemplo, pode corresponder a até 30% do peso da fêmea (LACK 1968). Por produzirem muitos gametas, machos são biologicamente capazes de fecundar um grande número de fêmeas. Já as fêmeas têm seu sucesso reprodutivo limitado ao pequeno número de gametas que produzem.

Essa notável diferença de investimento entre os sexos, analisada sob a ótica da seleção natural e sexual (os melhores indivíduos sobrevivem e se reproduzem), faz com que os machos invistam energia na sobrevivência e na produção de caracteres que os façam se destacar dos demais indivíduos do mesmo sexo na população, de modo a se tornarem mais bem sucedidos na tarefa de atrair e competir pelas fêmeas (TRIVERS 1972; SUMMERS 1992; SMITH 2014). Esse investimento pode ser evidenciado, nas aves, por meio de características como, por exemplo, tamanho do corpo, cantos elaborados (CATCHPOLE 1987), habilidade de luta (por exemplo, defesa do território) (KODRIC-BROWN e BROWN 1984), intensidade da coloração da plumagem (HILL 1990), ornamentação na cabeça ou na cauda (ANDERSSON 1982), intensidade de displays de corte (HÖGLUND e ROBERTSON 1990) e, inclusive por variabilidade no complexo imunológico (MHC) de combate à patógenos (GOHLI et al. 2013). Todas essas características variam de indivíduo para indivíduo e, são, potencialmente avaliadas pelas fêmeas. Às fêmeas, portanto, cabe a função de comparar e escolher os melhores machos da população, de modo a garantir o melhor conjunto genético a seus descendentes (TRIVERS 1972; CUNNINGHAM e RUSSEL 2000). Há exemplos que mostram que a escolha da fêmea se baseia primariamente nas 1) características morfológicas e/ou 2) comportamentais exibidas pelos machos (BORGIA 1985; BIRKHEAD e MOLLER 1992; ANDERSSON 1994; SHELDON 1994; HOI 1997; DUBUC et al. 2014). Com base nesta dinâmica de investimento energético, por parte dos machos, com a finalidade de serem selecionados e alcançar o sucesso reprodutivo, aparentemente, estes parecem ser mais afetados pela seleção sexual que as fêmeas (KREBS e DAVIES 1997).

Entretanto, não é apenas a escolha do parceiro reprodutor a única decisão a ser realizada pelas fêmeas. Decisões acerca de quanto investir em cada óvulo (por exemplo, quantidade de material proteico), qual espermatozóide irá fecundá-lo e quanto alocar em cuidado parental para cada embrião e ninhego (WAAGE 1997) são importantes e têm implicações no sistema de acasalamento vigente da espécie. As fêmeas ainda possuem a capacidade de estocar esperma em pequenos túbulos no interior de seu trato reprodutivo após cada cópula. Este esperma perde a viabilidade com o tempo (BAKST 1998), sendo, o esperma estocado por último, o mais provável de fecundar o óvulo (ALCOCK 2011).

Neste contexto de alcançar o sucesso reprodutivo evoluiu o cuidado parental entre as espécies de aves. Cuidado parental é toda ação promovida por um par reprodutor que aumenta as chances de sobrevivência dos seus descendentes e que apresenta como custo direto a dificuldade de se investir, naquele momento, em gerar mais descendentes (TRIVERS 1972). O investimento em cuidado parental foi favorecido pela seleção natural, que fixou este comportamento em diversas espécies (KREBS e DAVIES 1997). Assim como qualquer característica de investimento, a realização de cuidado parental também impõe custos. O principal destes, além do gasto energético, é investir em cuidar de uma prole que, geneticamente, não pertence ao macho do par reprodutor. Esse elevado investimento inicial na prole pode restringir este macho na busca por novas parceiras extra-par (BIRKHEAD e BIGGINS 1987; WESTNEAT et al. 1990). Um custo adicional aos machos provém da depleção de esperma quando não ocorre a fertilização dos óvulos da fêmea com a qual se encontra pareado socialmente. Portanto, como maneira de assegurar a paternidade, muitos machos, de diversas espécies, além das aves, adotam estratégias para garantir a legitimidade da paternidade tais como: a) guarda da fêmea de modo a expulsar possíveis machos concorrentes (donos de territórios vizinhos ou indivíduos flutuantes), b) copular inúmeras vezes com a fêmea ou c) injetar grande quantidade de esperma no trato reprodutivo da parceira, entre outras estratégias (revisão em MEDEIROS e ALVES 2010; KUNZ et al. 2014).

Devido às dificuldades de assegurar a paternidade, o modelo de cuidado parental ótimo prediz que machos devem diminuir ou abortar o investimento na prole em resposta a incertezas quanto à paternidade (TRIVERS 1972; KEMPENAERS et al. 1998) e investir em

fertilizações extra-par de modo a assegurar seu *fitness*. Portanto, fêmeas tendem a buscar fertilizações extra-par antes que seus ovos sejam fertilizados, enquanto que os machos podem investir nesse comportamento a qualquer momento, embora haja uma tendência de diminuição deste comportamento quando suas parceiras se encontram no período fértil, como ocorre com a andorinha *Riparia riparia*, por exemplo (KREBS e DAVIES 1997).

Fertilização extra-par é definida como a proporção de fertilizações resultante de cópulas que não sejam com o membro do par reprodutor com o qual o indivíduo encontra-se pareado em uma determinada estação reprodutiva (WESTNEAT et al. 1990; DAVIES 1991). As fertilizações extra-par geram custos e benefícios diferentes para cada sexo. Para os machos, os benefícios diretos resultam do aumento do sucesso reprodutivo sem os custos de cuidado parental associado (GIBBS et al. 1990), enquanto que para as fêmeas, os benefícios seriam genéticos (aumento da diversidade genética da prole) (PETRIE e KEMPENAERS 1998) e ecológicos (como por exemplo, oportunidade de acessar mais recurso alimentar, no território do macho extra-par) (ROWE et al. 2001). Quanto aos custos para as fêmeas, pode-se citar a perda ou redução de investimento nos cuidados com a prole por parte do macho com o qual ela se encontra pareada socialmente (BIRKHEAD e MOLLER 1992; SWEDELL et al. 2014), além de dificuldades de se encontrar um macho com qualidade superior à do parceiro com o qual se encontra pareada socialmente (GOWATY e BRIDGES 1991).

A frequência de ocorrência de fertilizações extra-par em uma espécie tem implicações diretas nos sistemas de acasalamento das aves. Para a ordem Passeriformes, que inclui 59,1% das aves do planeta (n = 9702 espécies) (HARRISON e GREENSMITH 2000), é reconhecida a ocorrência de quatro tipos de sistemas de acasalamento (EMLEN e ORING 1977), a saber: poliginia, poliandria, promiscuidade e monogamia. Na poliginia, o sexo masculino obtém vantagem, se acasalando com diversas fêmeas, enquanto as fêmeas só se acasalam com um macho. Na poliandria ocorre o inverso da poliginia, ou seja, são as fêmeas que se acasalam com diversos machos e cada macho só se acasala com uma fêmea. Já na promiscuidade, a fidelidade é inexistente para ambos os sexos e machos e fêmeas, se acasalam diversas vezes com inúmeros parceiros reprodutivos. Por fim, a monogamia consiste no sistema de acasalamento em que um macho e uma fêmea se associam de forma prolongada, geralmente exclusiva, durante uma estação reprodutiva ou por toda a vida. Entre as espécies de aves, este último sistema de acasalamento era considerado o predominante (GILL 2007), ocorrendo em mais de 93% das espécies do planeta (LACK 1968). Vale ressaltar a ocorrência de parasitismo ou quase parasitismo no período reprodutivo em algumas espécies de aves. O parasitismo de ninhos pode ser intraspecífico ou interespecífico e consiste na postura dos ovos de uma espécie ou de um indivíduo em ninhos de outras espécies ou de outros indivíduos, não ocorrendo cuidado parental do real par reprodutor que gerou aqueles ovos (PAYNE 1977). O parasitismo está presente em 1% das espécies de aves do planeta, sendo bastante frequente nas famílias Cuculidae e Icteridae, por exemplo (PAYNE 1977; YOM-TOV 2001; LYON e EADIE 2008).

A elevada frequência de ocorrência de monogamia como sistema de acasalamento nas espécies de aves é fruto de diversos estudos ecológicos que associam o comportamento do par reprodutor ao sucesso reprodutivo observado. Entretanto, com o desenvolvimento de técnicas moleculares (especialmente aquelas que utilizam marcadores de microssatélites e técnica de exclusão) (JONES 2003) têm mostrado que as aves, de maneira geral, são socialmente monogâmicas. A monogamia verdadeira (pareamento reprodutivo exclusivo) ocorreria em apenas 14% das espécies de Passeriformes e a poliginia ocorreria em cerca de 86% das espécies (GRIFFITHS et al. 2002). A tendência a uma maior incidência de fertilizações extrapar ocorre entre espécies de hábitos coloniais (BIRKHEAD e MOLLER 1992) e em aves que apresentam comportamento territorialista com elevada densidade de indivíduos em condições reprodutivas (GIBBS et al. 1990; MAYER e PASINELLI 2013). Formicivora littoralis é territorial, apresenta elevada densidade de indivíduos mesmo em fragmentos pequenos (capítulo 1 da presente tese), e apresenta cuidado parental partilhado pelos dois sexos (capítulo 2 da presente tese). O objetivo geral do presente capítulo foi avaliar a existência de paternidade extra-par em F. littoralis e associar esses resultados com o investimento parental do par reprodutor aos ninhegos.

3.2 **Objetivos**

Os objetivos específicos e as hipóteses que foram testadas no presente capítulo foram:

a) Desenvolver marcadores de microssatélites específicos para determinação de paternidade em *F. littoralis*.

b) Relacionar os dados de investimento parental efetuado por cada membro do par reprodutor com o resultado da análise molecular para confirmação ou não de ocorrência de fertilizações extra-par.

Hipótese testada: O investimento parental é similar entre ninhadas com filhotes legítimos e ilegítimos (provenientes de fertilizações extra-par).

 c) Em caso de ocorrência de fertilizações extra-par, indicar quais os pais biológicos da prole utilizando análise molecular.

Hipótese testada: Os machos extra-par possuem territórios.

d) Em caso de ocorrência de fertilizações extra-par, comparar os caracteres morfológicos dos machos envolvidos (biomassa, comprimento total, tamanho da asa e da cauda).

Hipótese testada: Machos com medidas morfométricas maiores são selecionados pelas fêmeas.

e) Confirmar, por técnica molecular, se o sistema de acasalamento predominante na espécie é a monogamia.

3.3 Material e métodos

3.3.1 Desenvolvimento de marcadores de microssatélites

Microssatélites são repetições de sequências simples ou repetições curtas, de 1 a 6 nucleotídeos de DNA, e possuem como principal característica elevadas taxas de mutação (KELKAR et al. 2010). Como consequência dessas elevadas taxas de mutação, estas sequências são altamente polimórficas onde diferentes indivíduos exibem diferenças no número de repetições dessa sequência. Essas repetições tenderiam a permanecer nas populações, devido ao fato de serem neutras à seleção (AVISE 2004) e, por serem transmitidas de maneira Mendeliana. Devido a este fato, são frequentemente utilizadas em análises de parentesco, embora já se conheça que, algumas regiões não são seletivamente neutras (HAASL e PAYSEUR 2013).

O DNA de *F. littoralis* foi extraído de amostras de sangue, de acordo com o protocolo proposto por Nicholls e colaboradores (2000) utilizando-se o método de precipitação por Acetato de Amônio (ver Anexo II da tese), em colaboração com a Dra. Denise Monnerat Nogueira, no Laboratório de Genética da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Amostras de DNA de dez indivíduos foram aleatoriamente escolhidas para serem utilizadas no desenvolvimento dos primers.

Das amostras selecionadas foram retirados entre 50-100ng de DNA genômico. Esse DNA foi colocado em solução com as enzimas de restrição *AluI*, *RsaI* e *Hpy166II* em três reações separadas (uma para cada enzima) para ser digerido. Após este procedimento, quantidades iguais de cada reação foram combinadas em um único tubo e as extremidades do DNA foram adeniladas com Klenow (exo-) e dATP. Terminada a inativação térmica, a reação foi suplementada com ATP (1mM) e adaptadores *Illumina Y* foram ligados com a enzima T4 DNA ligase.

Após digeridos, os fragmentos de DNA ligados foram enriquecidos por hibridação na posição 3' utilizando-se sequências repetidas de oligonucleotídeo biotinilato. O enriquecimento é feito de maneira a se aumentar a proporção de fragmentos que contenham microssatélites. As sequências de enriquecimento utilizadas foram: GT, TC, TTC, GTA, GTC, TCC, GTT, TTTC, GATA, TTAC, GATG, TTTG, TTTTG, TTTTC. Os fragmentos enriquecidos foram capturados por esferas magnéticas enriquecidas com estreptavidina, e os fragmentos foram amplificados com a enzima DNA *Taq* polimerase *Platinum* e um par de primers Illumina (um universal e outro com uma sequência fixada no início do primer para reconhecimento).

Produtos da reação em cadeia de polimerase (PCR) foram analisados em gel de agarose 2% e quantificados usando um fluorômetro (marca Qubit 2.0). As bibliotecas de DNA submetidas a sequenciamento e genotipagem no Cornell Life Sciences Core Laboratory Center utilizando-se um Illumina MiSeq Illumina MiSeq foram:

Tipo de Projeto: conjunto genômico Restinga Antwren

Tipo de conjunto: De novo

Opções tecnológicas para a leitura: Illumina maior que 50nt (pareado), tamanho de fragmento de no mínimo 150pb, repetições de leitura de 10.000,000 vezes, adaptador desativado de escaneamento (Illumina index reverse complement).

Opções tecnológicas avançadas: deixar o *default*, exceto na opção max gap, onde deve ser colocado o número 60.

Para escanear o arquivo no formato .fasta, resultante do sequenciamento foi utilizado o programa msatcommander 1.0.3 (disponível apenas para computadores Mac®). A leitura enumera todos os microssatélites diméricos, triméricos, tetraméricos, pentaméricos e hexaméricos, resultando em um arquivo com inúmeras sequências possíveis de primers de microssatélites para serem desenvolvidos.

Dentre todas as possíveis sequências de microssatélites resultante, foi feita uma escolha baseada em alguns critérios para se chegar nas sequencias mais polimórficas a serem utilizadas na análise de paternidade. Os critérios utilizados foram: 1) seleção de todas as sequencias cuja repetição seja de trímeros (3 bases repetitivas) ou tetrâmeros (4 bases repetitivas); 2) Dentre essas sequencias selecionadas, re-seleção, separando todas as sequências cuja repetição ocorra de 7 até 15 vezes; 3) Ordenação das sequências com base nos nucleotídeos. Melhores sequencias são aquelas em que não há repetição de pares de bases (exemplo: GATC). Por fim, procurou-se dentre as opções selecionadas a que continha sequências (forward) iguais mas com o número de vezes da região que se repete diferente, o que indica diferentes alelos para o mesmo locus (esse locus é provavelmente polimórfico) (tabela 10).

Tabela 10 - Exemplo de uma sequência polimórfica de microssatélites desenvolvido para se testar a paternidade de *Formicivora littoralis*.

Bases	Número de	Tamanho do	Sequência
nucleotídicas	Repetições	fragmento	
		(pb)	
AGAT	13	332	AAGCTGAGACTACCCAGAACAAG
AGAT	11	324	AAGCTGAGACTACCCAGAACAAG

Com base nas regras acima, foram selecionados os sete *primers* mais polimórficos e suas sequências foram enviadas a uma empresa especializada para serem confeccionados. Cada primer recebeu um nome, referente às iniciais do nome científico da espécie, um número para identificação e uma coloração (fluorescência) para que pudesse ser reconhecido nas análises de genotipagem.

3.3.2 <u>Análise molecular de paternidade associada ao acompanhamento do cuidado parental dos pares reprodutores nos ninhos</u>

Foram desenvolvidos sete conjuntos de primers de microssatélites para acessar a paternidade de *F. littoralis* e com isto, foram montados dois conjuntos de multiplexes (soma de mais de um primer em uma mesma reação). Em cada multiplex foram adicionados, na sequência, os seguintes produtos: água, PCR buffer (10x), cloreto de magnésio na concentração de 25mM, primers (sequência *forward* e *reverse*), dNTPs, a enzima *Taq* DNA polimerase (2.5U/µ1) e, por último a amostra de DNA. Dois primers não funcionaram quando colocados em sistema de multiplexes e, por isto, a sequencia acima foi montada separadamente para apenas 1 primer. A quantidade de cada produto de PCR, em cada amostra, encontra-se no anexo C. Multiplex 1 conteve os primers FoLi20, FoLi4, FoLi7 e o multiplex dois conteve os primers FoLi5 e FoLi28. A sequência de repetição de cada primer encontra-se nos resultados deste capítulo. Cada multiplex foi montado para um total de 107 amostras de DNA e submetido à amplificação de PCR.

