

DAIANE DINIZ SOBOTKA

COMPORTAMENTO DE CASAIS E ESTUDO DE PATERNIDADE EM UMA
PARCELA DA POPULAÇÃO DE BICUDINHOS-DO-BREJO (*Stymphalornis
acutirostris* – THAMNOPHILIDAE – AVES), EM GUARATUBA, PARANÁ,
BRASIL

Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-graduação em Ecologia e
Conservação, do Setor de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do
Paraná, como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em
Ecologia e Conservação.

Orientador: Dr. Marcio Roberto Pie

Co-orientadora: Dra. Bianca Luiza
Reinert

CURITIBA
2011

DAIANE DINIZ SOBOTKA

COMPORTAMENTO DE CASAIS E ESTUDO DE PATERNIDADE EM UMA
PARCELA DA POPULAÇÃO DE BICUDINHOS-DO-BREJO (*Stymphalornis
acutirostris* – THAMNOPHILIDAE – AVES), EM GUARATUBA, PARANÁ,
BRASIL

Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-graduação em Ecologia e
Conservação, do Setor de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do
Paraná, como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em
Ecologia e Conservação.

Orientador: Dr. Marcio Roberto Pie

Co-orientadora: Dra. Bianca Luiza
Reinert

CURITIBA
2011

Dedico este trabalho aos meus pais, Claudinei Sobotka e Elenice D. Sobotka, por me ensinarem a lutar pelos meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida.

Aos meus orientadores, Dr. Marcio R. Pie e Dra. Bianca L. Reinert, pela orientação concedida durante todo o processo de elaboração deste trabalho e amizade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de pesquisa (Processo 2010184709947).

Aos membros da banca avaliadora, Dra. Carla Suertegaray Fontana, Dr. José Francisco de Oliveira Neto e Dr. Luiz Fernando Ribeiro, pelas contribuições de grande valia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Paraná (UFPR), pela oportunidade de desenvolver esse estudo.

À secretária Valéria Romeiro, pela grande eficiência e paciência.

Aos meus pais, Claudinei Sobotka e Elenice D. Sobotka, que mesmo sem entenderem meu trabalho me incentivaram e mostraram que com um pouco de paciência tudo se resolve. Muito obrigada pai e mãe por todo o carinho do mundo.

Aos meus irmãos, Patrick D. Sobotka e Priscila D. Sobotka, e meu cunhado, Carlos Alberto Becher Jr., por todas as risadas e pelo carinho enorme. E á toda minha família que me apoiou, em especial meus avós, Pedro Sobotka, Iracema Sobotka, Getúlio Diniz e Ana Maria Diniz. Agradeço também a meu tio Sérgio Sobotka, por todo apoio e pelos convites de férias que eu não pude usufruir. Agora eu posso, tio!

À equipe de trabalho, Dra. Bianca L. Reinert, MsC. Marcos R. Bornschein, Ricardo Belmonte-Lopes e MsC. Leandro Corrêa, por tornarem os campos mais divertidos, mas sem deixar o trabalho de lado.

A Ricardo Belmonte-Lopes, pelas correções e fotos concedidas.

A MsC. Marcos R. Bornschein, pelas sugestões e correções.

Agradeço em especial à Dra. Bianca L. Reinert, pela grande força e carinho. Saiba que eu espero ter a sua garra em todos os momentos da minha vida.

À todas as pessoas de Riozinho, em especial ao Ailton Degues e sua esposa Leonilda Degues, pela grande dedicação e amizade.

Aos amigos do Laboratório de Dinâmica Evolutiva e Sistema Complexos, em especial Carina Firkowski, pela ajuda fundamental e paciência durante as análises laboratoriais.

Ao Mater Natura – Instituto de Estudos Ambientais, pelo apoio ao projeto bicudinho-do-brejo.

Aos meus grandes amigos Alyne Chagas, Cristiane Costa, Dayane G. Peres, Francieli Matos, Hugo U. Batista, Ivan Santos e Johnny Schlichting, que em todos os momentos me alegraram e me deram forças.

À Dra. Angelica K. Uejima, por me mostrar a beleza de trabalhar com aves.

A Christoph P. Hrdina e esposa, Kitty Harvill, pelo auxílio na compra de equipamentos de campo.

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Centro Nacional de Pesquisa para Conservação das

Aves Silvestres (CEMAVE) e Instituto Ambiental do Paraná (IAP), pelas licenças de pesquisa concedidas.

Ao Laboratório de Molecular Dra. Danúcia Urban, em especial à Paula Borges, pela eficiência, paciência e apoio.

Ao Laboratório de Genética de Microrganismos, em especial à professora Chirlei Glienke, pelo empréstimo dos pentes, imprescindíveis para correr os géis.

A todas aquelas demais pessoas que de alguma forma me auxiliaram e torceram por mim e que aqui esqueci de mencionar.

SUMÁRIO

<u>Resumo.....</u>	<u>1</u>
<u>Main Abstract.....</u>	<u>2</u>
<u>Introdução geral.....</u>	<u>3</u>
<u>Família Thamnophilidae.....</u>	<u>6</u>
<u>A espécie.....</u>	<u>7</u>
<u>Referências.....</u>	<u>9</u>
<u>Capítulo 1: Comportamento de casais em uma espécie endêmica da Floresta Atlântica, o bicudinho-do-brejo (<i>Stymphalornis acutirostris</i>).....</u>	<u>15</u>
<u>Resumo.....</u>	<u>16</u>
<u>Abstract.....</u>	<u>17</u>
<u>Introdução.....</u>	<u>18</u>
<u>Métodos.....</u>	<u>19</u>
<u>Área de estudo.....</u>	<u>19</u>
<u>Espécie em estudo.....</u>	<u>20</u>
<u>Comportamento do casal.....</u>	<u>21</u>
<u>Resultados.....</u>	<u>22</u>
<u>Discussão.....</u>	<u>27</u>
<u>Referências.....</u>	<u>31</u>
<u>Capítulo 2: Sistema de reprodução e fertilização extra-par em bicudinhos-do-brejo (<i>Stymphalornis acutirostris</i>).....</u>	<u>35</u>
<u>Resumo.....</u>	<u>36</u>
<u>Abstract.....</u>	<u>37</u>
<u>Introdução.....</u>	<u>38</u>
<u>Métodos.....</u>	<u>40</u>
<u>Área de estudo.....</u>	<u>40</u>
<u>Espécie em estudo.....</u>	<u>41</u>
<u>Observação em campo e coleta de material genético.....</u>	<u>42</u>
<u>Extração de DNA.....</u>	<u>43</u>
<u>Amplificação com Sequências Internas Simples Repetidas (ISSR).....</u>	<u>43</u>
<u>Parentesco.....</u>	<u>44</u>
<u>Sincronismo.....</u>	<u>45</u>

<u>Resultados.....</u>	<u>45</u>
<u>Discussão.....</u>	<u>53</u>
<u>Referências.....</u>	<u>56</u>

Resumo

Estabilidade de casais é a base para as teorias sobre diferenças ecológicas entre áreas temperadas e tropicais. Quando o casal protege o território por longo tempo, o sistema territorial e reprodutivo é chamado de monogamia estável. Muitas aves socialmente monogâmicas realizam cópulas com um indivíduo que não é seu parceiro social, de forma a serem chamadas cópulas extra-par. O conceito de monogamia foi redefinido devido à aplicação de técnicas moleculares, sendo considerado atualmente como uma complexa interação de conflitos de interesses entre machos e fêmeas. A troca na composição do casal pode favorecer a aptidão individual, contribuindo para que o indivíduo se estabeleça em um local com qualidade superior. Foram obtidos dados demográficos de quase cinco anos de estudo e amostras genéticas de uma população anilhada de *Stymphalornis acutirostris*, uma espécie endêmica da Floresta Atlântica e ameaçada de extinção do litoral sul do Brasil. Mudanças na composição dos casais foram comuns e houve casos de paternidade extra-par em quatro de 30 filhotes analisados. O índice de sincronismo reprodutivo foi alto e a taxa de cópula extra-par foi baixa. A alta similaridade genética encontrada entre todos os adultos, mostra um alto grau de parentesco na população estudada. O grande número de mudanças na composição dos casais contribui para a variabilidade genética, mas pode relacionar-se com a baixa disponibilidade de alimento e/ou a baixa capacidade reprodutiva. A baixa taxa de fertilização extra-par contribuiu para seu alto índice de similaridade na espécie, o que indica reduzida variabilidade genética e consequentemente implica em preocupação para sua conservação no futuro.

Main Abstract

Pair stability is the base to theories about ecological differences between tropical and temperate areas. When the couple defends a territory for a long time, its territorial and reproductive system is denominated as stable monogamy. Many socially monogamous birds make copulations with individuals other than its social pair, being named as extra pair copulations. The monogamy concept was redefined due to the application of molecular techniques, and currently it is considered as a complex interaction of conflicting interests between males and females. Changes in couple composition can favor the individual fitness, contributing for the individual establishment in an area with superior quality. Demographic data from almost five years and genetic samples were obtained from a banded population of *Stymphalornis acutirostris*, an Atlantic Forest endemic specie restricted to southern Brazil coast and threatened of extinction. Changes in pair composition were common, with cases of extra pair paternity in four of 30 nestlings analyzed. The breeding synchrony index was high and the rate of extra-pair copulations was low. The high similarity genetic similarity found between all adults sampled a high kinship degree in the studied population. The great number of changes in pair composition contributes to the species genetic variability, but could be related to with low food availability and/or to with low reproductive capacity. The low rate of extra pair fertilization contributed for the high index of similarity in the specie, indicating a reduced genetic variability and consequently denoting concern by its conservation in the future.

Introdução geral

A estabilidade encontrada na formação de um par durante todo o ano é comum em populações de aves de áreas tropicais (*e.g.* WILLIS & ONIKI 1972, GREENBERG & GRADWOHL 1986, MORTON *et al.* 2000, FEDY & STUTCHBURY 2004). Essa permanência de casais continua sendo a base para as teorias sobre diferenças ecológicas entre aves de áreas tropicais e temperadas (*e.g.* CODY 1966). Defender uma área por um longo período é comum em espécies tropicais (BUSKIRK 1976). Em passeriformes do norte temperado, esse tipo de comportamento é raro, pois a maioria das espécies defende o território somente no período reprodutivo (FEDY & STUTCHBURY 2004). Quando o casal protege o território por um longo tempo, o sistema territorial e reprodutivo é chamado de monogamia estável (FREED 1987). Poucos estudos foram realizados sobre composição de casais com a avifauna, limitando-se a algumas espécies especialmente na América Central (*e.g.* WILLIS 1967, 1972, GREENBERG & GRADWOHL 1985, 1986, FEDY & STUTCHBURY 2004), e essa carência possivelmente refere-se à dificuldade em realizar monitoramentos de longo prazo.

Um dos fatores que influenciam na estrutura genética das populações é a relação de parentesco entre os indivíduos de uma população natural (MIÑO 2006). Aspectos da biologia das espécies podem ser esclarecidos com estudos de parentesco, como por exemplo o comportamento reprodutivo (MIÑO 2006). A aplicação recente da genética molecular à investigação dos sistemas de acasalamento e parentesco entre indivíduos tem fornecido grande quantidade de informações acerca da biologia de muitos organismos (KEMPENAERS *et al.* 1992, MIÑO 2006, BROMMER *et al.* 2007).

Muitas aves socialmente monogâmicas realizam cópulas com um indivíduo que não é o seu parceiro social, chamadas cópulas extra-par (CEP) (GRIFFITH *et al.* 2002). Conseqüentemente, a prole pode conter tanto filhotes do par social (FPS) e filhotes extra-par (FEP) (GRIFFITH *et al.* 2002). Desde o desenvolvimento de ferramentas moleculares necessárias para atribuir a prole aos seus pais, a quantificação do FEP tem sido fundamental no estudo da dinâmica do acasalamento (GRIFFITH *et al.* 2002, WESTNEAT & STEWART 2003).

Devido a necessidade de explorar repetições de microssatélites sem utilizar o sequenciamento de DNA, foi desenvolvido um método denominado Sequências Internas Simples Repetidas (ISSR) (ZIETKIEWICZ *et al.* 1994). O princípio da técnica é baseado na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e envolve amplificação de segmentos de DNA entre duas regiões repetidas invertidas de microssatélite (GODWIN *et al.* 1997). Sequências Internas Simples Repetidas é uma técnica simples, rápida e eficiente e devido ao uso de *primers* longos, os produtos amplificáveis apresentam alta reprodutibilidade (BORNET & BRANCHARD 2001, REDDY *et al.* 2002).

Por causa da abundância de regiões repetidas invertidas de microssatélites no genoma, o ISSR tem sido muito utilizado para estudar relações entre duas populações muito próximas (HUANG & SUN 2000, DESHPANDE *et al.* 2001), como em estudos de genética de populações (GUPTA *et al.* 1994), na avaliação da variabilidade genética em melhoramento de plantas (MCGREGOR *et al.* 2000) na detecção de hibridização em aves, répteis e plantas (WOLFE *et al.* 1998, WINK *et al.* 2001, DIETZEN *et al.* 2007) e na verificação de parentesco em aves (HAIG *et al.* 2003).

Stymphalornis acutirostris (Figura 1) é descrito como socialmente monogâmico, embora essa informação baseia-se apenas em observações comportamentais em campo (REINERT 2008). O acompanhamento da composição de casais de parcela da população na baía de Guaratuba, estudada em duas estações reprodutivas (REINERT 2008), possibilitou o conhecimento dos indivíduos presentes no sítio de estudo, facilitando a coleta de amostras de material genético das famílias completas.



Figura 1. Casal de bicudinhos-do-brejo (*Stymphalornis acutirostris*) (macho à esquerda), baía de Guaratuba, litoral sul do Paraná. Fotos: Ricardo Belmonte-Lopes.

