

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

FELIPE LEONARDO SANTOS SHIBUYA

**Características das espécies que podem influenciar as dinâmicas populacionais de
beija-flores na Floresta Atlântica no Sul do Brasil**

CURITIBA

2016

FELIPE LEONARDO SANTOS SHIBUYA

**Características das espécies que podem influenciar as dinâmicas populacionais de
beija-flores na Floresta Atlântica no Sul do Brasil**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ecologia e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. James Joseph Roper

CURITIBA

2016

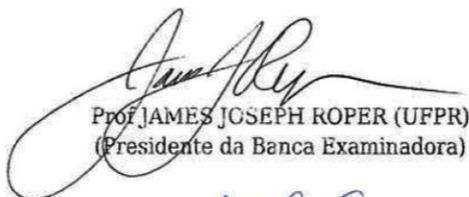


MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Programa de Pós Graduação em ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO
Código CAPES: 40001016048P6

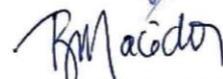
ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE TESE PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

No dia dezoito de Março de dois mil e dezesseis às 13:30 horas, na sala 421 da botânica, Centro Politécnico - Setor de Ciências Biológicas, do Setor de CIÊNCIAS BIOLÓGICAS da Universidade Federal do Paraná, foram instalados os trabalhos de arguição do doutorando **FELIPE LEONARDO SANTOS SHIBUYA** para a Defesa Pública de sua Tese intitulada: "**Características das espécies que podem influenciar as dinâmicas populacionais de beija-flores na Floresta Atlântica no Sul do Brasil.**". A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Professores Doutores: JAMES JOSEPH ROPER (UFPR), ANDRE DE CAMARGO GUARALDO (UFPR), ISABELA GALARDA VARASSIN (UFPR), LEONARDO FERNANDES FRANÇA (UFERSA), REGINA HELENA FERRAZ MACEDO (UNB). Dando início à sessão, a presidência passou a palavra ao discente, para que o mesmo expusesse seu trabalho aos presentes. Em seguida, a presidência passou a palavra a cada um dos Examinadores, para suas respectivas arguições. O aluno respondeu a cada um dos arguidores. A presidência retomou a palavra para suas considerações finais e, depois, solicitou que os presentes e o doutorando deixassem a sala. A Banca Examinadora, então, reuniu-se sigilosamente e, após a discussão de suas avaliações, decidiu-se pela **APROVAÇÃO** do aluno. O doutorando foi convidado a ingressar novamente na sala, bem como os demais assistentes, após o que a presidência fez a leitura do Parecer da Banca Examinadora, outorgando-lhe o Grau de **Doutor em ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO**. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, JAMES JOSEPH ROPER, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora.

Curitiba, 18 de Março de 2016.


Prof JAMES JOSEPH ROPER (UFPR)
(Presidente da Banca Examinadora)


Prof ISABELA GALARDA VARASSIN (UFPR)


Prof REGINA HELENA FERRAZ MACEDO (UNB)


Prof ANDRE DE CAMARGO GUARALDO (UFPR)


Prof LEONARDO FERNANDES FRANÇA (UFERSA)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Programa de Pós Graduação em ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO
Código CAPES: 40001016048P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Tese de Doutorado de **FELIPE LEONARDO SANTOS SHIBUYA**, intitulada: "**Características das espécies que podem influenciar as dinâmicas populacionais de beija-flores na Floresta Atlântica no Sul do Brasil.**", após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO.

Curitiba, 18 de Março de 2016.


Prof JAMES JOSEPH ROPER (UFPR)
(Presidente da Banca Examinadora)


Prof ANDRE DE CAMARGO GUARALDO (UFPR)


Prof ISABELA GALARDA VARASSIN (UFPR)


Prof LEONARDO FERNANDES FRANÇA (UFERSA)


Prof REGINA HELENA FERRAZ MACEDO (UNB)

Dedicada aos meus pais, Mário e Vera

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. James Joseph Roper, por todo o apoio ao longo desses anos, desde o mestrado, me ensinando a ser um questionador, como um apto cientista deve ser.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior que concedeu a bolsa de doutorado, e possibilitou também, através do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior, a execução de parte desta tese na Universidade de Coimbra, em Portugal.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação. Em particular à coordenação regente nesses quatro anos, em nome dos professores Dra. Isabela Galarda Varassin, Dr. André Andrian Padial, Dra. Maria Regina Torres Boeger e Dra. Valéria Cunha Muschner. Além das secretárias, Marilyn de Souza Cyganczuk e Valéria Romeiro, que me ajudaram imensamente, principalmente com os trâmites burocráticos.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, especialmente aos professores Dr. Luís Fernando Fávoro, Dra. Lucélia Donatti, Dra. Helen Audrey Pichler, Dra. Sabrina Borges Lino Araújo, Dr. Jean Ricardo Simões Vitule, Dra. Valéria Cunha Muschner, Dra. Patrícia Soffiatti, Dra. Isabela Galarda Varassin e Dra. Márcia Cristina Mendes Marques pela ajuda, através das conversas, sugestões e conselhos, tanto formalmente nas bancas de simpósios, quanto informalmente pelos corredores do Setor de Ciências Biológicas.

À banca avaliadora externa, Profa. Dra. Regina Helena Ferraz Macedo, da Universidade de Brasília, e Prof. Dr. Leonardo Fernandes França, da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, e a banca avaliadora interna, Profa. Dra. Isabela Galarda Varassin e Prof. Dr. André de Camargo Guaraldo, pelas valiosas contribuições. Da

mesma forma, aos membros suplentes, Profa. Dra. Lilian Tonelli Manica e Prof. Dr. André Magnani Xavier de Lima.

Ao Laboratório de Dinâmicas Populacionais e Conservação de Vertebrados Terrestres, em nome dos colegas Dra. Talita Vieira Braga, Jaqueline Evelyn Persegona, Rafaela Bobato, Dr. André Magnani Xavier de Lima, Giselle Bonetti, Ms. Fernando Marques dos Santos e Ms. Uschi Wischhoff, por toda a troca de experiências, não só científicas, que me ajudaram a prosseguir com a tese.

Ao Laboratório de Etologia da Universidade de Coimbra, em nome do Prof. Dr. Paulo Jorge Gama Mota, que me recebeu durante o período de doutorado sanduíche, proporcionando uma experiência incomparável de crescimento científico e pessoal. Além disso, aos colegas Ms. Liliana Almeida, Ms. Pedro Pereira e Dra. Sandra Trigo, que compartilharam suas experiências comigo no convívio diário.

Ao Research Center for Biodiversity and Genetic Resources da Universidade do Porto, em nome da Dra. Susana Alexandra Costa Lopes, pelo auxílio com as análises moleculares para a sexagem dos beija-flores, possibilitando o desenvolvimento de grande parte deste trabalho.

À Profa. Dra. Flávia Torres Presti, do Instituto Federal do Paraná, pela prestatividade na tentativa de analisar molecularmente os beija-flores no Brasil e que, mesmo com as dificuldades iniciais para sexar os indivíduos, perseverou, colaborou e vibrou quando os resultados positivos foram alcançados.

Ao Prof. Dr. Rafael Maia, da Columbia University, pelos esclarecimentos sobre os modelos visuais que envolviam as análises de Just Noticeable Differences (JNDs), que se tornaram resultados fundamentais para a compreensão da visão dos beija-flores frente a coloração.

Ao Prof. Dr. Leonardo Liberali Wedekin, da Universidade de São Paulo, e ao Dr. Roberto Fusco Costa pela prestatividade e atenção no auxílio com as análises de dinâmicas populacionais no programa MARK.

Ao Luiz Carlos da Costa Ribenboim, por ceder as fotografias em alta resolução de todas as espécies de beija-flores aqui estudadas, possibilitando a elaboração das figuras nas quais estas imagens foram utilizadas.

Aos companheiros de campo, que abdicaram de seus compromissos, muitas vezes aos finais de semana, para me ajudarem na captura dos 2302 beija-flores que deram os resultados desta tese. São eles: Jaqueline Evelyn Persegona, Rafaela Bobato, Talita Vieira Braga, Fernando Marques dos Santos, Uschi Wischhoff, Rafael de Oliveira Fratoni, Ricardo Augusto Serpa Cerboncini, Giselle Bonetti, Thaís Bastos Zanata, Carolina Yumi Shimamoto, Gabriel Antônio Rezende de Paula, Jana Magaly Tesserolli de Souza, André Magnani Xavier de Lima, Valéria Bini, Jaqueline Dittrich, Amanda Protski, Vera Lúcia dos Santos Shibuya e Mário Shideo Shibuya.

Aos amigos “não-científicos”, mas não menos importantes, Carolina Yumi Shimamoto, Gabriel Antônio Rezende de Paula, Valéria Bini, João Francisco Bento, Fernanda Fernandes Cordeiro de Lima Dück, Helen Audrey Pichler, Daiane Diniz Sobotka, Jaqueline Santos, Daniele Aparecida de Moraes, Adriana Mezini, Matheus Luís Becchi, Danilo Pacheco Cordeiro, Halina Linzmeier Heyse, Thaís Bastos Zanata e Pollyana Patrício Costa pelas conversas e momentos descontraídos que me ajudaram a esporecer e espantar a tensão.

A todos os amigos que fiz em Portugal e que tornaram meus dias em terras distantes mais agradáveis e suportáveis. As fortes mulheres da família Dias, Andreia Sofia Fontes Dias, Ana Lucía Fontes Dias e “dona” Maria de Lurdes Fontes da Silva, por me receberem e acolherem de forma tão carinhosa. Aos vizinhos Vanessa Ulhoa

Santana de Siqueira, Gabriel Caixeta Martins, Paula Saleh Arbs e Bheron Rocha, pelas conversas e momentos de risadas, nos nossos churrascos brasileiros com vinhos portugueses. E aos amigos de intercâmbio Luís Antônio de Oliveira Alves e Theides Batista, por todas as andanças pela pequena Coimbra.

À grande amiga Viviane Lorenzi Carniel (*in memoriam*), por ter sempre me apoiado, dando forças e sorrindo, “felice” como só ela era.

Ao Pedro Miguel Cruz, por estar ao meu lado, sempre atento a me ouvir, apoiar e ajudar, e por todas as nossas explorações pelas terras de Cabral, que me fizeram feliz.

Aos meus pais, Mario Shideo Shibuya e Vera Lúcia dos Santos Shibuya, e ao meu irmão, Paulo Henrique Santos Shibuya, um agradecimento especial pelo apoio, carinho, dedicação e compreensão, sem os quais eu não chegaria até aqui.

Todos estes que aí estão
Atravancando o meu caminho,
Eles passarão.
Eu passarinho!
Mario Quintana

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xvii
RESUMO GERAL.....	1
GENERAL ABSTRACT.....	2
INTRODUÇÃO GERAL.....	3
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	8

CAPÍTULO 1. Molecular sex determination and sexual monomorphism in five species of hummingbirds in Southern Brazil.....

13

ABSTRACT.....	15
----------------------	-----------

INTRODUCTION.....	16
--------------------------	-----------

METHODS.....	17
---------------------	-----------

Study area.....	17
------------------------	-----------

Samples.....	18
---------------------	-----------

PCR of part of the CDH and capillary electrophoresis.....	19
--	-----------

Comparison of morphology between the sexes.....	20
--	-----------

RESULTS.....	20
---------------------	-----------

DISCUSSION.....	21
------------------------	-----------

CONCLUSION.....	23
------------------------	-----------

REFERENCES.....	24
------------------------	-----------

CAPÍTULO 2. Evidence for sexual dichromatism in several ‘monomorphic’ hummingbird species.....

41

ABSTRACT	43
INTRODUCTION	44
METHODS	46
Study area	46
Studied species	47
Collection of material and sexing	48
Color analysis	48
Statistical analysis	50
RESULTS	51
Discrimination of sexual dichromatism	51
Dichromatism and sexual diagnosis	51
DISCUSSION	52
CONCLUSION	55
REFERENCES	56
CAPÍTULO 3. Padrão de muda das penas de voo em beija-flores	
subtropicais	70
RESUMO	72
INTRODUÇÃO	73
MÉTODOS	74
Área de Estudo	74
Captura das Aves e Coleta dos Dados	74
RESULTADOS	76
Período da Muda	76
Padrões da Muda	76

Ausência de Muda	77
Taxa Diária e Tempo de Crescimento das Penas	78
DISCUSSÃO	78
Período da Muda	78
Padrões da Muda	79
Ausência de Muda	81
LITERATURA CITADA	83
CAPÍTULO 4. Panorama sazonal de uma assembleia de beija-flores e dinâmica populacional do beija-flor-de-papo-branco <i>Leucochloris albicollis</i> em uma área da Floresta Atlântica no Sul do Brasil	96
RESUMO	98
INTRODUÇÃO	99
MÉTODOS	101
Área de estudo	101
Coleta de dados	101
Análise dos dados e desenvolvimento dos modelos	102
RESULTADOS	104
Estrutura sazonal da assembleia de beija-flores	104
Sobrevivência anual aparente de adultos de beija-flor-de-papo- branco	105
Tamanho populacional do beija-flor-de-papo-branco	106
DISCUSSÃO	106
Estrutura sazonal da assembleia de beija-flores	107
Sobrevivência anual aparente de adultos de beija-flor-de-papo-	

branco.....	109
Tamanho populacional do beija-flor-de-papo-branco.....	110
REFERÊNCIAS.....	112
CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	129

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Table 1. Five species of sexually monochromatic hummingbirds analyzed in this study, in ascending order of abundance. Following the species name is the sample size for females (F) and males (M) for molecular analysis from blood samples. *Leucochloris albicollis* included an additional three females and eight males with feather samples, totaling 103 individuals identified sexes. Also, the peak differentiating each chromosome in the PCR analysis (see Supplementary Material).....29

Table 2. Comparison of morphology among sexes: bill length (BL), culmen length (CL), bill depth (BD), bill width (BW), wing length (WL) and tail length (TL), and weight in grams for five species of hummingbirds. Note that the averages vary between regions of the body between females (F) and males (M), in all species (see Fig. 1, 2). Species: *Colibri serrirostris* (COSE); *Eupetomena macroura* (EUMA); *Amazilia versicolor* (AMVE); *Leucochloris albicollis* (LEAL); *Florisuga fusca* (FLFU). Number of individuals in parenthesis.....30

CAPÍTULO 2

Table 1. The average reflectance of the four cones and the double-cone of the five species of hummingbirds, comparing females (F) and males (M) on each sampled body region. Comparisons that were statistically significant by ANOVA are in bold (see Table 2).....63