O protocolo de preparação da reação de PCR montada seguiu o seguinte ciclo de temperatura: 1) Submeter a 94°C por 2 minutos; 2) Submeter a 94°C por 30 segundos; 3) Diminuição da temperatura para 66°C com queda até 50 °C, com queda a cada 4 ciclos de 30 segundos; 4) Aumentar a temperatura para 72 °C e permanecer nesta temperatura por 1 minuto; 5) Diminuir a temperatura para 50 °C realizando 20 ciclos para o anelamento; 6) Aumentar novamente para 72°C e permanecer nesta temperatura por 10 minutos; 7) Diminuir a temperatura para 10 °C e permanecer nesta temperatura até as amostras serem transferidas para a placa de genotipagem.

Para análise da reação dos produtos de PCR, 2 µl da reação foram aplicados em gel de agarose 2%. Em caso positivo de funcionamento (as bandas relativas ao DNA apareceram no gel) procedeu-se à genotipagem. Para a genotipagem, foi preparado um *mix* em um tubo tipo *Eppendorf* contendo LIZ standard e formamida. Para 96 amostras foram colocadas as seguintes quantidades: 10 µl de LIZ e 1190 ul de formamida. Colocou-se esse *mix* no vortex por 1 minuto, depois centrifugou-se por mais 1 minuto a 700 rcf. Em uma placa (própria para a genotipagem), aplicou-se 12 ul do *mix* em cada espaço e 1 ul do produto do PCR. Por fim, tampou-se a placa com uma folha de alumínio própria e encaminhou-se a placa para o Cornell Life Sciences Core Laboratory Center. Utilizou-se o programa ML-Relate (KALINOWSKI et al. 2006) para a análise de equilíbrio de Hardy-Weinberg, da frequência de alelos nulos e de

parentesco. Este programa apresenta como premissa para a correta análise que pelo menos um dos membros do par reprodutor seja conhecido (JONES e ARDREN 2003) e, leva em consideração a frequência de alelos nulos presentes em cada sequência molecular. Para tal, os primers cujas sequências possuem alelos nulos foram informados ao programa.

A paternidade foi atribuída basendo-se na probabilidade de exclusão após 1000 aleatorizações no programa. Considerou-se como progenitor aquele com o maior valor para o parâmetro Delta Ln(L), comparando-se aos outros candidatos.

A quantificação do investimento parental na prole foi acessada por meio do acompanhamento de cada ninho. Este acompanhamento foi realizado por dois dias consecutivos na fase de incubação, mais dois dias na fase de ninhegos, para cada ninho. As observações foram realizadas prioritariamente no início de cada uma das fases. A amostragem de cada fase totalizou 12 h de observação (6h-18h) por ninho. A cada dia amostrado, foram realizadas três sessões de observações de 2 h, intercaladas por intervalos de 2 h. As observações foram realizadas com uso de binóculos 8x42 a uma distância mínima de 4 m do ninho e com tempo de habituação de 10 min, antes do registro dos comportamentos. Esse procedimento visou minimizar a interferência do observador. Foram registradas as seguintes variáveis: 1) tempo de presença e ausência do macho e/ou da fêmea no ninho; 2) número de visitas ao ninho, para limpeza deste, realizado pelo macho e/ou fêmea; e, 3) número de visitas alimentares realizado pelo macho e/ou fêmea aos ninhegos. Ninhos predados, onde não foi possível contabilizar dois dias de acompanhamento, apesar de mostrados no gráfico, foram excluídos da análise.

3.3.3 Comparação entre os machos da população

Em caso de ocorrência de fertilizações extra-par, buscou-se determinar qual macho fertilizou a fêmea, dentro do conjunto de machos capturados da população (n = 51). Identificado o macho ou possível macho, comparou-se as medidas morfométricas entre esses indivíduos (macho do par social e macho com contribuição genética) por meio de teste t independente. As medidas comparadas foram tarso, peso, comprimento total, asa e cauda, medidas escolhidas por refletirem tamanho do corpo. Assim como a morfometria, também foi comparado o tamanho dos território entre os machos envolvidos, de maneira a se buscar os

possíveis atributos selecionados pela fêmea. Todos os machos com territórios delimitados possuíram amostras de sangue coletadas para as análises genéticas.

3.4 **Resultados**

3.4.1 Desenvolvimento dos primers

Foi desenvolvida uma biblioteca com mais de 10.000 sequências genéticas de *F. littoralis*. Entretanto, grande parte desta biblioteca não condizia com as regras de escolha de primers polimórficos (explicitada nos métodos) para análises de paternidade. Isso não significa que essas outras possíveis sequencias não possam ser testadas e utilizadas para se responder futuras questões. Entretanto, baseados na seleção imposta, 150 sequências foram consideradas possivelmente polimórficas. Dentre essas 150 possibilidades, selecionou-se (sem regras) 32 sequências de primers de microssatélites que foram produzidos. Os 32 primers foram testados em 10 indivíduos e, com base no aparecimento ou não de bandas no gel, e na posição em que se encontravam neste, foram escolhidos para receberem a fluorescência. Portanto, sete sequências receberam fluorescência. As informações acerca do nome do locus, quantidade de bases e tamanho do fragmento de DNA, sequencia, cor da fluorescência e equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) se encontram na tabela 13.

Tabela 11 - Informações relativas aos primers de microssatélites marcados com fluorescência desenvolvidos a partir de DNA de *Formicivora littoralis* desenvolvidos para análise de parentesco. FoLi = *Formicivora littoralis*, F = sequência *forward*, R = sequencia *reverse*, p = probabilidade, S = sim e N = não (continua).

Locus	Quantidade de	Sequencia dos primers	Corante	EHW
	bases/tamanho do			
	fragmento			
FoLi 4	F:43 bases	F:5' CGAGTTTTCCCAGTCACGACTAGGTCTCATAGGTAGGTAG	FAM	P =
	R: 29 bases	R: 5' GTTTCTAGTCTGAGTGTCATATTCCCAGG 3'	azul	0.033N
	entre 250 – 300pb			
FoLi 5	F:43 bases	F: 5' CGAGTTTTCCCAGTCACGACTGCAGAATACCTCCCTGTACTAC 3'	VIC	P < 0.001
	R: 29 bases	R: 5' GTTTCTCAAATTGCATGACTCGATGTGTG 3'	verde	N
	entre 180 - 240pb			
FoLi 7	F:43 bases	F: 5' CGAGTTTTCCCAGTCACGACTATGGCAAGTTCCTTCTTTGACC 3'	PET	P < 0.001
	R: 29 bases	R: 5' GTTTCTGCAGCCCAATAAACACCTCTATG 3'	vermelho	N
	entre 230 – 300pb			
FoLi 10	F:44 bases	F: 5' CGAGTTTTCCCAGTCACGACTCCCATAACTCACTAGAATCAGTG	NED	P < 0.001
	R: 29 bases	3'	amarelo	N
	entre 290 – 350pb	R: 5' GTTTCTCTCAAACCAAGACAGCTATGCAG 3'		
FoLi 14	F:44 bases	F: 5' CGAGTTTTCCCAGTCACGACACCTTGTGTTAGCATAAATGAGTC	VIC	p = 0.26
	R: 29 bases	3'	verde	S
	entre 220 – 280pb	R: 5'GTTTCTCACTTAGTGTCACTCCAAGCTAC 3'		

(conclusão)

Locus	Quantidade de	Sequencia dos primers	Corante	EHW
	bases/tamanho do			
	fragmento			
FoLi 20	F:43 bases entre	F: 5' CGAGTTTTCCCAGTCACGACGAACTGAATCTCTGCCCATTTCC 3'	NED	P < 0.001
	215 – 300pb	R: 5' GTTTCTAGAGGGAGAGTCAGAGATTTCAC 3'	amarelo	N
	R: 29 bases			
FoLi 28	F:43 bases entre	F: 5' CGAGTTTTCCCAGTCACGACCACCTGGACGCTTCTAATAAAGG 3'	PET	P < 0.001
	150 – 200pb	R: 5' GTTTCTGGGTGAGTGGGTAGATGGATAG 3'	vermelho	N
	R: 28 bases			

3.4.2 <u>Análises de paternidade e de comportamento</u>

Os *primers* desenvolvidos foram utilizados para análise de nove "famílias" (tabela 14). Dentre essas nove "famílias", em duas não se conseguiu capturar a fêmea, o que tornou o acesso à paternidade um pouco mais complicado. As famílias foram compostas pelo par reprodutor e por dois ninhegos. Em apenas dois casos, as famílias foram compostas por apenas um ninhego. Por coincidência, foram exatamente essas duas famílias cujas fêmeas não se conseguiu capturar.

Tabela 12 - Famílias de *Formicivora littoralis*, respectivos números das anilhas, idade (N = ninhego, M = adulto macho e F = adulto fêmea) e código das amostras de DNA (Fl) (continua).

Família	Anilha metálica	Idade	Amostra de DNA
1	E74493	N	Fl87
	E74498	M	Fl10
2	E74500	N	Fl29
	E80301	N	Fl3
	E80302	F	Fl71
	E74420	M	Fl35
3	E80303	N	Fl75
	E74474	M	Fl62
4	E80304	N	Fl45
	E80305	N	Fl44
	E74441	M	Fl33
	E83267	F	F193
5	E80342	N	Fl56
	E80343	N	Fl54
	E80339	M	Fl29
	E80302	F	Fl71
6	E80364	N	Fl20
	E80365	N	Fl21
	E80358	M	Fl9

Família	Anilha metálica	Idade	Amostra de DNA
	E80361	F	F130
7	E80386	N	Fl61
	E80387	N	Fl58
	E59739	F	Fl53
	E80381	M	Fl5
8	E127133	N	F181
	E127141	N	Fl91
	E127140	M	Fl101
	E80309	F	Fl5
9	E127142	N	Fl96
	E127143	N	F194
	E127136	M	F184
	E80361	F	F130

Antes da realização do teste de paternidade, cada alelo presente em cada lócus foi testado quanto à sua frequência na população amostrada, heterozigosidade observada e esperada, quantidade média de informação polimórfica e presença de alelos nulos. Todos os alelos são altamente polimórficos, apresentam heterozigosidade elevada (com exceção de três lócus cuja heterozigosidade observada foi menor que 50%), elevada quantidade de alelos nulos (tabela 15) e, com exceção do lócus FoLi 10 e FoLi14, todos os outros não se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg. O programa Cervus, escolhido a princípio para a realização da análise de paternidade, recomenda que, em caso de presença de alelos nulos com frequência maior que 0,05 que, se utilize outro programa para a realização das análises de parentesco que leve em consideração os fatores intrínsecos relativos à presença de alelos nulos. A elevada frequência de alelos nulos pode ser reflexo de erros de amplificação durante PCR (exemplificado pela qualidade do DNA) (GAGNEUX et al. 1997), efeito de Wahlund ou de presença de lóci ligadas ao sexo ou de endocruzamento entre os indivíduos (CHAKRABORTY et al. 1992). De maneira a não se excluir nenhum dos primers desenvolvidos, as análises de paternidade foram, portanto, realizadas no programa ML-Relate (KALINOWSKI et al. 2006).

Tabela 13 - Resultado do teste de frequência dos alelos presentes em cada lócus de *Formicivora littoralis* e respectivos números de alelos amplificados (k), heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He), média de informação polimórfica (PIC) e frequência de alelos nulos (F nulos).

Locus	k	Но	Не	PIC	F nulos
FoLi4	11	0.58	0.75	0.71	+ 0.22
FoLi5	13	0.43	0.80	0.77	+ 0.57
FoLi7	16	0.83	0.89	0.88	+ 0.12
FoLi10	19	0.48	0.74	0.71	+ 0.03
FoLi14	4	0.15	0.60	0.54	+ 0.001
FoLi20	14	0.80	0.83	0.80	+ 0.30
FoLi28	14	0.84	0.87	0.86	+ 0.057

Utilizando-se os sete lócis desenvolvidos, o sucesso de avaliação da paternidade foi de 100% quando a informação da maternidade foi fornecida ao programa e de 50% quando essa informação não se encontrava presente (caso de duas "famílias"). Dentre nove ninhos amostrados, oito deles contiveram pelo menos um ninhego proveniente de fertilização extrapar. Um total de 81.2% dos ninhegos (13 em 16) não correspondeu à prole biológica do macho do par reprodutor que realizou o cuidado parental, e que se encontrava pareado socialmente com a fêmea (mãe biológica do ninhego). Nos dois casos em que a mãe não era conhecida, foi calculada também análise de maternidade e, a mãe mais provável (95% de confiança) foi assumida de ser a mãe biológica do ninhego (tabela 16).

Tabela 14 - Resultado da análise de paternidade e maternidade de *Formicivora littoralis* e respectivo sucesso reprodutivo do par reprodutor (continua)

Família	Ninhego	Pai social	Pai biológico	Mãe biológica	Sucesso
					reprodutivo?
1	Fl 87	Fl 10	Fl 10	Fl 16	Sim
2	Fl 29	Fl 35	Fl35	Fl 71	Sim
	Fl 3	Fl 35	Fl 10	Fl 71	Sim
3	Fl 75	Fl 62	F184	Fl 34	Sim
4	Fl 45	Fl 33	Fl33	Fl 93	Sim

Família	Ninhego	Pai social	Pai biológico	Mãe biológica	Sucesso
					reprodutivo?
	Fl 44	Fl 33	Fl105	Fl 93	Sim
5	Fl 56	Fl 29	Fl 10	Fl 71	Sim
	Fl 54	Fl 29	Nenhum dos	Fl 71	Sim
			amostrados		
6	Fl 20	Fl 9	Fl35	Fl 30	Sim
	Fl 21	Fl 9	Nenhum dos	Fl 30	Sim
			amostrados		
7	Fl 61	Fl 5	Fl31	Fl 53	Sim
	Fl 58	Fl 5	F140	Fl 53	Sim
8	Fl 81	Fl 101	F185	Fl 17	Sim
	Fl 91	Fl 101	Fl105	Fl 17	Sim
9	Fl 96	Fl 84	F123	Fl 30	Não
	Fl 94	Fl 84	Nenhum dos	Fl 30	Não
			amostrados		

O macho social foi confirmado ser o pai genético de três ninhegos de três ninhos (um de cada família – 1, 2 e 4). Dentre o grupo de machos amostrados (n = 51), o macho Fl 10 e Fl 35 foi considerado o pai genético de três e dois ninhegos, respectivamente (tabela 16), embora tenham realizado cuidado parental para apenas um deles (família 1 e família 2, respectivamente) e, obteve sucesso reprodutivo, com o ninhego sendo observado dentro do território do pai social e genético. As outras famílias cujo pai genético foi o indivíduo Fl 10 e Fl35 também obtiveram sucesso reprodutivo. O indivíduo Fl105 foi considerado pai genético de dois ninhegos de duas famílias diferentes e, ao contrário dos indivíduos Fl10 e Fl35 não realizou cuidado parental de nenhum deles (tabela 16). Houve apenas um caso de insucesso reprodutivo (condições abióticas desfavoráveis), neste caso, o pai social não era o pai genético (família 9). Houve outros casos de predação de ninhegos mas, o sangue destes não havia sido coletado e, por isso, não constam neste capítulo 3 da tese.

Vale ressaltar que foram encontrados ninhos de uma mesma fêmea em estações reprodutivas subsequentes (fêmea Fl 30 e Fl 71) e, estas não apresentaram fidelidade ao macho social. Entretanto, a fêmea Fl 71 apresentou certa fidelidade ao macho genético, sendo

este, responsável pela paternidade de pelo menos um de seus ninhegos em cada estação reprodutiva. O macho em questão "selecionado" por esta fêmea foi o mesmo indivíduo: Fl 10.

Machos e fêmeas se revezaram na incubação e no cuidado da prole (resultado do capítulo 2 da tese). Todos os nove ninhos, para cujos ninhegos foi obtida a genotipagem e tiveram a paternidade determinada foram acompanhados por 48h na fase de alimentação da prole mas nem todos estes foram acompanhados na fase de incubação pois foram encontrados já na fase de ninhegos. Na fase de incubação foram acompanhados 22 ninhos. Na fase de incubação não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre machos e fêmeas no tempo de permanência incubando os ovos ($\chi^2 = 1.17$; $\chi^2_t = 32.67$; GL = 21), aceitando-se portanto, a hipótese nula (figura 25).