No presente estudo, foi analisado o sistema de acasalamento de *S. acutirostris* em uma parcela da população da espécie na baía de Guaratuba, litoral sul do Paraná (Figura 2), utilizando marcadores moleculares. Caso o parentesco entre os ninhegos esteja dentro do valor teórico esperado para irmãos-completos, a hipótese de monogamia genética será confirmada. Entretanto, se esses valores diferirem significativamente do esperado para indivíduos relacionados em primeiro grau, a hipótese de monogamia genética não será corroborada, e outras causas para explicar os valores observados devem ser consideradas (MIÑO 2006).

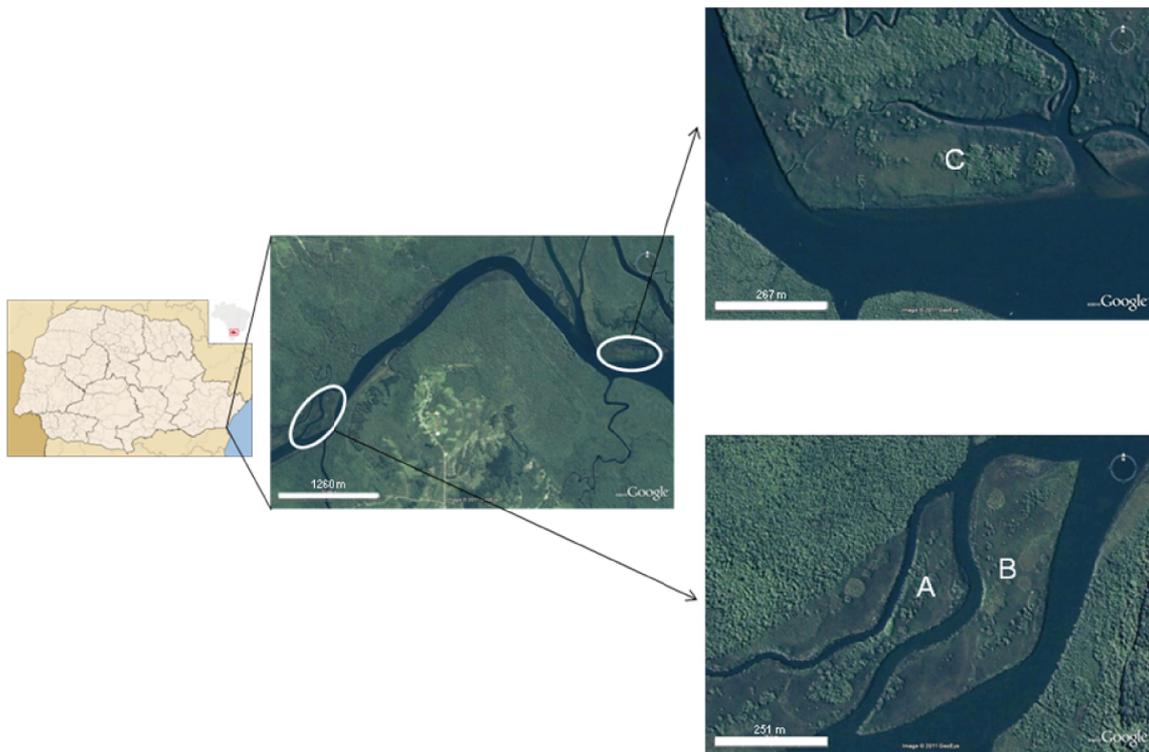


Figura 2. Localização das áreas de estudo, município de Guaratuba, litoral sul do Paraná, Brasil. A = “Continente”, B = ilha do Jundiaquara e C = ilha da Folharada. Imagem Orbital de 2003 obtida do Google Earth. Figura extraída de CORRÊA 2011.

Família Thamnophilidae

A família Thamnophilidae foi outrora considerada como uma subfamília, Thamnophilinae, dentro de uma grande família Formicariidae (*e.g.* MEYER DE SCHAUENSEE 1970). Mas devido ao reconhecimento de diferenças na estrutura do esterno, siringe e análises de hibridizações de DNA (SIBLEY & AHLQUIST 1983, RICE 2005), Thamnophilidae foi separada de Formicariidae (SIBLEY & AHLQUIST 1990, ZIMMER & ISLER 2003). Espécies dessa família ocorrem desde o nordeste do México (CLEMENS & SHANY 2001) até o sul da Argentina (RIDGELY & TUDOR 1994), sendo mais diversificadas nas terras baixas da região amazônica (ZIMMER & ISLER 2003), onde podem ser

encontradas até 50 espécies na mesma área (RIDGELY & TUDOR 1994, ISLER *et al.* 1998, ZIMMER & ISLER 2003).

Morfologicamente, as aves dessa família mostram variação considerável no tamanho e padrões e cores de plumagem, com dimorfismo sexual em muitas espécies, enquanto a variação em forma é mais restrita (RIDGELY & TUDOR 1994, SKUTCH 1996, IRESTEDT *et al.* 2004, REINERT 2008).

Em geral, os *Thamnophilidae* são florestais, não se ajustam a ambientes muito degradados e relutam em cruzar áreas abertas como rios ou até mesmo estradas, que podem atuar como barreiras à sua dispersão (SICK 1997, ZIMMER & ISLER 2003). Muitas espécies formam pares por toda a vida, defendendo territórios ao longo do ano (ZIMMER & ISLER 2003).

A espécie

Stymphalornis acutirostris Bornschein, Reinert & Teixeira 1995 apresenta dimorfismo sexual, sendo o macho cinza-anegrado no ventre (REINERT & BORNSCHEIN 1996) e a fêmea cinza-anegrada com máculas brancas (BORNSCHEIN *et al.* 1995) (Figura 1).

Ocorre em ambientes denominados como Formação Pioneira de Influência Fluvio-marinha e/ou Lacustre (*sensu* VELOSO *et al.* 1991, IBGE 1992, REINERT *et al.* 2007) em áreas abertas e alagadas com vegetação predominantemente herbácea (BORNSCHEIN *et al.* 1995, REINERT *et al.* 2007), onde alimenta-se de pequenos artrópodes (REINERT 2001, REINERT *et al.* 2007, REINERT 2008). Em particular, *S. acutirostris* (bicudinho-do-brejo) é restrito à planície litorânea entre a baía de Antonina, no Paraná, e o rio Itapocu, em Santa Catarina, sul do Brasil, e nesse intervalo ocorre oito populações isoladas (REINERT *et al.* 2007). A espécie está entre as aves com

menor distribuição global, habitando uma área total de 6.060 ha (REINERT *et al.* 2007), e é considerada ameaçada de extinção globalmente na categoria “em perigo” (*endangered*) (critérios da União Internacional para Conservação da Natureza - UICN; BIRDLIFE INTERNATIONAL 2010).

Informações sobre a ecologia e comportamento de *S. acutirostris* foram obtidas por REINERT (2008) ao monitorar 14 casais ao longo de duas estações reprodutivas na baía de Guaratuba, Paraná. A espécie vive em sistema monogâmico (REINERT 2008), como quase todos os *Thamnophilidae* estudados (RIDGELY & TUDOR 1994, SKUTCH 1996, ZIMMER & ISLER 2003, STUTCHBURY *et al.* 2005). O casal se reveza tanto nas atividades de construção quanto de incubação e cuidado com a prole, entretanto, o macho costuma visitar mais o ninho durante a construção e incubação e a fêmea é mais presente no período da alimentação dos ninhegos (REINERT 2008). Seu território é defendido ao longo do ano, sendo mantido no mesmo lugar mesmo com a mudança na constituição do casal (REINERT 2008). Em um estudo prévio da dinâmica da constituição de casais, foi registrado o desaparecimento de ambos os membros de um casal, o abandono do ninho por um dos indivíduos e até mesmo uma fêmea permanecendo ao longo de 60 dias com dois machos ao mesmo tempo (REINERT 2008). Essas informações instigaram a realização do presente estudo, que forneceu novos dados, no campo do comportamento e da genética, que serão utilizados como ferramenta para a consolidação da conservação da espécie.

Referências

- BIRDLIFE INTERNATIONAL. [online]. 2010. Species factsheet: *Stymphalornis acutirostris* fact sheet. <<www.birdlife.org/datazone/species/index.html>> (25 July 2010).
- BORNET B, BRANCHARD M. 2001. Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Mol Biol Repor.* 19(3):209-215.
- BORNSCHEIN MR, REINERT BL, TEIXEIRA DM. 1995. Um novo Formicariidae do sul do Brasil (Aves, Passeriformes). Série Publicação Técnico-Científica do Instituto Iguaçu de Pesquisa e Preservação Ambiental, no. 1, Rio de Janeiro, Brazil.
- BROMMER JE, KORSTEN P, BOUWMAN KM, BERG ML, KOMDEUR J. 2007. Is extrapair mating random? On the probability distribution of extrapair young in avian broods. *Behav Ecol.* 18(5):895-904.
- BUSKIRK WH. 1976. Social systems in a tropical forest avifauna. *Amer Natur.* 110:293–310.
- CLEMENTS JF, SHANY N. 2001. A field guide to the birds of Peru. Temecula: James F. Clements. 283p.
- CODY ML. 1966. A general theory of clutch size. *Evolution.* 20:174-184.
- DESHPANDE KU, APTE GS, BAHULIKAR RA, LAGU MD, KULKARNI BO, SURESH HS, SINGH NP, RAO MK, GUPTA VS, PANT A, RENJEKAR PK. 2001. Genetic diversity across natural populations of montane plant species from the western Ghats, India revealed by inter-simple sequence repeats. *Mol Ecol.* 10:2397–2408.

- CORRÊA L. 2011. Influência da cobertura vegetal no tamanho de territórios de *Stymphalornis acutirostris* e análise da seleção de sítios de nidificação após insucesso reprodutivo. Dissertação de Mestrado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 86p.
- DIETZEN C, HACKENBERG C, HEYNE K-H, SAUER-GÜRTH H, STAUDTER H, WINK M. 2007. Genetically confirmed inter-breeding between Western Bonelli's Warbler (*Phylloscopus bonelli*) and Wood Warbler (*P. sibilatrix*). Jour Ornith. 148:85–90.
- FEDY BC, STUTCHBURY BJM. 2004. Territory switching and floating in White-bellied Antbird (*Myrmeciza longipes*), a resident tropical passerine in Panama. Auk. 121(2):486.
- FREED LA. 1987. The long-term pair bond of tropical house wrens: advantage or constraint? Amer Natur. 130:507–525.
- GODWIN I, AITKEN DEAB, SMITH LW. 1997. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. Electrophoresis. 18:1524-1528.
- GREENBERG R, GRADWOHL J. 1985. A comparative study of the social behavior of antwrens on Barro Colorado Island, Panama. In: Buckley PA, Foster MS, Morton ES (eds) Neotropical Ornithology. Ornith Monog. pp 845-855.
- GREENBERG R, GRADWOHL J. 1986. Constant density and stable territoriality in some tropical insectivorous birds. Oecologia. 69:618-625.
- GRIFFITH SC, OWENS IPF, THUMAN KA. 2002. Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. Mol Ecol. 11(11):2195-212.

GUPTA M, CHYI Y-S, ROMERO-SEVERSON J, OWEN JL. 1994. Amplification of DNA markers from evolutionary diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theor Appl Genet.* 89:998–1006.

HAIG SM, MACE TR, MULLINS TD. 2003. Parentage and Relatedness in Polyandrous Comb-Crested Jacanas Using ISSRs. *Jour of Hered.* 94(4):302-309.

HUANG J, SUN SM. 2000. Genetic diversity and relationships of sweet potato and its wild relatives in *Ipomoea series batatas* (Convolvulaceae) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA. *Theor Appl Genet.* 100:1050–1060.

IBGE. 1992. Manual técnico da vegetação brasileira. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (Série Manuais Técnicos em Geociências nº. 1). 92p.

IRESTEDT M, FJELDSÅ J, NYLANDER JAA, ERICSON PGP. 2004. Phylogenetic relationships of typical antbirds (Thamnophilidae) and test of incongruence based on Bayes factors. *BMC Evol Biol.* 4(23):1-16.

ISLER ML, ISLER PR, WHITNEY BM. 1998. Use of vocalizations to establish species limits in antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae). *Auk.* 115:577–590.

KEMPENAERS B, VAN DEN BROECK M, BURKE T, VAN BROECKHOVEN C, DHONDT AA. 1992. Extra-pair paternity results from female preference for high-quality males in the blue tit. *Nature.* 357:494-496.

MCGREGOR CE, LAMBERT CA, GREYLING MM, LOUW JH, WARNICH L. 2000. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L) germplasm. *Euphytica.* 113:135–144.

- MEYER DE SCHAUENSEE R. 1970. A guide to the birds of South America. Livingston Press, Narbeth, Pennsylvania.
- MIÑO CI. 2006. Estrutura genética e relações de parentesco em populações de colhereiro (*Platalea ajaja*, Aves: Ciconiiformes). Tese de doutoramento. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos. 97p.
- MORTON ES, DERRICKSON KC, STUTCHBURY BJ. 2000. Territory switching behavior in a sedentary tropical passerine, the dusky antbird (*Cercomacra tyrannina*). Behav Ecol. 11(6):648-653.
- REDDY MP, SARLA N, SIDDIQ EA. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica. 128:9-17.
- REINERT BL. 2001. Distribuição geográfica, caracterização dos ambientes de ocorrência e conservação do bicudinho-do-brejo (*Stymphalornis acutirostris* BORNSCHEIN, REINERT & TEIXEIRA, 1995 – Aves, Formicariidae). Dissertação de Mestrado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 84p.
- REINERT BL. 2008. Ecologia e comportamento do bicudinho-do-brejo (*Stymphalornis acutirostris* Bornschein, Reinert & Teixeira, 1995 – Aves, Thamnophilidae). Tese de Doutorado. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. 198p.
- REINERT BL, BORNSCHEIN MR. 1996. Descrição do macho adulto de *Stymphalornis acutirostris* (Aves: Formicariidae). Ararajuba. 4(2):103-105.
- REINERT BL, BORNSCHEIN MR, FIRKOWSKI C. 2007. Distribuição, tamanho populacional, hábitat e conservação do bicudinho-do-brejo *Stymphalornis acutirostris* Bornschein, Reinert e Teixeira, 1995 (Thamnophilidae). Rev. Brasil de Ornit.15(4):493-519.