Table 2. Results of comparisons by ANOVAs reflectance of the four cones and double-

cone, between the sexes of the five species of hummingbirds, for each sampled body region. The results with significant p-values are in bold.....64

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Número de indivíduos capturados com e sem muda nas penas de voo, indivíduos recapturados com muda e número de penas em muda, por espécie de beija-flor. O período de observação foi de março de 2013 a março de 2015, em Piraquara, Paraná, Brasil. As espécies estão ordenadas pela abundância de indivíduos em muda.....92

Tabela 2. Sequência da muda nas penas primárias da asa. Os valores indicados em cada coluna correspondem ao número total de indivíduos recapturados e fotografados (capturas únicas) e mostram que as trocas entre pares de penas primárias em cada espécie é predominantemente na direção proximal à distal. Exceções no padrão de troca foram observadas em *Leucochloris albicollis* e *Colibri serrirostris*, onde houve inversão na sequência das duas últimas penas (P8-P10-P9). Espaços em branco correspondem as penas em que não foram registradas mudas nos indivíduos capturados. Mostrando as trocas em pares, a P1 não aparece na coluna 1, sendo a primeira coluna correspondente a muda entre P1-P2, e assim sucessivamente. A fonte refere-se a como a informação foi observada: captura e recaptura (C) ou fotografias (P).....93

Tabela 3. Sequência da muda nas penas secundárias da asa em indivíduos recapturados. A maior parte dos indivíduos iniciou a muda em S1, terminando em S6. Entretanto, as sequências entre S2 a S5 tiveram variações. Essas sequências inesperadas estão destacadas em negrito.....94

Tabela 4. Sequência da muda nas penas da cauda. O valor indicado em cada coluna corresponde ao número total de indivíduos recapturados (C) e fotografados (P). Esses indivíduos mostram que a forma predominante de troca das penas da cauda acontece na direção proximal à distal. Uma exceção foi observada em *Leucochloris albicollis* com inversão das duas últimas penas (R3-R5-R4). Essa exceção está registrada entre parenteses. Mostrando as trocas em pares, a R1 não aparece nas colunas, sendo a primeira coluna correspondente à troca entre R1-R2, e assim sucessivamente. A fonte refere-se a como a informação foi observada: captura e recaptura (C) ou fotografias (P).....95

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Espécies de beija-flores registradas entre março de 2013 a março de 2015, ordenadas pela abundância de indivíduos capturados.....121

Tabela 2. Conjunto de modelos candidatos utilizados para estimar a sobrevivência anual aparente e o tamanho populacional de *Leucochloris albicollis*, entre março de 2013 a março de 2015 em uma área de Floresta Atlântica no Sul do Brasi.....122

Tabela 3. Estimativas de sobrevivência (Φ) e capturabilidade (p) para adultos de *Leucochloris albicollis* segundo o melhor modelo ($\Phi_{(t)} p_{(t)}$).....123

Tabela 4. Parâmetros do tamanho populacional de *Leucochloris albicollis* de acordo com o melhor modelo ($\Phi_{(t)} \gamma''_{(s)} = \gamma'_{(s)}$ emigração aleatória, $\pi_i = 1 p_{(s)} c_{(s)}$).....124

Tabela 5. Comparações entre as estimativas de tamanho populacional, capturas, recapturas e abundância de jovens e adultos de *Leucochloris albicollis*, nas sessões primárias entre março de 2013 a março de 2015.....125

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figure 1. Example scatterplots of morphological measurements of adults of both sexes and unknown sex in four species of hummingbirds to show that there is no evidence of sexual dimorphism, under the prediction of sexual dimorphism, a bimodal distribution is expected. Overlap between species and the distribution of all individuals indicates no tendency towards bimodal clumping in any variable. A) *Colibri serrirostris* includes the two females and 20 males with sex identified in this study with another 138 individuals of unknown sex. B) *Amazilia versicolor* with four females, 13 males and 223 unknown sex. C) *Leucochloris albicollis* with three females, 25 males and 436 unknown sex. D) *Florisuga fusca* with 12 females, four males and 81 unknown sex. The variables chosen are simply to include measurements most likely to be dimorphic, but all species and all variables had similar patterns of complete overlap of the sexes.....32

Figure 2. Comparisons between the measurements in females (n = 10) and males (n = 10) in *Eupetomena macroura* by Student t-tests. Note that the means (circles) with maximum and minimum intervals of the six regions measures and weight showed no significant differences between the sexes. All comparisons with $p > 0.05$33

Figure A1. Electropherogram in *Colibri serrirostris* using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems). Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp and in females, gene fragments were 383 bp on the W chromosome, using the primers P2 and P8.....36

Figure A2. Electropherogram in *Eupetomena macroura* using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems). Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp and in females, gene fragments were 379 bp on the W chromosome, using the primers P2 and P8.....37

Figure A3. Electropherogram in *Amazilia versicolor* using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems). Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp and in females, gene fragments were 379 bp on the W chromosome, using the primers P2 and P8.....38

Figure A4. Electropherogram in *Leucochloris albicollis* using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems). Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp and in females, gene fragments were 379 bp on the W chromosome, using the primers P2 and P8.....39

Figure A5. Electropherogram in *Florisuga fusca* using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems). Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp and in females, gene fragments were 383 bp on the W chromosome, using the primers P2 and P8.....40

CAPÍTULO 2

Figure 1. Photos of the five studied species: A) *Amazilia versicolor*, B) *Colibri serrirostris*, C) *Eupetomena macroura*, D) *Florisuga fusca* and E) *Leucochloris albicollis*.....66

Figure 2. Reflectance spectra for males and females of the five species of hummingbirds, for the body regions measured: A) *Amazilia versicolor*, B) *Florisuga fusca*, C) *Colibri serrirostris*, D) *Eupetomena macroura* and E) *Leucochloris albicollis*. The throat of *C. serrirostris* was also measured at 45° as indicated. The dashed lines represent females and continues the males.....67

Figure 3. Color differences between males and females estimated in Just Noticeable Difference units (JNDs) for each body region (y-axis) for the five hummingbirds species: A) *Amazilia versicolor*, B) *Colibri serrirostris*, C) *Eupetomena macroura*, D) *Florisuga fusca* and E) *Leucochloris albicollis*. The horizontal dashed line indicates JND = 1. Values above 1 indicate the difference is large enough to be distinguishable among individuals. Box plots represent medians, 25% and 75% quartiles and lines 5% and 95% quartiles.....68

Figure 4. Values for the reflectance peaks that differed significantly between the sexes for UVS, SWS, MWS, LWS cones and double-cone for the five hummingbirds species: A) *Amazilia versicolor*, B) *Colibri serrirostris*, C) *Eupetomena macroura*, D) *Florisuga fusca* and E) *Leucochloris albicollis*. Values for males (gray) and females (white) are means with 95% confidence intervals.....69

CAPÍTULO 3

Figura 1. Padrões de muda da cauda e asas em beija-flores. O padrão de muda predominante (proximal ao distal) foi observado nas asas (A) e na cauda (C). Entretanto, exceções foram registradas, onde inversões ocorreram na última substituição P8, P9 e P10 (B) e R3, R4 e R5 (D).....88

Figura 2. Fotografia de um indivíduo capturado uma única vez, onde foi possível observar o padrão de muda na direção proximal a distal. Na imagem, a muda pode ser observada na asa de um *Eupetomena macroura*, em P1 e P2. Note que na P1 é possível observar o canhão da pena, enquanto na P2 ainda não há crescimento aparente, sugerindo que a primeira pena foi substituída antes da segunda.....89

Figura 3. Cronograma da muda nas penas primárias, secundárias e retrizes em sete espécies de beija-flores durante o ciclo 2013/14. Os triângulos na base indicam os dias de captura. Note que a presença de indivíduos jovens (indicando a saída destes do ninho) foi observada em todas as espécies poucos dias antes da muda se iniciar, apontando que a muda ocorre após a fase reprodutiva. As espécies estão ordenadas de baixo a cima seguindo a abundância de indivíduos em muda. LEAL – *Leucochloris albicollis*; COSE – *Colibri serrirostris*; AMVE – *Amazilia versicolor*; FLFU – *Florisuga fusca*; THGL – *Thalurania glaucopis*; ANNI – *Anthracothorax nigricollis*; e EUMA – *Eupetomena macroura*.....90

Figura 4. Método para captura em armadilha do tipo gaiola com controle remoto. (A) porta principal; (B) porta; (C) gancho para desarme; (D) motor elétrico com unidade de controle; (E) terminal externo que pode ser conectado a saídas elétricas ou baterias; (F) porta lateral por onde as aves capturadas são retiradas; e (G) controle remoto.....91

CAPÍTULO 4

Figura 1. Calendário anual de aparecimento das espécies, sexos e idades, de 13 espécies de beija-flores registradas entre março de 2013 a março de 2015, em uma área de Floresta Atlântica no Sul do Brasil.....127

Figura 2. Estimativas populacionais de *Leucochloris albicollis* entre março de 2013 a março de 2015. As barras representam os intervalos de confiança de 95%.....128

RESUMO GERAL

A dinâmica populacional em beija-flores na América do Sul é praticamente desconhecida e pouco estudada, devido à dificuldade de captura e, conseqüentemente, ao baixo número de marcações e recapturas. No entanto, pela diversidade de espécies desta família e sua ampla distribuição, e o papel que desempenha na polinização de recursos efêmeros, entender a sua dinâmica populacional é importante para compreender também a sua ecologia e evolução. Aqui, começamos a preencher esta lacuna através da utilização de estudos de captura-marcação-recaptura para examinar a dinâmica da população e outros aspectos da ecologia de beija-flores. Examinamos a muda de algumas espécies e o dimorfismo sexual e identificação sexual molecular em um grupo de cinco espécies aparentemente monomórficas. Todas as espécies de beija-flores na área de estudo tendem a migrar, mas os detalhes da migração e as comparações foram difíceis de determinar, já que os indivíduos marcados não foram recapturados longe da nossa área. A espécie mais abundante e consistentemente comum foi o beija-flor-de-papo-branco (*Leucochloris albicollis*), com tamanho populacional variando aproximadamente entre 150–450 indivíduos (variação mensal), e com o pico de abundância em março, após a aparente temporada de reprodução entre novembro e dezembro. A sobrevivência para esta espécie foi estimada em 33% ao ano, o que é baixa para uma ave tropical. O padrão da muda das penas primárias de voo em nossa assembleia é semelhante ao já registrado em outras assembleias de beija-flores, no sentido proximal para o distal. Entretanto, em nossas espécies houve menos variação na seqüência de troca das penas mais distais em comparação aos outros estudos. A muda das penas secundárias foi mais variável na seqüência de troca, enquanto as retrices foram mais consistentes. O período de muda iniciou-se a partir de dezembro e se estendeu até meados de abril, mas determinar corretamente a duração do período foi difícil, uma vez que alguns indivíduos migraram enquanto realizavam a muda, delimitando a recaptura para determinar o período concreto. Três das cinco espécies aparentemente monomórficas – uma vez que o sexo foi identificado através de nossa nova técnica molecular para beija-flores – são sexualmente dicromáticas (*Colibri serrirostris*, *Eupetomena macroura*, *L. albicollis*) na reflexão de luz UV em suas penas. O tamanho e forma, no entanto, foram semelhantes em ambos os sexos para todas as espécies. Estes resultados demonstram que algumas espécies de beija-flores podem ser muito abundantes, mas que esta abundância pode variar amplamente ao longo do ano. Também, mostramos a existência de migração durante a muda, porém sem detalhamentos sobre a duração total deste período, permanecendo esta questão ainda desconhecida. As taxas de sobrevivência foram baixas para *L. albicollis* comparadas à outras espécies de aves tropicais, sugerindo relativamente alto sucesso reprodutivo. Por fim, mostramos dicromatismo sexual à luz UV (imperceptível aos seres humanos) em três das cinco espécies, sugerindo que pode haver também nas demais, mas que precisa ser descoberto em uma análise mais aprofundada das penas de outras regiões do corpo. Assim, com este estudo nós iniciamos um melhor entendimento das dinâmicas populacionais em beija-flores.

Palavras-chave: coloração, dimorfismo sexual, dinâmicas populacionais, morfometria, muda das penas de voo, sexagem, Trochilidae

GENERAL ABSTRACT

Population dynamics in hummingbirds in South America is virtually unknown and unstudied, due to difficulty in their capture in numbers for mark and recapture studies. Yet, due to species diversity, distributions, the role they play as pollinators of ephemeral resources and their colorful displays, study of their population dynamics is important for understanding their ecology and evolution. Here, we begin to fill this lacuna by using capture-mark-recapture to examine population dynamics, and other aspects of hummingbird ecology. We examined molt in a variety of species and sexual dimorphism and molecular identification of the sexes in a group of five apparently monomorphic species. All hummingbird species in the study area tend to migrate, but details of migration and comparisons are difficult to determine because marked birds were never recaptured away from the study area. The most abundant and consistently common species, the White-throated Hummingbird (*Leucochloris albicollis*) had a population size that varied from ~150–450 individuals (monthly variation) in the study area, with the peak abundance in March, following after the apparent breeding season in November-December. Survival was estimated at 33% per year, which is low for a tropical bird. Molt is similar to that of other hummingbirds, from proximal to distal primary feathers, but in our study species varied less in the sequence of the most distal feathers as compared to other studies. Secondaries were quite variable in their sequence of molt, while retrices were more consistent. Molt took place beginning in December and continued to April, but defining the end of molt was difficult because species migrate while undergoing molt, and so recaptures to delimit the end of molt was not possible. Three of the five apparently monomorphic species, once sex was identified through our new molecular technique for hummingbirds, were sexually dichromatic (*Colibri serrirostris*, *Eupetomena macroura*, *L. albicollis*) in UV light reflectance in their feathers. Size and shape, however, were similar in both sexes. With these results, we find that hummingbird species can be very abundant, but abundance varies widely over the year, they migrate while molting but the details of their end points of migration remain unknown, and survival rates are low, suggesting relatively high reproductive success. We show sexual dichromatism in UV light (which humans do not perceive) in three of five species, and suggest that the others also are dichromatic, which will be discovered on further examination of the appropriate feathers. Thus, with this study we have begun to better understand hummingbird population dynamics.