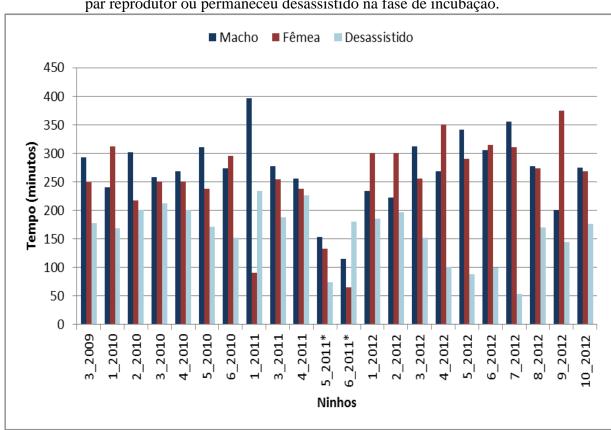


Figura 25 - Tempo em minutos em que cada ninho de *Formicivora littoralis* foi assistido pelo par reprodutor ou permaneceu desassistido na fase de incubação.

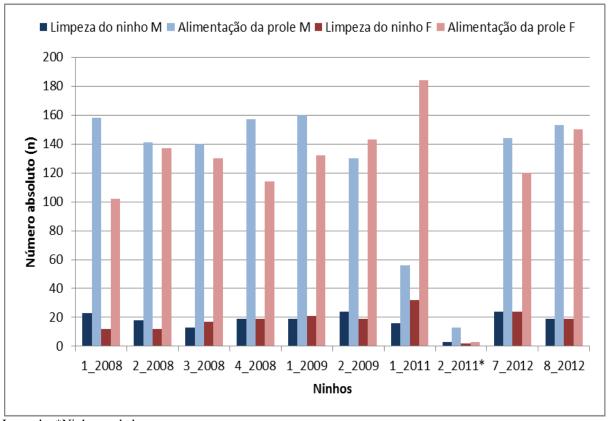
Legenda: 3_2009 significa ninho número 3 do ano de 2009, * ninhos predados.

Fonte: CHAVES, 2014.

Assim como na fase de incubação, na fase de alimentação da prole, machos e fêmeas também dividiram os cuidados com a prole. A figura 26 mostra, em números absolutos, a quantidade de vezes em que machos e fêmeas assistiram os ninhegos realizando limpeza do ninho e trazendo recurso alimentar. Os resultados indicam, assim como na fase de incubação,

que não houve diferença significativa entre os sexos em nenhuma dessas atividades desempenhadas (limpeza do ninho: $\chi^2 = 0.012$; $\chi^2_t = 15.50$; GL = 8 e alimentação da prole: $\chi^2 = 0.044$; $\chi^2_t = 15.50$; GL = 8).

Figura 26 - Comparação entre a quantidade de vezes em que machos e fêmeas de *Formicivora littoralis* assistiram os ninhegos nas tarefas de limpeza do ninho e alimentação.



Legenda: *Ninho predado. Fonte: CHAVES, 2014.

3.4.3 Comparação entre machos quanto à morfometria e tamanhos de territórios

Os indivíduos machos envolvidos na reprodução (par social da fêmea e pai genético dos ninhegos) não apresentam diferenças significativas quanto ao conjunto de suas medidas morfométricas (t = -0.19; p = 0.84). Já com relação ao tamanho dos territórios e a paternidade dos ninhegos, a paternidade foi comprovada de ser de indivíduos territoriais da área de estudo (no caso de 8 ninhegos) e de indivíduos aparentemente flutuantes (também em oito ninhegos). Comparando-se os dados de tamanho (médio) do território do indivíduo que teve contribuição

genética com o do indivíduo pareado socialmente não houve diferença significativa (t = 1.09; p = 0.30).

3.5 Discussão

Todos os ninhos de Formicivora littoralis, exceto um, apresentaram pelo menos um ninhego proveniente de fertilização extra-par (FEP). A elevada proporção de ninhegos (87,5% de 16 ninhegos) provenientes de FEP é a maior registrada para uma ave neotropical. Anteriormente ao presente estudo, o maior valor havia sido encontrado em outro estudo no Brasil com tiziu (Volatinia jacarina – 50% de 20 ninhegos) (CARVALHO et al. 2006). Valores elevados de FEP vêm sendo registrados na mesma velocidade que se desenvolvem novas técnicas moleculares. As elevadas taxas de FEP são decorrentes de altas taxas de mutação nos genótipos dos indivíduos analisados. Estudos recentes têm mostrado que estas taxas de mutação são diferentes para cada sexo, estando, no geral, associadas principalmente à herança ligada ao sexo masculino (HERED 2004). Este fato implica em interpretações cautelosas quanto à análises de exclusão de parentesco. De modo a se evitar errôneas interpretações deve-se observar se o número de heterozigotos registrados foi menor do que o esperado pelas proporções do EHW. Em caso positivo, deve-se comparar a frequência de incompatibilidade genotípica com a distribuição de Poisson (WESTNEAT 1990) ou se utilizar de novos métodos (fórmulas) estatísticos, como os desenvolvidos por Hered (2004). Os desvios observados no EHW podem ter sido ocasionados pela presença de alelos nulos. Os alelos nulos são alelos que não foram amplificados na reação de PCR e, portanto, não são detectados quando os indivíduos são genotipados. Como consequência, tem-se a detecção errônea de uma maior quantidade de genótipos homozigóticos (WHITE et al. 1999) na população.

O elevado número de FEP registrado nos direciona a reconsiderar a afirmação de que a monogamia é o sistema de acasalamento predominante nas aves, pois para vários casos não se confirma (diversos exemplos em ALCOCK et al. 2011); no caso, a monogamia social seria um sistema frequente, inclusive para *F. littoralis*. Na tentativa de se compreender as causas de elevadas frequências de FEP, Stutchbury e Morton (1995) sugerem que essa elevada taxa é fruto de uma sincronia reprodutiva temporal e espacial de fêmeas (ou seja, a reprodução em um mesmo espaço físico e período do ano). Para estes autores, a sincronia reprodutiva das

fêmeas facilitaria uma comparação entre as características morfológicas e comportamentais dos machos, partindo-se do pressuposto que todos estariam realizando comportamentos de exibição (displays) (SLAGSVOLD e LIFJELD 1997) com o intuito de serem selecionados pelas fêmeas. Essa explicação foi denominada Hipótese da Sincronia Reprodutiva (HSR), que ainda informa que as fêmeas realizam a "escolha" adentrando os territórios de diversos machos, e que os níveis de FEP respondem à latitude onde a população estudada se encontra. Isso significa que as taxas de FEP diminuiriam, alcançando níveis mínimos na região tropical (STUTCHBURY E MORTON 1995).

Não se pode afirmar que *F. littoralis* se reproduza de maneira sincrônica, pois, apesar de não ter sido calculado o índice de sincronia reprodutiva (por conta da imprecisão de alguns dados necessários para o correto cálculo), a espécie apresenta uma estação reprodutiva longa (maio a dezembro – resultados do 2º capítulo da presente tese) o que permitiria às fêmeas e aos machos realizarem mais de uma tentativa reprodutiva. Além disso, não foi registrado um baixo valor de FEP como prediz a hipótese. Resultado semelhante também foi encontrado para diversos outros estudos, que refutam esta hipótese como explicativa para as elevadas taxas de FEP (exemplos em KEMPENAERS 1997; PERREAULT et al. 1997; WESTNEAT e GRAY 1998; ARLT et al. 2004; KRUEGER et al. 2008).

Outras quatro possíveis explicações para as elevadas taxas de FEP são, de acordo com Macedo e colaboradores (2008): 1) Hipótese de formação rápida de pares reprodutores; 2) Hipótese da Densidade reprodutiva; 3) Hipótese da mortalidade do adulto e 4) Hipótese da Restrição da Fêmea. A primeira hipótese - Formação rápida de pares reprodutores - prediz que as espécies apresentam elevados valores de FEP em resposta à rápida formação dos pares, que restringiria a capacidade das fêmeas de acessar a qualidade dos machos (WESTNEAT et al. 1990; WEATHERHEAD e MORTON 1998). Essa hipótese tem sido utilizada para explicar as elevadas taxas de FEP em espécies migratórias. Formicivora littoralis não é uma espécie migratória e, aparentemente, as fêmeas parecem conseguir acessar a qualidade dos machos, pois um mesmo macho foi escolhido por mais de uma fêmea em uma mesma estação reprodutiva para cópula (Fêmeas Fl 30 e Fl 71 copularam com o macho Fl 10). Os mecanismos que embasam esta escolha, ou seja, as características levadas em consideração pela fêmea para a seleção do macho são desconhecidas. Não se pode afirmar se as fêmeas visitam vários territórios, mas sabe-se que o tamanho deste não é o indicativo, pois não foram encontrados diferenças significativas entre os tamanhos dos territórios do macho do par reprodutor que proveu o cuidado parental e do macho que teve contribuição genética. Também não são as características morfológicas dos machos aferidas no presente estudo a resposta a esta questão. Então, quais seriam essas características? Estudos futuros envolvendo canto, plumagem e variabilidade genética, especialmente no sistema imunológico podem, talvez, elucidar esta questão e confirmar a hipótese dos bons genes como atuante na seleção dos machos pelas fêmeas. Exemplos de que fêmeas selecionam características nos machos já foi mostrada em alguns estudos (JOHNSEN et al. 2000; WHITTINGHAM e DUNN 2005; ALBRECHT et al. 2009; BROUWER et al. 2010; GOHLI et al. 2013).

A segunda hipótese proposta como explicativa para elevadas taxas de FEP é a hipótese da densidade reprodutiva. Esta hipótese prediz que, uma elevada densidade de indivíduos se reproduzindo afeta as taxas de encontro entre potenciais parceiros extra-par (WESTNEAT e SHERMAN 1997; MAYER e PASINELLE 2013). A qualidade dos indivíduos machos e seus territórios, além da capacidade de guarda da fêmea pelo sexo oposto, são duas possíveis variáveis sugeridas de atuar em conjunto com o efeito da densidade sobre as FEP (SAINO et al. 1999). Como mencionado no parágrafo anterior, a morfometria dos indivíduos machos e o tamanho dos respectivos territórios não parecem direcionar a escolha da fêmea. Entretanto, a guarda da fêmea é um comportamento que pode ocorrer na espécie F. littoralis. Os comportamentos de guarda de paternidade dentre os vertebrados são inúmeros e, nas aves, pode-se destacar o acompanhamento próximo da fêmea (ANDERSSON 1994) forrageando junto a esta e emitindo cantos, na espera que esta responda (MOLLER 1991), expulsão de outros indivíduos machos por meio de perseguições agressivas, bicadas no trato reprodutivo da fêmea, forçando-a a expelir o esperma de outro possível macho, e cópulas consecutivas (o que é caso para Prunella modularis, DAVIES e HOUSTON 1986). Os machos de F. littoralis parecem guardar suas parceiras, pois apesar de não quantificada a guarda do par, os membros do par reprodutor foram frequentemente observados forrageando próximos entre si (CHAVES 2010) e emitindo chamados (F.G Chaves, obs. pessoal). A hipótese da densidade reprodutiva não pode ser descartada como atuante na determinação das elevadas taxas de FEP na espécie.

A terceira hipótese explicativa faz menção à mortalidade dos adultos e prediz que as espécies que apresentam uma elevada mortalidade dos indivíduos adultos apresentariam maiores taxas de FEP. Não há estudos sistematizados sobre longevidade, mortalidade, capturas e recapturas de *F. littoralis*, embora grande parte dos machos donos de territórios pode ainda ser observada na grade de estudo (F.G Chaves, obs. pessoal). Além disso, estudos indicam que a longevidade é alta nos trópicos (SKUTCH 1985; KARR 1990). Portanto, de todas as hipóteses, esta parece ser a menos provável de ser a responsável pelas altas taxas de FEP para a espécie estudada.

A última hipótese, citada em Macedo e colaboradores (2008) como explicativa de elevadas taxas de FEP é chamada de hipótese da restrição da fêmea (GOWATY 1996). Esta hipótese prediz que as fêmeas de alta qualidade estariam aptas a resistir aos esforços/investidas dos machos que buscam FEP. A hipótese ainda prediz que a qualidade do território onde a fêmea se encontra e a qualidade das fêmeas irão determinar os níveis de FEP. Fêmeas de alta qualidade que forrageiam em territórios de alta qualidade estariam menos aptas a realizarem FEP (teriam mais energia para resistirem às investidas do sexo oposto e selecionarem aqueles que consideram de melhor qualidade). Os territórios de machos de F. littoralis variam no tamanho embora a qualidade de cada um (quantidade de recurso alimentar, por exemplo) não tenha sido medida. Um ano antes do início da coleta de dados, a abundância de recurso alimentar (artrópodes de solo) foi mensurada na área e a abundância aumentou da estação não-reprodutiva para a reprodutiva (CHAVES 2010). Entretanto, não foram feitas análises para se averiguar, por exemplo, se este recurso encontra-se ou não distribuído em manchas no hábitat da espécie. Apesar disto, acredita-se que esta hipótese pode ser explicativa das FEP em F. littoralis, pois se o território não fosse um recurso importante, este não seria defendido por cada indivíduo macho.

Esta última hipótese também é aceita por outros autores (WEATHERHEAD e MORTON 1998) que ainda informam que, se a espécie é socialmente monogâmica, um número reduzido de fêmeas teria a possibilidade de se acasalar com machos de boa qualidade. O restante da população de fêmeas estaria, portanto, pareada com machos de baixa qualidade e, buscariam, dessa forma, FEP. Keyser e Hill (2000) realizaram um exemplo de estudo que corrobora essa idéia. Esses autores estudaram a coloração das penas de uma população da espécie *Guiraca caerulea* no estado do Alabama (Estados Unidos) e, encontraram diferentes tonalidades de cor perceptíveis para as fêmeas. Os machos cuja tonalidade da plumagem refletia mais intensamente o azul eram maiores, conseguiam manter um grande território, e alimentavam mais frequentemente a prole, sendo, portanto, preferidos pelas fêmeas.

Os machos que foram pais legítimos de ninhegos provenientes de copulação extra-par possuiam territórios ou foram indivíduos aparentemente flutuantes. Indivíduos flutuantes são, em geral, considerados excluídos de possibilidade de reprodução devido ao fato de não adquirirem territórios em um dado ano e, consequentemente não estarem aptos a serem selecionados pelas fêmeas (SHUTLER e WEATHERHEAD 1992) ou, são indivíduos que decidem renunciar à reprodução em um dado ano mesmo existindo oportunidades para esta (KOKKO e SUTHERLAND 1998). Cópulas de fêmeas com machos flutuantes não trariam

diretamente benefícios para as fêmeas. por não haver investimento desses machos no cuidado parental. Então qual sera a vantagem das fêmaas copularem com esses machoss?

Um estudo com a espécie de andorinha Tachycineta leucorrhoa mostrou que, assim como F. littoralis, grande parte das cópulas foram realizadas com indivíduos flutuantes (KEMPENAERS et al. 2001) e, associaram este grande número de cópulas com flutuantes às baixas frequências de ectoparasitos que estes apresentam, quando comparados com os machos sociais. Para os autores, o baixo número de ectoparasitos na plumagem refletiriam que estes se encontravam em melhores condições e portanto, melhores genes. Associa-se a isto, o fato de que macho pareado socialmente com a fêmea e o macho flutuante apresentam diferentes demandas de energia, associadas ao papel de cada um na estação reprodutiva. Defender um território, um ninho e uma parceira parece ser mais custoso energeticamente do que se tornar um flutuante. Portanto, indivíduos flutuantes também tenderiam a acumular mais gordura ou seja, serem mais pesados do que os machos que possuem territórios e, portanto, esta poderia ser uma característica a ser selecionada pelas fêmeas. No presente estudo, indivíduos machos que possuem território e indivíduos flutuantes apresentaram peso similar, o que exclui a possibilidade do maior peso atuar na seleção das fêmeas por machos flutuantes. Entretanto não se pode excluir a questão das parasitoses como, característica a ser usada como seletiva pelas fêmeas de F. littoralis.