- RICE N. 2005. Further evidence for paraphyly of the formicariidae (Passeriformes). *Condor*. 107:910-915.
- RIDGELY RS, TUDOR G. 1994. *The Birds of South America: the Suboscine Passerines*. Oxford University Press, Oxford. v.2.
- SIBLEY CG, AHLQUIST JE. 1983. The phylogeny and classification of birds based on data of DNA-DNA hybridization, p. 245-292. In: R.F. JOHNSTON (ed.). *Current Ornithology 1*. Nova York: Plenum Press. 420p.
- SIBLEY CG, AHLQUIST JE. 1990. *Phylogeny and classification of birds: a study in molecular evolution*. Yale University Press, New Haven, C. T.
- SICK H. 1997. *ORNITOLOGIA BRASILEIRA*. Nova Fronteira, Rio de Janeiro.
- SKUTCH AF. 1996. *ANTBIRDS AND OVENBIRDS*. Austin: University of Texas Press. 268p.
- STUTCHBURY BJM, WOOLFENDER BE, FEDY BC, MORTON ES. 2005. Nonbreeding territorial behavior of two congeneric antbirds, Chestnut-backed Antbird (*Myrmeciza exsul*) and White-bellied Antbird (*M. longipes*). *Ornit Neotrop*. 397-404.
- VELOSO HP, RANGEL-FILHO ALR, LIMA JCA. 1991. *Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal*. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. 124p.
- WESTNEAT DF, STEWART IRK. 2003. Extra-pair paternity in birds: causes, correlates, and conflict. *Ann Rev Ecol Syst*. 34:365–396.
- WILLIS EO. 1967. *The behavior of bicolored antbirds*. Berkeley e Los Angeles: University of California Press. University of California Publications in Zoology Volume 79. 132p.
- WILLIS EO. 1972. The behavior of Spotted Aantbird. *Ornit Monog*. 10:162.

- WILLIS EO, ONIKI Y. 1972. Ecology and nesting behavior of the Chestnut-backed Antbird (*Myrmeciza exsul*). Condor. 74:87-98.
- WINK M, GUICKING D, FRITZ U. 2001. Molecular evidence of hybrid origin of *Mauremys iversoni* Pritchard et McCord, 1991, and *Mauremys pritchardi* McCord, 1997 (Reptilia: Testudines: Bataguridae). Zool. Abh. Staatl. Mus. Tierkun- de Dresden. 51:41–50.
- WOLFE AD, XIANG Q-Y, KEPHART SR. 1998. Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. Mol Ecol. 7:1107–1125.
- ZIETKIEWICZ E, RAFALSKI A, LABUDA D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics. 20:176-183.
- ZIMMER KJ, ISLER ML. 2003. Family Thamnophilidae (typical antbirds). In: Handbook of Birds of the World, Vol. 8 (del Hoyo J, Elliott A, Christie D, eds), pp. 448–681. Lynx Edicions, Barcelona.

**Capítulo 1: Comportamento de casais em uma espécie endêmica da
Floresta Atlântica, o bicudinho-do-brejo (*Stymphalornis acutirostris*)***

Daiane Diniz Sobotka^{1,2}

*¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do
Paraná, Centro Politécnico, Jardim das Américas, CEP 81531-990, Curitiba, Paraná,
Brasil*

*²Mater Natura – Instituto de Estudos Ambientais, Rua Lamenha Lins 1080, CEP
80250-020, Curitiba, Paraná, Brasil*

Endereço para correspondência: Daiane Diniz Sobotka. Rua Nicarágua, 422, ap. 23A,
CEP 82510-170, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: daiasobotka@ibest.com.br

*. Capítulo apresentado seguindo as normas da revista *Behavioral Ecology* ao qual será submetido.

Resumo

Dados demográficos de quase cinco anos de estudo em uma população anilhada mostraram que mudanças na composição dos casais são comuns em bicudinhos-do-brejo (*Stymphalornis acutirostris*), uma espécie endêmica da Floresta Atlântica e ameaçada de extinção. Foram monitorados 64 casais desta espécie, observando as mudanças de parceiros no estuário da baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. Foram observadas 29 mudanças na composição dos casais, sendo 10 no período reprodutivo. Essas mudanças se deram por três razões: desaparecimento, divórcio e morte. A maior parte das aves que substituíram os parceiros era vagante, sem anilha. O tempo médio de substituição foi de $13,4 \pm 18,82$ dias, sendo o evento mais rápido, o de um macho que substituiu sua fêmea um dia após ela desaparecer. Não foi encontrada relação significativa entre o número de vizinhos e a taxa na troca de parceiros. Essa troca na composição do casal pode favorecer a aptidão individual, assim como a troca de território pode contribuir para que o indivíduo se estabeleça em um local com qualidade superior. O grande número de mudanças na composição dos casais, pode portanto evidenciar a homogeneidade do ambiente e conseqüentemente a parca disponibilidade de recursos, fragilizando o *status* de conservação da espécie.

Palavras-chave: Aves tropicais; sul do Brasil; mudanças de parceiros; divórcio.

Abstract

Demographic data from an almost five years study with a banded population of the Marsh Antwren (*Stymphalornis acutirostris*) showed that changes in pair composition are common in this Atlantic Forest endemic species threatened of extinction. Sixty four couples of the species were monitored to assess the occurrence of mate change in the estuaries of the Guaratuba Bay, Paraná state, Brazil. Were observed 29 changes in the pair composition, of which 10 occurred in the reproductive season. These changes occurred due to three reasons: disappearance of one couple member, divorce, and death. Most of the birds that replaced a pair member were floaters, non banded. The mean time for substitution 13.4 ± 18.82 days, with the fastest event occurring with one male that had its female replaced only one day after his disappearance. There were no significant relationship between the number of neighbor territories and the numbers of mate change. These changes in pair composition can favor the individual fitness, as well as territory change can contribute to the individual settling in a place with superior characteristics. The great number of mate changes can evidences the environmental homogeneity and the small availability of resources, handicapping the species conservation status.

Key-words: Neotropical birds; southern Brazil; mate change; divorce.

Introdução

A estabilidade nas populações é a base para as teorias sobre diferenças ecológicas entre as aves de zonas tropicais e temperadas (*e.g.* CODY 1966). Associações de longo prazo nos casais ocorrem frequentemente em áreas tropicais (KUNKEL 1974), mas são quase ausentes em aves de áreas temperadas (MORTON *et al.* 2000). No Panamá e sul da África, 65% (MORTON 1980) e 40% (ROWAN 1966) dos Passeriformes insetívoros, respectivamente, estabelecem pares e territórios de longo prazo. Acredita-se que essa estabilidade acontece porque áreas tropicais possuem temperaturas mais constantes durante o ano, sendo climaticamente menos sazonais do que florestas de temperaturas latitudinais (GREENBERG & GRADWOHL 1986).

As taxas de substituição dos pares variam entre as espécies (BROWN 1969, MORTON 1977, LEVIN 1996, MORTON *et al.* 2000). Em alguns estudos, em 24 h houve a substituição do indivíduo do casal que foi removido (LEVIN 1996, MORTON *et al.* 2000). Em algumas espécies, as taxas de substituição são mais lentas, sugerindo que o ambiente do território interfere na velocidade dessa troca, pois vagantes e vizinhos podem ter mais dificuldade para acessarem a área (*e.g.* FEDY & STUTCHBURY 2004). MORTON *et al.* (2000), ao estudarem *Cercomacra tyrannina*, observaram que essa espécie vive em um sistema reprodutivo onde os indivíduos estão sempre pareados, mas podem abandonar seu território para ir a outro melhor. Locais com maior disponibilidade de alimento na estação seca impulsionaram a mudança de território em *Myrmeciza longipes* (FEDY & STUTCHBURY 2004).

O bicudinho-do-brejo (*Stymphalornis acutirostris*) é um *Thamnophilidae* ameaçado de extinção na categoria “em perigo” (BIRDLIFE INTERNACIONAL

2010). A espécie possui dimorfismo sexual, é socialmente monogâmica, defende seu território ao longo de todo o ano e pode permanecer com o mesmo parceiro por muitos anos (REINERT 2008).

Considerando a necessidade de estudos que enfoquem o comportamento de casais de aves da fauna brasileira, uma parcela de uma população de *S. acutirostris* em Guaratuba, Paraná, foi monitorada ao longo de quase cinco anos. O objetivo geral desse trabalho foi determinar se são comuns mudanças em pares de *S. acutirostris*, assim como inferir sobre causas da mudança, tempo de substituição e origem dos indivíduos que substituem, entre outras relações.

Métodos

Área de estudo

Os trabalhos de campo foram realizados em áreas com influência das marés no interior da baía de Guaratuba, município de Guaratuba, litoral sul do Paraná, a saber: ilha da Folharada, 25°52'00"S, 48°43'26"W (15,7 ha); ilha do Jundiaquara, 25°52'25.23"S, 48°45'31.97"W (11,6 ha); e margem esquerda do rio São João na confluência com o rio Claro, doravante "Continente", 25°52'26"S, 48°45'41"W (8,2 ha). O clima, segundo Koeppen, é mesotérmico temperado do tipo Af(t), chuvoso tropical sempre úmido, com abundante precipitação no verão (SEMA 2006). Os tipos vegetacionais presentes nas áreas de estudo são classificados como Formações Pioneiras de Influência Fluviomarina e/ou Lacustre, predominantemente herbáceos e inundáveis (REINERT *et al.* 2007). As coletas de dados foram realizadas entre janeiro de 2006 e outubro de 2010. Nos três primeiros anos de estudo, durante as

estações reprodutivas de *Stymphalornis acutirostris* os trabalhos de campo foram praticamente diários durante seis meses em cada ano. Fora desses períodos, foram realizadas expedições mensais com cerca de sete dias de duração cada, totalizando 40. O tempo total de observações perpez 4.700 h.

Espécie em estudo

Stymphalornis acutirostris (bicudinho-do-brejo) é membro da grande família Thamnophilidae, que distribui-se amplamente pela região Neotropical (ZIMMER & ISLER 2003). Apresenta dimorfismo sexual e pesa em média 10 g, sendo o macho um pouco mais pesado e maior que a fêmea em quase todas as medidas (REINERT 2008). Distribui em oito populações isoladas, que ocorrem desde a baía de Antonina, no Paraná, ao rio Itapocu, em Santa Catarina (REINERT *et al.* 2007). Os ambientes ocupados por ela distinguem-se em herbáceo e herbáceo com estrato superior arbóreo (REINERT *et al.* 2007). É globalmente ameaçada de extinção na categoria “em perigo” (BIRDLIFE INTERNATIONAL 2010).

Os casais são socialmente monogâmicos e defendem seus territórios ao longo do ano, prolongando-se o período reprodutivo da espécie de agosto a fevereiro. Os ninhos são do tipo cesto, podendo ser encontrados fixados em alturas entre 0,28 a 2,2 m sobre o solo. Ambos os indivíduos do casal constroem ninho, incubam ovos e alimentam filhotes. A espécie apresenta baixo sucesso reprodutivo e baixa taxa de mortalidade nos adultos (REINERT 2008).

Comportamento do casal

Os locais de estudo foram demarcados com estacas numeradas distanciadas entre si por 25 m.

As aves foram capturadas com redes ornitológicas e marcadas com anilhas metálicas fornecidas pelo Centro de Pesquisa para a Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE/IBAMA) e coloridas, em uma combinação única de cores para permitir o reconhecimento individual mediante observação. Os territórios foram visitados mensalmente, sendo os casais acompanhados pelo menos por uma hora em cada encontro.

Cada indivíduo marcado recebeu uma sigla que passará a ser citada ao longo do texto. Indivíduos machos receberam a sigla M e fêmeas a sigla F, indivíduos anilhados em anos anteriores a este estudo e recapturados no presente receberam a sigla A após a numeração individual e a sigla Fi foi dada aos filhotes. Cada casal constituído nas três áreas de estudo também recebeu numeração sequencial e para diferenciar essas áreas utilizou-se a sigla F para ilha da Folharada e C para o Continente, logo após o algarismo arábico. Foram considerados como pares estáveis aqueles que permaneceram unidos por mais de um mês. Foram considerados como divórcios casos aonde um indivíduo estava pareado com uma ave e trocou esta por outra ou se tornou vagante.

Para saber o tempo de substituição, foram considerados apenas os casais que se conhecia a data do desaparecimento de um dos membros e que foram monitorados diariamente até este ser substituído.

Os limites e o número de vizinhos foram confirmados pelo acompanhamento do casal, disputas territoriais e respostas a *playback*. Foram

considerados como vizinhos os casais que ficaram em um território por mais de seis meses. Como o número de vizinhos não foi fixo durante o período de estudo, foi realizado uma média para obter esse dado.

Dados foram analisados usando o *software* R versão 2.13.0. Foram apresentados a média e o desvio padrão de todas as medidas. A diferença na quantidade de trocas de parceiros foi analisada para verificar se há diferença em relação ao sexo pelo teste Qui-Quadrado. Para $P < 0,05$, os dados foram considerados como significativos.

Resultados

No período de estudo foram monitorados 64 casais, envolvendo 93 indivíduos (44 machos e 48 fêmeas). O estudo iniciou em janeiro de 2006 com o monitoramento de 15 casais ao ano e finalizou em outubro de 2010 com 33 casais ao ano (Tabela 1). O número máximo de casais monitorados foi 33, de setembro e outubro de 2010, e o mínimo foi 11, de maio a agosto de 2008.

Observaram-se 29 mudanças na composição dos casais, das quais 10 ocorreram no período reprodutivo. Em 13 mudanças, quem foi substituído foi o macho e em 16, a fêmea. Um macho mudou três vezes de fêmea, dois machos tiveram cada qual três fêmeas e 13 machos tiveram, cada qual, duas fêmeas, mas nunca simultaneamente. Doze fêmeas tiveram mais de um parceiro: uma fêmea se pareou com quatro machos, um de cada vez, uma fêmea teve três machos (por c. dois meses, dois ao mesmo tempo) e 10 fêmeas tiveram, cada qual, dois machos, um de cada vez. Não houve diferença significativa na quantidade de trocas de parceiros em relação ao sexo ($X^2 = 4,09$; $gl = 3$; $P > 0,05$) (Figura 1).