Keywords: coloration, molting of flight feathers, morphometry, population dynamics, sexing, sexual dimorphism, Trochilidae

INTRODUÇÃO GERAL

Muitos aspectos dentro de um ecossistema podem direcionar e até mesmo redirecionar a compreensão do conhecimento. Entretanto, para que haja o entendimento de questões mais amplas, conduzir as perguntas em escalas menores, como ao nível das populações e dos indivíduos, permite uma percepção pontual do funcionamento complexo de um ecossistema (Townsend 2003, Begon et al. 2006). Dentre esses focos, a dinâmica populacional representa um importante ponto de partida, já que através dela é possível estabelecer a configuração de uma população em uma área ao longo de um dado período de tempo (Fogden 1972, Armstrong et al. 2002, Lunardi et al. 2007, Lima & Roper 2009, Hostetler et al. 2015).

Os Trochilidae, popularmente conhecidos como beija-flores, compõem uma das famílias de aves mais importantes nas interações entre animais e plantas, por serem um dos principais agentes polinizadores das flores dentre os vertebrados na região Neotropical (Janzen 1975, Stiles 1981). Considerando que, em dadas comunidades, o percentual de plantas ornitófilas pode chegar a média de 15% do total das angiospermas (Sazima et al. 1996), compreender quais são as espécies polinizadas que estão nestes ambientes e como funcionam suas dinâmicas, se torna fundamental para a manutenção e conservação das mesmas, especialmente quando essas relações resultam em papéis importantes de serviços ecossistêmicos, como a polinização (Janzen 1975, Sazima et al. 1996, Regan et al. 2015). Contudo, para além de estudos focados na relação entre os beija-flores e a vegetação, muito pouco do conhecimento foi explorado até hoje, especialmente sobre aspectos populacionais deste grupo.

A dinâmica populacional pode ser compreendida através de alguns parâmetros, como a sobrevivência e o tamanho populacional, que em conjunto com outros, permite estimar as taxas de nascimento, mortalidade, imigração e emigração das espécies (Chao

1987). Ambos os parâmetros podem ajudar na compreensão da estrutura de uma população, como por exemplo, a detectar declínios ao longo do tempo. Estes resultados possibilitam que as ações de manejo e conservação sejam direcionadas sobre as espécies e suas respectivas áreas de ocorrência a partir dos padrões observados (Martin 1995, Armstrong et al. 2002, Lima & Roper 2009, Hostetler et al. 2015). Porém, pensando em uma escala mais refinada, no nível de indivíduo, podemos encontrar ainda muitas outras questões que influenciam diretamente as dinâmicas das populações, como por exemplo, o dimorfismo e o comportamento, que podem variar etaria e sexualmente entre os indivíduos de uma população e estão diretamente relacionadas a reprodução (Payne 1984, Fairbairn et al. 2007).

O dimorfismo sexual configura, desde Charles Darwin (1871), um importante aspecto para o entendimento das estratégias reprodutivas das espécies, uma vez que as variações nas características sexuais primárias, secundárias e ecológicas podem determinar, por exemplo, a forma como os indivíduos investem na busca por parceiros e cuidam de suas proles (Hurly et al. 2001, Fairbairn et al. 2007, Dale et al. 2015, Rico-Guevara & Araya-Salas 2015). Para além do dimorfismo primário, no qual as diferenças estão relacionadas aos órgãos reprodutores, são conhecidas também diferenças secundárias que, em geral, são expressas na morfologia externa dos indivíduos, como tamanhos de asas e outras estruturas (Stiles 1972, Stiles 1995, Bleiweiss 1999, Stiles et al. 2005, Las-Casas & Azevedo-Júnior 2009) e coloração (Hill 1991, Doucet 2002, Dale et al. 2015), diferenças ecológicas ligadas indiretamente às funções reprodutivas, que podem ser relacionadas ao hábito de vida.

A determinação molecular do sexo é um dos métodos mais difundidos atualmente para comprovar o sexo de um indivíduo, apresentando resultados rápidos e de baixo custo, além de um alto grau de confiabilidade (Griffiths et al. 1998, Fridolfsson & Ellegren 1999,

Jensen et al. 2003). Outra vantagem, comparado a outros métodos comerciais de sexagem, como a laparoscopia e a tomografia, está na menor invasibilidade e, conseqüente, minimização do estresse do animal (Prus & Schmutz 1987, Taylor 1994). Esta última vantagem é especialmente interessante para espécies de pequeno porte, como os beija-flores, nos quais métodos como a laparoscopia seriam inviáveis devido especificamente à morfologia dos indivíduos. Entretanto, até recentemente, muito pouco se conhecia sobre técnicas moleculares eficazes para a sexagem de Trochilidae, sendo descritos procedimentos realizados apenas com duas espécies, *Colibri coruscans* e *Selasphorus platycercus* (Jensen et al. 2003, John & Quinn 2008). Porém, considerando a diversidade desta família, com cerca de 338 espécies conhecidas (McGuire et al. 2014), os resultados destes poucos estudos explorados superficialmente não se tornaram suficientes para a replicação do método em outras espécies.

Além do método molecular, já foram registrados outros métodos para se determinar o sexo em aves com dimorfismo sexual, especialmente sobre as características secundárias, como diferenças nos tamanhos de asas e bicos (Stiles 1972, Stiles 1995, Bleiweiss 1999, Stiles et al. 2005, Las-Casas & Azevedo-Júnior 2009), e na coloração das penas (Hill 1991, Doucet 2002, Dale et al. 2015). Apesar do dimorfismo sexual ser conhecido para diversos grupos de aves, em muitas espécies não são encontradas diferenças aparentes entre fêmeas e machos, sendo estas consideradas monomórficas (Sick 1997). Porém, as diferenças entre sexos podem simplesmente não ser perceptíveis ao homem, resultando em conclusões errôneas sobre a classificação destas espécies (Eaton 2005). Essa sutileza pode decorrer, por exemplo, de diferenças na morfometria, como já relatada para algumas espécies dimórficas de beija-flores, em que os bicos, as asas e as caudas divergem entre os sexos. Este padrão foi associado, principalmente, à diferenciação

de nichos e forma de exploração dos recursos apresentadas em cada sexo (Bleiweiss 1999, Colwell 2000, Temeles & Kress 2003).

Outra característica que frequentemente é relatada como monomórfica para muitas espécies de aves é a coloração (Eaton 2005). Neste caso, o número de classificações equívocas pode ser ainda maior, visto que a visão das aves se diferencia da humana, pela presença de um quarto tipo de cone, com células sensoriais fotossensíveis que as permitem enxergar através da faixa do ultravioleta (Cuthill et al. 2000, Ödeen et al. 2011, Ödeen & Håstad 2013). Esta nova informação sobre a morfologia dos beija-flores associada ao uso de análises de espectrofotometria, permitiu reclassificar diversas espécies dicromáticas, outrora consideradas monocromáticas (Eaton 2005). Apesar dos beija-flores exibirem uma plumagem exuberante, que contempla adornos iridescentes, inclusive em espécies aparentemente monomórficas, pouco se sabe sobre a percepção da coloração neste grupo (Parra 2010, Schmitz-Ornés & Schuchmann 2011, Meadows et al. 2012). E, mesmo sabendo de sua capacidade de visão do ultravioleta (Herrera et al. 2008), nenhum estudo foi direcionado a entender se espécies de beija-flores aparentemente semelhantes em coloração são realmente iguais neste aspecto.

O dimorfismo sexual pode resultar em diferentes estratégias reprodutivas que estão relacionadas ao sexo do indivíduo e que afetam as dinâmicas populacionais (Lindström & Kokko 1998, Rankin & Kokko 2007). Entretanto, podemos ainda enxergar, dentro de uma assembleia, por exemplo, características que variam, para além do sexo, entre as espécies e indivíduos e que são capazes de afetar as dinâmicas populacionais. A muda, que consiste no processo de troca das penas, ocorre em todas as aves e já é sabido que pode variar entre espécies, indivíduos e populações em diversos aspectos, como na duração e sequência de troca (Prys-Jones 1991, Jenni & Winkler 1994, Ryder & Wolfe 2009). Por ser um processo que demanda alto custo energético, compreender o padrão de muda é algo fundamental

para o entendimento de outros processos biológicos, como a reprodução e a migração. Nos Trochilidae, que são quase totalmente dependentes do voo e os gastos energéticos nos períodos de muda podem corresponder a até 40% do metabolismo basal de um indivíduo (Chai 1997), entender este processo de muda e sua influência sobre a reprodução e a migração torna-se fundamental para compreender a dinâmica das populações ao longo do tempo (Baltosser 1995, Ryder & Wolfe 2009).

Visto que a compreensão de abordagens abrangentes em um ecossistema depende de um olhar singular sobre aspectos pontuais, como a presença de dimorfismo sexual e a variação nos padrões de muda entre as espécies e indivíduos, e como estas características podem interferir nas dinâmicas das populações, o objetivo desta tese foi testar a presença de dimorfismo sexual secundário em cinco espécies aparentemente monomórficas de beija-flores (*Amazilia versicolor*, *Colibri serrirostris*, *Eupetomena macroura*, *Florisuga fusca* e *Leucochloris albicollis*), abordando duas vertentes: i) morfometria e ii) coloração. Além disso, foi objetivo desta tese descrever um método sobre o processo de sexagem molecular em Trochilidae, até hoje pouco detalhada. Outro objetivo foi caracterizar como ocorre o processo de muda em uma assembleia de beija-flores, detalhando o período e os padrões de troca das penas de voo, com suas respectivas variações entre indivíduos e espécies. O objetivo final foi apresentar estimativas populacionais de sobrevivência e tamanho populacional para a espécie mais abundante em nosso conjunto, *L. albicollis*. Além disso, mostrar como a assembleia está organizada sazonalmente, por idade e sexo. Estes resultados auxiliarão na compreensão de abordagens ecológicas e evolutivas para os Trochilidae, diante do que é atualmente conhecido nesta família, culminando em inferências sobre importantes aspectos da vida em um dos clados com maior radiação adaptativa entre as aves (McGuire et al. 2014).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Armstrong, D. P., Davidson, R. S., Dimond, W. J., Perrott, J. K., Castro, I., Ewen, J. G., Griffiths, R. & Taylor, J. 2002. Population dynamics of reintroduced forest birds on New Zealand islands. *Journal of Biogeography* 29: 609–621.
- Baltosser, W. H. 1995. Annual molt in Ruby-throated and Black-chinned hummingbirds. *The Condor* 97: 484–491.
- Begon, M., Townsend, C. R. & Harper, J. L. 2006. Ecology: from individuals to ecosystems. Blackwell Publishing, Oxford.
- Bleiweiss, R. 1999. Joint effects of feeding and breeding behaviour of trophic dimorphism in hummingbirds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 266: 2491–2497.
- Chai, P. 1997. Hummingbird hovering energetics during moult of primary flight feathers. *The Journal of Experimental Biology* 200: 1527–1536.
- Chao, A. 1987. Estimating the population size for capture-recapture data with unequal catchability. *Biometrics* 43: 783–791.
- Colwell, R. K. 2000. Rensch's rule crosses the line: convergent allometry of sexual size dimorphism in hummingbirds and flower mites. *The American Naturalist* 156: 495–510.
- Cuthill, I. C., Partridge, J. C., Bennett, A. T. D., Church, S. C., Hart, N. S. & Hunt, S. 2000. Ultraviolet vision in birds. *Advances in the Study of Behavior* 29: 159–214.
- Dale, J., Dey, C. J., Delhey, K., Kempenaers, B. & Valcu, M. 2015. The effects of life history and sexual selection on male and female plumage colouration. *Nature* 527: 367–370.
- Darwin, C. 1871. The descent of man, and selection in relation to sex. John Murray, Londres.

- Doucet, S. M. 2002. Structural plumage coloration, male body size, and condition in the blue-black grassquit. *The Condor* 104: 30–38.
- Eaton, M. D. 2005. Human vision fails to distinguish widespread sexual dichromatism among sexually “monochromatic” birds. *PNAS* 102: 10942–10946.
- Fairbairn, D. J., Blanckenhorn, W. U. & Székely, T. 2007. Sex, size, and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism. Oxford University Press, Oxford.
- Fogden, M. P. L. 1972. The seasonality and population dynamics of equatorial forest birds in Sarawak. *Ibis* 114: 307–343.
- Fridolfsson, A. K. & Ellegren, H. 1999. A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of Avian Biology* 30: 116–121.
- Griffiths, R., Double, M., Orr, K. C. Y. & Dawson, R. J. G. 1998. A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology* 7: 1071–1075.
- Herrera, G., Zagal, J. C., Diaz, M., Fernandez, M. J., Vielma, A., Cure, M., Martinez, J., Bozinovic, F. & Palacios, A. G. 2008. Spectral sensitivities of photoreceptors and their role in colour discrimination in the green-backed firecrown hummingbird (*Sephanoides sephaniodes*). *Journal of Comparative Physiology A* 194: 785–794.
- Hill, G. E. 1991. Plumage coloration is a sexually selected indicator of male quality. *Nature* 350: 337–339.
- Hostetler, J. A., Sillett, T. S. & Marra, P. P. 2015. Full-annual-cycle population models for migratory birds. *The Auk* 132: 433–449.
- Hurly, T. A., Scott, R. D. & Healy, S. D. 2001. The function of displays of male Rufous hummingbirds. *The Condor* 103: 647–651.
- Janzen, D. H. 1975. Ecology of plants in the tropics. Edward Arnold, Londres.
- Jenni, L. & Winkler, R. 1994. Moults and ageing of European Passerines. Academic Press Limited, Londres.

- Jensen, T., Pernasetti, F. M. & Durrant, B. 2003. Conditions for rapid sex determination in 47 Avian species by PCR of genomic DNA from blood, shell-membrane blood vessels, and feathers. *Zoo Biology* 22: 561–571.
- John, J. S. & Quinn, T. W. 2008. Rapid capture of DNA targets. *BioTechniques* 44: 259–264.
- Las-Casas, F. M. G. & Azevedo-Júnior, S. M. 2009. Dimorfismo sexual de tamanho no beija-flor-de-costas-violetas *Thalurania watertonii* (Bourcier, 1847) (Aves: Trochilidae): implicações ecológicas. *Ornithologia* 3: 83–89.
- Lima, A. M. X. & Roper, J. J. 2009. Population dynamics of the black-cheeked gnateater (*Conopophaga melanops*, Conopophagidae) in southern Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 25: 605–613.
- Lindström, J. & Kokko, H. 1998. Sexual reproduction and population dynamics: the role of polygyny and demographic sex differences. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 265: 483–488.
- Lunardi, V. O., Francisco, M. R. & Galetti, P. M. 2007. Population structuring of the endemic black-cheeked gnateater, *Conopophaga melanops melanops* (Vieillot, 1818) (Aves, Conopophagidae), in the Brazilian Atlantic Forest. *Brazilian Journal of Biology* 67: 867–872.
- Martin, T. E. 1995. Avian life history evolution in relation to nest sites, nest predation, and food. *Ecological Monographs* 65: 101–127.
- McGuire, J. A., Witt, C. C., Renssen, J. V., Corl, A., Rabosky, D. L., Altshuler, D. L. & Dudley, R. 2014. Molecular phylogenetics and the diversification of hummingbirds. *Current Biology* 24: 1–7.