O cuidado bi-parental é comum entre Passeriformes (SKUTCH 1976) e, de acordo com Cockburn (2006), ocorre em 75% das espécies (n = 5143). Inclusive, este comportamento também está presente em espécies da família Thamnophilidae, como na espécie congenérica F. erythronotos (MENDONÇA 2001). A evolução da divisão do cuidado parental é favorecida quando a sobrevivência da prole não é possível sem a ajuda dos dois membros do par (LACK 1968; MAYNARD-SMITH 1977). Este comportamento de divisão do cuidado parental emergiria quando 1) a certeza de parentesco é elevada para ambos os sexos, 2) há um aumento do sucesso reprodutivo tanto do macho quanto da fêmea ou 3) quando as chances de se realizar outras cópulas extra-par são limitadas (BRUTON 1988 apud MEDEIROS e ALVES 2010; THOMSON et al. 2014). Formicivora littoralis divide os cuidados da prole, sem diferença estatisticamente significativa entre os sexos. A certeza de parentesco foi demonstrada apenas para fêmeas, e não para os machos que contribuem com o cuidado parental (monogamia social). Não se pode afirmar que a divisão dos cuidados com a prole contribua para o sucesso reprodutivo da espécie pois a predação foi elevada, principalmente na fase de incubação (resultados do capítulo 2). Para uma maior certeza quanto a isto, necessita-se sub-dividir os períodos observados (por exemplo, em início, meio e

fim do período de incubação, fazendo-se o mesmo para a fase de ninhegos) e, analisar se há uma mudança de comportamento, conforme o avanço do estágio do ninho. Não se pode afirmar que as chances de se realizar novas cópulas sejam baixas ou limitadas já que o período reprodutivo é longo. A população aparentemente encontra-se em equilíbrio, conforme indicado pelo resultado da razão sexual no ninho ser idêntica tanto para machos quanto para fêmeas (resultados do capítulo 2). Entretanto, uma avaliação mais aprofundada, como análises de variabilidade genética, é necessária, de modo a se constatar se a população encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg (desvios do equilíbrio podem indicar endogamia).

Do ponto de vista ecológico, Wilson (1975) cita que as condições ecológicas que favorecem cuidado parental são a existência de hábitats saturados de indivíduos que, "obrigariam" os indivíduos a se tornarem eficientes na exploração de recursos e pressão de predação. Apesar das altas taxas de predação, a densidade da espécie na área estudada mostrou-se elevada (resultados no capítulo 1). Portanto, esses fatores podem favorecer a permanência deste comportamento na espécie, mesmo com as elevadas taxas de FEP. De fato, embora a teoria preconize que com alta frequência de FEP os machos geralmente não investiriam na prole (MAYNARD-SMITH 1978) ou tenderiam a diminuir este investimento (TRIVERS 1972), este fato não foi observado. Em outras espécies com monogamia social e cuidado biparental, com ocorrência de cópulas extra-par, como em Riparia riparia, que se reproduzem em colônias muitas vezes densas, não foi encontrada diferença significativa entre o cuidado parental de pares reprodutores com ou sem a presença de ninhegos provenientes de fertilizações extra-par (ALVES 1993). As razões ecológicas e evolutivas do porquê machos sociais investem na realização do cuidado parental de uma prole ilegítima são ainda pouco conhecidas mas, acredita-se que as pressões ambientais (tais como, taxas de predação elevadas) associadas à pressões populacionais (diferenças no número de fêmeas aptas a se reproduzir anualmente) possam atuar moldando a permanência deste comportamento em F. littoralis.

3.6 **Considerações finais**

Formicivora littoralis apresenta cuidado bi-parental da prole, sem diferenças entre os sexos na proporção do investimento, apesar deste comportamento não ser o esperado quando as taxas de FEP são elevadas, como as encontradas para esta espécie no presente estudo.

Atribui-se a fixação deste comportamento às condições ambientais em que a população estudada se encontra: alta densidade de indivíduos em uma área com recursos limitados, além de elevadas taxas de predação. Condições comportamentais que favoreceriam a fixação deste comportamento de divisão de cuidados junto à prole não se confirmam para a espécie. As taxas de FEP encontradas no presente estudo para *F. littoralis* são as mais elevadas dentre os estudos já realizados nos neotrópicos. A obtenção desse resultado só foi possível devido ao desenvolvimento de marcadores moleculares específicos. No caso de *F. littoralis*, os resultados genéticos são mais informativos sobre o sistema de acasalamento do que as observações comportamentais.

CONSIDERAÇÕES GERAIS FINAIS

Os resultados do presente estudo fornecem informações básicas inéditas sobre a história de vida, territorialidade, reprodução e sistema de acasalamento de F. littoralis. Esta espécie foi altamente territorial e defendeu territórios ao longo de todo o ano. Esses territórios foram pequenos na estação não-reprodutiva, sendo ainda menores na estação reprodutiva (conforme esperado, com base na literatura). Os tamanhos dos territórios parecem refletir o número de interações com indivíduos vizinhos; ou seja, territórios com um grande número de vizinhos nas proximidades são menores do que aqueles com poucos vizinhos (um ou dois). O peso/tamanho do corpo do indivíduo, ao contrário do número de vizinhos, não teve relação com o tamanho do território. A densidade da espécie é localmente elevada, o que favorece a ocorrência de constantes interações entre indivíduos vizinhos detentores de territórios, e até com os indivíduos que não possuem territórios (indivíduos flutuantes). A interação com indivíduos flutuantes é difícil de medir, pois tentativas de se obter um território podem ocorrer a qualquer momento. No interior dos territórios estabilizados foram encontrados os ninhos da espécie, com o formato de cesto aberto e com postura de no máximo dois ovos (brancos com pequenas máculas marrons que, formam um anel no centro do ovo ou no seu pólo rômbico). Os ninhos foram encontrados a diferentes alturas, desde próximo ao solo até a copa de arbustos e árvores. Não foi encontrada especificidade de construção de ninhos em nenhuma espécie de planta. Os ovos foram incubados por ambos os sexos por um período de 18 dias. Após esse período, eclodiram os ninhegos, que permaneceram no ninho por 10 dias. O par reprodutor alimentou os ninhegos com artrópodes e realizou a limpeza do ninho removendo os sacos fecais dos ninhegos. Ao deixarem o ninho, os filhotes continuaram sendo alimentados pelo par reprodutor na área do território. Esses cuidados com a prole foram similares entre machos e fêmeas, independentemente da fase reprodutiva (incubação e cuidado com a prole). O sucesso reprodutivo da espécie foi menor na fase de incubação do que na fase de alimentação da prole. As causas de insucesso de ninhos não foram bem determinadas, embora tenha sido registrado um insucesso ocasionado por fatores abióticos e uma predação por uma espécie de ave (anu branco, Guira guira). A razão sexual no ninho foi similar para ambos os sexos, o que reflete uma população estável. Foram desenvolvidos sete marcadores moleculares de microssatélites que foram utilizados para se determinar a paternidade dos ninhegos. Os resultados da paternidade indicaram alta taxa de fertilizações extra-par para a espécie estudada, sendo esta a mais elevada dentre os estudos publicados para

os neotrópicos. Quase todos os ninhos continham pelo menos um ninhego proveniente de fertilização extra-par. Um macho foi considerado pai biológico de três filhotes enquanto outro, de dois filhotes de ninhos diferentes. Esses machos copularam com fêmeas diferentes, o que indica haver uma seleção sexual por parte das fêmeas. Com os resultados da análise genética, o sistema de acasalamento predominante para a espécie estudada é a promiscuidade. Porém, os indivíduos se associam em pares reprodutores durante uma estação reprodutiva para cuidar da sua prole, independente dela ser ou não legítima, o que configura monogamia social. As análises genéticas revelaram muito mais sobre os sistemas de acasalamento de *F. littoralis* que as observações nas diferentes fases do período reprodutivo.

Defender um território e a guarda da paternidade parece ser particularmente custoso para *F. littoralis*, com densidade relativamente elevada e territórios pequenos. Como indivíduos dessa espécie dividem o recurso energético obtido entre seu desenvolvimento individual (sobrevivência), defesa de um espaço para obtenção de recursos alimentares e potenciais parceiros reprodutivos (aquisição e manutenção de território, no caso dos machos), reprodução, além de quanto investir em cada etapa desse processo reprodutivo (corte, cópulações extra-par, guarda da paternidade e cuidado parental) são importantes para futuros estudos. Adicionalmente, é importante investigar como o ambiente influencia na determinação do tamanho dos territórios, quais são os principais agentes responsáveis pelo elevado insucesso de ninhos, como os machos são escolhidos pelas fêmeas (características vocais ou de plumagem, por exemplo), e acompanhar em longo prazo a população, de modo a se quantificar possíveis flutuações em seu tamanho, o que poderá nortear ações eficazes de conservação e manejo dessa espécie ameaçada.

REFERÊNCIAS

ADAMS, E.S. Approaches to the Study of Territory Size and Shape. Annual Review of Ecology and Systematics, 32: 277-303, 2001.

ALBRECHT, T.; VINKLER, M.; SCHNITZER, J.; POLÁKOVÁ, R.; MUNCLINGER, P.; BRYJA, J. Extra-pair fertilizations contribute to selection on secondary male ornamentation in a socially monogamous passerine. Journal of Evolutionary Biology 22(10): 2020-2030. 2009.

ALCOCK, J. Comportamento Animal: uma abordagem evolutiva. Porto Alegre: editora Artmed, p., 249-285, 2011.

ALLOUCHE, S.; THEVENET, A.; GAUDIN, P. Habitat use by chub (Leuciscus cephalus L. 1766) in a large river, the French Upper Rhone, as determined by radiotelemetry. Archive für Hydrobiologie 145(2): 219-236. 1999.

ALONZO, S.H.; KINDSVATER, H.K. Life-History Patterns. In: JORGENSEN, S.E.; FATH, B.D. Encyclopedia of Ecology. 1: 2175-2180. 2008.

ALTMANN, J. Observational study of behavior: sampling methods. Behavior 227:265, 1974.

ALVAREZ, A.D.; GALETTI, M. Predação de ninhos artificiais em uma ilha na Mata Atlântica: testando o local e o tipo de ovo. Revista Brasileira de Zoologia 24(4): 1011-1016, 2007.

ALVAREZ, A.D.; DEVELEY, P.F.; VECCHI, M.B.; ALVES, M.A.S. Plano de Ação Nacional para a Conservação do Formigueiro-do-litoral: (*Formicivora littoralis*). Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio, 2010.

ALVES, M.A.S.; ESBERARD, C.E.L.; VECCHI, M.B.; LAURINDO, T.F.S.; TOMAZ, V.C. Pseustes sulphureus (South American Puffing Snake) diet. Herpetological Review 36(4). 2005.

ALVES, M.A.S.; PACHECO, J.F.; GONZAGA, L.A.P.; CAVALCANTI, R.B.; RAPOSO, M.A.; YAMASHITA; C.; Aves. In: A fauna ameaçada de extinção do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: editora UERJ, p. 113-124, 2000.

ALVES, M.A.S.; CAVALCANTI, R.B. Ninhos, ovos e crescimento de filhotes de Neothraupis fasciata. Ararajuba 1: 91-94, 1990.

ANDERSSON, M. Sexual selection. Princeton: Princeton University Press, 1994.

- ANDERSSON, M. Sexual selection, natural selection and quality advertisement. Biological Journal of Linnean Society 17(4): 375-393. 1982.
- ANICH, N.M.; BENSON, T.J.; BEDNARZ, J.C. Estimating territory and home-range sizes: do singing locations alone provide na accurate estimate of space use? The Auk 126(3): 626-634, 2009.
- ARAUJO, D.S.D.; SÁ, C.F.C.; FONTELLA-PEREIRA, J.; GARCIA, D.S.; FERREIRA, M.V.; PAIXÃO, R.J.; SCHNEIDER, S.M.; FONSECA-KRUEL, V.S. Área de Proteção Ambiental de Massambaba, Rio de Janeiro: caracterização fitofisionômica e florística. Rodriguésia 60(1): 67:96, 2009.
- ARAUJO, D.S.D. Análise florística e fitogeográfica das restingas do estado de Rio de Janeiro. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 176p, 2000.
- ARAÚJO-LIMA, V. Tamanho do território de Formicivora rufa (Wied, 1831) (Passeriformes, Thamnophilidae) em uma área aberta de restinga no sudeste do Brasil. Ambiência 9(3): 519-528. 2013.ok
- ARLT, D.; HANSSON, B.; BENSCH, S.; SCHANTZ, T.; HASSELQUIST, D. Breeding synchrony does not affect extra-pair paternity in Great Reed Warblers. Behavior, 141(7): 863-880. 2004.
- AVISE, J.C. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 2004.
- BARG, J.J.; JONES, J.; ROBERTSON, R.J. Describing breeding territories of migratory passerines: suggestions for sampling, choice of estimator and delination of core areas. Journal of Aninal Ecology 74: 139-149, 2005.
- BAKST, M.R. Structure of the avian oviduct with emphasis on sperm storage in poultry. Journal of Experimental Zoology 282: 618-626. 1998.
- BEARD, J.S. The physiognomic approach. In: Whittaker, R.H. (ed.). Classification of plant communities. 2^a Edição. Junk, The Hague. Pp. 35-64, 1978.
- BECKER, B.H.; PEERY, M.Z.; BEISSINGER, S.R. Ocean climate and prey availability affect the trophic level and reproductive success of the marbled murrelet, an endangered seabird. Marine Ecology Progress Series 329: 267-279. 2007.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C.R.; HARPER, J.L. Ecologia: de Indivíduos a Ecossistemas. 4ª Edição. Artmed, 752p., 2007.
- BELMONTE-LOPES, R. Investigando o isolamento esplêndido da América do Sul: Filogenia e Biogeografia Histórica dos Thamnophilidae (Aves: Passeriformes: Tyranni). Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná. 216p., 2013.

BENNETT, P.M.; OWENS, I.P.F. Evolutionary ecology of birds: life history, mating system and extinction. Oxford: Oxford University Press, 2002.

BERRY, L.; LILL, A. Do predation rates on artificial nests accurately predict predation rates on natural nests? The effects of nest type, egg type and nest-site characteristics. Emu 103: 207-214. 2003.

BIRKHEAD, T.R.; HATCHWELL, B.J.; LINDNER, R.; BLOMQVIST, D.; PELLATT, E.J.; GRIFFITHS, R.; LIFJELD, J.T. Extra-pair paternity in the Common Murre. The Condor 103(1): 158-162. 2001.

BIRKHEAD, T.R.; MOLLER, A.P. Sperm competition in birds. Academic Press, 282p. 1992.

BIRKHEAD, T.R. & BIGGINS, J.D. Reproductive synchrony and extra-pair copulations in birds. Ethology, 74: 320-334. 1987.

BLANCHER, P.J.; ROBERTSON, R.J. Site consistency in kingbird breeding performance: implications for site fidelity. Journal Animal Ecology 54: 1017-1027, 1985.

BOERSMA, P.D. Why some birds take so long to hatch. The American Naturalist, 120(6): 733-750, 1982.

BÖRGER, L.; FRANCONI, N.; DE MICHELE, G.; GANTZ, A.; MESCHI, F.; MANICA, A.; LOVARI, S.; COULSON, T. Effects of sampling regime on the mean and variance of home range size estimates. Journal of Animal Ecology 75: 1393-1405, 2006.

BORGIA, G. Bower quality, number of decorations and mating success of male satin bowerbirds (Ptilonorhynchus violaceus). Animal behaviour 33: 266-271. 1985.

BORGMANN, K.L.; RODEWALD, A.D. Nest predation in an urbanizing landscape: the role of exotic shrubs. Ecological Applications 14: 1757-1765, 2004.

BORNSCHEIN, M.R. Biologia da conservação do bicudinho-do-brejo Stymphalornis acutirostris (Aves, Thamnophilidae). Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, 239p., 2013.

BOUWMAN, K.M.; BURKE, T.; KOMDEUR, J. How female reed buntings benefit from extra-pair mating behaviour: testing hypotheses through patterns of paternity in sequential broods. Molecular Ecology 15(9): 2589-2600. 2006.

BROWN, J.L. The evolution of diversity in avian territorial systems. The Wilson Bulletin 76(2): 160-170, 1964.

- BROUWER, L.; BARR, I.; VAN DE POL, M.; BURKE, T.; KOMDEUR, J.; RICHARDSON, D.S. Mhc-dependent survival in a wild population: evidence for hidden genetic benefits gained through extra-pair fertilizations. Molecular Ecology 19(16): 3444-3455. 2010.
- BUEHLER, D.A.; HAMEL, P.B.; BOVES, T. Cerulean Warbler (*Setophaga cerulean*). The Birds of North America Online. Ithaca: Cornell Lab of Ornithology. Disponível em: http://bna.birds.cornell.edu/bna/species/511 Acessado em: 2 de novembro de 2013.ok
- BUNTIN, J.D. Endocrine, neural, and behavioral factors governing parental care among Mammals and birds. In: Rosenblatt, J.S.; Snowdon, C.T. Parental care: Evolution, mechanisms, and adaptive significance. Academic Press London, pp. 161-202. 1996.
- BURNHAM, K.P.; ANDERSON, D.R. Model selection and inference: a practical information-theoretic approach. Springer-Verlag, New York. 1998.
- BURKE, D.M.; NOL, E. Landscape and fragment size effects on reproductive success of forest-breeding birds in Ontario. Ecological Applications 10: 1749-1761, 2000.
- BURT, W.H. Territoriality and home range concepts as applied to mammals. Journal of Mammalogy 24(3): 346-360, 1943.
- BUTCHART, S.H.M.; SEDDON, N.; EKSTROM, J.M.M. Polyandry and competition for territories in bronze-winged jacanas. Journal of Animal Ecology 68: 928-939, 1999.
- CADENA, C.D.; LONDOÑO, G.A.; PARRA, J.L. Nestling records of five antibrd species from the Colombian Amazon. Wilson Bulletin 112: 313-317, 2000.
- CARPENTER, F.L. Food abundance and territoriality: to defendo r not to defend? American Zoologist 27: 387-399, 1987.
- CARVALHO, C.B.V.; MACEDO, R.H.; GRAVES, J.A. Breeding strategies of a socially monogamous Neotropical passerine: Extra-pair fertilizations, behavior, and morphology. The Condor, 108: 579-590. 2006.
- CASE, T.J. On the evolution and adaptative significance of postnatal growth rates in the terrestrial vertebrates. Q. Rev. Biol. 53: 243-283, 1978.
- CASTIGLIONI, G.D.A. Biologia reprodutiva e organização social de Ramphocelus bresilius (Passeriformes: Emberizidae) na Restinga de Barra de Maricá, Estado do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado, Universidade de Campinas, 151p., 1998.
- CAVALCANTI, A.C.S. Vegetação e arquitetura das espécies de restinga associadas à ocorrência de *Formicivora littoralis* (Aves, Thamnophilidae). Dissertação de mestrado. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 110p. 2013.