Tabela 1. Número de casais, machos, fêmeas e mudanças na composição em *Stymphalornis acutirostris* monitorados durante o período de estudo no estuário da baía de Guaratuba, Guaratuba, Paraná, Brasil.

Ano	Número de casais	Número de machos	Número de fêmeas	Mudanças na composição de casais
2006	17	15	16	3
2007	16	15	15	3
2008	20	19	16	4
2009	41	35	39	8
2010	43	36	37	11

Avaliou-se a quantidade de vizinhos como eventual fator de influência no número de mudanças na composição de casais por território ao longo do tempo, uma vez que os territórios mantêm-se estáveis a despeito dessas mudanças (REINERT 2008), mas não foi encontrada nenhuma relação quanto a isto (Figura 2). O número de vizinhos variou de um a cinco, sendo que nesses dois casos extremos observou-se apenas uma mudança na composição de casais. A taxa de substituição variou pouco entre os territórios.

A mudança na composição de casais se deu por uma das três razões: desaparecimento, divórcio e morte (Tabela 2). Em 18 casos (11 fêmeas e sete machos), um dos membros do casal desapareceu (sem causa conhecida). Essas aves não foram mais observadas durante o período de estudo. Oito casais mudaram sua composição devido a divórcio, onde um dos indivíduos abandonou seu território e constituiu casal em outro local ou foi observado vagando em outra área. Foram considerados três casos de morte: um macho (M9A) e duas fêmeas (F25 e F148). O macho M9A e a fêmea F148 sumiram e em ocasiões diferentes, ele foi visto com um dos pés muito machucado e ela

com aparência moribunda. A fêmea F25 foi observada também com a perna muito machucada, quando foi capturada e morreu na rede ornitológica. Dois casais (casal 18 e 4F) sumiram nos meses de abril de 2008 e setembro de 2009, respectivamente, não sendo mais vistos durante o período de estudo.

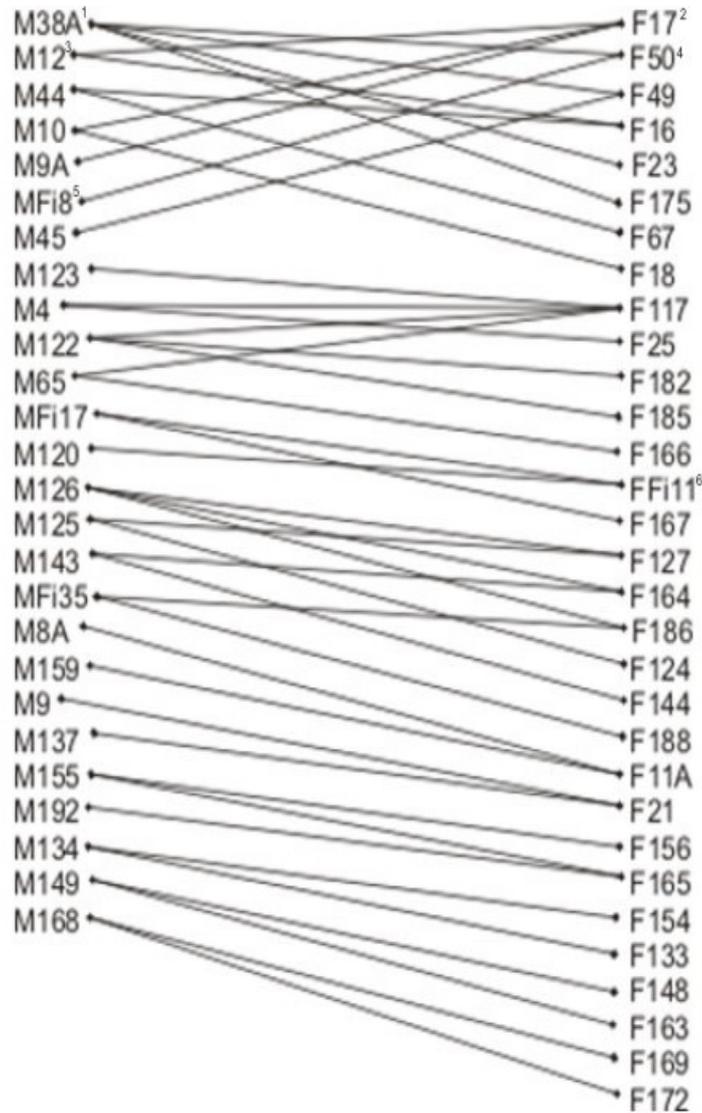


Figura 1. Mudanças na composição de casais de *Stymphalornis acutirostris* observadas entre 2006 e 2010 no estuário da baía de Guaratuba, Guaratuba, Paraná. Cada ligação entre os pontos representa a composição de um casal. Cada código representa um indivíduo, sendo os machos representados na esquerda e fêmeas na direita. ¹ “A” = indivíduo marcado em anos anteriores ao período supra indicado; ² “17”

= número do indivíduo; ³ “M” = macho; ⁴ “F” = fêmea; ⁵ “MFi” = macho marcado ainda filhote; ⁶ “FFi” = fêmea marcada ainda filhote.

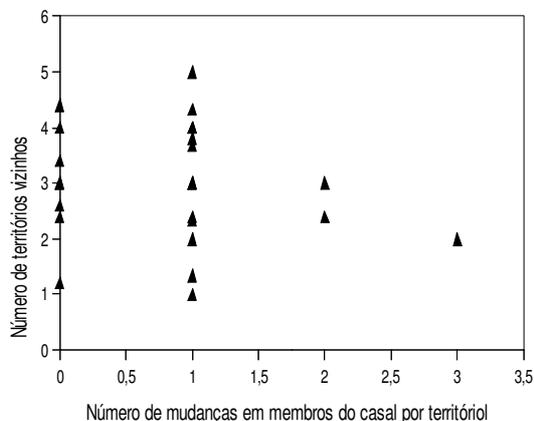


Figura 2. Número de mudanças na composição de casais em *Stymphalornis acutirostris* por território entre 2006 e 2010 em relação ao número de territórios vizinhos na baía de Guaratuba, Guaratuba, Paraná.

Tabela 2. Causas das mudanças nas composições de casais em *Stymphalornis acutirostris* no estuário da baía de Guaratuba, Guaratuba, Paraná.

Causa	Macho	Fêmea
Desaparecimento	7	11
Divórcio	5	3
Morte	1	2
Total	13	16

Dos 35 indivíduos de ambos os sexos que substituíram um membro do par formando os novos casais, 17 eram anilhados e compunham casal em outro território e 18 eram vagantes (indivíduos sem anilha de origem desconhecida). Um desses vagantes era um macho (Fi8), filho do casal 15, que

se pareou com a fêmea F50 após o macho M38A, que tinha pelo menos 13 anos de vida, tê-la abandonado. Em todos os casais onde um dos membros desapareceu, divorciou-se ou morreu ($n = 21$), houve substituição. Trinta e três casais (51,56%) não mudaram sua composição no período em que foram monitorados.

Nos casais que foram monitorados diariamente após a perda de um membro ($n = 5$), o tempo médio de substituição foi de $13,4 \pm 18,82$ dias, sendo em todos a fêmea a ser substituída (Figura 3). A substituição mais rápida foi realizada no território do macho do casal 3 (M38A), que foi visto no dia 16 de novembro de 2006 pareado com a fêmea F23 e, após esta sumir, estava pareado com a fêmea F50 no dia 18 do mesmo mês. O macho M4 foi o que mais demorou para substituir a fêmea F25 após ela morrer. Após 41 dias uma fêmea jovem (FFi11), com dois meses de idade, apareceu no seu território, mas era frequentemente expulsa e ficou apenas quatro dias. Um dia após a saída da fêmea jovem do território, uma fêmea sem anilha se pareou com o macho M4, compondo um novo casal (casal 17).

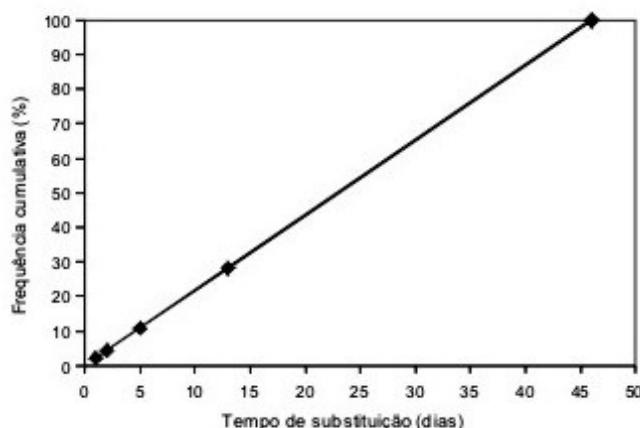


Figura 3. Tempo de substituição de um dos membros do casal em *Stymphalornis acutirostris* após perda no estuário da baía de Guaratuba, Guaratuba, Paraná.

Discussão

Dos 64 casais monitorados de *S. acutirostris*, mais de 50% mantiveram-se estáveis, proporção similar à registrada em outras espécies da família Thamnophilidae. DUCA *et al.* (2006), em estudo de cinco anos no sudeste brasileiro com espécies de Thamnophilidae, obtiveram que dos cinco casais monitorados de *Dysithamnus mentalis*, 60% mantiveram-se estáveis e em *Thamnophilus caerulescens*, de oito casais 25% permanecerem os mesmos, entretanto, em *Pyriglena leucoptera*, dos quatro casais monitorados 100% permaneceram estáveis. FEDY & STUTCHBURY (2004) no Panamá, observaram que de 48 casais de *Myrmeciza longipes*, aproximadamente 50% dos indivíduos de ambos os sexos de mudaram de território ou morreram. Sem fornecer informações comparáveis a cerca da proporção de mudanças dos pares e ou territórios, existem mais outros dois trabalhos realizados também no Panamá. Em *Myrmotherula fulviventris*, os adultos monitorados ocasionalmente mudaram para territórios vizinhos (GREENBERG & GRADWOHL 1997) e em *Cercomacra tyrannina*, MORTON *et al.* (2000) observaram que machos e fêmeas mudaram de território e trocaram seus parceiros. A mudança na composição de casais também já foi documentada para outras famílias de Passeriformes. Em um estudo realizado em uma área de manguezal na costa tropical da Venezuela, quatro espécies (*Conirostrum bicolor*, *Certhiaxis cinnamomea*, *Lepidocolaptes souleyeti* e *Fluvicola pica*) não mantiveram a composição inicial de todos os casais monitorados (LEFEBVRE *et al.* 1992). RAMSAY *et al.* (2000), ao monitorarem 44 pares de *Parus atricapillus* em Ontário, Canadá, observaram que 77,6% permaneceram estáveis em oito anos de estudo. DUCA & MARINI (2005), ao acompanharem durante três estações uma população de *Basileuterus flaveolos* no sudeste do Brasil, observaram que

em seis casais monitorados 66,6% permaneceram os mesmos. De modo geral, as trocas de par e de território são comuns em passeriformes, e *S. acutirostris* não foge à regra.

Trinta e quatro por cento das mudanças de parceiros em *S. acutirostris* ocorreram no período reprodutivo. Em *P. atricapillus*, as mudanças que ocorreram no período reprodutivo foram antes da fêmea iniciar a incubação, quando ela estava em atividade de construção de ninho (RAMSAY *et al.* 2000), tal qual observado em *S. acutirostris*. As mudanças de parceiros que ocorrem fora da estação reprodutiva podem ser compreendidas pela necessidade de ajuda na defesa do território e também pela possibilidade de que o casal se mantenha junto no período reprodutivo (FEDY & STUTCHBURY 2004). A troca de território fora do período reprodutivo pode funcionar também para explorar o sítio reprodutivo para o próximo ano (LEFEBVRE *et al.* 1992). Portanto, as trocas de par e território podem ocorrer em qualquer época do ano em Passeriformes de modo geral.

Não foi significativo o número de mudanças na composição dos casais em relação ao sexo em *S. acutirostris*, assim como o observado para outros *Thamnophilidae*. Machos e fêmeas trocaram de par proporcionalmente em *C. tyrannina* (MORTON *et al.* 2000), em *Myrmeciza longipes* (FEDY & STUTCHBURY 2004) e em *Myrmotherula fulviventris* (GREENBERG & GRADWOHL 1997).

Foram observadas três razões que causaram substituições em *M. longipes*: morte, mudança para um novo território ou abandono temporário do comportamento territorial por um indivíduo que se tornou vidente (FEDY & STUTCHBURY 2004). O abandono do comportamento de defesa de território

não foi registrado em *S. acutirostris*. Em *C. tyrannina*, os pesquisadores usaram o termo desaparecer para causas como morte ou emigração, observados nos casais que eles monitoraram durante oito anos (MORTON *et al.* 2000). Em dois casos com *C. tyrannina*, um macho e uma fêmea se moveram para diferentes territórios, sendo substituídos por outros indivíduos (GORRELL *et al.* 2005). Indivíduos de *Myrmotherula fulviventris* podem se mover para novos territórios (GREENBERG & GRADWOHL 1997). Em *M. longipes* foi observado um macho ser morto por uma jaguatirica (*Leopardis pardalis*) e a fêmea logo arrumou um novo parceiro (STUTCHBURY *et al.* 2005). Também existem artigos que descrevem as causas das substituições nos pares em outras famílias de Passeriformes. As causas das substituições observadas em *Lepidocolaptes souleyeti* foram desaparecimento ou abandono do território (LEFEBVRE *et al.* 1992). Vinte e dois por cento dos casos estudados de *P. atricapillus* foram de divórcios (RAMSAY *et al.* 2000). Em 10 casos, a fêmea abandonou seu parceiro e em um, morreu o parceiro de uma fêmea e esta se pareou com um macho cuja parceira ainda estava viva (RAMSAY *et al.* 2000). RAMSAY *et al.* (2000) sugeriram que o divórcio em *P. atricapillus* é uma estratégia da fêmea, ao contrário do observado em *S. acutirostris*, pois foi o macho o que mais divorciou. Concluiu-se que o divórcio é uma técnica individual, tanto de machos como de fêmeas, para maximizar a aptidão (COULSON 1972, ROWLEY 1983).