- Meadows, M. G., Roudybush, T. E. & McGraw, K. J. 2012. Dietary protein level affects iridescent coloration in Anna's hummingbirds, *Calypte anna*. *Journal of Experimental Biology* 215: 2742–2750.
- Ödeen, A. & Håstad, O. 2013. The phylogenetic distribution of ultraviolet sensitivity in birds. *BMC Evolutionary Biology* 13: 36 doi: 10.1186/1471-2148-13-36.
- Ödeen, A., Håstad, O. & Alström, P. 2011. Evolution of ultraviolet vision in the largest avian radiation – the passerines. *BMC Evolutionary Biology* 11: 313.
- Parra, J. L. 2010. Color evolution in the hummingbird genus *Coeligena*. *Evolution* 64: 324–335.
- Payne, R. B. 1984. Sexual selection, lek and arena behavior, and sexual size dimorphism in birds. *Ornithological Monographs* 33: 1–52.
- Prus, S. E. & Schmutz, S. M. 1987. Comparative efficiency and accuracy of surgical and cytogenetic sexing in Psittacines. *Avian Diseases* 31: 420–424.
- Prys-Jones, R. M. 1991. The occurrence of biannual primary molt in passerines. *Bulletin of the British Ornithologist's Club* 111: 150–152.
- Rankin, D. J. & Kokko, H. 2007. Do males matter? The role of males in population dynamics. *Oikos* 116: 335–348.
- Regan, E. C., Santini, L., Ingwall-King, L., Hoffmann, M., Rondinini, C., Symes, A., Taylor, J. & Butchart, S. H. M. 2015. Global trends in the status of bird and mammal pollinator. *Conservation Letters* 8: 397–406.
- Rico-Guevara, A. & Araya-Salas, M. 2015. Bills as daggers? A test for sexually dimorphic weapons in a lekking hummingbirds. *Behavioral Ecology* 26: 21–29.
- Ryder, T. B. & Wolfe, J. D. 2009. The current state of knowledge on molt and plumage sequences in selected Neotropical bird families: a review. *Ornitologia Neotropical* 20: 1–18.

- Sazima, I., Buzato, S. & Sazima, M. 1996. An assemblage of hummingbird-pollinated flowers in a Montane Forest of southeastern Brazil. *Botanica Acta* 109: 149–160.
- Schmitz-Ornés, A. & Schuchmann, K. 2011. Taxonomic review and phylogeny of the hummingbird genus *Topaza* Gray, 1840 using plumage color spectral information. *Ornitologia Neotropical* 22: 25–38.
- Sick, H. 1997. *Ornitologia Brasileira*. Ed. Nova Fronteira, Rio de Janeiro.
- Stiles, F. G. 1972. Age and sex determination in Rufous and Allen hummingbirds. *The Condor* 74: 25–32.
- Stiles, F. G. 1981. Geographical aspects of bird-flower coevolution, with particular reference to Central America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68: 323–351.
- Stiles, F. G. 1995. Behavioral, ecological and morphological correlates of foraging for arthropods by the hummingbirds of a tropical wet forest. *The Condor* 97: 853–878.
- Stiles, F. G., Altshuler, D. L. & Dudley, R. 2005. Wing morphology and flight behavior of some North American hummingbirds species. *The Auk* 122: 872–886.
- Taylor, M. 1994. Endoscopic examination and biopsy techniques. In: Ritchie, B. W., Harrison, G. J. & Harrison, L. R. (eds.), *Avian medicine: principles and applications*. Wingers, pp. 327–354.
- Temeles, E. J. & Kress, J. 2003. Adaptation in a plant-hummingbird association. *Science* 300: 630–633.
- Townsend, C. R. 2003. Individual, population, community, and ecosystem consequences of a fish invader in New Zealand streams. *Conservation Biology* 17: 38–47.

CAPÍTULO 1

Molecular sex determination and sexual monomorphism in five species of hummingbirds
in Southern Brazil*

* Artigo elaborado de acordo com as normas do periódico *Journal of Avian Biology*.

Title: Molecular sex determination and sexual monomorphism in five species of hummingbirds in Southern Brazil

Felipe L. S. Shibuya¹, Flavia Torres Presti², Susana Alexandra Costa Lopes³, Paulo Gama Mota^{3,4} and James J. Roper^{1,5}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

² Instituto Federal do Paraná, Jacarezinho, Paraná, Brazil

³ CIBIO, Research Center for Biodiversity and Genetic Resources, University of Porto, Vairão, Portugal

⁴ Department of Life Sciences, University of Coimbra, Coimbra, Portugal

⁵ Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas, Universidade de Vila Velha, Vila Velha, Espírito Santo, Brazil

ABSTRACT

Hummingbirds are well-known due to their small size and their bright coloration. In most species males are more colorful, which suggests the action of sexual selection on coloration. But, in other species both sexes are colorful and present no sexual dimorphism, which is puzzling. For a number of reasons in order to study this we must first be able to identify the sexes of these monomorphic species and also determine whether a form of more cryptic sexual dimorphism (in the absence of sexual dichromatism) does exist. Here we use a non-invasive, molecular, method for determining sex in monomorphic hummingbirds and then, with known sex birds, compare sexes based on morphology, under the hypothesis that there are morphological differences between the sexes. We successfully sexed 103 individuals of five species of hummingbird (*Amazilia versicolor*, *Colibri serrirostris*, *Eupetomena macroura*, *Florisuga fusca* and *Leucochloris albicollis*). In all species, gene fragments on the Z chromosome in males were 374 bp, and on the W chromosome in females were 379 bp or 383 bp in *C. serrirostris* and *F. fusca*. All morphological measurements did not vary with sex, both with univariate and multivariate analysis. Thus, we demonstrate an efficient method for molecular sexing of hummingbirds and with that information show that several species are sexually monomorphic using typical morphological measurements. The puzzle of sexual monomorphism in some hummingbirds remains unsolved. Possible explanations for this are the hypothesis of similar competitive roles between the sexes or as a way to reduce sexual competition within the species.

INTRODUCTION

Sexual dimorphism is a common consequence of the evolutionary process due to the presence of different selective forces acting on the sexes. This can be due to natural or sexual selection and its influence on the life history of species (Lande 1980, Selander 1966). Selection for dimorphism results often from selection upon males (Andersson 1994, Darwin 1871), but that is not necessarily always the case, and can also result from selection on females (Amundsen 2000a, 2000b, Amundsen and Pärn 2006). Besides, there is always a benefit to individuals for sex recognition (Dale 2006).

While well-known for their typically bright colored males, many species of hummingbirds (Family Trochilidae) are sexually monochromatic, at least to the human vision (Schuchmann 1999, Sick 1997). This is an enigma because only females care for the nest and young in all species of hummingbirds and such behavior is generally thought to be associated with selection for ornaments in males. Strong sexual selection is invoked to explain the elaborate courtship displays and colorful ornaments and often colorful or exaggerated feathers, including crests and long tails, found only in males of many species (Hurly et al. 2001, Rico-Guevara and Araya-Salas 2015). Thus, the dichotomy between strongly sexually dimorphic species and apparently monomorphic species, both presumed with similar mating strategies and forms of parental care generates the question of why those species are monomorphic. To answer this question an adequate identification of the sexes and tests for true monomorphism are necessary in monomorphic species (Bertault et al. 1999, Miyaki et al. 1998, Russello and Amato 2001).

In some species of dichromatic hummingbirds, sexual dimorphism has been found in morphology, especially in weight, bill length, wing length and tail length (Las-Casas and Azevedo-Júnior 2009, Stiles et al. 2005, Wolf 1970). In monochromatic species differences were also observed, but have been little reported (Stiles 1995). To determine whether those

trends hold for other species, and here especially in monochromatic species, requires a reasonable sample size of known sex by species which implies sacrificing the animals to determine sex. Sampling without replacement (i.e. sacrificing animals) is inappropriate for studies of population dynamics in which marking and recapturing individuals is of primary importance. Thus, we first wanted to identify sex through non-invasive methods and, then use morphology or behavior to determine sex in the field (Jensen et al. 2003, Jodice et al. 2000, Martin et al. 2000).

Molecular analysis of tissue samples provides a non-invasive method, in which sex identification takes advantage of the intron length of the gene CHD-1 on the Z and W chromosomes (300–400 and 400–700 bp respectively; Fridolfsson and Ellegren 1999, Griffiths et al. 1998). When subjected to electrophoresis, the different intron length fragments separate (on agarose gel) and are easily distinguished. In hummingbirds, this method has previously been successfully tested in two species (*Colibri coruscans* and *Selasphorus platycercus*; Jensen et al. 2003, John and Quinn 2008) and unsuccessfully in others (Presti, pers. obs.), bringing into question its efficacy.

Here, our goal is to first use molecular techniques to determine sex, and then use it to compare morphological measurements between the sexes, in five apparently monochromatic species of hummingbirds in southern Brazil (*Amazilia versicolor*, *Colibri serrirostris*, *Eupetomena macroura*, *Florisuga fusca* and *Leucochloris albicollis*), with the hypothesis that there is sexual dimorphism in body regions related to foraging strategies.

METHODS

Study area

Hummingbirds were captured since 2005 near Piraquara, in the state of Paraná in southern Brazil (25.5214°S, 49.0925°W), as part of an ongoing population dynamics study. This

area comprises forest fragments of varying age with corridors connecting it to the largest expanse of Atlantic Forest in southeastern Brazil.

We used live-traps with a HummZinger® hummingbird feeder placed inside each trap to capture the hummingbirds. When birds entered the trap, we released the trap door that prevented them from escaping. A small side door on the trap allowed reaching in and taking the bird. A total of over 2000 individuals of 13 species were captured. Of these there are five species that are relatively abundant and apparently sexually monochromatic and monomorphic that we used in this study (Table 1).

Samples

Between August 2014 and March 2015, flight feathers were removed from the birds to collect the tissues at the base of the feather. We also sample a small quantity of blood from the claw, from a small cut. Feather samples were placed in absolute alcohol and stored at ambient temperatures, as well as the blood on filter paper, for later analysis in the lab. For most individuals, using DNA from blood as it was more easily extracted, but for eleven *L. albicollis* samples were only of feathers without blood, as it was not blood samples collected in these individuals, for they have escaped before collection (Table 1).

All captured birds were also measured and weighed following standard procedures for birds. We measured the standard variables used in bird studies, including bill length (BL), culmen length (CL), bill depth (BD), bill width (BW), wing length (WL) and tail length (TL), but not tarsus length, as it was found to have a large measurement error due to the small size of birds. Thus to measure these variables with very little error and greater precision, we used photographs rather than calipers while in hand. We standardized photographs to ensure consistency and precision by taking two pictures of the head (above and laterally, for bill measurements) and one picture each of the right wing and tail. All

photographs (digital, > 8 megapixel quality) included a ruler and the camera was held perpendicular to the animal and background. Morphological variables were then measured in the photographs using ImageJ© (1.47t, National Institutes of Health, USA) to three decimal places (in millimeters). We weighed all birds on an electronic digital balance to 0.01g precision.

PCR of part of the CHD and capillary electrophoresis

To sex birds, we amplified fragments of the chromodomain-helicase-DNA-binding (CHD) gene through polymerase chain reaction (PCR), using the primers P2 and P8 (Griffiths et al. 1998). DNA was isolated using MicroKit from Qiagen following the manufacturer's protocol (Bruford et al. 1992). Initially, we used the P2 and P8 primers in the following conditions: 4.7 ul of MilliQ water, 1.0 ul buffer (10X), 1.0 ul dNTPs (2 mM), 0.2 ul of MgCl₂ (25 mM), 0, 1 ul Taq polymerase (5 U / uL, Pharmacia), 1 ul of P2 primer (10µM) and 1 ul of P8 primer (10µM), and 1 ul of DNA (20-50 ng). The gene fragments were amplified in a T100 Biorad thermal cycler at 95°C for 5 min, 28 cycles at 94°C for 30 s, 48°C for 45 s and 72°C for 45 s, which was then continued for another 5 min. The products were separated in 3% agarose gel and all the reactions were accompanied by positive control, or a previously sexed female sample.

As it was not possible to separate bands in females agarose gel, P2 primers were labeled with the fluorescent dye FAM. PCR amplification with Mytaq (Bioline) was carried out in a 10 µl reaction mixture following the manufacturer's protocol, using the same previously mentioned cycle. PCR products were separated by capillary electrophoresis using the automatic sequencer ABI 3130xl Genetic Analyzer. Fragments were scored against Genescan-500LIZ size Standard, using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems).

Comparison of morphology between the sexes

Once sexes were identified, we compared morphological variables between sexes using Student t-tests (in *E. macroura*). When sample sizes were insufficient, we plotted pairs of morphological measurements by sex to determine whether a grouping by sex was apparent. We used all variables, especially those that in other studies were demonstrated to vary with sex: weight, bill length, wing length and tail length (Bleiweiss 1999, Las-Casas and Azevedo-Júnior 2009, Stiles 1972, Stiles 1995, Stiles et al. 2005, Wolf 1970). We show scatterplots to assess if a tendency towards a bimodal distribution is evident. Under the prediction of sexual dimorphism, bimodality is expected. Only adult birds were included and males and females were identified in this study. Individuals of unknown sex are those captured prior to this study, and thus were not sexed.

RESULTS

We successfully sexed all 103 individuals using genotyping with fluorescent primer and unable to sexing by agarose gel. Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp in all five species. In females, gene fragments were 379 bp on the W chromosome in *A. versicolor*, *E. macroura* and *L. albicollis*, while they were 383 bp in *C. serrirostris* and *F. fusca*. (Table 1 and see Supplementary Material).