- CATCHPOLE, C.K. Bird song, sexual selection and female choice. Trends in Ecology and Evolution 2(4): 94-97. 1987.
- CHAKRABORTY, R.; DE ANDRADE, M.; DAIGER, S.P.; BUDOWLE, B. Apparent heterozygote deficiencies observed in DNA typing data and their implications in forensic applications. Annual Human Genetics 56: 45-57. 1992.
- CHAVES, F.G.; VECCHI, M.B.; LAURINDO, T.F.S.; ALVES, M.A.S. Nests, Eggs, and Nestlings of the Restinga Antwren Formicivora littoralis (Aves: Thamnophilidae). Anais da Academia Brasileira de Ciências, 85: 547-552, 2013.
- CHAVES, F.G. Dieta e Táticas de Forrageamento de *Formicivora littoralis* (Aves: Thamnophilidae) na Restinga da Massambaba, Araruama, RJ. Dissertação de Mestrado. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 58p, 2010.
- CHAVES, F.G.; ALVES, M.A.S. Gender-related diet composition and morphometry of the Restinga Antwren, *Formicivora littoralis* (Aves: Thamnophilidae), Zoologia, 30(6): 601-606. 2013.
- CLARK, R.G.; SHUTLER, D. Avian habitat selection: pattern from process in nest-site use by ducks? Ecology 80: 272-287, 1999.
- CLEMENTS, J.F.; SCHULENBERG, T.S.; IILIFF, M.J.; SULLIVAN, B.L.; WOOD, C.L.; ROBERSON, D. The eBird/Clements checklist of birds of the world. Version 6.8. 2013. Disponível em: http://www.birds.cornell.edu/clementschecklist/download/
- CLUTTON-BROCK, T.H. Sex ratio variation in birds. The Ibis 128: 317-329. 1985.
- CODY, M.L.; CODY, C.B.J. Territory size, clutch size, and food in populations of wrens. The Condor 74: 473-477. 1972.
- COLLAR, N.J.; GONZAGA, L.P.; KRABBE, N.; MADROÑO NIETO, A.; NARANJO, L.G.; PARKER III, A. ET AL. Threatened birds of the America: The ICBP/IUCN Red Data Book. Cambridge: UK, 1992.
- COLOMBELLI-NÉGREL, D.; KLEINDORFER, S. Nest height, nest concealment, and predator type predict nest predation in superb fairy-wrens (Malurus cyaneus). Ecology Research, 24: 921-928, 2009.
- CONDER, P.J. The territory of the Wheatear Oenanthe. Ibis 98: 453-459. 1956.
- COSTA, L.M. História de vida de Asthenes luizae: biologia reprodutiva, sucesso reprodutivo e o impacto de Molothrus bonariensis em uma ave ameaçada e endêmica dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, 141p., 2011.

- CRICK, H.Q.P.; DUDLEY, C.; EVANS, A.D.; SMITH, K.W. Causes of nest failure among buntings in the UK. Bird Study 41: 88-94, 1994.
- CRAWFORD, R.J.M.; BARHAM, P.J.; UNDERHILL, L.G.; SHANNON, L.J.; COETZEE, J.C.; DYER, B.M.; LESHORO, T.M.; UPFOLD, L. The influence of food availability on breeding success of African penguins Spheniscus demersus at Robben Island, South Africa. Biological Conservation 132(1): 119-125. 2006.
- CUNNINGHAM, E.J.A.; RUSSEL, A. Egg investment is influenced by male attractiveness in thermallard. Nature 404: 74-77. 2000.
- DAMASCENO, S.S. Distribuição, biologia e estimative populacional do entufado-baiano (*Merulaxis stresemanni*) (Passeriformes, Rhinocryptidae), uma espécie criticamente em perigo de extinção da Mata Atlântica. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Ouro Preto, 53p., 2011.
- DAVIES, N.B. Dunnock behavior and social evolution. Oxford Series in Ecology and Evolution, 272p. 1991.
- DAVIES, N.B.; HOUSTON, A.I. Reproductive success of dunnocks, Prunella modularis, in a variable mating system. II. Conflicts of interest among breeding adults. Journal of Animal Ecology 55: 139-154. 1986.
- DAVIS, S.E.; NAGER, R.G.; FURNESS, R.W. Food availability affects adult survival as well as breeding success of parasitic jaegers. Ecology 86: 1047-1056. 2005.
- DINSMORE, S.J.; WHITE, G.C.; KNOPF, F.L. Advanced techniques for modeling avian nest survival. Ecology 83: 3476-3488. 2002.
- DUBUC, C.; ALLEN, W.L.; MAESTRIPIERI, D.; HIGHAM, J.P. Is male rhesus macaque red color ornamentation attractive to females? Behavioral Ecology and Sociobiology 68(7): 1215-1224, 2014.
- DUCA, C.; GUERRA, T.J.; MARINI, M.A. Territory size of three Antbirds (Aves, Passeriformes) in an Atlantic Forest fragment in southeastern Brazil. Revista Brasileira de Zoologia, 23(3): 692-698, 2006.
- EASON, P.K.; STAMPS, J.A. The effect of visibility on territory size and shape. Behavioural Ecology 3(2): 166-172, 1991.
- EGGERS, S.; GRIESSER, M.; NYSTRAND, M.; EKMAN, J. Predation risk induces changes in nest-site selection and clutch size in the Siberian jay. Proocedings Royal Society B 273(1587): 701-706. 2006.
- EGUCHI, K. Temporal changes in food resources, parental feeding and breeding success of Heron Island silvereyes, Zosterops lateralis chlorocephala. Ecological Research 8: 319-327, 1993.

- EKMAN, J.; CEDERHOLM, G.; ASKENMO, C. Spacing and survival in winter groups of willow tit Parus montanus and crested tit P. cristatus a removal study. Journal of Animal Ecology 50: 1-9. 1981.
- ELPHICK, C.; DUNNING JR., J.B.; SIBLEY, D.A. The Sibley guide to bird life and behavior. 1^a edição. Chanticleers Press, Nova Iorque, 587p.
- EMLEN, S.T.; ORING, L.W. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. Science, 197: 215-223. 1977.
- ENQUIST, M.; LEIMAR, O. Evolution of fighting behaviour: decision rules and assessment of relative strength. Journal of Theoretical Biology, 102, 387–410, 1983.
- EWALD, P.W.; HUNT JR., G.L.; WARNER, M. Territory size in Western Gulls: importance of intrusion pressure, defense investments, and vegetation structure. Ecology 61: 80-87. 1980.
- FALLS, J.B. Mapping territories with playback: an accurate census method for songbirds. Studies in Avian Biology 6: 86-91. 1981.
- FEDY, B.C.; STUTCHBURY, B.J.M. Territory switching and floating in the White-bellied Antbird (Myrmeciza longipens), a resident tropical passerine in Panama. The Auk 121: 486-496. 2004.
- FILLIATER, T.S.; BREITWISCH, R.; NEALEN, P.M. Predation on Northern Cardinal nests: does choice of nest site matter? The Condor 96: 761-768, 1994.
- FARIA, L.C.P.; CARRARA, L.A.; RODRIGUES, M. Sistema territorial e forrageamento do fura-barreira *Hylocryptus rectirostris* (Aves: Furnariidae). Revista Brasileira de Ornitologia 15(3): 395-402, 2007.
- FIRME, D.H.; RAPOSO, M.A. Taxonomy and geographic variation of *Formicivora serrana* (Hellmayr, 1929) and *Formicivora littoralis* (Gonzaga and Pacheco, 1990) (Aves: Passeriformes: Thamnophilidae). Zootaxa 2742: 1-33, 2011.
- FISHER, R.A. The genetical theory of natural selection. Oxford: Oxford University Press. 1930.
- FOGDEN, M.P.L. The seasonality and population dynamics of equatorial birds in Sarawak. Ibis 114: 307-343. 1972.
- FREITAS, G.H.S. História natural de dois furnarídeos (Aves: Furnariidae) endêmicos dos campos rupestres da porção meridional da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, 98p. 2011.
- FRETWELL, S.D.; LUCAS, H.L. On territorial behavior and other factors influencing habitat distribution in birds. Acta Biotheoretica 19: 16-36, 1970.

- GAGNEUX, P.; BOESCH, C.; WOODRUFF, D.S. Microsatellite scoring errors associated with noninvasive genotyping based on nuclear DNA amplified from shed hair. Molecular Ecology 6: 861-868, 1997.
- GAYOU, D.C. The social system of the Texas Green Jay. The Auk, 103(3): 540-547, 1986.
- GIBBS, L.; WEATHERHEAD, P.J.; BOAG, P.T.; WHITE, B.N.; TABAK, L.M.; HOYSAY, D.J. Realized reproductive success of polygynous red-winged blackbirds revealed by DNA markers. Science, 250: 1394-1397, 1990.
- GILL, F.B. Ornithology. W.H. Freeman and Co, New York, 2007.
- GOHLI, J.; ANMARKRUD, J.A.; JOHNSEN, A.; KLEVEN, O.; BORGE, T.; LIFJELD, J.T. Female promiscuity is positively associated with neutral and selected genetic diversity in passerine birds. Evolution 67(5): 1406-1419. 2013.
- GONZAGA, L.P.; PACHECO, J.F. Two new subspecies of *Formicivora serrana* (Hellmayr) from southeastern Brazil, and notes on the type locality of *Formicivora deluzae* Ménétriés. Bulletin of British Ornithologist 110(4): 187-193, 1990.
- GONZÁLEZ, L.M.; MARGALIDA, A.; SÁNCHEZ, R.; ORIA, J. Supplementary feeding as na effective tool for improving breeding success in the Spanish imperial eagle (Aquila adalberti). Biological Conservation 129: 477-486, 2006.
- GOWATY, P.A. Battle of sexes and origins of monogamy. In: Partnerships in birds: the study of monogamy. Oxford: Oxford University Press, pp. 21-52, 1996.
- GOWATY, P.A. & BRIDGES, W.C. Nestbox availability affects extra-pair fertilizations and conspecific nest parasitism in eastern bluebirds, *Sialia sialia*. Animal Behavior, 41: 661-675. 1991.
- GREENBERG, R. & Gradwohl, J. Constant density and stable territoriality in some tropical insectivorous birds. Oecologia 69: 618-625. 1986.
- GRIFFITH, S.C.; OWENS, I.P.F.; THUMAN, K.A. Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptative function. Molecular Ecology, 11: 2195-2212, 2002.
- GRIFFITHS, R.; DOUBLE, M.C.; ORR, K.; DAWSON, R.T.G. A DNA test to sex most birds. Molecular Ecology 7(8): 1071-1075, 1998.
- HAASL, R.J. & PAYSEUR, B.A. Microsatellites as targets of natural selection. Molecular Biology Evolution 30(2): 285-298, 2013.
- HANSSEN, S.A.; HASSELQUIST, D.; FOLSTAD, I.; ERIKSTAD, K.E. Cost of reproduction in a long-lived bird: incubation effort reduces immune function and future reproduction. Proceedings of the Royal Society London 272: 1039-1046, 1995.

HARRISON, C.J.O. & GREENSMITH, A. Birds of the World. Editora DK (Dorling Kindersley Handbooks). Grã-Bretanha: Londres, 2 Edição, 416p. 2000.

HATCHWELL, B.J.; RUSSELL, A.F.; FOWLIE, M.K.; ROSS, D.J. Reproductive success and nest-site selection in a cooperative breeder: effect of experience and a direct benefit of helping. The Auk, 116: 355-363, 1999.

HAYS, H. & LECROY, M. Field criteria for determining incubation stage in eggs of the common tern. The Wilson Bulletin 4: 425:429, 1971.

HERED, J. Male-biased mutation rates and the overestimation of extrapair paternity: problem, solution, and illustration using thick-billed murres (Uria lomvia, Alcidae). Journal of Heredity 95(3): 209-210, 2004.

HILL, G.E. Female house finches prefer colourful males: sexual selection for a condition-dependent trait. Animal Behaviour 40(3): 563-572. 1990.

HILTON, S.L.; BROWN, W.L. A guide to the birds of Colombia. Princeton University Press. 1986.

HINDE, R.A. The biological significance of the territories of birds. Ibis 98: 340-359. 1956.

HIRATA, H.; SENO, H. How does the size distribution of male territories depend on the spatial distribution of females? Ecology Modeling 103: 193-207, 1997.

HÖGLUND, J.; SHELDON, B.C. The cost of reproduction and sexual selection. Oikos 83: 478-483, 1998.

HÖGLUND, J; ROBERTSON, J.G.M. Female preferences, male decision rules and the evolution of leks in the great snipe Gallinago media. Animal Behaviour 40(1): 15-22. 1990.

HOI, H. Assessment of the quality of copulation partners in the monogamous bearded tit. Animal Behavior 53:277-286. 1997.

HOSTETLER, M.; KNOWLES-YANEZ, K. Land use, scale, and bird distributions in the Phoenix metropolitan area. Landscape Urban Plan 62: 55-68, 2003.

IUCN. IUCN Red List of Threatened species. Disponível em: www.iucn.org, 2014.

JETZ, W.; SEKERCIOGLU, C.H.; BÖHNING-GAESE, K. The worldwide variation in avian clutch size across species and space. Plos Biology 6(12): e303, 2008.

JOHNSEN, A.; ANDERSEN, V.; SUNDING, C.; LIFJELD, J.T. Female bluethroats enhance offspring immunocompetence through extra-pair copulations. Nature, 406: 296-299. 2000.

- JONES, A.G.; ARDREN, W.R. Methods of parentage analysis in natural populations. Molecular ecology 12: 2511-2523. 2003.
- JOUVENTIN, P.; CHARMANTIER, A.; DUBOIS, M.; JARNE, P.; BRIED, J. Extra-pair paternity in the strongly monogamous Wandering Albatross Diomedea exulans has no apparent benefits for females. Ibis 149(1): 67-78. 2006.
- KALINOWSKI, S.T.; WAGNER, A.P.; TAPER, M.L. ML-Relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. Molecular Ecology Notes 6: 576-579. 2006.
- KARR, J.R.; NICHOLS, J.D.; KLIMKIEWICK, M.K.; BRAEN, J.D. Survival rates of birds of tropical and temperate forests: will the dogma survive? The American Naturalist 136(3): 277-291. 1990.
- KARR, J.R. Seasonality, resource availability, and community diversity in tropical bird communities. The American Naturalist 110: 973-994. 1976.
- KAUHALA, K.; HELLE, P.; HELLE, E. Predator control and the density and reproductive success of grouse populations in Finland. Ecography 23(2): 161-168. 2000.
- KELKAR, Y.D.; STRUBCZEWSKI, N.; HILE, S.E.; CHIAROMONTE, F.; KRISTIN, A. What is a microsatellite: a computational and experimental definition based upon repeat mutational behavior at A/T and GT/AC repeats. Genome Biology and Evolution 2: 620-635. 2010.
- KEMPENAERS, B.; EVERDING, S.; BISHOP, C.; BOAG, P.; ROBERTSON, R.J. Extrapair paternity and the reproductive role of male floaters in the tree swallow (Tachycineta bicolor). Behavioural Ecology and Sociobiology 49: 251-259, 2001.
- KEMPENAERS, B.; LANCTOT, R.B.; ROBERTSON, R.J. Certainty of paternity and parental investment in eastern bluebirds and tree swallows. Animal Behaviour 55(4): 845-860. 1998.
- KEMPENAERS, B. Does reproductive synchrony limit male opportunities or enhance female choice for extrapair paternity? Behavior, 134: 551-562. 1997.
- KEYSER, A.; HILL, G. Structurally-based plumage color is an honest indicator of quality in male blue grosbeaks. Behavioral Ecology, 11: 202-209. 2000.
- KLEINDORFER, S.; FESSL, B.; HOI, H. The role of nest site cover for parental nest defence and fledging success in two Acrocephalus warblers. Avian Science 3: 21-29, 2003.
- KNAPTON, R.W.; KREBS, J.R. Settlement patterns, territory size, and breeding density in the song sparrow (Melospiza melodia). Canaddian Journal of Zoology 52: 1413-1420. 1974.