Foi acompanhado apenas o tempo de substituição de fêmeas em *S. acutirostris*. Em *C. tyrannina*, machos e fêmeas foram substituídos com frequência e velocidade igual. Machos foram substituídos em média $9,6 \pm 2,9$ h e fêmeas $12,6 \pm 3,03$ h (MORTON *et al.* 2000). Em um estudo de remoção

experimental com *M. longipes*, a média do tempo de substituição dos machos foi de aproximadamente dois dias, variando bastante entre os diferentes indivíduos e territórios. Apenas duas fêmeas removidas foram substituídas em 2 e 18 h após a remoção (FEDY & STUTCHBURY 2004). Um macho de *M. longipes* que estava com radiotransmissor foi morto e sua fêmea arrumou um novo macho em quatro dias (STUTCHBURY *et al.* 2005).

A maioria das aves que substituíram os parceiros que mudaram em *S. acutirostris* era vagante, de maneira similar ao ocorrido em *M. longipes* (FEDY & STUTCHBURY 2004) e diferente de *C. tyrannina*, aonde a maioria das aves era marcada, o que sugere que vagantes são raros nesta última espécie (MORTON *et al.* 2000). Frequentemente aves jovens substituem um membro desaparecido do casal (*e.g.* WILLIS 1972, PICMAN 1987, GREENBERG & GRADWOHL 1997, GORRELL *et al.* 2005). Normalmente estes indivíduos têm de seis a doze meses de idade (WILLIS 1972). Em alguns casos, fêmeas com menos de seis meses de idade são cortejadas e alimentadas por machos sem pares, mas não formam casais permanentes, como o observado por WILLIS (1972) em *Hylophylax naevioide*. Em *S. acutirostris*, foi observado uma fêmea muito jovem ficar quatro dias no território de um macho solitário, mas ao contrário do comportamento descrito por WILLIS (1972), ela não foi nem cortejada, nem alimentada, mas expulsa em diversas ocasiões. GREENBERG & GRADWOHL (1997) observaram que aves mais velhas são menos propensas a largar seu território do que as mais jovens. Entretanto, em *S. acutirostris*, registrou-se um macho com pelo menos 13 anos abandonar seu território e sua fêmea.

A estabilidade encontrada em aves tropicais pode estar relacionada com a estabilidade do habitat (GREENBERG & GRADWOHL 1986). As mudanças territoriais podem ser impulsionadas para um território onde a sobrevivência do adulto seja reforçada por uma maior disponibilidade de alimento na estação seca (FEDY & STUTCHBURY 2004). Em *S. acutirostris*, uma ave sub-tropical, a troca na composição de casais também pode ser impulsionada para um território onde a qualidade do habitat seja superior, assim aumentando a aptidão individual.

O grande número de mudanças na composição de casais pode, evidenciar baixa disponibilidade de recursos, como baixa capacidade de gerar filhotes no território, embora esses fatores não tenham sido analisados. Independente de qual ou quais sejam as razões, elas elevam a variabilidade genética da espécie.

Referências

BELETSKY L. 1996. The red-winged blackbird, the biology of a strongly polygynous songbird. San Diego: Academic Press.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. [online]. 2010. Species factsheet: *Stymphalornis acutirostris* fact sheet. <<www.birdlife.org/datazone/species/index.html>> (25 July 2010).

BROWN JL. 1969. Territorial behavior and population regulation in birds. A review and re-evaluation. Wilson Bull. 81:293-329.

CODY ML. 1966. A general theory of clutch size. Evolution 20:174-184.

COULSON JC. 1972. The significance of the pair-bond in the kittiwake. Proc. int. ornithol. Congr. 25:424–433.

- DUCA C, MARINI MA. 2005. Territory size of the flavescent warbler, *Basileuterus flaveolus* (Passeriformes, Emberizidae), in a forest fragment in Southeastern Brazil. *Lundiana*. 6(1):29-33.
- DUCA C, GUERRA TJ, MARINI MÂ. 2006. Territory size of three Antbirds (Aves, Passeriformes) in an Atlantic Forest fragment in southeastern Brasil. *Rev Bras de Zoo*. 23(3):692-698.
- FEDY BC, STUTCHBURY BJM. 2004. Territory Switching and Floating in White-Bellied Antbird (*Myrmeciza Longipes*), a Resident Tropical Passerine in Panama. *Auk*. 121(2):486.
- GORRELL JV, RITCHISON G, MORTON ES. 2005. Territory size and stability in a sedentary neotropical passerine: is resource partitioning a necessary condition? *Jour of Anim Ecol*. 76(4):395-401.
- GREENBERG R, GRADWOHL J. 1986. Constant density and stable territoriality in some tropical insectivorous birds. *Oecologia*. 69:618-625.
- KREBS JR. 1982. Territorial defense in the great tit (*Parus major*): do residents always win? *Behav Ecol Sociob*. 11:185–194.
- KUNKEL P. 1974. Mating systems of tropical birds: the effect of weakness and absence of external reproductive-timing factors, with special reference to prolonged pair bonds. *Z. Tierpsychol*. 34:265-307.
- LEFEBVRE G, POULIN B, MCNEIL R. 1992. Settlement period and function of long-term territory in tropical mangrov passerines. *Condor*. 83-92.
- LEVIN RN. 1996. Song behavior and reproductive strategies in a duetting wren, *Thryothorus nigricapillus*: I. Removal experiments. *Anim Behav*. 52:1093–1106.
- MORTON ES. 1977. Intratropical migration in the Yellow-green Vireo and Piratic Flycatcher. *Auk*. 94:97–106.

- MORTON ES. 1980. The ecological background for the evolution of vocal sounds used in close range. In: Acta XVII Congressus Internationalis Ornithologici. Vol. 1 (Nohring R, ed.). Berlin: Deutsche Ornithologen-Gesellschaft. 183–212.
- MORTON ES, DERRICKSON KC, STUTCHBURY BJ. 2000. Territory switching behavior in a sedentary tropical passerine, the dusky antbird (*Cercomacra tyrannina*). Behav Ecol. 11(6):648-653.
- PICMAN J. 1987. Territory establishment, size, and tenacity by male red-winged blackbirds. Auk. 104:405-412.
- RAMSAY SM, OTTER KA, MENNILL DJ, RATCLIFFE LM, BOAG PT. 2000. Divorce and extrapair mating in female black-capped chickadees (*Parus atricapillus*): separate strategies with a common target. Behav Ecol and Sociob. 49:18-23.
- REINERT BL. 2008. Ecologia e comportamento do bicudinho-do-brejo (*Stymphalornis acutirostris* Bornschein, Reinert & Teixeira, 1995 – Aves, Thamnophilidae). Tese de Doutorado. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. 198p.
- REINERT BL, BORNSCHEIN MR, FIRKOWSKI C. 2007. Distribuição, tamanho populacional, hábitat e conservação do bicudinho-do-brejo *Stymphalornis acutirostris* Bornschein, Reinert e Teixeira, 1995 (Thamnophilidae). Rev. Bras de Ornit. 15(4):493-519.
- ROWAN MK. 1966. Territory as a density-regulating mechanism in some South African birds Ostrich. 6:397–408.
- ROWLEY I. 1983. Remating in birds. In: Mate Choice (Ed. by P. Bateson), pp. 331–360. Cambridge: Cambridge University Press.

SEMA. 2006. Plano de manejo da Área de Proteção Ambiental de Guaratuba. Versão Revisada 1.0. Curitiba: SEMA.

STUTCHBURY BJM, WOOLFENDER BE, FEDY BC, MORTON ES. 2005. Nonbreeding territorial behavior of two congeneric antbirds, Chestnut-backed Antbird (*Myrmeciza exsul*) and White-bellied Antbird (*M. longipes*). *Ornit Neot.* 397-404.

WILLIS EO. 1972. The behavior of Spotted Antbirds. *Ornit Monog.* 10:162.

ZIMMER KJ, & ISLER ML. 2003. Family Thamnophilidae (typical antbirds). In: *Handbook of Birds of the World, Vol. 8* (del Hoyo J, Elliott A, Christie D, eds), pp. 448–681. Lynx Edicions, Barcelona.

Capítulo 2: Sistema de reprodução e fertilização extra-par em bicudinhos-do-brejo (*Stymphalornis acutirostris*)*

Daiane Diniz Sobotka^{1,2}

¹*Mater Natura – Instituto de Estudos Ambientais, Rua Lamenha Lins 1080, CEP 80250-020, Curitiba, Paraná, Brasil*

²*Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Jardim das Américas, CEP 81531-990, Curitiba, Paraná, Brasil*

Endereço para correspondência: Daiane Diniz Sobotka. Rua Nicarágua, 422, ap. 23A, CEP 82510-170, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: daiasobotka@ibest.com.br.

*. Capítulo apresentado seguindo as normas da revista *Behavioral Ecology and Sociobiology* ao qual será submetido.

Resumo

Cópulas extra-par tem sido documentadas para muitas famílias de aves socialmente monogâmicas. Estudos relacionam positivamente a variação encontrada nas taxas de paternidade extra-par com o sincronismo na fertilidade das fêmeas. Através da análise com o método de sequências internas simples repetidas (ISSR) utilizando nove *primers*, foi encontrado em *Stymphalornis acutirostris*, uma espécie endêmica da Floresta Atlântica e ameaçada de extinção, casos de paternidade extra-par em quatro de 30 filhotes analisados. Em um dos casos de paternidade extra-par, nasceram dois filhotes e apenas um era geneticamente compatível com o macho social. Foi analisado um macho que teve dois filhotes com uma fêmea que não era a de seu par social. A frequência de filhotes extra-par não está positivamente relacionada com o índice de sincronismo reprodutivo nesta espécie, pois esta apresenta baixa taxa de paternidade extra-par e alto índice de sincronismo. A similaridade encontrada entre todos os adultos, mostra um alto grau de parentesco na população estudada. Nenhum pai genético teve filhote extra-par em território adjacente ao seu. Ao relacionar os dados encontrados no presente estudo, conclui-se que a baixa taxa de fertilização extra-par aliado ao alto índice de similaridade genética encontrado para *S. acutirostris* são evidências de que o *status* de conservação é preocupante, pois a tendência parece ser o caminho para consanguinidade.

Palavras-chaves: paternidade extra-par; sincronismo reprodutivo; similaridade genética; monogamia.

Abstract

Extra-pair copulation has been documented in several socially monogamous bird families. Studies related positively the variation in the rates of extra-pair paternity with reproduction synchronicity. The Marsh Antwren (*Stymphalornis acutirostris*) is an Atlantic Forest endemic threatened of extinction, in which were found cases of extra-pair copulation in 4 of 30 nestlings analyzed. In one case, two nestlings were born and only one was genetically compatible with the social male. In another case one male had two nestlings without his social partner. The frequency of extra-pair copulations is not correlated positively with the index of reproductive synchronicity in the species as it presents low rates of extra-pair paternity and a high index of synchronicity. The similarity found between all the adults' shows a high parentage degree in the studied population. None of the genetic progenitors had an extra-pair offspring at an adjacent territory. Observing the data obtained by the present study is possible to conclude that the low rate of extra-pair fertilization coupled with the high similarity index found between the individuals of *S. acutirostris* are evidences that the species conservation status is something to worry about, since the tendency in the species seems to be the path to consanguinity.

Key-words: extra-pair paternity; reproductive synchronism; genetic similarity; monogamy.

Introdução

Cópulas entre indivíduos que não sejam parceiros sociais são chamadas cópulas extra-par (CEP) (MØLLER 1992, GRIFFITH *et al.* 2002), tipo de comportamento que têm sido documentados para quase todas as famílias de aves socialmente monogâmicas (WESTNEAT *et al.* 1990, GRIFFITH 2000, GRIFFITH *et al.* 2002, STUTCHBURY *et al.* 2005). Ferramentas moleculares têm demonstrado que apenas 14% dos passeriformes estudados são geneticamente monogâmicos (GRIFFITH *et al.* 2002, MØLLER & CUERVO 2000), sendo que monogamia verdadeira foi encontrada em menos de 25% de todas as aves socialmente monogâmicas estudadas até hoje (GRIFFITH *et al.* 2002). Muitos estudos examinam os custos e benefícios das fertilizações extra-par para os indivíduos (WESTNEAT 1990, KEMPENAERS *et al.* 1992, STUTCHBURY *et al.* 1994), mas não há um quadro geral que explique a variabilidade encontrada entre as espécies (STUTCHBURY & MORTON 1995). O conceito de monogamia foi redefinido devido à rápida expansão da aplicação de técnicas moleculares, sendo considerado como uma complexa interação de conflitos de interesses entre machos e fêmeas (WESTNEAT & STEWART 2003). Na maioria das espécies de aves, as fêmeas, por serem mais seletivas, parecem controlar o sucesso das tentativas de CEP, pois elas permitem esse ato por determinadas razões, como por exemplo, melhorar a qualidade genética da prole (PETRIE & KEMPENAERS 1998). Em condições naturais, fêmeas podem ter restrições quanto à escolha de um parceiro, porque a qualidade dos machos disponíveis diminui continuamente durante a estação reprodutiva devido às escolhas realizadas por outras fêmeas (MØLLER 1992). Com isso, fêmeas de muitas espécies buscam CEP com machos de qualidade

superior aquela do seu parceiro social (HOUTMAN 1992, KEMPENAERS *et al.* 1997, FRIEDL & KLUMP 2005).