With sex identified in these individuals, we found that all morphological measurements were independent of sex (Fig. 1 and Table 2). Indeed, when we plotted all measured individuals (female, male and unknown sex) for species with small sample sizes – *C. serrirostris* (Fig. 1A), *A. versicolor* (Fig. 1B), *L. albicollis* (Fig. 1C) and *F. fusca* (Fig. 1D) – the scatterplots show no tendency to form bimodal groupings that would indicate sexual dimorphism. In the species with sample sizes that permitted the Student t-tests (*E. macroura*), no significant differences between the measures were observed (Fig. 2 and

Table 2; all comparisons with $p > 0.05$). So all measurements taken in each species did not differ between sexes, both in univariate and multivariate analysis, and therefore, our data did not support the existence of sexual dimorphism in size.

DISCUSSION

We successfully identified sex in all five species of sexually monochromatic hummingbirds using PCR with part of the CHD gene and P2 and P8 primers only by genotyping automated sequencer. Thus, our method was efficient and provides a very useful way to identify sex non-invasively. Using this procedure, differences in base pair lengths, though small (~1%), were easily recognized. These differences would have been difficult or impossible to see using electrophoresis on agarose gel (Griffiths 2000, Wang et al. 2007) due to insufficient resolution. This method will probably be useful for all other hummingbirds, as well as other groups of birds (Lee et al. 2010).

Using PCR to identify sex in sexually monomorphic hummingbirds makes this tool very useful and less invasive than other options. It will allow the use of small samples of blood or feathers collected in the field, allowing individuals to be released unharmed after capture. Other options, such as laparoscopy or tomography, are much more intrusive and potentially fatal (Griffiths 2000, Prus and Schmutz 1987, Taylor 1994, Wang et al. 2007). Karyotyping birds is also much less certain and may not always result in clear identification of sex (Griffiths 2000). And, while PCR is now a standardized and relatively inexpensive procedure, our study is one of the first to be applied to hummingbirds (Jensen et al. 2003, John and Quinn 2008). Now, with the use of PCR, and in combination with individually marked birds (Kapoor 2012, Stiles et al. 2005), field studies may address sex in their analyses of ecology and behavior of hummingbirds (Lee et al. 2010). Because about half of all hummingbird species are considered sexually monochromatic, our results

are extremely useful in that they show how it is possible to sex individuals in mark and recapture studies, and that is of considerable use both for populational studies as well as to examine how sexes may differ.

Surprisingly, external morphology is similar between the sexes in all five of the species studied here. It is often the case that sexually dichromatic birds have similar morphological measurements (Jehl and Murray-Junior 1989, Miyaki et al. 1998, Sick 1997). However, we expected some sexual differences, however subtle in sexually monochromatic species (Stiles 1995, Winker et al. 1994), since sex differences, even if subtle, could benefit the individuals to recognize themselves sexually, and would show signs of selection (Dale 2006). Understanding sexual dimorphism, if any, is important in any study that examines sexual selection or the role of sex in reproductive success and in studies of population dynamics (Jehl and Murray-Junior 1989, Kilhan 1970, Ribeiro et al. 2015, Stiles 1972, Stiles et al. 2005, Webster 1997, Winker et al. 1994). Sexual dimorphism has been found in some few species of monochromatic and in some dichromatic species of hummingbirds (Las-Casas and Azevedo-Júnior 2009, Stiles 1972, Stiles 1995, Stiles et al. 2005, Wolf 1970). Some differences were expected, such as in weight, bill length, wing length and tail length, which may be important while foraging and differences may help partition resources (Bleiweiss 1999, Colwell 2000, Temeles and Kress 2003). Since our results indicate that the sexes are virtually identical, contrary to our hypothesis, we propose that this lack of sex differences may indicate that this would be a way to reduce within species sexual competition (Langmore and Bennett 1999), or could result from similar competitive roles in both sexes (Jones and Hunter 1993, 1999). Still, we suggest that there must be other mechanisms by which the sexes identify each other, either behaviorally or visually, or both.

CONCLUSION

Here, we describe an efficient and simple method to identify sex of monomorphic and monochromatic hummingbirds (and perhaps other birds as well) using both blood and feathers to obtain genetic material. This opens up a new arena for study in this important group of pollinators in Neotropical regions (Janzen 1975, Stiles 1981). Hummingbirds are notoriously difficult to study due to their size and difficulty in individual marking along with the many sexually monomorphic species. Understanding sexual differences is increasingly important in areas such as migration, ecology and reproduction in fragmented habitats and under climate change (Sekercioglu 2006, Whelan et al. 2008). Thus, this procedure will provide a new tool through which hummingbird natural history, ecology and population dynamics may be examined. Finally, virtually identical morphologies in the sexes in these five species lead us to suggest that sexual dimorphism in coloration may exist although cryptic to us, or the birds may behave differently enough so that they easily identify sex. However, the enigma remains as to why so many hummingbirds are sexually monomorphic.

Acknowledgments – First and foremost, we wish to thank Aspects Inc. for their kind donation of several HummZinger® hummingbird feeders to support this research. We thank many people, too many to list, who have helped in our study of hummingbirds, especially Jaqueline Evelyn Persegona for the considerable help in the field. The Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) provided financial support (# 99999.010906/2014-02). Birds were captured under permit number 30803-1 of the Ministério do Meio Ambiente (MMA) of Brazil. All birds were treated following ethics standards of the Federal University of Paraná and Brazilian legislation.

REFERENCES

- Amundsen, T. 2000a. Why are female birds ornamented? – *Trends Ecol. Evol.* 15: 149–155.
- Amundsen, T. 2000b. Female ornamentation, mate choice, and sexual selection. – *Trends Ecol. Evol.* 15: 471–472.
- Amundsen, T. and Pärn, H. 2006. Female coloration: review of functional and non-functional hypotheses. – In: Hill, G. E. and McGraw, K. J. (eds.), *Bird coloration: Volume I, Mechanisms and Measurements*. Harvard Univ. Press, pp. 280–345.
- Andersson, M. 1994. *Sexual selection*. – Princeton Univ. Press.
- Bertault, G., Joulia, D., Johnson, A. R. and Raymond, M. 1999. Sex determination in Greater Flamingo Chicks through DNA analysis. – *Waterbirds* 22: 282–284.
- Bleiweiss, R. 1999. Joint effects of feeding and breeding behaviour of trophic dimorphism in hummingbirds. – *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 266: 2491–2497.
- Bruford, M. W., Hanotte, O., Brookfield, J. F. Y. and Burke, T. 1992. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. – In: Hoelzel, A. R. (ed.), *Molecular genetic analysis of population: A practical approach*. IRL Press, pp. 225–269.
- Colwell, R. K. 2000. Rensch's rule crosses the line: convergent allometry of sexual size dimorphism in hummingbirds and flower mites. – *Am. Nat.* 156: 495–510.
- Dale, J. 2006. Intraspecific variation in coloration. – In: Hill, G. E. and McGraw, K. J. (eds.), *Bird coloration: Volume II, Function and Evolution*. Harvard Univ. Press, pp. 36–86.
- Darwin, C. R. 1871. *The descent of man, and selection in relation to sex*. – John Murray.
- Fridolfsson, A. K. and Ellegren, H. 1999. A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. – *J. Avian Biol.* 30: 116–121.

- Griffiths, R., Double, M., Orr, K. C. Y. and Dawson, R. J. G. 1998. A DNA test to sex most birds. – *Mol. Ecol.* 7: 1071–1075.
- Griffiths, R. 2000. Sex identification in birds. – *Semin. Avian Exotic Pet. Med.* 9: 14–26.
- Hurly, T. A., Scott, R. D. and Healy, S. D. 2001. The function of displays of male Rufous hummingbirds. – *Condor* 103: 647–651.
- Janzen, D. H. 1975. *Ecology of plants in the tropics.* – Edward Arnold.
- Jehl, J. R. and Murray-Junior, B. G. 1989. Response: evolution of sexual size dimorphism. – *Auk* 106: 155–157.
- Jensen, T., Pernasetti, F. M. and Durrant, B. 2003. Conditions for rapid sex determination in 47 Avian species by PCR of genomic DNA from blood, shell-membrane blood vessels, and feathers. – *Zoo Biol.* 22: 561–571.
- Jodice, P. G. R., Lanctot, R. B., Gill, V. A., Roby, D. D. and Hatch, S. A. 2000. Sexing adult black-legged kittiwakes by DNA, behavior, and morphology. – *Waterbirds* 23: 405–415.
- John, J. S. and Quinn, T. W. 2008. Rapid capture of DNA targets. – *BioTechniques* 44: 259–264.
- Jones, I. L. and Hunter, F. M. 1993. Mutual sexual selection in a monogamous seabird. – *Nature* 362: 238–239.
- Jones, I. L. and Hunter, F. M. 1999. Experimental evidence for mutual inter- and intrasexual selection favouring a crested auklet ornament. – *Anim. Behav.* 57: 521–528.
- Kapoor, J. A. 2012. Improved methods for color-marking hummingbirds. – *J. Field Ornithol.* 83: 186–191.
- Kilhan, L. 1970. Feeding behavior of downy woodpeckers I. Preference for paper birches and sexual differences. – *Auk* 87: 544–556.

- Lande, R. 1980. Sexual dimorphism, sexual selection, and adaptation in polygenic characters. – *Evolution* 34: 292–305.
- Langmore, N. E. and Bennett, A. T. D. 1999. Strategic concealment of sexual identity in an estrildid finch. – *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 266: 543–550.
- Las-Casas, F. M. G. and Azevedo-Júnior, S. M. 2009. Dimorfismo sexual de tamanho no beija-flor-de-costas-violetas *Thalurania watertonii* (Bourcier, 1847) (Aves: Trochilidae): implicações ecológicas. – *Ornithologia* 3: 83–89.
- Lee, J. C. I., Tsai, L. C., Hwa, P. Y., Chan, C. L., Huang, A., Chin, S. C., Wang, L. C., Lin, J. T., Linacre, A. and Hsieh, H. M. 2010. A novel strategy for avian species and gender identification using the CDH gene. – *Mol. Cell. Probes* 24: 27–31.
- Martin, C. A., Alonso, J. C., Alonso, J. A., Morales, M. B. and Pitra, C. 2000. An approach to sexing young great bustards *Otis tarda* using discriminant analysis and molecular techniques. – *Bird Study* 47: 147–153.
- Miyaki, C. Y., Griffiths, R., Orr, K., Nahum, L. A., Pereira, S. L. and Wajntal, A. 1998. Sex identification of parrots, toucans, and curassows by PCR: perspectives for wild and captive population studies. – *Zoo. Biol.* 17: 415–423.
- Prus, S. E. and Schmutz, S. M. 1987. Comparative efficiency and accuracy of surgical and cytogenetic sexing in Psittacines. – *Avian Dis.* 31: 420–424.
- Ribeiro, R. D., McCormack, J. E., Álvarez, H. G., Carrasco, L., Grether, G. F., Mena-Olmedo, P., Sedano, R., Smith, T. B. and Karubian, J. 2015. Loss of sexual dimorphism is associated with loss of lekking behavior in the green manakin *Xenopipo holochora*. – *J. Avian Biol.* 46: 307–314.
- Rico-Guevara, A. and Araya-Salas, M. 2015. Bills as daggers? A test for sexually dimorphic weapons in a lekking hummingbirds. – *Behav. Ecol.* 26: 21–29.

- Russello, M. A. and Amato, G. 2001. Application of a noninvasive, PCR-based test for sex identification in an endangered parrot, *Amazona guildingii*. – *Zoo Biol.* 20: 41–45.
- Schuchmann, K. L. 1999. Family Trochilidae (hummingbirds). – In: del Hoyo, J., Elliott, A. and Sargatal, J. (eds.), *Handbook of the Birds of the World, Barn-owls to hummingbirds*. Lynx Edicions, pp. 468–680.
- Sekercioglu, C. H. 2006. Increasing awareness of avian ecological function. – *Trends Ecol. Evol.* 21: 464–471.
- Selander, R. K. 1966. Sexual dimorphism and differential niche utilization in birds. – *Condor* 68: 113–151.
- Sick, H. 1997. *Ornitologia Brasileira*. – Ed. Nova Fronteira.
- Stiles, F. G. 1972. Age and sex determination in Rufous and Allen hummingbirds. – *Condor* 74: 25–32.
- Stiles, F. G. 1981. Geographical aspects of Bird-flower coevolution, with particular reference to Central America. – *Ann. Missouri Bot. Gard.* 68: 323–351.
- Stiles, F. G. 1995. Behavioral, ecological and morphological correlates of foraging for arthropods by the hummingbirds of a tropical wet forest. – *Condor* 97: 853–878.
- Stiles, F. G., Altshuler, D. L. and Dudley, R. 2005. Wing morphology and flight behavior of some North American hummingbirds species. – *Auk* 122: 872–886.
- Taylor, M. 1994. Endoscopic examination and biopsy techniques. – In: Ritchie, B. W., Harrison, G. J. and Harrison, L. R. (eds.), *Avian medicine: principles and applications*. Wingers, pp. 327–354.
- Temeles, E. J. and Kress, J. 2003. Adaptation in a plant-hummingbird association. – *Science* 300: 630–633.

- Wang, L. C., Chen, C. T., Lee, H. Y., Li, S. H., Lir, J. T., Chin, S. C., Pu, C. E. and Wang, C. H. 2007. Sexing a wider range of avian species based on two CHD1 introns with a unified reaction condition. – *Zoo. Biol.* 26: 425–431.
- Webster, S. M. 1997. Extreme sexual size dimorphism, sexual selection, and the foraging ecology of *Montezuma oropendolas*. – *Auk* 114: 570–580.
- Whelan, C. J., Wenny, D. G. and Marquis, R. J. 2008. Ecosystem services provided by birds. – *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1134: 25–60.
- Winker, K., Voelker, G. A. and Klicka, J. T. 1994. A morphometric examination of sexual dimorphism in the *Hylophilus*, *Xenops*, and an *Automolus* from southern Veracruz, México. – *J. Field Ornithol.* 65: 307–323.
- Wolf, L. L. 1970. The impact of seasonal flowering on the biology of some tropical hummingbirds. – *Condor* 72: 1–14.

Table 1. Five species of sexually monochromatic hummingbirds analyzed in this study, in ascending order of abundance. Following the species name is the sample size for females (F) and males (M) for molecular analysis from blood samples. *Leucochloris albicollis* included an additional three females and eight males with feather samples, totaling 103 individuals identified sexes. Also, the peak differentiating each chromosome in the PCR analysis (see Supplementary Material).