KODRIC-BROWN, A. & BROWN, J.H. Truth in advertising: the kinds of traits favored by sexual selection. The American Naturalist 124(3): 309-323. 1984.

KOKKO, H.; SUTHERLAND, W.J. Optimal floating and queuing strategies: consequences for density dependence and habitat loss. The American Naturalist 152: 354-366, 1998.

KOKKO, H. Competition for early arrival in migratory birds. Journal of Animal Ecology, 68(5): 940-950, 1999.

KREBS, J.R.; DAVIES, N.B. Behavioural ecology: an evolutionary approach. 4th Edição. Blackwell Science, Oxford, 456p. 1997.

KREBS, J.R. Territory and breeding density in the great tit, Parus major L. Ecology 52: 2-22. 1971.

KRUEGER, T.R.; WILLIAMS, D.A.; SEARCY, W.A. The genetic mating system of a tropical tanager. The Condor, 110(3): 559-562. 2008.

KUNZ, K.; WITTHUHN, M. & UHL, G. Do the size and age of mating plugs alter their efficacy in protecting paternity? Behavioral Ecology and Sociobiology, 68(6): 1230-1237, 2014.

LACK, D. Ecological adaptations for breeding birds. Methuen, London, England. 1968.

LAHTI, D.C. 2001. The "edge effect on nest predation" hypothesis after twenty years. Biological Conservation 99: 365-374, 2001.

LAZO, I.; ANABALÓN, J. Nesting of the Common Diuca finch in the central Chilean scrub. Willson Bulletin 103: 143-146, 1991.

LI, P.; MARTIN, T.E. Nest-site selection and nesting success of cavity-nesting birds in high elevation forest drainages. The Auk 108: 405-418, 1991.

LOPES, L.E.; MARINI, M.Â. Biologia reprodutiva de Suiriri affinis e S. islerorum (Aves: Tyrannidae) no Cerrado do Brasil Central. Papéis Avulsos de Zoologia 45: 127-141, 2005.

LOSADA-PRADO, S. Home-range and movements of Myrmeciza exsul (Aves: Thamnophilidae) in two fragmented landscapes in Costa Rica: Evaluating functional connectivity. Tese de doutorado. CATIE, 122p. 2012

LUDWIGS, J.D.; BECKER, P.H. The hurdle of recruitment: influences of arrival date, colony experience and sex in the common tern Sterna hirundo. Ardea 90: 389-399, 2002.

LYON, B.E.; EADIE, J.M. Conspecific brood parasitism in birds: a life-history perspective. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 39: 343-363. 2008.

MACEDO, R.H.; KARUBIAN, J.; WEBSTER, M.S. Extrapair paternity and sexual selection in socially monogamous birds: are tropical birds different? The Auk, 125(4): 769-777. 2008.

MACHADO, A.B.M.; DRUMMOND, G.M.; PAGLIA, A.P. Aves ameaçadas de extinção no Brasil. In: Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Ministério do Meio Ambiente/Fundação Biodiversitas, Brasília, 2008.

MÄGI, M.; MÄND, R.; TAMM, H.; SISASK, E.; KILGAS, P.; TILGAR, V. Low reproductive success of great tits in the preferred habitat: a role of food availability. Ecoscience 16(2): 145-157. 2009.

MAHER, C.R.; LOTT, D.F. Definitions of territoriality used in the study of variation in vertebrate spacing systems. Animal Behavior 49: 1581-1597, 1995.

MAHLER, W.J. The Pomarine Jaeger as a brown lemming predator in northern Alaska. The Wilson Bulletin 82: 130-157. 1970.

MARES, M.A.; BLAIR, W.F.; ENDERS, F.A.; GREEGOR, D. HULSE, A.C.; HUNT, J.H. The strategies and community patterns of desert animals. In: Orians, G.H., SOLBRIG, O.T. (Eds.), Convergent Evolution in Warm Deserts of Argentina and the United States. Dowden, Hutchinson & Ross, Strousdburg, Pennysylvania, pp. 107-163, 1977.

MARINI, M.Â.; DURÃES, R.D. Annual pattern of molt and reproductive activity of passerines in south-central Brazil. The Condor 115: 767-775, 2001.

MARK PROGRAM. Mark and Recapture Parameter Estimation. Colorado State University. Disponível em: http://www.cnr.colostate.edu/~gwhite/mark, 2013.

MARTIN, P.; BATESON, P. Measuring behavior: an introductory guide. Third Edition. Cambridge University Press, 2007.

MARTIN, T.E.; AUER, S.K.; BASSAR, R.D.; NIKLISON, A.L.; LLOYD, P. Geographic variation in avian incubation periods and parental influences on embryonic temperature. Evolution, 61(11): 2558-2569, 2007.

MARTIN, T.E. A new view for avian life history evolution tested on an incubation paradox. Proceedings of Royal Society B 269: 309-316, 2002.

MARTIN, T.E.; SCOTT, J.; MENGE, C. Nest predation increases with parental activity: separating nest site and parental activity effects. Proceedings of the Royal Society of London 267: 2287-2294, 2000.

MARTIN, T.E. Are microhabitat preferences of coexisting species under selection and adaptative? Ecology 79(2): 656-670, 1998.

MARTIN, T.E.; CLOBERT, J. Nest predation and avian life-history evolution in Europe versus North America: a possible role of humans? The American Naturalist 147(6): 1028-1046, 1996.

MARTIN, T.E. Avian life history evolution in relation to nest sites, nest predation and food. Ecological Monographs 65: 101-127, 1995.

MARTIN, T.E. Nest predation and nest sites: new perspectives on old patterns. BioScience 43: 523-532, 1993.

MARTIN, T.E.; LI, P. Life history traits of open versus cavity nesting birds. Ecology 73(2): 579-592, 1992.

MARTIN, T.E. Nest placement: implications for selected life-history traits, with special reference to clutch size. The American Naturalist 132: 900-910, 1988.

MARTIN, T.E. Food as a limit on breeding birds: a life-history perspective. Annual Review in Ecology Systems, 18: 453-487, 1987.

MAYER, C. & PASINELLI, G. New support for an old hypothesis: density affects extrapair paternity. Ecology and Evolution, 694-705. 2013.

MAYFIELD, H. Suggestions for calculating nest success. Wilson Bulletin 87(4): 456-466, 1975.

MAYFIELD, H. Nesting success calculated from exposure. Wilson Bulletin 73(3): 255-261, 1961.

MAYNARD-SMITH, J. Optimization theory in evolution. Annual Reviews of Ecology and Systematics, 9: 31-56. 1978.

MAYNARD-SMITH, J. Parental investment: a prospective analysis. Animal Behaviour, 25: 1-9. 1977.

MATTOS, J.C.F.; Lorini, M.L.; Alves, M.A,S. Mapeamento e caracterização do hábitat para conservação do formigueiro-do-litoral (Formicivora littoralis), uma ave endêmica das restingas do Rio de Janeiro. In: Paese, A.; Uezu, A.; Lorini, M.L; Cunha, A.. (Orgs.). Conservação da Biodiversidade com SIG. 1edição.São Paulo: Oficina de Textos, v. 1, p. 179-190, 2012.

MATTOS, J.C.F.; VALE, M.M.; VECCHI, M.B.; ALVES, M.A.S. Abundance, distribution and conservation of the Restinga Antwren, Formicivora littoralis (Aves: Thamnophilidae). Bird Conservation International, 1: 1-9, 2009.

MEDEIROS, C.; ALVES, M.A.S. Aspectos evolutivos e ecológicos do cuidado parental em aves: publicações em ambientes temperados e tropicais. Oecologia australis 14(4): 853-871. 2010.

MEDEIROS, R.C.S.; MARINI, M.Â. Biologia reprodutiva de Elaenia chiriquensis (Lawrence) (Aves, Tyrannidae) em Cerrado do Brasil Central. Revista Brasileira de Zoologia 24: 12-20, 2007.

MENDONÇA, E.C. Biologia Reprodutiva de Formicivora erythronotos (Aves: Thamnophilidae). [Tese]. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 154p., 2001.

MEZQUIDA, E.T.; MARONE, L. Microhabitat structure and avian nest predation risk in na open Argentinean woodland: na experimental study. Acta Oecologica 23: 313-320, 2002.

MOHR, C.O. Table of equivalent populations of North American small mammals. The American Midland Nature 37: 223-249, 1947.

MOLLER, A.P. Why mated songbirds sing so much: mate guarding and male announcement of mate fertility status. The American Naturalist, 138(4): 994-1014. 1991.

MORSE, D.H. Variables affecting the density and territory size of breeding spruce-woods warblers. Ecology 57: 290-301. 1976.

MURPHY, M.T. Temporal components of reproductive variability in Eastern kingbirds (Tyrannus tyrannus). Ecology 67: 1483-1492, 1986.

MURRAY, L.D.; BEST, L.B. Nest-site selection and reproductive success of Common Yellowthroats in managed Iowa grasslands. The Condor 116(1): 74-83. 2014.

MURRAY, D.L.; FULLER, M.R. A Critical Review of the Effects of Marking on the Biology of Vertebrates. In: Boitani, L.; Fuller, T.K. Eds. Research techniques in animal ecology: Controversies and Consequences. Columbia University Press, Nova Iorque, 2000.

MYERS, J.P.; CONNORS, P.G.; PITELKA, F.A. Territory size in wintering sanderlings: the effects of prey abundance and intruder density. The Auk 96: 551-561. 1979.

NAEF-DAENZER, B.; KELLER, L. The foraging performance of great and blue tits in relation to caterpillar development and its consequences for nesting growth and fledging weight. Journal of Animal Ecology 68: 708-718, 1999.

NAGY, L.R.; HOLMES, R.T. Factors influencing fecundity in migratory songbirds: is nest predation the most important? Journal of Avian Biology 35(6): 487-491, 2004.

NERO, R.W. Behavior study of the red-winged black-bird II. Territoriality. Wilson Bulletin 68: 129-150. 1956.

NEWTON, I.; MARQUISS, M. Seasonal trend in the breeding performance of Sparrowhawks. Journal of Animal Ecology 53: 809-829, 1984.

NICE, M.M. Nesting success in altricial birds. The Auk, 74: 305-321, 1957.

NICE, M.M. Problems of incubation periods in North American birds. The Condor 56: 173-197, 1954b.

NICE, M.M. The role of territory in bird life. American Midland Naturalist 26: 441-487, 1941.

NICHOLLS, J.A.; DOUBLE, M.C.; ROWELL, D.M.; MAGRATH, R.D. The evolution of cooperative and pair breeding in thornbills *Acanthiza* (Pardalotidae). Journal of Avian Biology 31: 165-176. 2000.

NILSSON, S.G. The evolution of nest-site selection among hole-nesting birds: the importance of nest predation and competition. Ornis Scandinavica 15: 167-175, 1984.

NOL, E. Incubation period and foraging technique in shorebirds. American Naturalist 128: 115-119, 1986.

NOLAN, V. The Ecology and behavior of the Prairie Warbler, Dendroica discolor. Ornithological Monographs, 26, American Ornithologists Union, Washington DC, 1978.

NORMAN, M.D.; JONES, G.P. Determinants of territory size in the pomacentrid reef fish, *Parma victoriae*. Oecologia 61: 60-69, 1984.

NORTH, M.; STEGER, G.; DENTON, R.; EBERLEIN, G.; MUNTON, T.; JOHNSON, K. Association of weather and nest-site structure with reproductive success in Californis Spotted Owls. The Journal of Wildlife Management 64(3): 797-807. 2000.

NUR, N. The cost of reproduction in birds: evaluating the evidence from manipulative and non-manipulative studies. In: BLONDEL, J. (Eds.) Population Biology of Passerine Birds. Nato ASI Series. 1990.

ODUM, E.P. Annual cycle of the Black-capped Chickadee. The Auk 58: 314-333. 1941.

OLIVEIRA, C.H.P. Predação de ninhegos de Formicivora littoralis (Aves: Thamnophilidae) por Pseustes sulphureus (Reptilia: Colubridae) na Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo – RJ. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu/MG, 2007.

OMNUS, O.; SIKI, M. Impacts of anthropogenic activities and habitat degradation on breeding waterbirds. Turkish Journal of Zoology, 37: 249-261, 2013.

ONIKI, Y., WILLIS, E.O. Breeding records of birds from Manaus, Brazil: IV. Revista Brasileira de Biologia, 42(4): 733-740, 1983.

ONIKI, Y., WILLIS, E.O. Breeding records of birds from Manaus, Brazil: I. Revista Brasileira de Biologia, 42(4): 733-740, 1982.

ONIKI, Y. Is nesting success of birds low in the tropics? Biotropica 11: 60-69, 1979.

ORIANS, G.H. Social stimulation within blackbird colonies. The Condor 63: 330-337. 1961.

PACE III, R.M. Estimating and Visualizing Movements Paths from Radio-Tracking Data, Capítulo 7 pp. 189-205. In: Radio Tracking and Animal Populations. 2001.

PATTERSON, I.J. Territorial behavior and the limitation of population density. Ardea 68: 53-62, 1980.

PAXTON, E.H.; SOGGE, M.K.; MCCARTHEY, T.D.; KEIM, P. Nestling sex ratio in the southwestern Willow Flycatcher. The Condor 104: 877-881.2002.

PAYNE, R.B. The Ecology of brood parasitism in birds. Annual Review in Ecology and Systematics 8: 1-28. 1977.

PEARSON, T.; WHITFIELD, M.J.; THEIM, T.C; KEIM, P. Polygyny and extra-pair paternity in a population of southwestern willow flycatchers. The Condor 108(3): 571-578. 2006.

PEEK, F.W. An experimental study of the territorial function of vocal and visual display in the male red-winged blackbird (Agelaius phoeniceus). Animal Behavior 20: 112-118, 1972.

PERREAULT, S. LEMON, R.E.; KUHNLEIN, U. Patterrns and correlates of extrapair paternity in American redstarts (*Setophaga ruticilla*). Behavioral Ecology, 8(6): 612-621. 1997.

PERRINS, C.M.; BIRKHEAD, T.R. Avian Ecology. Londres: Editora Blakie and Son. 221p., 1983.

PETRIE, M. Territory size in the moorhen (Gallinula chloropus): an outcome of RHP asymmetry between neighbours. Animal Behavior 32: 861-870, 1984.

PETRIE, M. & KEMPENAERS, B. Extra-pair paternity in birds: explaining variation between species and populations. Trends in Ecology and Evolution, 13: 52-58. 1998.

PIANKA, E.R. Evolutionary Ecology. New York: Harper Collins Collegue Publishers. 5th edição, 486p, 1994.

PIDGEON, A.M.; RADELOFF, V.C.; MATTHEWS, N.E. Landscape-scale patterns of black-throated sparrow (Amphispiza bilineata) abundance and nest success. Ecological Applications 13: 530-524, 2003.

PINHO, J.B.; LOPES, L.E.; MALDONADO-COELHO, M.; RUBIO, T.C.; BERNARDON, B. Habitat associations and nests of Band-tailed Antbirds (Hypocnemoides maculicauda) in the Brazilian Pantanal. The Wilson Journal of Ornithology 121(1): 153-159, 2009.

PITELKA, F.A.; TOMICH, P.Q.; TREICHEL, G.W. Breeding behavior of jaegers and owls near Barrow, Alaska. The Condor 57: 3-18. 1955.

POESEL, A.; NELSON, D.A. Delayed song maturation and territorial aggression in a songbird. Biological Letters 23(8): 369-371, 2012.

PRICE, K.; BROUGHTON, K.; BOUTIN, S.; SINCLAIR, A.R.E. Territory size and ownership in red squirrels: response to removals. Canadian Journal of Zoology 64: 1144-1147. 1986.

RAHN, H.; AR, A. Incubation time and water loss. The Condor 76: 147-152, 1974.

RAPPOLE, J.H.; TIPTON, A.R. New harness design for attachment transmitters of radio to small passerines. Journal of Field Ornithology 62(3): 335-337, 1991.

REDONDO, T.; CASTRO, F. The increase in risk of predation with begging activity in broods of Magpies Pica pica. Ibis 134: 180-187. 1992.

REMES, V. Birds and rodents destroy different nests: a study of blackcap Sylvia atricapilla using the removal of nest concealment. Ibis 147: 213-216, 2005.