O cuidado parental nos machos é relacionado a seleção sexual por benefícios diretos na aptidão individual (MØLLER & THORNHILL 1998), embora o papel do macho nas CEP ainda não esteja totalmente esclarecido. SCHWAGMEYER *et al.* (1999) sugerem que a incubação pelo macho é negativamente relacionada com a taxa de CEP, fato que tais autores consideram como evidencia indireta suportando a hipótese de KETTERSON & NOLAN (1994), de que em espécies em que os machos incubam, a CEP é restringida. Adicionalmente são propostos diversos mecanismos para restrição da ocorrência de CEP, como exemplo a guarda da fêmea por um filhote (WELBERGEN & QUADER 2006) e o aumento da defesa territorial pelo macho durante o período fértil da fêmea (TOBIAS & SEDDON 2000).

STUTCHBURY & MORTON (1995) ao estudarem o efeito do sincronismo reprodutivo em aves, argumentaram que, devido a este, há um aumento na taxa de CEP. Segundo esses autores, o sincronismo reprodutivo possibilita que as fêmeas comparem os machos simultaneamente, maximizando a escolha do material genético. Esta sincronia é positivamente correlacionada, tanto intra- (STUTCHBURY *et al.* 1994) quanto interespecificamente (STUTCHBURY & MORTON 1995). Entretanto, outros estudos mostram que o sincronismo reprodutivo diminui a taxa de CEP, pois os machos tendem a despende mais tempo protegendo seu parceiro social (*e.g.* BIRKHEAD & BIGGINS 1987, BIRKHEAD & MØLLER 1992).

Os marcadores denominados Sequências Internas Simples Repetidas (ISSR) tem sido muito utilizados em estudos com espécies vegetais cultivadas

(e.g. BLAIR *et al.* 1999), em estudos de genética de populações (GUPTA *et al.* 1994, HUANG & SUN 2000, DESHPANDE *et al.* 2001), na avaliação da variabilidade genética em melhoramento de plantas (MCGREGOR *et al.* 2000) e para detectar hibridização em aves, répteis e plantas (WOLFE *et al.* 1998, WINK *et al.* 2001, DIETZEN *et al.* 2007). HAIG *et al.* (2003) utilizou pela primeira vez esta técnica para verificar parentesco em aves, sendo este o único trabalho até hoje relacionado à avaliação de paternidade. *Stymphalornis acutirostris* é descrito como socialmente monogâmico, embora essa informação baseia-se apenas em observações comportamentais em campo (REINERT 2008). O objetivo deste trabalho foi acompanhar casais dessa espécie em parcela da população na baía de Guaratuba, Paraná, sul do Brasil, em quatro estações reprodutivas afim de confirmar a hipótese de monogamia genética por meio de utilização de marcadores do tipo ISSR.

Métodos

Área de estudo

Os estudos foram realizados entre 2008 e 2011, compreendendo três estações reprodutivas. Os trabalhos de campo foram realizados em três áreas que sofrem a influência das marés no interior da baía de Guaratuba (ilha da Folharada, 25°52'00"S, 48°43'26"W, 15,7 ha; ilha do Jundiaquara, 25°52'25.23"S, 48°45'31.97"W, 11,6 ha; e margem esquerda do rio São João na confluência com o rio Claro 25°52'26"S, 48°45'41"W, 8,2 ha, denominado como Continente). Essa região está inserida na Área de Proteção Ambiental de Guaratuba (APA), no município de Guaratuba, litoral sul do Estado do Paraná, sul do Brasil. Os tipos vegetacionais presentes nas áreas de estudo são

classificados como Formações Pioneiras de Influência Fluviomarinha e/ou Lacustre, predominantemente herbáceos e inundáveis (veja REINERT *et al.* 2007).

Espécie em estudo

Stymphalornis acutirostris (bicudinho-do-brejo), Passeriforme da família *Thamnophilidae*, é restrito à planície litorânea entre a baía de Antonina, no Paraná, e o rio Itapocu, em Santa Catarina, sul do Brasil. Nessa região se distribui em oito populações isoladas (REINERT *et al.* 2007). Habita uma área total de 6.057 ha, estando entre as aves com menor distribuição global (REINERT *et al.* 2007), e é considerada ameaçada de extinção na categoria “em perigo” (*endangered*) no mundo (BIRDLIFE INTERNATIONAL 2010). A espécie possui dimorfismo sexual, sendo o macho cinza-anegrado no ventre (REINERT & BORNSCHEIN *et al.* 1996) e a fêmea cinza-anegrado com máculas brancas (BORNSCHEIN *et al.* 1995). São territoriais ao longo do ano e seu período reprodutivo ocorre de agosto a fevereiro (REINERT 2008). Desde a construção do ninho, a incubação dos ovos, que são sempre dois, até o cuidado parental, são realizados pelo casal (REINERT 2008). Em média, os ovos são incubados por 16 dias, os filhotes ficam no ninho por 10 dias e quando saem ficam sob os cuidados dos pais por dois meses (REINERT 2008). O tempo dependido por macho e fêmea em todas as atividades reprodutivas é praticamente igual, entretanto, um dos pais costuma alimentar com mais frequência determinado filhote já fora do ninho (REINERT 2008). Segundo essa autora, a divisão dessa função (alimentar com mais frequência) foi definida da seguinte forma: no momento da saída de um filhote do ninho o indivíduo que estava levando comida “assumia” o cuidado com aquele filhote e quando um

dos filhotes morria o adulto “incumbido” de sua alimentação oferecia alimento ao outro apenas esporadicamente, com se estivesse “isento” da função.

Observação em campo e coleta de material genético

Todos os indivíduos de *S. acutirostris* da área de estudo foram marcados com anilhas metálicas cedidas pelo Centro de Pesquisa para a Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE/IBAMA) e uma combinação única de anilhas coloridas. Cada ave marcada recebeu uma sigla que passará a ser citada ao longo do texto. Indivíduos machos receberam a sigla M e fêmeas a sigla F, indivíduos anilhados em anos anteriores e recapturados no presente estudo receberam a sigla A após a numeração individual e a sigla Fi foi designada aos filhotes. Cada casal constituído nas três áreas de estudo também recebeu numeração sequencial e, para diferenciar essas áreas, utilizou-se a sigla F para a ilha da Folharada e C para o Continente, logo após o algarismo arábico.

Para obtenção de material genético dos indivíduos adultos e jovens os mesmos foram capturados com redes ornitológicas. Após a captura, foram retiradas até quatro penas em crescimento com auxílio de luvas descartáveis e pinças, esterilizadas em chamas após cada extração. As penas foram acondicionadas e identificadas em microtubo (*Eppendorf*) de 1,5 mL, transportadas em isopor e posteriormente mantidas em temperatura abaixo de 0 °C até a análise. O material genético dos filhotes foi obtido capturando os mesmos ainda no ninho, ou próximo a ele quando da saída recente dos mesmos, sendo retiradas até quatro penas de contorno em crescimento. Uma das amostras foi extraída de tecido muscular de um filhote encontrado morto no ninho.

Extração de DNA

Primeiramente as penas ou o tecido muscular foram maceradas em microtubo de 1,5 μ L. O DNA das penas em crescimento foi extraído empregando-se o *kit* DNeasy Blood and Tissue (QIAGEN). Após a maceração, foram adicionados 180 μ L de buffer ATL e 20 μ L de proteinase K e a mistura foi homogeneizada. Após homogeneização, a solução foi incubada em banho-maria por três horas a uma temperatura de 56 °C. A extração iniciou-se com a adição de 200 μ L de buffer AL em cada microtubo e agitados por 10 seg no vortex. Foram adicionados 200 μ L de etanol (96-100%) e novamente agitados no vortex por 10 s. O sobrenadante foi transferido para a minicoluna DNeasy e centrifugada a 8000 rpm por 1 min. O conteúdo do tubo coletor foi descartado e a minicoluna colocada em um novo tubo coletor de 2 mL. Foram adicionados 500 μ L de buffer AW1 e centrifugados a 8000 rpm por 1 min. Novamente o conteúdo do tubo coletor foi descartado e a minicoluna colocada em um novo tubo coletor. Foram adicionados 500 μ L de buffer AW2 e centrifugados a 14000 rpm por 3 min. O conteúdo do tubo coletor foi descartado e a minicoluna colocada em um microtubo de 1,5 mL. Foram adicionados 200 μ L de buffer AE, deixado a temperatura ambiente por 1 min e após centrifugados a 8000rpm por 1 min. A minicoluna foi descartada e o extrato de DNA estocado em freezer a 18°C negativos.

Amplificação com Sequências Internas Simples Repetidas (ISSR)

A quantificação das amostras de DNA foi realizada utilizando um espectrofotômetro (NanoDrop™). A amplificação por PCR para a escolha dos *primers* foi realizada em um volume de 25 μ L contendo: *primer* 30 pmoles, Platinum Taq, Buffer 10x, dNTP 25 mM, MgCl 50 mM, DNA 50 ng, água

bidestilada. Os parâmetros de anelamento utilizados para as ampliações variou conforme o *primer*. O termociclador (Mastercycler ® Eppendorf) foi programado da seguinte forma: após a desnaturação inicial de 1,5 min à 94 °C, o programa consistiu de 35 ciclos de 45 seg em 94 °C, 45 seg entre 46 – 56 °C, 1,5 min em 72 °C e 3 min em 72 °C para o alongamento final. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2%. Cada reação de PCR e eletroforese em gel foi realizada duas vezes para cada amostra para verificar a repetibilidade dos resultados.

O tamanho do fragmento do DNA foi estimado comparando as bandas com marcador de peso molecular 1 Kb (Ladder). As bandas foram registradas como presente (1) ou ausente (0) e compiladas em uma matriz de dados com o auxílio do *software* Gel-Pro Analyzer 4.0 (MediaCybernetics).

Parentesco

O parentesco foi gerado a partir do *software* PAPA_AFLP, que possibilita encontrar o pai verdadeiro através de comparações de probabilidade (GAGNON & TURGEON *in press*). Dado um genótipo de filhotes a serem alocados, o programa calcula as probabilidades do potencial de cada par parental. Se um casal tem uma probabilidade superior a que de outros pares, a descendência é atribuída a esse casal, caso contrário, o filhote não é alocado. Os parâmetros utilizados foram 0,05 de probabilidade estimada, 100 simulações de corridas e um de limiar de probabilidade.

A similaridade foi obtida pelo índice de similaridade de NEI & LI (1985) usando a seguinte fórmula:

$$X = 2N_{AB}/N_A+N_B$$

N_{AB} = número de bandas comum entre os dois indivíduos.

N_A e N_B = número total de banda de cada indivíduo.

Sincronismo

Para definir o sincronismo populacional, foi utilizado o índice de sincronia que determina a proporção de fêmeas férteis, considerando-se todos os ninhos disponíveis no período. Como período fértil das fêmeas foi considerado os cinco dias antes da postura do primeiro ovo até a postura do último ovo (veja KEMPENAERS 1993). Para esse índice, quanto mais próximo de 100%, mais sincronismo há entre as fêmeas.

Todos os dados foram analisados usando o *software* R versão 2.13.0. Foi apresentada a média e o desvio padrão de todas as medidas. Para avaliar a diferença no índice de similaridade entre os filhotes e seus pais geneticamente confirmados e os filhotes extra-par com os pais comportamentais foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Os dados foram considerados significativos para $P < 0,05$.

Resultados

Foram obtidas amostras genéticas de todos os casais monitorados ($n = 64$) e de todos os fillhotes encontrados ($n = 30$) nas três estações reprodutivas. Devido ao baixo sucesso reprodutivo, foi possível obter amostras genéticas de apenas de 14 famílias completas (Figura 1). Três filhotes (Fi8, Fi11 e Fi19) que nasceram na estação reprodutiva de 2007/2008, período anterior ao estudo

sobre paternidade, tiveram amostras coletadas por terem sido reencontrados na área de trabalho. Na estação reprodutiva de 2008/2009 não houve sucesso reprodutivo. Na estação de 2009/2010 foram obtidas 18 amostras de filhotes e mais nove amostras na estação de 2010/2011.

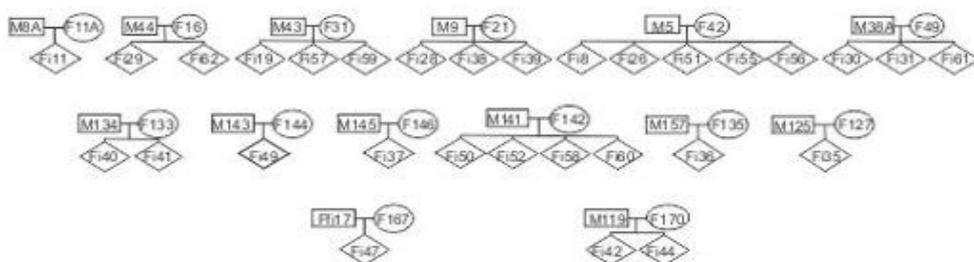


Figura 1. Pedigree de *Stymphalornis acutirostris* elaborado a partir de observações em campo nas três áreas de estudo no estuário na baía de Guaratuba, Paraná, nas estações reprodutivas de 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.

Dos 15 *primers* testados, nove amplificaram bandas satisfatórias, sendo, por isso, utilizados no presente estudo (Tabela 1). O tamanho das bandas variaram de 263 a 3.964 pares de base (pb). Foram analisados 58 indivíduos, desses, 28 adultos (14 machos e 14 fêmeas) e 30 filhotes. O número médio de bandas presentes em cada indivíduo foi de $5,48 \pm 2,05$ por locus.

Tabela 1. *Primers* usados na amplificação por ISSR e temperatura de anelamento, para material genético de *Stymphalornis acutirostris*, obtido na região da baía de Guaratuba, Paraná.