Species	n		Total	Chromosome (bp)	
	F	M		Z	W
<i>Colibri serrirostris</i>	2	20	22	374	383
<i>Eupetomena macroura</i>	10	10	20	374	379
<i>Amazilia versicolor</i>	4	13	17	374	379
<i>Leucochloris albicollis</i>	0	17	17	374	379
<i>Florisuga fusca</i>	12	4	16	374	383

Table 2. Comparison of morphology among sexes: bill length (BL), culmen length (CL), bill depth (BD), bill width (BW), wing length (WL) and tail length (TL), and weight in grams for five species of hummingbirds. Note that the averages vary between regions of the body between females (F) and males (M), in all species (see Fig. 1, 2). Species: *Colibri serrirostris* (COSE); *Eupetomena macroura* (EUMA); *Amazilia versicolor* (AMVE); *Leucochloris albicollis* (LEAL); *Florisuga fusca* (FLFU). Number of individuals in parenthesis.

Body region	COSE		EUMA		AMVE		LEAL		FLFU	
	F (2)	M (20)	F (10)	M (10)	F (4)	M (13)	F (3)	M (25)	F (12)	M (4)
BL	18.91	18.77	19.53	19.12	14.50	14.47	18.87	19.41	18.79	18.54
CL	20.26	20.21	20.84	20.78	16.67	16.36	19.91	21.01	19.82	19.37
BD	2.47	2.31	2.53	2.48	1.83	1.78	2.16	2.39	2.66	2.78
BW	3.09	2.99	3.18	3.22	2.61	2.62	3.17	3.09	3.29	3.30
WL	71.62	69.37	73.62	73.44	49.18	50.00	58.60	59.23	78.16	77.98
TL	45.37	47.78	85.56	85.34	32.53	31.34	38.65	37.33	47.22	46.79
Weight	6.73	6.95	8.40	8.68	4.51	4.42	5.64	6.20	8.31	8.53

Figure Captions

Figure 1. Example scatterplots of morphological measurements of adults of both sexes and unknown sex in four species of hummingbirds to show that there is no evidence of sexual dimorphism, under the prediction of sexual dimorphism, a bimodal distribution is expected. Overlap between species and the distribution of all individuals indicates no tendency towards bimodal clumping in any variable. A) *Colibri serrirostris* includes the two females and 20 males with sex identified in this study with another 138 individuals of unknown sex. B) *Amazilia versicolor* with four females, 13 males and 223 unknown sex. C) *Leucochloris albicollis* with three females, 25 males and 436 unknown sex. D) *Florisuga fusca* with 12 females, four males and 81 unknown sex. The variables chosen are simply to include measurements most likely to be dimorphic, but all species and all variables had similar patterns of complete overlap of the sexes.

Figure 2. Comparisons between the measurements in females (n = 10) and males (n = 10) in *Eupetomena macroura* by Student t-tests. Note that the means (circles) with maximum and minimum intervals of the six regions measures and weight showed no significant differences between the sexes. All comparisons with $p > 0.05$.

Figure 1

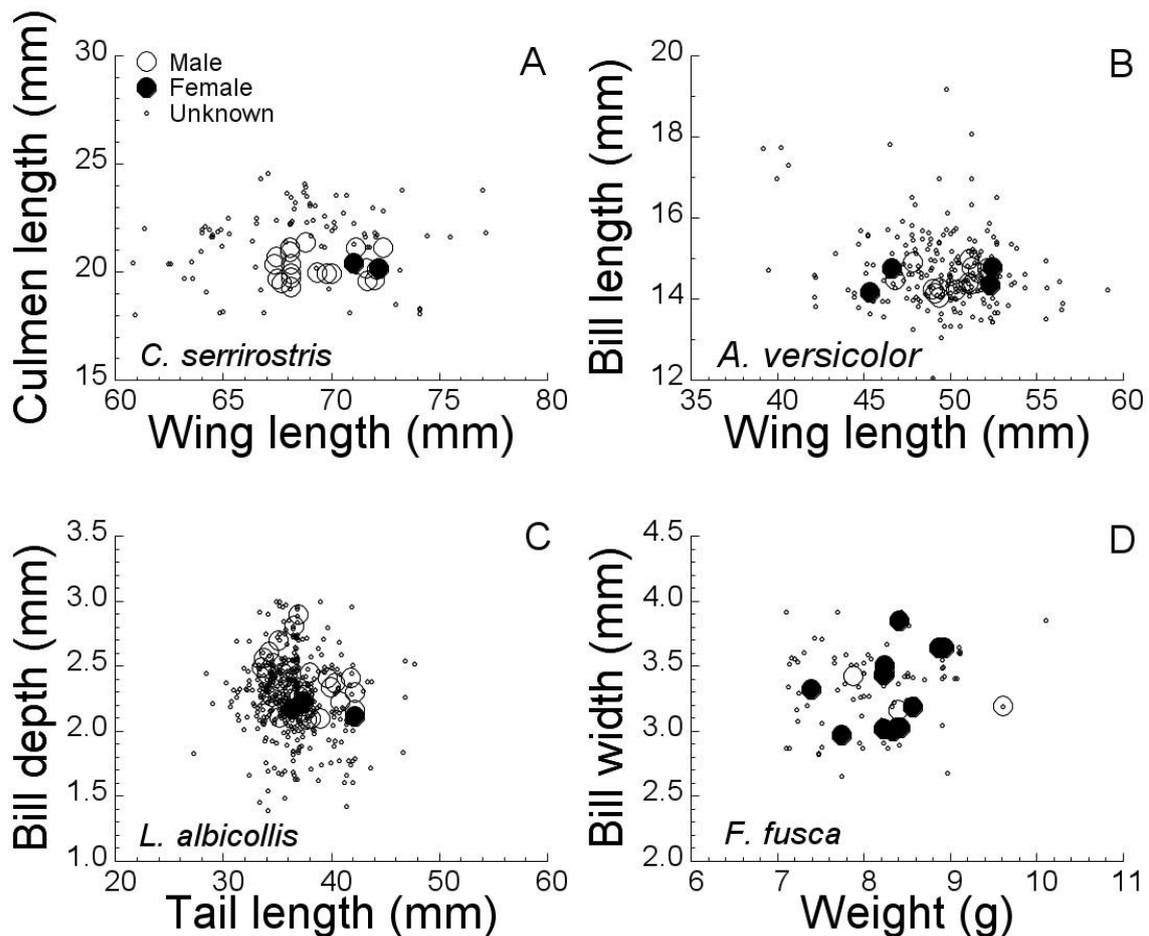
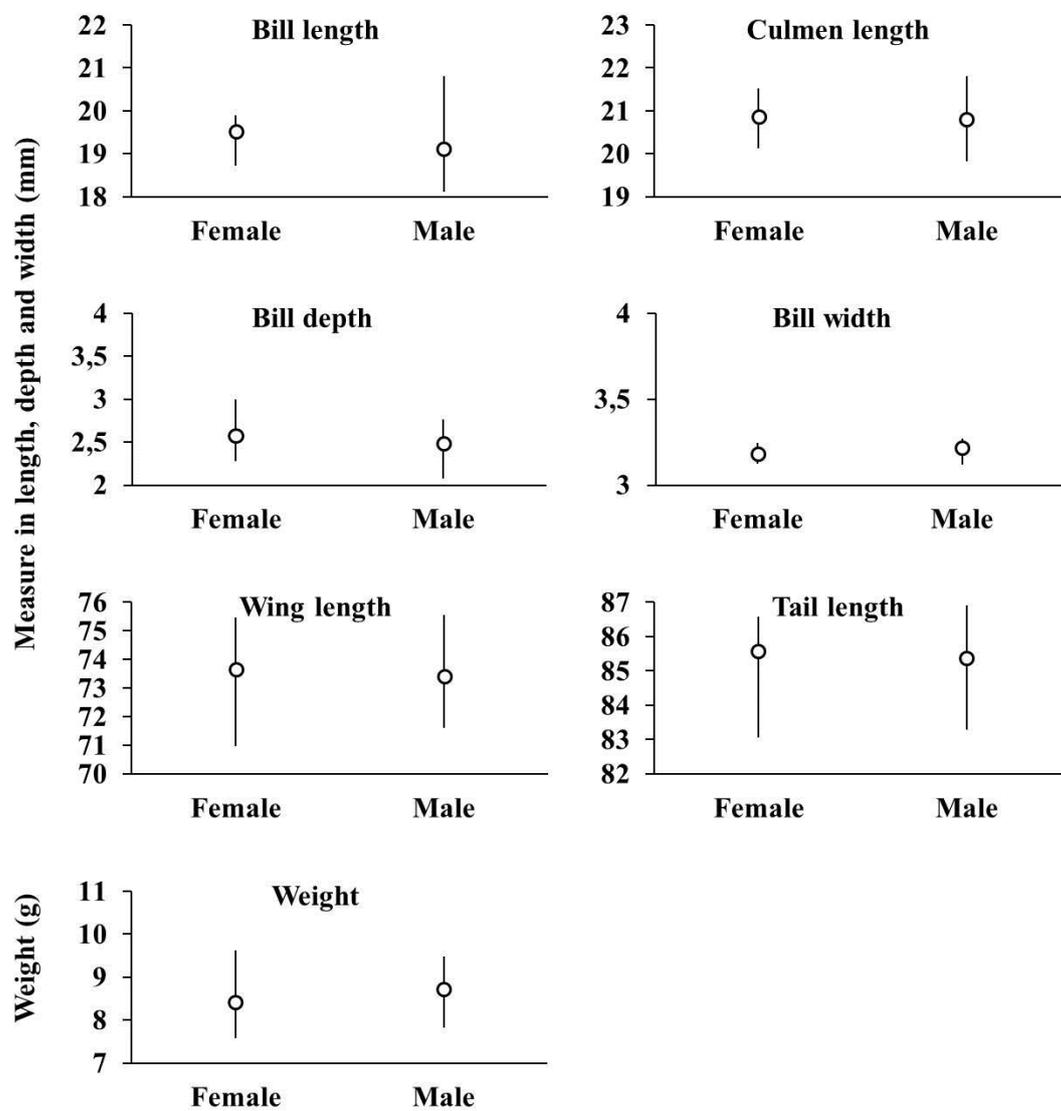


Figure 2



SUPPLEMENTARY MATERIAL

Appendix 1

Figure A1. Electropherogram in *Colibri serrirostris* using GeneMapper.

Figure A2. Electropherogram in *Eupetomena macroura* using GeneMapper.

Figure A3. Electropherogram in *Amazilia versicolor* using GeneMapper.

Figure A4. Electropherogram in *Leucochloris albicollis* using GeneMapper.

Figure A5. Electropherogram in *Florisuga fusca* using GeneMapper.

Supplementary Figure Captions

Figure A1. Electropherogram in *Colibri serrirostris* using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems). Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp and in females, gene fragments were 383 bp on the W chromosome, using the primers P2 and P8.

Figure A2. Electropherogram in *Eupetomena macroura* using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems). Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp and in females, gene fragments were 379 bp on the W chromosome, using the primers P2 and P8.

Figure A3. Electropherogram in *Amazilia versicolor* using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems). Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp and in females, gene fragments were 379 bp on the W chromosome, using the primers P2 and P8.

Figure A4. Electropherogram in *Leucochloris albicollis* using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems). Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp and in females, gene fragments were 379 bp on the W chromosome, using the primers P2 and P8.

Figure A5. Electropherogram in *Florisuga fusca* using GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems). Gene fragments from males on the Z chromosome were 374 bp and in females, gene fragments were 383 bp on the W chromosome, using the primers P2 and P8.