RIBON, R.; COELHO, F.M.; PIZETTA, G.T.; ALMEIDA, L.B.; OLIVEIRA, A.; RESCK, R.P.; VALADARES, C.F.; CORRAL, L.; AMBONI, M.; SOUZA, R.A.; CARVALHO, L.F. Padrão de vocalizações, territorialidade e densidade de *Anthus hellmayri* (Motacillidae – Passeriformes) no Parque Nacional da Serra do Cipó, Brasil. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu/MG, 2007.

RICHARDSON, D.S.; KOMDEUR, J.; BURKE, T.; SCHANTZ, T. MHC-based patterns of social and extra-pair mate choice in the Seychelles warbler. Proceedings of Royal Society B 272(1564): 759-767. 2005.

RICKLEFS, R.E. Density dependence, evolutionary optimization, and the diversification of avian life histories. Condor 102(1): 9-22, 2000.

RICKLEFS, R.E. Energetics of reproduction in birds. In: R.A.PAYNTER, ed. Avian Energetics. Nutall Ornithologists Club Publications, Cambridge, 15: 152-292, 1974.

RICKLEFS, R.E. Clutch size in birds: outcome of opposing predator and prey adaptations. Science, 168: 599-600, 1970.

RICKLEFS, R.E. An analysis of nesting mortality in birds. Smithsonian Contribution Zoology 9: 1-47, 1969.

ROCHA, C.F.D.; BERGALLO, H.G.; VAN SLUYS, M.; ALVES, M.A.S.; JAMEL, C.E. The remmants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: Habitat loss and risk of disappearance. Brazilian Journal of Biology 67(2): 263-273, 2007.

RODRIGUES, M. Corruíra, Troglodytes musculus (Troglodytidae) preda ninho de sabiábarranco, Turdus leucomelas (Turdidae). Revista Brasileira de Ornitologia 13(2): 187-189. 2005.

ROPER, J.J.; GOLDSTEIN, R.R. A test of the Skutch hypothesis: does activity at nests increase nest predation rates? Journal of Avian Biology 28: 111-116, 1997.

ROTENBERRY, J.T.; WIENS, J.A. Reproductive biology of shrubsteppe passerine birds: geographical and temporal variation in clutch size, brood size, and fledging success. The Condor, 91: 1-14, 1989.

ROWE, D.L.; MURPHY, M.T.; FLEISHER, R.C.; WOLF, P.G. High frequency of extrapair paternity in eastern kingbirds. The Condor 103(4): 845-851, 2001.

SAINO, N.; PRIMMER, C.R.; ELLEGREN, H.; MOLLER, A.P. Breeding synchrony and paternity in the Barn Swallow (*Hirundo rustica*). Behavioral Ecology and Sociobiology, 45: 211-218. 1999.

SEAMAN, D.E.; MILLSPAUGH, J.J.; KERNOHAN, B.J.; BRUNDIGE, G.C.; RAEDEKE, K.J.; GITZEN, R.A. Effects of sample size on kernel home range estimates. Journal of Wildlife Management 63: 739-747, 1999.

SEAMAN, D.E.; POWELL, R.A. 1996. An evaluation of the accuracy of kernel density estimations for home range analysis. Ecology 77: 2075-2085, 1996.

SCHOENER, T.W. Sizes of feeding territories among birds. Ecology 49: 123-141, 1968.

SHELDON, B.C. Male phenotype, fertility, and the pursuit of extra-pair copulations by female birds. Proceedings Royal Society B, 257: 25-30. 1994.

SHUTTLER, D.; WEATHERHEAD, P.J. Surplus territory contender in male red-winged blackbirds: where are the desperados? Behavioral Ecology and Sociobiology 31: 97-106. 1992.

SICK, H. Ornitologia Brasileira. 2ª Edição. Editora Nova Fronteira. Rio de Janeiro. 1997.

SIGRIST, T. Guia de Campo – Avifauna Brasileira: Pranchas e Mapas. Editora Avis Brasilis. 491p. 2009.

SILVA, J.M.C. Aspectos daa ecologia e comportamento de Formicivora g. grisea (Boddaert, 1789) (Aves: Formicariidae) em ambientes amazônicos. Revista Brasileira de Biologia 48(4): 797-805, 1988.

SKUTCH, A.F. Antbirds and Ovenbirds: their lives and homes. 1^a Edição. University of Texas Press, 268p., 1996.

SKUTCH, A.F. Clutch size, nesting success, and predation on nests of Neotropical birds, reviewed. Ornithological Monographs, 36: 575-594, 1985.

SKUTCH, A.F. Parent birds and their young. University Texas Press, Austin. 1976.

SKUTCH, A.F. Life histories of Central American birds III. Cooper Ornithology Society, Pacific Coast Avifauna 35, Berkeley, California. 1969.

SKUTCH, A.F. Do tropical birds rear as many young as they can nourish? Ibis 91: 430-455, 1949.

SKUTCH, A.F. Incubation and Nestlings Periods of Central American Birds. The Auk 62: 8-38, 1945.

SLAGSVOLD, T.; LIFJELD, J.T. Incomplete female knowledge of male quality may explain variation in patterns of extra-pair paternity in birds. Behavior 134: 353-371. 1997.

SLAGSVOLD, T. Clutch size variation of birds in relation to nest predation: on the cost of reproduction. Journal of Animal Ecology 53: 945-953, 1984.

SMITH, C.C. Polyandry and paternity in a wild population of the swordtail Xiphophorus nigrensis. Behavioral Ecology and Sociobiology 68(3): 415-424, 2014.

SONEGHET, M. Sobre a biologia reprodutiva do "com-com", Formicivora serrana littoralis (Formicariidae) na Ilha de Cabo Frio – Arraial do Cabo, RJ. Anais do Congresso Brasileiro de Ornitologia, Belém/PA, p. 18, 1991.

SNOW, D.W.; SNOW, B.K. Breeding seasons and annual cycles of Trinidad Land-birds. Zoologica 48: 1-12, 1964.

STAMPS, J.A. The effect of conspecifics on habitat selection in territorial species. Behavioral Ecology and Sociobiology 28: 29-36, 1991.

STAPLEY, J.; WHITING, M.J. Ultraviolet signals fighting ability in a lizard. Biology Letters 2(2): 169-172. 2006.

STOUFFER, P.C.; JOHNSON, E.I.; BIERREGAARD JR., R.O. Breeding seasonality in Central Amazonian Rainforest Birds. The Auk 130(3): 529-540. 2013.

STOUFFER, P.C. Density, territory size, and long-term spatial dynamics of a guild of terrestrial insectivorous birds near Manaus, Brazil. The Auk 124(1): 291-306. 2007.

STUTCHBURY, B.J.M.; WOOLFENDEN, B.E.; FEDY, B.C.; MORTON, E.S. Nonbreeding territorial behavior of two congeneric antbirds, Chestnut-backed Antbird (Myrmeciza exsul) and White-bellied Antbird (M. longipens). Ornitología Neotropical 16: 397-404. 2005.

STUTCHBURY, B.J.M.; MORTON, E.S. Behavioral Ecology of Tropical Birds. San Diego, Academic Press, 2001.

STUTCHBURY, B.J.M.; MORTON, E.S. The effect of breeding synchrony on extra-pair mating systems in songbirds. Behavior 132: 675-690. 1995.

SUMMERS, K. Essay on contemporary issues in ethology: dart-poison frogs and the control of sexual selection. Ethology, 91: 89-107. 1992.

SUTHERLAND, W.J. From Individual Behaviour to Population Ecology. Oxford: Oxford University Press, 1996.

SYSTAT 13. Reviewed in Scientific Computing. Versão 13.1. Disponível em: www.systat.com. 2009.

SWEDELL, L.; LEEDOM, L.; SAUNDERS, J.; PINES, M. Sexual conflict in a polygynous primate: costs and benefits of a male-imposed mating system. Behavioral Ecology and Sociobiology 68(2): 263-273, 2014.

TEIXEIRA, W.; CORDANI, U.G.; MENOR, E.A.; TEIXEIRA, M.G.; LINSKER, R. Arquipélago Fernando de Noronha – O Paraíso do vulcão. São Paulo, Terra Virgem, 167p., 2003.

THOMSON, R.L.; PAKANEN, V.; TRACY, D.M.; KVIST, L.; LANK, D.B.; RÖNKÄ, A.; KOIVULA, K. Providing parental care entails variable mating opportunity costs for male Temminck's stints. Behavioral Ecology and Sociobiology 68(5):701-710, 2014.

THOMPSON III, F.R.; DIJAK, W.D.; BURHANS, D.E. Video identification of predators at songbirds nests in old fields. The Auk 116: 259-264, 1999.

THOMPSON III, F.R.; BURHANS, D.E. Differences in predators of artificial and real songbird nests: evidence of bias in artificial nest studies. Conservation Biology 18(2): 373-380. 2004.

TOMAZ, V.C.; ALVES, M.A.S. Comportamento territorial em aves: regulação populacional, custos e benefícios. Oecologia brasiliensis, 13: 132-140, 2009.

TOMPA, F.S. Territorial behavior: the main controlling factor of a local song sparrow population. The Auk 79: 687-697.

TRIVERS, R.L. Parental investment and sexual selection. In: B. Campbell (Ed.). Sexual selection and the descent of man. Chicago, Aldine, 378p. 1972.

TURPIE, J.K. Non-breeding territoriality: causes and consequences of seasonal and individual variation in grey plover *Pluvialis squatarola* behavior. Journal of Animal Ecology 64: 429-438, 1995.

VERNER, J. On the adaptative significance of territoriality and population of the chipmunk in central New York. Journal of Mammalian, 34: 448-458, 1977.

YOM-TOV, Y. An updated list and some comments on the occurrence of intraspecific nest parasitism in birds. Ibis 143(1): 133-143. 2001.

YOSEF, R.; GRUBB, T.C. Resource dependence and territory size in loggerhead shrikes (Lanius ludovicianus). The Auk 111: 465-469. 1994.

ZAR,J.H. Biostatistical analysis. New Jersey: Prentice-Hall, 960p. 1984.

ZIMMER, K.J.; ISLER, M.L. Family Thamnophilidae (Typical antbirds). Barcelona: Lynx Edicons. Volume 8, 845p. 2003.

ZIMMER, K.J. Behaviour and vocalizations of the Caura and the Yapacana Antbirs. The Willson Bulletin 111(2): 195-209. 1999.

WAAGE, J.K. Parental investment – minding the kids or keeping control? In: Gowaty, P.A. (ED.) Feminism and Evolutionary Biology: boundaries, interactions, and frontiers. Chapman and Hall, New York. 1997.

WATSON, A.; MOSS, R. A current model of population dynamics in red grouse. Proceedings International Ornithological Congress, 15th, pp. 134-149, 1972.

WEATHERHEAD, D.F. Parental care and extra-pair copulations in the indigo bunting. The Auk 105: 149-160. 1988.

WESTERSKOV, K. Methods for determining the age of game bird eggs. The Journal of Wildlife Management 14(1): 56-67, 1950.

WESTNEAT, D.F.; GRAY, E.M. Breeding synchrony and extrapair fertilizations in two populations of Red-winged Black-birds. Behavioral Ecology, 9: 456-464. 1998.

WESTNEAT, D.F.; SHERMAN, P.W. Density and extra-pair fertilizations in birds: a comparative analysis. Behavioral Ecology and Sociobiology, 41: 205-215. 1997.

WESTNEAT, D.F., SHERMAN, P.W. & MORTON, M.L. The ecology and evolution of extra-pair copulations in birds. In: Current Ornithology. Plenum Press, New York. Pp. 331-369. 1990.

WEASTNET, D.F. Genetic parentage in the indigo bunting: a study using DNA fingerprinting. Behavioural Ecology and Sociobiology 27: 67-76, 1990.

WHITE, F.N.; KINNEY, J.L. Avian incubation. Science 186: 197-215, 1974.

WHITE, G.M.; BOSHIER, D.H.; POWELL, W. Genetic variation within a fragmented population of Swietenia humilis Zucc. Molecular Ecology 8: 1899-1909, 1999.

WHITTINGHAM, L.A.; DUNN, P.O. Effects of extra-pair and within-pair reproductive success on the opportunity for selection in birds. Behavioural Ecology 16: 138-144. 2005.

WIENS, J.A.; ROTENBERRY, J.T.; VAN HORNE, B. Territory size variations in shrubsteppe birds. The Auk 102(3): 500-505. 1985.

WIENS, J.A.; ROTENBERRY, J.T. Patterns of Morphology and Ecology in grassland and shrubsteppe bird populations. Ecological Monographs 50(3): 287-308. 1980.

WIENS, J.A. Interterritorial habitat variation in Grasshopper and Savannah sparrows. Ecology 54: 877-884. 1973.

WILLIS, E.O.; ONIKI, Y. Birds of a Central São Paulo Woodlot: banded species, p. 69-92. In: J.L.B. ALBUQUERQUE; J.F. CANDIDO JR.; F.C. STRAUBE; A.L. ROOS (eds). Ornitologia e Conservação da Ciência as estratégias. Editora Unisul, 341p.

WILLIS, E.O.; ONIKI, Y. Nesting of the Rusty-backed Antwren, Formicivora rufa (Wied, 1831) (Aves, Formicariidae). Revista Brasileira de Biologia 48(3): 635-637, 1988.

WILLIS, E.O.; ONIKI, Y. Birds and army ants. Annual Review in Ecology and Systematics 9: 243-263. 1978.

WILLIS, E.O.; ONIKI, Y. Ecology and nesting on the Chestnut-backed Antbird (Myrmeciza exsul). The Condor 74: 87-98. 1972.

WILLSON, S.K. Obligate army-ant-following birds: a study of ecology, spatial movement patterns, and behavior in Amazonian Peru. Ornithological Monographs 55: 1-67. 2004.

WILLSON, M.F.; MORRISON, J.L.; SIEVING, K.E.; SANTO, T.L.; SANTISTEBAN, L.; DÍAZ, I. Patterns of predation risk and survival of birds nests in a Chilean Agricultural Landscape. Conservation Biology 15(2): 447-456, 2001.

WILSON, E.O. Sociobiology: the new synthesis. Massachussets, Belknap, Harvard University Press, Cambridge, 366p. 1975.

WOLF, L.L. Female territoriality in a tropical hummingbird. The Auk, 86: 490-504, 1969.

WOLTMANN, S.; TERRILL, R.S.; MILLER, M.J.; BRADY, M.L. Chestnut-backed Antbird (Myrmeciza exsul). Neotropical Birds Online (T.S. Schulenberg, Editor). Ithaca: Cornell Lab of Ornithology.http://neotropical.birds.cornell.edu 2010.

ANEXO A – Artigo publicado referente à tese

Anais da Academia Brasileira de Ciências (2013) 85(2) 547-552

(Annals of the Brazilian Academy of Sciences)

Printed version ISSN 0001-3765 / Online version ISSN 1678-2690

www.scielo.br/aabc

Nests, Eggs, and Nestlings of the Restinga Antwren *Formicivora littoralis* (Aves: Thamnophilidae)

FLÁVIA G. CHAVES, MAURÍCIO B. VECCHI², THIAGO F.S. LAURINDO³ and MARIA ALICE S. ALVES ^{1,2}

Programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução, Departamento de Ecologia,
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Rua São Francisco Xavier, 524, 20550-011 Rio de Janeiro, RJ, Brasil
Departamento de Ecologia, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes,
Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua São Francisco Xavier, 524, 20550-011 Rio de Janeiro, RJ, Brasil
Iniciação Científi ca, Departamento de Ecologia, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes,
Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua São Francisco Xavier, 524, 20550-011 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Manuscript received on June 28, 2011; accepted for publication on October 10, 2011 ABSTRACT

We describe the nest, eggs, and nestlings of the Restinga Antwren (*Formicivora littoralis*), an endangered bird of Restinga ecosystem (sandy coastal plain vegetation) that is endemic to Rio de Janeiro state. Twelve nests were found at the edges of trails or natural gaps at Massambaba Restinga region, in different supporting plants and heights from the ground ($X \pm SD 1.27 \pm 0.97$ m, range 0.27 to 3.45 m). Nests were cup-shaped and were in horizontal forks attached to branches at three to fi ve points with whitish, soft, and thin cotton-like vegetable fi ber. The nests' cup shape and measurements were similar to congeneric species, but nest material was different. Eggs were white with brown spots concentrated on the large end or around the middle, giving the appearance of a rough brown ring. Their mean (\pm SD) minimum diameter was 13.1 \pm 0.34 mm, with maximum diameter of 18.0 \pm 0.38 mm, and mass of 1.7 \pm 0.18 g (= 8). We found two nestlings completely naked on their fi rst day after hatching

Key words Atlantic Forest, Brazil, breeding, conservation, endemic, Passeriformes

INTRODUCTION

The genus *Formicivora*| is comprised of seven species restricted to Central and South America (Zimmer and Isler 2003), two of which are considered Globally Endangered (IUCN 2012): Black-hooded Antwren (*F. arythronotos*) and Restinga Antwren (*F. littoralis*). Nests of species of this genus have been described as: *F. grisea*| (Pinto 1953), *F. erythronotos*| (E.C. Mendonça, unpublished data), *F. rufa* (Willis and Oniki 1988), and *F. melanogaster* (Zimmer and Isler 2003)

Correspondence to: Maria Alice dos Santos

Alves E-mail: masaal@globo.com

Formicivora littoralis is considered the only bird endemic to the Restinga habitat (sandy coastal plain vegetation) (Gonzaga and Pacheco 1990). This species has a small range, only inhabiting the area in the state of Rio de Janeiro between the municipalities of Saquarema and Armação dos Búzios (Mattos et al. 2009). The little scientifi c information about this species in the literature mostly addresses its ecology, conservation, and distribution (Gonzaga and Pacheco 1990, Tobias and Williams 1996, Vecchi and Alves 2008). Mattos et al. (2009) have recently presented

FLÁVIA G. CHAVES, MAURÍCIO B. VECCHI, THIAGO F.S. LAURINDO and MARIA ALICE S. ALVES

more detailed information on the distribution and abundance estimates of this species. Our objective is to present a description of the nests, eggs, and nestlings of the Restinga Antwren.