<i>Primer</i>	Sequência do <i>primer</i>	Temperatura de anelamento (°C)
ISSR1	GTGTGTGTGTGTRG	53
ISSR2	CACACACACACAYG	53
ISSR7	CACCACCACCACRC	49
ISSR11	CTCCTCCTCCTCRC	50
ISSR14	GTCGTCGTCGTC	53
17899	CACACACACACAARG	52
OLIGO7	CTCTCTCTCTCTCTRG	48
814	CTCTCTCTCTCTCTTG	46
844	CTCTCTCTCTCTCTRC	56

Foram observados filhotes extra-par (FEP) em quatro das 14 famílias analisadas (13,33%) (veja as bandas informativas na Tabela 2), sendo que dois casos ocorreram na ilha do Jundiaquara e outros dois na ilha da Folharada. No Continente não houve caso de paternidade extra-par (PEP). Caso 1: na ilha do Jundiaquara, em 21 de outubro de 2010, no ninho do casal 15 (M5 e F42), nasceram dois filhotes (Fi55 e Fi56) Um deles (Fi55) foi confirmado geneticamente como filho do pai social, mas o outro (Fi56) não, sendo geneticamente compatível com o macho M43. Caso 2: ainda na ilha do Jundiaquara, no dia 30 de outubro de 2009, no ninho do casal 7 (M44 e F16) se desenvolveu apenas um filhote(Fi62), o qual foi fruto de CEP, sendo seu pai

biológico o indivíduo M9. Na ilha da Folharada, ocorreram dois filhotes advindos de CEP em dois ninhos de casais distintos, entretanto, ambos foram frutos do mesmo pai biológico (M125). Caso 3: no dia 23 de novembro de 2009, no ninho do casal 13F (M157 e F135), se desenvolveu apenas um filhote (Fi36) fruto de CEP. Caso 4: no dia 27 de dezembro de 2009, no ninho do casal 6F (M143 e F144) os dois filhotes foram encontrados mortos, sendo possível obter amostras de um deles (Fi49), o qual foi fruto de CEP.

Tabela 2. Paternidade social e genética de 30 filhotes de *Stymphalornis acutirostris* da região da baía de Guaratuba, Paraná, entre 2008 a 2011. Legenda: FEP = filhote extra-par.

Filhote	Bandas informativas	Estação reprodutiva	Mãe	Pai social	Pai genético	FEP
Fi11	R3/R9/R10/R17	2007/2008	F11A	M8A	M8A	Não
Fi19	R4/R6/R14/R19	2007/2008	F31	M43	M43	Não
Fi8	R3/R12/R16	2007/2008	F42	M5	M5	Não
Fi29	R3/R11/R15/R16	2009/2010	F16	M44	M44	Não
Fi62	R4/R6/R11	2009/2010	F16	M44	M9	Sim
Fi38	R4/R6/R13	2009/2010	F21	M9	M9	Não
Fi39	R4/R6/R13	2009/2010	F21	M9	M9	Não
Fi28	R4/R6/R13	2009/2010	F21	M9	M9	Não
Fi26	R3/R12/R16	2009/2010	F42	M5	M5	Não
Fi30	R4/R6/R9/R15	2009/2010	F49	M38A	M38A	Não
Fi31	R4/R6/R9/R15	2009/2010	F49	M38A	M38A	Não
Fi47	R3/R12/R17	2009/2010	F167	Mfi17	Mfi17	Não

Filhote	Bandas informativas	Estação reprodutiva	Mãe	Pai social	Pai genético	FEP
Fi42	R3/R5/R7/R11	2009/2010	F170	M119	M119	Não
Fi40	R4/R12/R10/R11	2009/2010	F133	M134	M134	Não
Fi41	R4/R12/R10/R11	2009/2010	F133	M134	M134	Não
Fi49	R4/R11/R15	2009/2010	F144	M143	M125	Sim
Fi37	R4/R7/R9/R13	2009/2010	F146	M145	M145	Não
Fi60	R3/R5/R10/R14	2009/2010	F142	M141	M141	Não
Fi58	R3/R5/R10/R14	2009/2010	F142	M141	M141	Não
Fi36	R4/R11/R15	2009/2010	F135	M157	M125	Sim
Fi35	R4/R11/R10	2009/2010	F127	M125	M125	Não
Fi59	R4/R6/R14/R19	2010/2011	F31	M43	M43	Não
Fi57	R4/R6/R14/R19	2010/2011	F31	M43	M43	Não
Fi55	R3/R12/R16	2010/2011	F42	M5	M5	Não
Fi56	R4/R6/R14/R16	2010/2011	F42	M5	M43	Sim
Fi51	R3/R12/R16	2010/2011	F42	M5	M5	Não
Fi61	R4/R6/R9/R15	2010/2011	F49	M38A	M38A	Não
Fi44	R3/R5/R7/R11	2010/2011	F170	M119	M119	Não
Fi52	R3/R5/R10/R14	2010/2011	F142	M141	M141	Não
Fi50	R3/R5/R10/R14	2010/2011	F142	M141	M141	Não

Os valores de similaridade variaram entre as categorias: adultos, filhotes, filhotes/pais confirmados geneticamente e FEP/pais comportamentais (Tabela 3). A diferença no índice de similaridade entre os filhotes e seus pais

geneticamente confirmados e os FEP com os pais comportamentais não foi significativa ($U = 3,2071$, $p > 0,05$).

Tabela 3. Média do índice de similaridade e erro padrão entre adultos, filhotes, filhotes e pais geneticamente confirmados e filhotes e pais sociais em *Stymphalornis acutirostris* da baía de Guaratuba, Paraná, entre 2008 e 2011.

	N	Similaridade média
Adultos	28	0,57±0,23
Filhotes	30	0,59±0,11
Filhotes e pais genéticos	42	0,80±0,09
Filhotes extra-par e pais comportamentais	7	0,41±0,04

Foi observado sincronismo entre as fêmeas de *S. acutirostris* (\bar{x} = de 69,33% ±5,51; veja o sincronismo por estação na Tabela 4). Todas as fêmeas envolvidas nas CEP estavam obviamente em seus períodos férteis, portanto, em período de construção de ninho. Dos três machos envolvidos na CEP, dois tinham suas fêmeas férteis e um não, pois esse macho estava alimentando um filhote de seu par social. O macho que realizou CEP com duas fêmeas tinha na época sua fêmea fértil.

Tabela 4. Média de fêmeas férteis por dia de *Stymphalornis acutirostris* da baía de Guaratuba, Paraná, entre 2008 e 2011. Legenda: N = número de fêmeas férteis; DP = desvio padrão e SI = índice de sincronismo.

	N	Média	DP	SI (%)
2008/2009	16	5,6	2,3	63
2009/2010	39	7,6	2,1	72
2010/2011	37	6,3	2,3	73

Em todos os casos de PEP, os pais genéticos não ocupavam territórios adjacentes. Nos dois casos de FEP da ilha do Jundiaquara, os indivíduos envolvidos na CEP tinham um território entre eles e na ilha da Folharada, em um caso, eles tinham pelo menos o equivalente a três territórios e em outro o equivalente a um território (Figura 2).

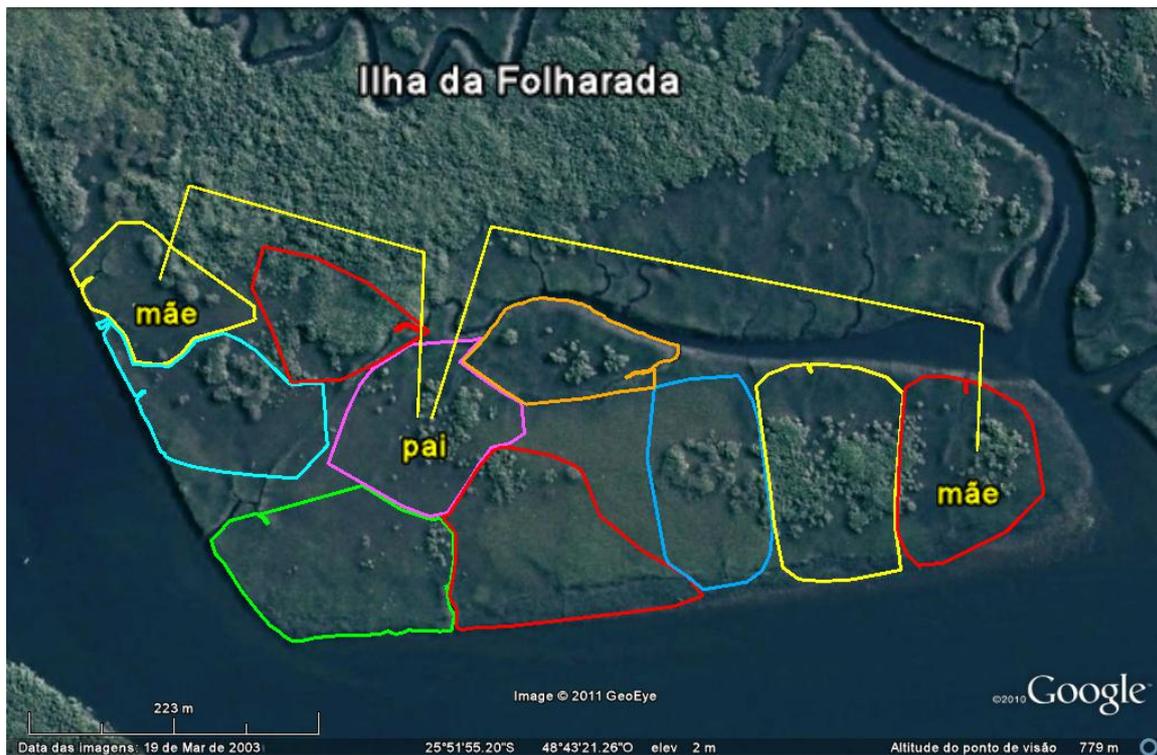
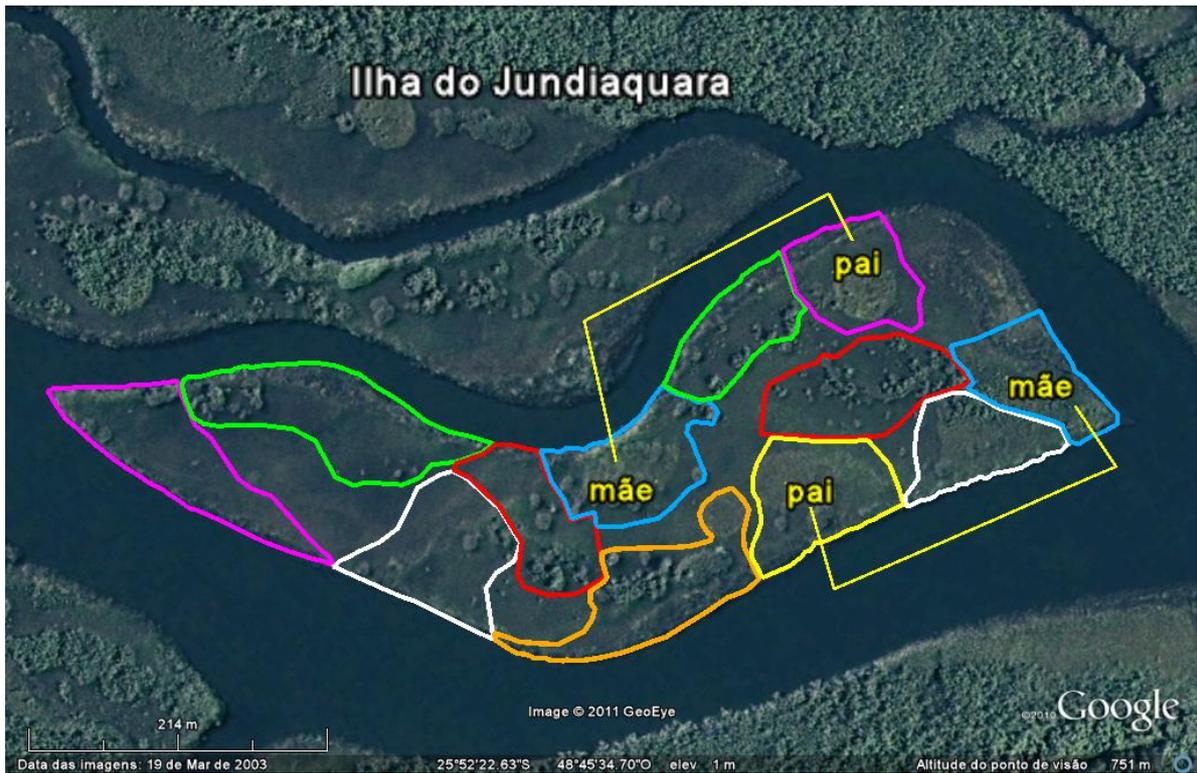


Figura 2. Localização dos territórios dos indivíduos envolvidos nas cópulas extra-par em *Stymphalornis acutirostris* entre os anos de 2008 e 2010. Em cima a ilha do Jundiaguara e em baixo a ilha da Folharada, ambas na baía da Guaratuba, Paraná.

Discussão

Fertilizações extra-par tem sido registradas para várias espécies de aves socialmente monogâmicas (veja BIRKHEAD & MØLLER 1992). Em muitas espécies mais de 40% dos filhotes são extra-par (e.g. WESTNEAT *et al.* 1990, DUNN *et al.* 1994, MULDER *et al.* 1994, MORTON *et al.* 1998, FORSTMEIER 2003) e em outras espécies não há fertilização extra-par (e.g. BIRKHEAD *et al.* 1990, BRUCE *et al.* 1996, ARDERN *et al.* 1997, FLEISCHER *et al.* 1997). Em *Emberiza scheniclus*, 55% de todos os descendentes são resultantes de FEP (DIXON *et al.* 1994). Em *Malurus cyaneus*, uma espécie onde há cooperação (*helpers*), 72% dos descendentes não são do macho alfa (MULDER *et al.* 1994). Em um estudo realizado com *Wilsonia citrina*, 34% dos jovens eram de outro macho, não do parceiro social (CHIVER *et al.* 2008). Em *S. acutirostris* a taxa de fertilização extra-par foi baixa (13,33%). Em *Cercomacra tyrannina*, único *Thamnophilidae* estudado até então em relação a fertilização extra-par, não foram encontrados filhotes que não fossem do parceiro social (FLEISCHER *et al.* 1997).