Figure A1

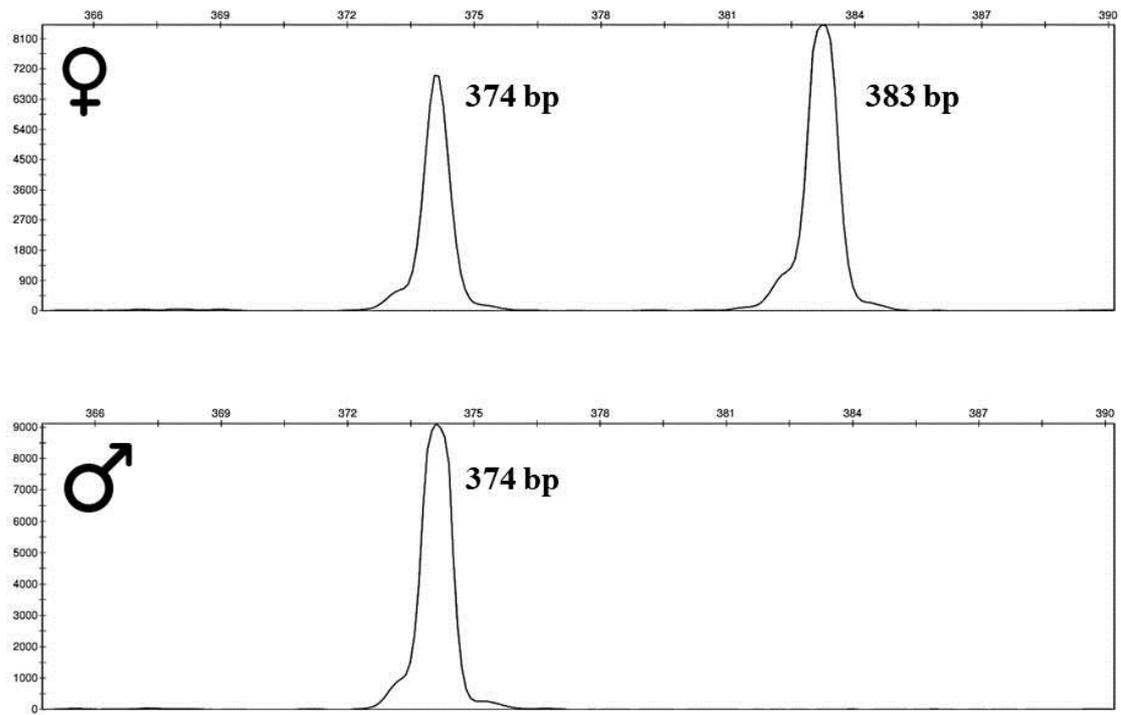


Figure A2

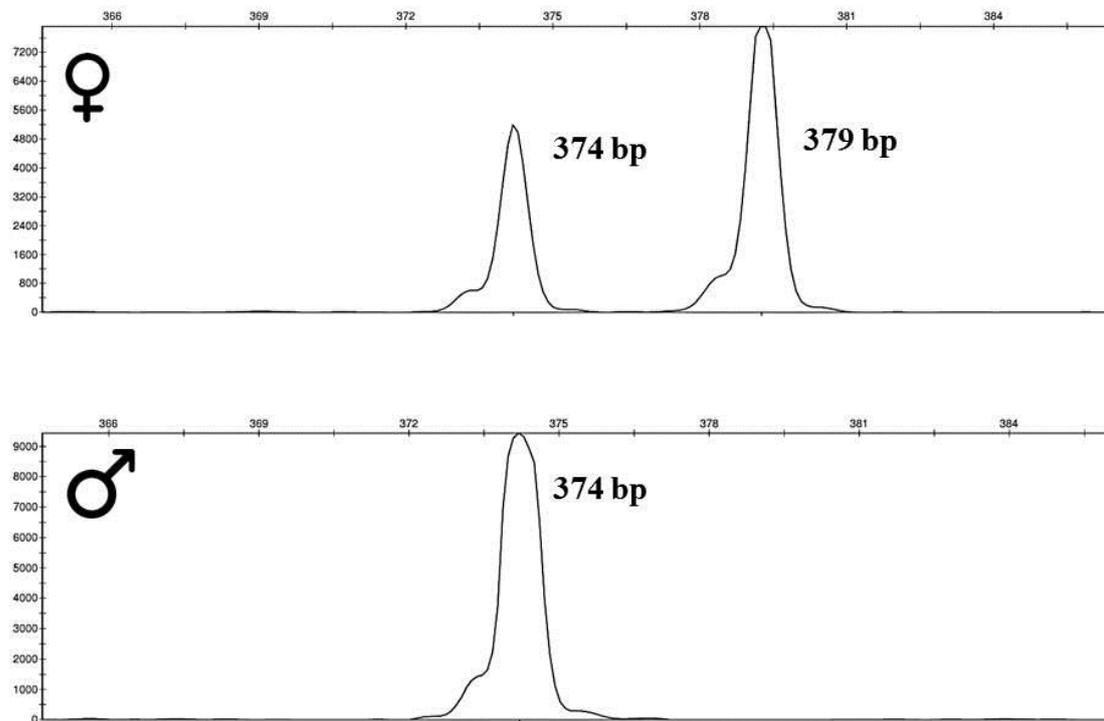


Figure A3

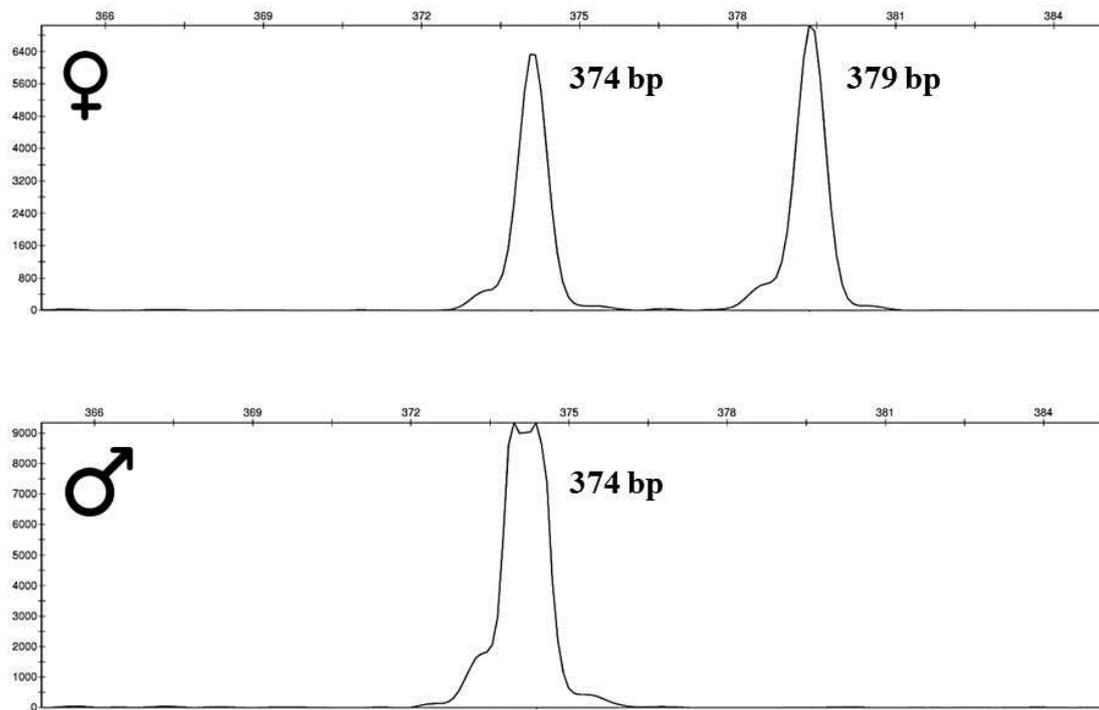


Figure A4

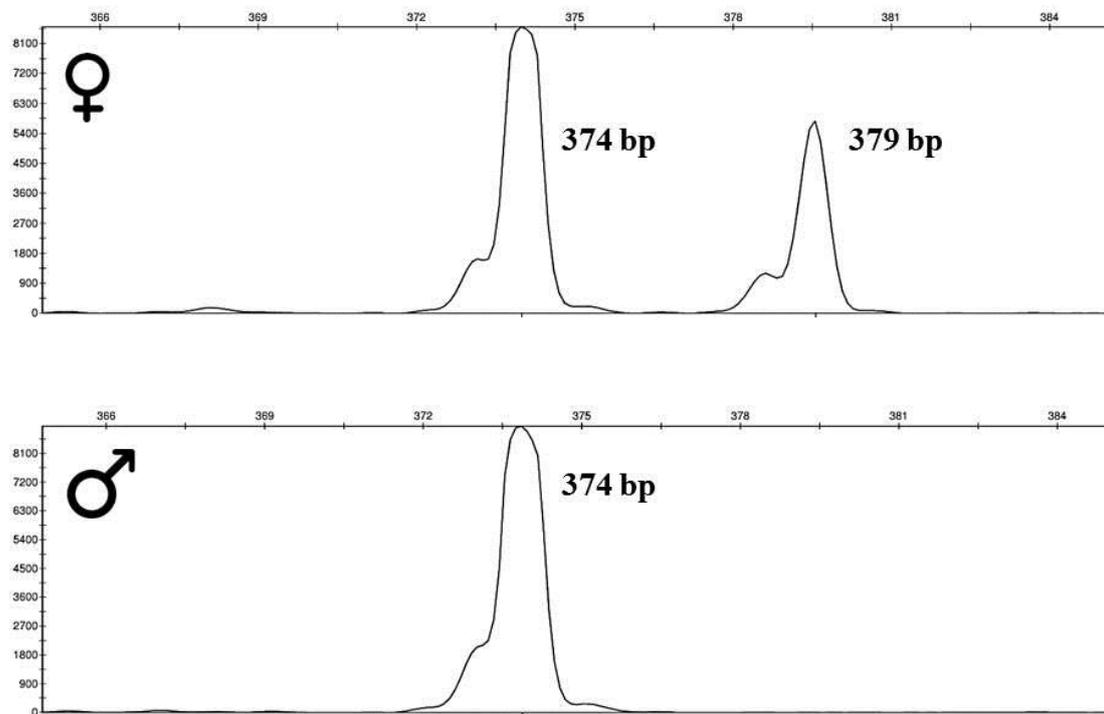
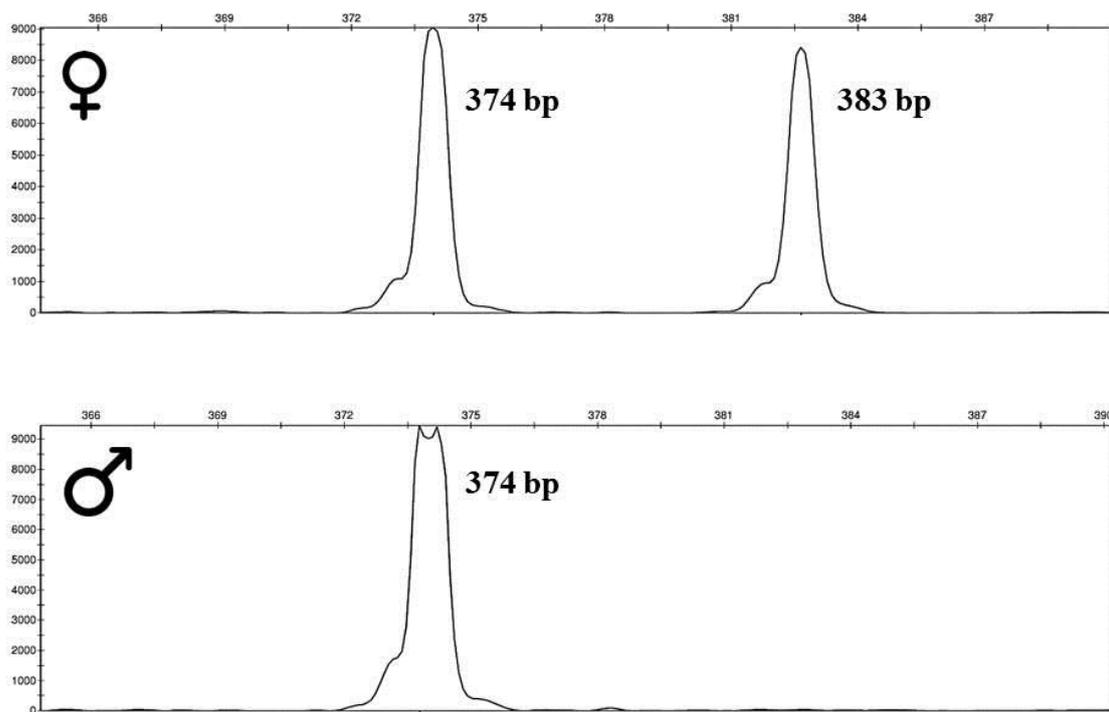


Figure A5



CAPÍTULO 2

Evidence for sexual dichromatism in several ‘monomorphic’ hummingbird species*

*Artigo elaborado de acordo com as normas do periódico Journal of Avian Biology.

Title: Evidence for sexual dichromatism in several ‘monomorphic’ hummingbird species

Felipe L. S. Shibuya¹, James J. Roper^{1,2} and Paulo Gama Mota^{3,4}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas, Universidade de Vila Velha, Vila Velha, Espírito Santo, Brazil

³ CIBIO, Research Center for Biodiversity and Genetic Resources, University of Porto, Vairão, Portugal

⁴ Department of Life Sciences, University of Coimbra, Coimbra, Portugal

ABSTRACT

The sexes in many species are often distinguished by differences in size or the presence of ornaments or colors in just one sex, resulting from different selective pressures acting on each sex. Hummingbirds are an exceptional example of the evolution of exotic and vibrant colorations and exquisite ornaments, but in many species females are also colorful or present conspicuous traits, generating relevant questions about the evolution of this pattern. Understanding how much species which have been considered sexually monochromatic are truly dichromatic is quite relevant for the testing of models on the evolution of coloration in both sexes. The objective of this study was to test for the presence of sexual dichromatism in five species of hummingbirds, considered monochromatic, based on human visual perception: *Amazilia versicolor*, *Colibri serrirostris*, *Eupetomena macroura*, *Florisuga fusca* and *Leucochloris albicollis*. We collected feathers, especially with white and iridescent colors. We performed color spectrophotometry, using visual models to obtain color variables and distances (JNDs), from a total of 97 individuals. Our results show that for three species analyzed there is sufficient variation between the sexes to distinguish them and that they can distinguish themselves under natural conditions. For the two other, we also managed to find some degree of sexual dimorphism in color, but which is not large enough to be perceived by the individuals of each species, considering our current models of perception and discrimination. Still, all species that we analyzed have at least one region of the body in which differences in reflectance of feathers were significant between the sexes, especially in the UVS and SWS cones. Sexual dimorphism varies from exuberant to quite moderate in this clade, as our study shows, and it would be very interesting to understand why that is so. Also, increasing the knowledge on sexual dichromatism in hummingbirds will be particularly useful for the development of models on the role of sexual dimorphism on the speciation process.

INTRODUCTION

The sexes in many species are often distinguished by differences in size or the presence of ornaments or colors in just one sex, resulting from different selective pressures acting on each sex. Sexual selection (Darwin 1871) is considered to be the main selective process responsible for the evolution of sexual dimorphism, which can reach extreme forms such as the evolution of long tails and bright and highly conspicuous coloration often in males. Most of these traits are fitness-related and in many cases indicative of certain qualities that individuals possess (Andersson 1994). Coloration is often involved in sexual dimorphism and appears related to aggressiveness (Meadows and McGraw 2006, Midamegbe et al. 2011, Quesada and Senar 2007), good genes and health (Doucet 2002, Hill 1991, Palokangas et al. 1994, Saks et al. 2003b, Siefferman and Hill 2003), or sexual attractiveness (Endler and Théry 1996, Hill 2006). And in general it is likely to be beneficial for individuals to have a certain degree of sexual dimorphism to allow for sexual recognition (Dale 2006).

Birds constitute the group of animals where the most diverse and extreme forms of coloration have evolved and, in particular, hummingbirds are an exceptional example of the evolution of exotic and vibrant colorations and exquisite ornaments. It is of particular interest the variation in coloration patterns between the sexes. In many species females are also colorful or present conspicuous traits. This has been explained in evolutionary terms either as a non-selective consequence of the selection of the trait on males (Cardoso and Mota 2010, Darwin 1871, Lande 1980), due to genetic correlation, or as a direct selection on females that benefit from expressing those traits, either from social interactions (Cardoso et al. 2014) or sexual competition (Amundsen 2000a, 2000b, Amundsen and Pärn 2006). But, even if females are selected to present sexual ornaments, they tend to be less conspicuous and developed than in males. There are many assumptions about how these

striking patterns in the different sexes have evolved, and the hypothesis of sexual selection in monochromatic ancestors is one of the most accepted (Andersson 1994), although the pattern of variation is not one-way, as it was probably also quite common the reduction of dichromatism (Cardoso and Mota 2008).

Some of the most brightly colored birds are sexually monochromatic, or have been considered as such raising questions on the reasons for the evolution of these coloration patterns. Langmore and Bennett (1999) suggested that this could be a form of reducing the within-species sexual competition. Or it could result from similar competitive roles in both sexes (Jones and Hunter 1993, 1999). Genetic models for the evolution of ornaments under mutual mate choice predict that male choice over female traits may be maintained through pleiotropy (Servedio and Lande 2006) or via reinforcement of species recognition when that is critical (Servedio 2007).