MATERIALS AND METHODS

STUDY AREA

548

Our field work was conducted at Massambaba Restinga (22° 56' 21.9" S, 42° 17' 58.0" W), District of Praia Seca in the municipality of Araruama, state of Rio de Janeiro, Brazil. Massambaba Restinga is pristine area of restinga habitat mostly included in *Parque Estadual da Costa do Sol*, a recently created state reserve. This area is composed of scrub and arboreal vegetation (~ 1-7 m height), which is rich in bromeliads and cacti.

We searched monthly for nests throughout 2008, 2010 and 2011 (January to June), using 17 hand-made trails due to the difficulty in penetrating the scrub and dense vegetation. Nest measurements, taken just after the nestlings fledged, were: external and internal diameters, height, depth and weight. Branches of the plants used to support the nests were collected for identifi cation. Egg measurements included weight and minimum diameter. and maximum Nestling measurements only included body mass.

Nest, egg, and nestling measurements were made with calipers (precision 0.1 mm) and a scale (Pesola® with 0.1 g precision); height of nests above ground were scored using a tape measure (precision 1 cm).

RESULTS

NEST DESCRIPTION

We found 12 nests at edges of trails or natural gaps (usually less than 5 m from the trail), in various supporting plants and heights (Table I). Nests 1 to 12 were found on, respectively: May 20, August 23, November 20 (2008), June 17, September 5, September 12, October 23 and 24 (two nests) (2010), May 26 and June 15 (two nests) (2011). All nests were active when found (egg or nestling stages), except one nest found during the nest building

stage (Table I). As we could not ensure if this nest was completely built we did not measure its diameters and depth. The nests were cup-shaped and were attached in horizontal forks from three to fi ve points (Fig. 1). Nests were attached to the branches with a soft, whitish, thin cottonlike vegetable fi ber. This same material was used in different proportions to attach the nest. All nests were under branches of shrubs or trees, that provided partial protection from the sun and rain. They were externally constructed with light brown branches and fi ne fi bers, many of which were of the cactus Pilosocereus arrabidae (Cactacea). Internally, the nests were darker, composed of fi ne dark brown and black tangled vines. Some nests had pieces of dry leaves, bark (some with lichens), cobwebs, and insect pupas. The nests measured (x \pm SD): 1.27 \pm 0.97 m in height (in relation to the ground), $73.7 \pm$ 8.79 mm external diameter, 61.4 ± 5.43 mm internal diameter, 57.0 ± 19.33 mm internal depth, and had a mass of 4.25 \pm 1.0 g.

EGG DESCRIPTION

The number of eggs (all oval n=8) in shaped, the nests varied from one (n=2) to two

(n = 3). The eggs were white with brown spots concentrated on the large end or close to the middle, giving the appearance of a rough brown ring (Fig. 2). Their mean \pm SD minimum diameter was 13.1 \pm 0.38 mm with a maximum diameter of 18.0 \pm 0.34 mm, and mass of 1.7 \pm 0.18 g (= 8).

NESTLING DESCRIPTION

We found nestlings in different stages, including two on the day of hatching. These two nestlings were born completely naked with closed eyes (Fig. 2) and yellow bills. Both nestlings were in the same nest and weighed 5 and 6 g, respectively.

An Acad Bras Cienc (2013) 85 (2)

TABLE I
Supporting plants and nest measurements of Formicivora littoralis in Massambaba
Restinga, Rio de Janeiro, Brazil. ED = external diameter; ID = internal diameter.

Nest	Plant support (Family)	Measurements				
		Height (m)	ED (mm)	ID (mm)	Depth (mm)	Weight (g)
	Erythroxylum subrotundum (Erytroxylaceae)	0.87	56.9	54.2	70	
2	Zollernia glabra (Leguminosae)	2.76	75.3	63.7	60	3.5
3	Arrabidae conjugata (Bignoniaceae)	1.45	78.5	65.0	110	5.0
4	Chrysophyllum lucentifolium (Sapotacea)	1.63	77.4	65.5	45	
5	Justicia brasiliana (Acanthaceae)	0.27	69.9	61.1	55	
6	Trichilia casaretti (Meliaceae)	0.67	79.9	65.0	45	
7	Myrrhinium atropurpureum (Myrtaceae)	0.91	63.0	54.0	55	
8	Aspidosperma parsifolium (Apocynaceae)	1.45	76.0	60.0	49	
9	Cyanophalla fl exuosa (Capparaceae)	1.08	74.0	57.5	44	
10	Chrysophyllum lucentifolium (Sapotacea)	0.39	70.0	58.0	43	
11	Eugenia umbellifl ora (Myrtacea)	3.45				
12	Justicia brasiliana (Acanthaceae)	0.40	90.0	72.0	52	



Fig. 1 - Formicivora littoralis nest. Photograph by Flávia Chaves

DISCUSSION

Nests of the Restinga Antwren were similar to the form (cup) of other species of the family. We followed Simon and Pacheco (2005), and categorized the cup form as low cup/fork, because the external height was less than the external diameter

The nests varied from 0.27 to 3.45 m in height above ground level with the majority (= 9) above 0.5 m. M. Soneghet (unpublished data) provided a minimal amount of information on nest height of

this species (1.7 to 2.1 m, = 3). Besides that, C.H.P. Oliveira (unpublished data) and also A.Q. Navegantes (unpublished data) found only one nest each close to the soil level (~ 0.5 m or less) (Table II). Nests of *Formicivora* vary in terms of height. Data for *F. grisea* (Silva 1988; = 1), *F. rufa* (Willis and Oniki 1988; = 1), *F. melanogaster* (Zimmer and Isler 2003; = 2), and *F. erythronotos* (E.C. Mendonça, unpublished data; = 19) indicate nests are found on average 0.55 m from the ground. All nests of



Fig. 2 - Formicivora littoralis egg and first day nestling. Photograph by Luiz Freire

F. erythronotos, despite the comparatively high sampled number, were less than 1 m above ground. Our data are similar to those for congeneric species (Table II). There was no apparent relation between nest building and supporting plants. Despite all nests were found near trails and natural gaps, it is not clear if there was microhabitat selection for nesting sites because dense and imbricated vegetation makes searching for nests in inner patches very difficult.

We found some differences between *F. littoralis* and congeneric species *F.erythronotos* and *F. grisea*, in terms of nest composition. For the latter, E.C. Mendonça (unpublished data) and Silva (1988) reported the presence of bryophytes in the external area of the nests. This material wasabsent in the 12 nests we found in the present study. The dried and dead leaves, lichens, and thecotton-like material we found in *F. littoralis* nestswere not recorded for *F. erythronotos F. grisea*

TABLE II

Nest measurements of the genus *Formicivora*. ED = external diameter; ID = internal diameter. The measurements are given in averages, except for M. Soneghet 1991 (unp. data) (range).

* For F. erythronotos, n = 19 (height, ED), 18 (ID) and 20 (depth).

Species	Н	eight (m)	ED (mm)	ID (mm)	Depth (mm)	Reference
F. littoralis	12	1.27	73.7	61.4	57.0	Present study
F. littoralis	3	1.7 - 2.1	80 - 90	60 - 70	50 - 60	M. Soneghet (unp. data)
F. littoralis		< 0.5	87 x 67	63 x 51	48	A.Q. Navegantes (pers. comm.)
F. littoralis		0.54				C.H.P. Oliveira (unp. data)
F. grisea		0.5	90 x 70		75	Silva 1988
F. rufa		0.2	70	60	48	Willis and Oniki 1988
F. erythronotos		0.53	68	51	49	E.C. Mendonça (unp. data)
F. melanogaster	2	0.16	60		30	Zimmer and Isler 2003

NESTS, EGGS, AND NESTLINGS OF THE RESTINGA ANTWREN

TABLE III

Mean egg measurements in Formicivora

* not reported.

Species	I	Max M	lin	Reference
F. littoralis	8	18.0	13.1	Present study
F. littoralis		21.5	14	M. Soneghet (unp. data)
F. grisea	5	18	13	Pinto 1953
F. rufa		20	14	Willis and Oniki 1988
F. erythronotos	35	13.7	13.2	E.C. Mendonça (unp. data)

The eggs in our study were similar in coloration, patch distribution, and measurements of congeneric species. The maximum diameter of *F. littoralis* eggs was slightly larger than that of

F. erythronotos (Table III)

Two nestlings were found on the fi rst day after hatching. They were completely naked, contradicting M. Soneghet (unpublished data), who reported that nearly hatched nestlings were covered by a dark brown plumage, similar to the female plumage. It is possible that Soneghet had found nestlings a few days after hatching. There is no information available about this issue for other species of *Formicivora*

This article provides valuable information on nests, eggs and nestlings of a Critically Endangered species, *Formicivora littoralis* The original information we presented in this paper is important to understand life history strategies and demography of the species. It certainly will contribute for increase the knowledge on the ecology of *F. littoralis* and help to support future actions in terms of its conservation.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank Fabio Silva, Vera Pittigliani, Reynaldo Fortes and Luzia Fortes for logistical support and friendship. Clinton N. Jenkins helped with the revision in English. Several colleagues of the Laboratório de Ecologia de Aves (DECOL/UERJ) helped with the fi eld work. SAVE Brasil and Conservation International Brazil for financial support, as well as Cyl Farney C. Sá and Adriana C. Sá (Botanical Garden of Rio de Janeiro) for plant species identifi cation. Luiz Freire kindly provided

551

the photograph of Fig. 2. Idea Wild donated equipment and government for research scholarships for authors (CNPq for F. G. C., M. A. S. A. – process 148581/2010-2 and 308792/2009-2, respectively, and FAPERJ for M. B. V. – process E-26/100.162/2008), and also a grant to M. A. S. A. (process no. E-26/102.837/2012).

RESUMO

Nós descrevemos ninho, ovos e ninhegos do formigueiro-do-litoral (Formicivora littoralis), uma ave ameaçada do ecossistema de Restinga (vegetação de planícies arenos as costeiras) que é endêmica do Estado do Rio de Janeiro. Doze ninhos foram encontrados nas bordas de trilhas ou clareiras naturais na região da Restinga da Massambaba, em diferentes plantas suporte e alturas sobre o solo (X \pm DP 1,27 \pm 0,97 m, amplitude 0,27 a 3,45 m). Os ninhos tiveram forma de cesto e estavam em forquilhas horizontais, presos a galhos em três a cinco pontos com fibra vegetal esbranquiçada, macia e fina, semelhante a algodão. A forma de cesto e as medidas dos ninhos foram semelhantes às de espécies congêneres, mas o material do ninho foi diferente. Os ovos foram brancos com manchas marrons concentradas na extremidade mais larga ou na porção mediana, dando a aparência de um anel rudimentar marron. A média ± DP do diâmetro menor foi 13.1 ± 0.34 mm, com diâmetro máximo de 18.0 ± 0.38 mm, e massa de 1.7 ± 0.18 g (= 8). Nós encontramos dois ninhegos completamente nús, em seu primeiro dia de nascidos.

Palavras-chave Mata Atlântica, Brasil, reprodução,

conservação, endemismo, Passeriformes

REFERENCES

GONZAGA LP AND PACHECO JF 1990 Two new subspecies of Formicivora serrana (Hellmayr) from southeastern Brazil, and notes on the type locality of Formicivora deluzae Ménétries. Bull B O C 110: 187-193.

IUCN [ONLINE]. 2012 IUCN Red List of Threatened Species Version 2010.2. www.iucnredlist.org (07 May 2013).

MATTOS JCF VALE MM VECCHI MB AND ALVES MAS 2009

Abundance, distribution and conservation of the Restinga Antwren *Formicivora littoralis* (Aves: Thamnophilidae). Bird Conserv Intern 19: 392-400

PINTO OMO 1953 Sobre a coleção Carlos Estevão de peles, ninhos e ovos de Belém, Pará. Pap Avulsos Zool 11: 113-224 SILVA JMC 1988 Aspectos da Ecologia e Comportamento de Formicivora g.grisea (Boddaert, 1789) (Aves: Formicariidae)

em ambientes amazônicos. Rev Bras Biol 48: 797-805

SIMON JE AND PACHECO S 2005 On the standardization of nest descriptions of neotropical birds. Rev Bras Ornit 13: 143-154

TOBIAS JA AND WILLIAMS RSR 1996

Threatened *Formicivora* antwrens of Rio de Janeiro State, Brazil. Cotinga 5: 62-66

VECCHI MB AND ALVES MAS 2008 New records of the Restinga

Antwren Formicivora littoralis Gonzaga and Pacheco (Aves, Thamnophilidae) in the state of Rio de Janeiro, Brazil: inland extended range and threats. Braz J Biol 68: 391-395 WILLIS EO AND ONIKI Y 1988 Nesting of the Rusty-backed Antwren, Formicivora rufa (Wied 1831) (Aves, Formicariidae).

Rev Bras Biol 48: 635-637
ZIMMER KJ AND ISLER ML 2003 Family
Thamnophilidae (typical antbirds). In: DEL HOYO J,
ELLIOTT A AND CHRISTIE DA (Eds), Handbook of the
birds of the world, Lynx Editions, Barcelona, Spain, p.
448-68.

An Acad Bras Cienc (2013) 85 (2)

ANEXO B - Protocolo de extração do DNA por acetato de amônia

- 1. Usar um tubo tipo eppendorf de 1,5 ul
- Adicionar 250 ul de tampão de digestão (20mM EDTA + 50Mm Tris + 120mM NaCl + 1% SDS) e 10 ul de Proteinase K (10 mg/ml)
- 3. Adicionar 50 ul de sangue aproximadamente
- 4. Submeter ao vórtex
- 5. Digerir à 37°C ou 55°C com agitação no mínimo de 4h
- 6. Adicionar 300 ul de solução de acetato de amônia (4M)
- 7. Submeter ao vórtex
- 8. Deixar em temperatura ambiente por 30 min e submeter ao vórtex regularmente
- 9. Submeter a amostra a uma centrifugação de 13000 rpm por 10 min
- 10. Derramar o sobrenadante em um tubo tipo *eppendorf* limpo de 1,5 mL
- 11. Adicionar dois volumes de etanol absoluto
- 12. Se ainda estiver muito suja a solução, adicionar mais etanol
- 13. Misturar cuidadosamente (DNA geralmente é visível nesse estágio)
- 14. Submeter a amostra a uma centrifugação de 13000 rpm por 15 min
- 15. Derramar o sobrenadante com cuidado para não perder o pellet
- 16. Adicionar 1mL de etanol 70%
- 17. Submeter a amostra a uma centrifugação de 13000 rpm por 15 min
- 18. Derramar o álcool de uma só vez
- 19. Deixar secar naturalmente por 30 min
- 20. Adicionar 250 ou 100 ul de TE (Tris 10mM, EDTA 1 mM)
- 21. Colocar em geladeira overnight
- 22. Dissolver em banho-maria 37°C.

ANEXO C – Protocolo de preparo da reação multiplex para análise de paternidade por dna em *formicivora littoralis*

Reação de PCR – Multiplex 1				
H ₂ O	6.2			
PCR Buffer (10x)	1			
MgCl ₂ (1.5mM)	0.6			
FoLi20-F (10uM)	0.15			
FoLi20-R (10uM)	0.15			
FoLi4-F (10uM)	0.15			
FoLi4-R (10uM	0.15			
FoLi7-F (10uM)	0.15			
FoLi7-R (10uM)	0.15			
dNTPs (10mM)	0.2			
Taq (Jumpstart) 2.5U/ul	0.1			
DNA	1μl			
Total por amostra	10μL			