REINERT (2008) observou peculiaridades na divisão da função de alimentar os filhotes fora do ninho e descreveu que, quando um casal fica com apenas um filhote, o indivíduo do par que era responsável pelo filhote perdido praticamente se isenta da alimentação do outro filhote, razão pela qual poderia ficar com mais “tempo livre”. Em um dos casos de CEP registrados nesse estudo, esse comportamento poderia muito bem estar em desenvolvimento, pois o casal do macho que realizou a CEP estava na ocasião com apenas um filhote fora do ninho, o que sugere que a teoria de guarda da fêmea por um filhote de WELBERGEN & QUADER (2006) também pode ser aplicada aos

machos. KETTERSON & NOLAN (1994) hipotetizaram que em espécies em que os machos incubam, este tipo de cuidado parental pode restringir suas atividades extra-par, o que é indiretamente suportado pela relação negativa entre a incubação pelos machos e a taxa de CEP (SCHWAGMEYER *et al.* 1999). Tal relação é consistente com o baixo índice de CEP encontrado em *S. acutirostris*, pois nesta espécie não existem diferenças significativas entre o tempo dispendido por machos e fêmeas na incubação dos ovos (REINERT 2008).

Altos índices de similaridade entre os adultos aparentemente não relacionados podem ser um reflexo da baixa capacidade de dispersão, viabilidade do habitat e de seu sistema de acasalamento (HAIG *et al.* 2003). Em *Irediparra gallinacea* (HAIG *et al.* 2003), assim como em *S. acutirostris*, houve grande similaridade entre todos os adultos, e também entre indivíduos específicos, sugerindo limitada capacidade de dispersão dessas espécies. Esses valores de similaridade encontrados para *S. acutirostris* corroboram com REINERT *et al.* (2007) e REINERT (2008) que atribuem a espécie uma limitada capacidade de dispersão devido a sua pequena capacidade de voo.

Stymphalornis acutirostris apresentou baixa taxa de fertilização extra-par e um alto índice de sincronismo. STUTCHBURY (1998), ao fazer uma revisão de 34 espécies de 30 gêneros e 12 famílias, mostrou uma correlação significativa entre a taxa de fertilização extra-par e o sincronismo. A autora hipotetizou que, quanto maior o índice de sincronismo, maior a taxa de fertilização extra-par. Alguns trabalhos, entretanto, mostram que o aumento da sincronia reprodutiva pode não aumentar a taxa de PEP, como observado em *S. acutirostris*. THUSIUS *et al.* (2001) ao estudarem *Geothlypis trichas*

mostraram que os níveis de PEP foram maiores após a sincronia entre os indivíduos diminuir. Em seis anos de estudo com *Agelaius phoeniceus*, foi observado que a PEP não variou com a sincronia (WEATHERHEAD 1997). Em *Tachycineta bicolor* a taxa de PEP não foi significativamente diferente entre os ninhos sincrônicos e os assincrônicos (DUNN *et al.* 1994). THUSIUS *et al.* (2001) observou interação significativa entre sincronismo e densidade, onde os níveis de fertilização extra-par em *Agelaius phoeniceus* aumentavam quando o sincronismo e a densidade eram baixos. Pode-se concluir que não necessariamente o sincronismo é o fator que explica a existência ou não de CEP, e que o fator densidade é mais um bom parametro para ajudar a elucidar a questão. Alguns autores que não observaram relação entre o sincronismo e a taxa de fertilização extra-par sugerem testar interações com análises multivariada (DUNN *et al.* 1994, THUSIUS *et al.* 2001). Nesse sentido, estudos de análise multivariada seriam trabalhos interessantes de serem realizados com *S. acutirostris*.

Os pais genéticos dos FEP em *S. acutirostris* não eram vizinhos adjacentes. Em *Hylocichla mustelina*, os pais genéticos de dois casos de CEP defendiam territórios adjacentes do macho social, enquanto outro defendia um território a 650 m (EVANS *et al.* 2008). Esse dados demonstram que, na maior parte das vezes, as CEP não ocorrem entre vizinhos, e isso poderia ter relação com um eventual histórico de conflitos acumulados entre eles, o qual poderia levar o agente de uma cópula extra-par a evitar os vizinhos.

A baixa taxa de fertilização extra-par em *S. acutirostris* contribui para o seu alto índice de similaridade, o que indica reduzida variabilidade genética e, conseqüentemente, denota preocupação para a sua conservação no futuro.

Referências

ARDERN SL, MA W, EWEN JG, ARMSTRONG DP, LAMBERT DM (1997) Social and sexual monogamy in translocated New Zealand robin populations detected using minisatellite DNA. *Auk* 114:120–126.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. [online] (2010) Species factsheet: *Stymphalornis acutirostris* fact sheet. www.birdlife.org/datazone/species/index.html. Acesso em 25 de julho de 2010.

BIRKHEAD TR, BIGGINS JD (1987) Reproductive synchrony and extra-pair copulation in birds. *Ethology* 74:320–334.

BIRKHEAD TR, BURKE T, ZANN R, HUNTER FM, KRUPA A (1990) Extra-pair paternity and intraspecific brood parasitism in wild zebra finches *Taeniopygia guttata*, revealed by DNA fingerprinting. *Behav Ecol Sociobiol.* 27:315–324.

BIRKHEAD TR, MØLLER AP (1992) Sperm competition in birds: evolutionary causes and consequences. London: Academic Press.

BLAIR MW, PANAUD O, MCCOUCH SR (1999) Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet.* 98:780-792.

BORNSCHEIN MR, REINERT BL, TEIXEIRA DM (1995) Um novo Formicariidae do sul do Brasil (Aves, Passeriformes). Série Publicação Técnico-Científica do Instituto Iguaçu de Pesquisa e Preservação Ambiental, no. 1, Rio de Janeiro, Brasil.

BRUCE JP, QUINN JS, SLOANE SA, WHITE BN (1996) DNA fingerprinting reveals monogamy in the bushtit, a cooperatively breeding species. *Auk* 113:511–516.

CHIVER I, STUTCHBURY BJM, MORTON ES (2008) Do male plumage and song characteristics influence female off-territory forays and paternity in the hooded warbler? *Behav Ecol and Sociob.* 62(12):1981–1990.

DESHPANDE KU, APTE GS, BAHULIKAR RA, LAGU MD, KULKARNI BO, SURESH HS, SINGH NP, RAO MK, GUPTA VS, PANT A, RENJEKAR PK (2001) Genetic diversity across natural populations of montane plant species from the western Ghats, India revealed by inter-simple sequence repeats. *Mol Ecol.* 10:2397–2408.

DIETZEN C, HACKENBERG C, HEYNE K-H, SAUER-GÜRTH H, STAUDTER H, WINK M (2007) Genetically confirmed inter-breeding between western Bonelli's Warbler (*Phylloscopus bonelli*) and Wood Warbler (*P. sibilatrix*). *Jour. Ornithol* 148:85–90.

DIXON A, ROSS D, O'MALLEY SLC, BURKE T (1994) Paternal investment inversely related to degree of extra-pair paternity in the reed bunting. *Nature* 371:698–700.

EVANS ML, STUTCHBURY BJM, WOOLFENDEN BE (2008) Off-Territory Forays and Genetic Mating System of the Wood Thrush (*Hylocichla Mustelina*). *Auk* 125(1):67–75.

FLEISCHER RC, TARR CL, MORTON ES, SANGMEISTER A, DERRICKSON KC (1997) Mating system of the dusky antbird, a tropical passerine, as assessed by DNA fingerprinting. *Condor* 99:512–514.

FORSTMEIER W (2003) Extra-pair paternity in the Dusky Warbler, *Phylloscopus fuscatus*: a test of the “Constrained female hypothesis”. *Behavioral* 140:1117–1134.

FRIEDL TW, KLUMP GM (2005) Extrapair fertilizations in red bishops (*Euplectes orix*): do females follow conditional extrapair strategies? *Auk* 122:57–70.

GAGNON M-C, TURGEON J. "Sexual conflict in *Gerris gillettei* (Insecta: Hemiptera): intraspecific intersexual correlated morphology and experimental assessment of behaviour and fitness". *Jour of Evol Biol.* (*in press*).

GRIFFITH SC (2000) High fidelity on islands: a comparative study of extrapair paternity in passerine birds. *Behav Ecol.* 11(3):265–273.

GRIFFITH SC, OWENS IPF, THUMAN KA (2002) Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. *Mol Ecol.* 11(11):2195–2212.

GUPTA M, CHYI Y-S, ROMERO-SEVERSON J, OWEN JL (1994) Amplification of DNA markers from evolutionary diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theor Appl Genet.* 89:998–1006.

HAIG SM, MACE TR, MULLINS TD (2003) Parentage and Relatedness in Polyandrous Comb-Crested Jacanas Using ISSRs. *Jour of Hered.* 94(4):302–309.

HOUTMAN AM (1992) Female zebra finches choose extra-pair copulations with genetically attractive males. *Proceedings of the Royal Society London, Series B* 249:3–6.

HUANG J, SUN SM (2000) Genetic diversity and relationships of sweet potato and its wild relatives in *Ipomoea* series *Batatas* (Convolvulaceae) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA. *Theor Appl Genet.* 100:1050–1060.

KEMPENAERS B (1993) The use of a breeding synchrony index. *Ornis Scand.* 24:84.

KEMPENAERS B, VERHEYEN GR, VAN DEN BROEK M, BURKE T, VAN BROECKHOEVEN C, DHONDT AA (1992) Extra-pair paternity results from female preference for high-quality males in the blue tit. *Nature* 357:494–496.

KEMPENAERS B, VERHEYREN GR, DHONDT AA (1997) Extrapair paternity in the blue tit (*Parus caeruleus*): female choice, male characteristics, and offspring quality. *Behav Ecol.* 8:481–492.

KETTERSON ED, NOLAN V JR (1994) Male parental behavior in Birds. *Ann. Rev Ecol Syst.* 25:601-628.

MCGREGOR CE, LAMBERT CA, GREYLING MM, LOUW JH, WARNICH L (2000) A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm. *Euphytica* 113:135–144.

MØLLER AP (1992) Frequency of female copulations with multiple males and sexual selection. *Amer Natur.* 139:1089-1101.

MØLLER AP, CUERVO JJ (2000) The evolution of paternity and paternal care in birds. *Behav Ecol.* 11:472–485.

MØLLER AP, THORNHILL R. (1998) Male parental care, differential parental investment by females and sexual selection. *Anim Behav.* 55:1507-1515.

MORTON ES, STUTCHBURY BJM, HOWLETT JS, PIPER WH (1998) Genetic monogamy in blue-headed vireos and a comparison with a sympatric vireo with extrapair paternity. *Behav Ecol.* 9:515–524.

MULDER RA, DUNN PO, COCKBURN RA, LAZENBY-COHEN KA, HOWELL MJ (1994) Helpers liberate female fairy-wrens from constraints on extra-pair mate choice. *Proceedings of the Royal Society, London, Series B*, 255, 223–229.

NEI M, LI WH (1985) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restricted nucleases. *PNAS USA* 76:5269–5273.

PETRIE M, KEMPENAERS B (1998) Extra-pair paternity in birds: explaining variation between species and populations. *TREE* 13:52–58.

REINERT BL (2008) Ecologia e comportamento do bicudinho-do-brejo (*Stymphalornis acutirostris* Bornschein, Reinert & Teixeira, 1995 – Aves, *Thamnophilidae*). Tese de Doutorado. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. 198p.

REINERT BL, BORNSCHEIN MR (1996) Descrição do macho adulto de *Stymphalornis acutirostris* (Aves: *Formicariidae*). *Ararajuba* 4(2):103-105.

REINERT BL, BORNSCHEIN MR, FIRKOWSKI C (2007) Distribuição, tamanho populacional, hábitat e conservação do bicudinho-do-brejo *Stymphalornis acutirostris* Bornschein, Reinert e Teixeira, 1995 (Thamnophilidae). Rev Bras de Ornit. 15(4):493-519.

SCHWAGMEYER PL, CLAIR RTST, MOODIE JD, LAMEY TC, SCHNELL GD, MOODIE MN (1999) Species differences in male parental care in birds: a reexamination of correlates with paternity. Auk 116(2):487-503.

STUTCHBURY BJ, RHYMER JM, MORTON ES (1994) Extrapair paternity in hooded warblers. Behav Ecol 5:384–392.

STUTCHBURY BJM (1998) Female mate choice of extra-pair males: breeding synchrony is important. Behav Ecol and Sociob. 43(3):213-215.

STUTCHBURY BJM, MORTON ES (1995) The effect of breeding synchrony on extra-pair mating systems in songbirds. Behaviour 132(9-10):675-689.

STUTCHBURY BJM, MORTON ES, PITCHER T.E (2005) Sex roles in migrants: Extra-pair mating systems and winter social systems. Pages 307–320 in Birds of Two Worlds: The Ecology and Evolution of Migration (R. Greenberg and P. P. Marra, Eds.). John Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.

TOBIAS J, SEDDON N (2000) Territoriality as a paternity guard in the European robin, *Erithacus rubecula*. Anim Behav. 60:165-173.

THUSIUS KJ (2001) Extrapair paternity is influenced by breeding synchrony and density in the common yellowthroat. Behav Ecol. 12(5):633-639.

WEATHERHEAD PJ (1997) Breeding synchrony and extra-pair mating in red-winged blackbirds. *Behav Ecol and Sociob.* 40(3):151-158.

WELBERGER JA, QUADER S (2006) Mother guarding: how offspring may influence the extra-pair behavior of their parents. *Proc. R. Soc. B* 273:2363-2368.

WESTNEAT DF, SHERMAN PW, MORTON ML (1990) The ecology and evolution of extra-pair copulations in birds. In: *Current Ornithology*, (ed. Power DM), pp. 331–369. Plenum Press, New York.

WESTNEAT DF, STEWART IRK (2003) Extra-pair paternity in birds: causes, correlates, and conflict. *Ann Rev Ecol Syst.* 34:365–396.

WINK M, GUICKING D, FRITZ U (2001) Molecular evidence for hybrid origin of *Mauremys iversoni* Pritchard et McCord, 1991, and *Mauremys pritchardi* McCord, 1997. *Zoologische Abhandlungen, Staatliches Museum für Tierkunde Dresden* 51:41-49.

WOLFE AD, XIANG Q-Y, KEPHART SR (1998) Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. *Mol Ecol.* 7:1107–1125.