However, most of the assessments of sexual monochromatism were based on human vision and on the wrong premise that the avian visual system was similar to the human one. That is not the case (Cuthill et al. 2000, Osorio et al. 1999, Vorobyev 2003), with bird vision covering a more or less wide UV-range (362–426 nm; Ödeen et al. 2011, Ödeen and Håstad 2013) invisible to human eyes. It is thus likely that some of the reported monochromatic species may not be so. Indeed, Eaton (2005) showed, after spectrophotometric analysis, that more than 90% of the species he tested were actually not sexually monochromatic as previously assumed. Hummingbirds are an especially interesting case, since most species are brightly colored, and still several of them have been referred to as sexually monochromatic (Schuchmann 1999, Sick 1997). But we cannot be certain that these species are truly monomorphic unless coloration is measured using quantitative methods according to the perceptual system of birds (Armenta et al. 2008, Montgomerie 2006). Although there is very limited knowledge on color vision in

hummingbirds, a recent electrophysiological study conducted in the Green-backed firecrown hummingbird (*Sephanoides sephaniodes*) indicates that they are true UV birds (Herrera et al. 2008).

Understanding sexual dimorphism constitutes an important starting point to understand how sexual selection can affect population dynamics. Thus, dimorphism, when expressed in coloration, can affect the dynamics of the defense of territories and nests (Johnsen et al. 2005, Midamegbe et al. 2011, Quesada and Senar 2007), parental care (Palokangas et al. 1994, Siefferman and Hill 2003), reproductive success (Hill 1991, Krebs et al. 2004), affecting nutritional status or the capacity and resistance of foraging (Hill 2011) and genetic quality (Kraaijeveld et al. 2007, Roulin et al. 2000).

The objective of this study was to test for the presence of sexual dichromatism in five species of hummingbirds living in southeast Brazil, which have been considered monochromatic, and that sexes are also indistinguishable in size or external morphology (Shibuya et al. in preparation). Understanding how much species that have been considered sexually monochromatic are truly dichromatic is quite relevant for the testing of models on the evolution of coloration in both sexes. It is also important in population studies, since it can directly influence population dynamics (Lande 1980, Rankin and Kokko 2007, Selander 1966).

METHODS

Study area

The study was conducted in a rural area of the municipality of Piraquara, Paraná, southeastern Brazil (25.5214° S, 49.0925° W). The area was originally covered by Atlantic Forest which is now quite fragmented with corridors of native forest between homes and farms. The region has no dry season (subtropical), with annual temperatures ranging from

27°C (February) to 8.5°C (July), with average annual rainfall of 1.527 mm (INMET 2015, Peel et al. 2007).

Studied species

In our study area, from the 13 species of hummingbirds which have been recorded six are considered monomorphic, revealing no differences in size and coloration, in spite of being extremely colorful (Schuchmann 1999, Sick 1997). These six species are: *Amazilia fimbriata*, *Amazilia versicolor*, *C. serrirostris*, *Eupetomena macroura*, *Florisuga fusca* and *Leucochloris albicollis*. Of these, only five are abundant, with *A. fimbriata* being rarely observed. Our study is concentrated on the five most abundant species that are considered monomorphic, here described briefly.

Amazilia versicolor (Versicolored Emerald): 8.5 cm in length, is the smallest of these species. The body plumage is mostly green, with a white longitudinal band in the belly (Fig. 1A). *Colibri serrirostris* (White-vented Violetear): 12.1 cm long, with conspicuous blue-purple feathers protruding from both sides of the throat (Fig. 1B). *Eupetomena macroura* (Swallow-tailed Hummingbird): 18 cm in length, with a long forked tail and blue head and throat, while the remainder of the plumage is glossy dark green (Fig. 1C). *Florisuga fusca* (Black Jacobin): 12.6 cm long, mostly black with black and white tail (Fig. 1D). *Leucochloris albicollis* (White-throated Hummingbird): is the most abundant species, with 10.5 cm in length, and presenting a white throat badge with the rest of the body with different shades of metallic green (Schuchmann 1999, Sick 1997; Fig. 1E).

Collection of material and sexing

Individuals were captured from August 2014 to March 2015 with cage-traps, baited with hummingbird feeders. We collected around 15–20 feathers from predetermined regions for each species, especially with white and iridescent colors that presented a higher UV reflectance potential, and that could possibly be used in behavioral displays, such as the throat, belly and tail (Saks et al. 2003a). The collected material was stored in plastic bags, inside an opaque container preventing light entrance and kept at room temperature for subsequent analysis.

For the sexing of individuals we sampled blood and feathers. Feathers were removed with the base, to ensure the required quantity of tissue from which to extract DNA. Blood was drawn through a small cut in the claw the extraction procedure used for small birds. All individuals were tagged with metallic bands and released. Birds were sexed in the Genetics Laboratory of the Research Center for Biodiversity and Genetic Resources, at the University of Porto, Portugal. Blood samples were analyzed by polyacrylamide gel electrophoresis. For some individuals whose blood was insufficient, the extraction of genetic material was made from the basis of feathers, and the amplification of the fragments of chromodomain-helicase-DNA-binding (CHD gene) was made by polymerase chain reaction (PCR) using primers P2 and P8 (Shibuya et al. in preparation).

Color analysis

The feathers were arranged in two superimposed rows on black paper card before measuring. Color measurements were made with an Ocean Optics USB4000 Spectrophotometer (Ocean Optics, Dunedin, FL, USA), with a deuterium and halogen light source (Mikropack Mini-DT-2-GS, UV–VIS–NIR), emitting between 300 and 700 nm, and a Y fiber optic reflectance probe (Ocean Optics R400-7 UV–VIS) held vertically over the

sample. The probe was attached to a rigid black support to maintain a standard distance between the probe and the sample (3 mm), and to prevent entry of extraneous light, thus providing a sampling area of 28 mm². Three readings were taken per region, which were averaged. Readings of white (Ocean Optics, WS-1-SS White Standard) and black standards were made between regions. In the case of the iridescent throat feathers of *C. serrirostris* we also measured reflectance at a 45° angle, using two probes and a suitable support. Regarding these measures, we used appropriate parameters for angulation by increasing increasing the spectrophotometer's integration time on the sample. Furthermore, the feathers were positioned in a manner that mimics the observed reflectance by birds in nature.

We used visual models to summarize the spectral data of each region into four quantum cone catches, corresponding to the four single cones found in the avian retina (Cuthill 2006, Hart 2001): ultraviolet (UVS 355–380 nm), short (SWS 430–463 nm), medium (MWS 497–510 nm) and long wavelength sensitive (LWS 543–571 nm), and the double-cone (DC) which is achromatic. There is some variation between bird taxa on the peak of absorbance of color cones, particularly for the shortest wave lengths (Ödeen and Håstad 2013). But, evidence from one electrophysiological study indicates that hummingbirds are UVS-birds, with a UVS cone peaking at 370 nm (Herrera et al. 2008).

We calculated quantum catches for each of the four avian cones as the summed product of plumage reflectance, the ambient illuminance, and the absorbance spectrum of the cones across the wavelengths of the avian visual spectrum (300 to 700 nm; equation 1 in Vorobyev et al. 1998). In the model we included the cone quantum catches, standard daylight (D65) and ideal (white) background as females and males often interact in full daylight. As reference we used the blue tit (*Cyanistes caeruleus*) cone sensitivity curves

(Hart et al. 2000), since there is none available for hummingbirds and this one is commonly used as a representative of birds with UVS cones (Håstad et al. 2005).

We averaged the three collected spectra from each body region of each individual and the curves were smoothed to remove noise (span = 0.2). We used the calculated absorbance for each of the four color cones and the achromatic double-cone for the subsequent analyses. The distinction between two colors depends not only on how different they are but also on how well the visual system of the animal is capable of resolving the difference in normal ambient conditions. In order to assess this we calculated Just Noticeable Differences (JNDs) for each region, which measure color distances by weighting Euclidian distances between the receptors quantum catches by the Weber fraction of the cones. Values of JNDs above one are considered as discernible by individuals under the conditions considered.

The number of individuals analyzed by species, sex and region is indicated in Table 1. As sexes could not be determined during capture, there is a considerable sex bias for most of the species.

Statistical analysis

The construction of visual models and the obtention of color variables and distances (JNDs) were performed in *pavo* software package, running on R (R Development Core Team 2013), developed by Maia et al. (2013). We performed ANOVAs to test whether there are differences between the sexes for each cone type. The analysis was done using JMP 8.0 software (SAS Institute Inc. 2008).

RESULTS

We analyzed a total of 97 individuals from the five species under study. Except for *E. macroura* the number of females and males was not equivalent (Table 1). Nonetheless, it is possible to make inferences concerning the variation in color patterns between sexes. The average spectra for each sex for the analyzed body regions for each of the five species are represented in Fig. 2.

Discrimination of sexual dichromatism

When applying the color discrimination model we found that three of the five species presented variation that rendered them sexually dichromatic (Fig. 3), despite the inability of humans to distinguish them. The calculated Just Noticeable Differences (JNDs) for each body region indicated that there are discernable differences, with values above 1, for several of them. That is the case for the tail (both blue and green) and the throat of *C. serrirostris*, while the belly did not present discernable differences (Fig. 3B). In *E. macroura* the throat was discernible, while the belly was not (Fig. 3C). In *L. albicollis*, it was the tail that presented discernible differences, but not the throat or the belly (Fig. 3E). For *A. versicolor* and *F. fusca* the differences were not large enough to be discernible (Fig. 3A and D).

Dichromatism and sexual diagnosis

We assessed at which wavelengths the color spectra differed significantly between the sexes, for the color cones of typical UV-birds, with color absorbance peaks at UVS, SWS, MWS and LWS and a double cone (DC) for brightness, and found that for all species there were significant differences for at least one of the cones (Fig. 4 and Table 2).

In *A. versicolor*, it was on the white region of the throat that there were significant differences at UVS and SWS wavelengths, with male feathers reflecting more than female feathers (Fig. 4A, Table 1 and 2). In *C. serrirostris*, we found significant differences in the white region of the belly (for UVS, SWS, MWS and DC), in the blue region of the tail (for SWS) and in the iridescent violet of the throat at 90° (for UVS, SWS and DC). The throat feathers measured with a 45° angle revealed similar differences with a higher reflectance for males in UVS and SWS cones (Fig. 4B, Table 1 and 2). In *E. macroura*, there were significant differences in the dark blue throat region for the SWS cone, with females exhibiting higher reflectance (Fig. 4C, Table 1 and 2). In *F. fusca* we found significant differences both in the white region of the belly, reflecting more in males than females (for UVS, SWS, MWS and DC), and the black region of the throat in all cones, with females showing higher reflectance than males (Fig. 4D, Table 1 and 2). In *L. albicollis* there was a significant difference in the white region of the tail, in all cones, where females had higher reflectance (Fig. 4E, Table 1 and 2). In conclusion, our results show that for three of the five species analyzed there is sufficient variation between the sexes to distinguish them and that they can distinguish themselves under natural conditions.

DISCUSSION

Our results show that sexual dimorphism is more pervasive than previously thought, particularly in birds, due to the fact that we have relied in the past on human perceptive capacities to evaluate it. When we apply quantitative methods of color measurement based on birds visual models, the majority of the cases of monochromatic species reveal not to be so, as Eaton (2005) has shown before. Here we show that three of the five ‘monochromatic’ species of hummingbirds that we analyzed are dichromatic and that the differences are large enough to be noticeable by the animals and used in inter-specific

interactions. For the two other species, we also managed to find some degree of sexual dimorphism, but which is not large enough to be perceived by the individuals of each species, considering our current models of perception and discrimination.

The fact that these are findings from hummingbird species is particularly relevant since these birds are quite colorful and still poorly studied. Indeed, it is puzzling that a large fraction of such colorful group of species is considered sexually monomorphic in coloration. On the one side, it is most likely that coloration played an important role in the speciation process in hummingbirds, a clade that reveals rapid adaptive radiation (McGuire et al. 2014, Ornelas et al. 2016). On the other, the absence of sex differences in coloration means that it is not advantageous to sexes to be distinguishable in those monomorphic species. However, since this classification is based on human visual capacities, it is quite probable that the sexes differ in many of these species, but it has remained invisible to us. The presence of ‘cryptic’ dimorphism in other bird species hidden from human perceptive capabilities is now known (Eaton 2005, Hunt et al. 1998, Mays et al. 2004, Mennill et al. 2003) and the need for an analysis of bird coloration taking into account the whole spectrum of bird vision is now considered essential. Recognizing previously undetected sexual dichromatism is critical to our understanding of sexual signals and their evolution.

All the five species that we analyzed have at least one region of the body in which differences in reflectance of feathers were significant between the sexes, especially in the UVS and SWS cones. Those differences are perceptible for the birds for at least three of the species (*C. serrirostris*, *E. macroura* and *L. albicollis*), and it is reasonable to assume that they play a role in socio-sexual interactions in each species. Our sample sizes are uneven in most cases, since we could not know in advance the sex of the birds that we captured. This is particularly the case of *C. serrirostris*, where females are very underrepresented. In spite of this, when there were differences there was very little or no

overlapping between the distributions of the two sexes, providing a good support for our findings.

One relevant aspect is to ascertain what kind of perceptive capabilities the hummingbirds possess, since this can vary among and within bird orders. Bird species fall in two categories with respect to their short wavelength perceptive capabilities: being either VS or UVS, depending on the absorbance peak of the shortest wavelength of their cones (Ödeen and Håstad 2003). Although the largest analyses of UV-vision in birds (Ödeen and Håstad 2013) did not include the Trochiliformes, there is evidence that hummingbirds are actually UVS birds (Herrera et al. 2008, Huth and Burkhardt 1972).

The body regions that revealed distinguishable sexual dichromatism in our three species are all involved in displays or frontal interactions, such as the special violet throat feathers in *C. serrirostris*, protruding away from the body, and also the blue and green tail feathers, the bluish throat feathers of *E. macroura*, and the green tail feathers of *L. albicollis*. Whether these parts are involved in social or sexual displays is now open to investigation, but it is often the case that throat and tail are involved in displays in birds. More generally, variation in coloration patterns and intensity are often related to social competition or to reproductive displays, with males having larger and more conspicuous signals than females (Johnsen et al. 2005, Palokangas et al. 1994, Quesada and Senar 2007).

The color plumage of birds is the result of pigment deposition in the feathers (McGraw 2006a, 2006b) or the result of interference light patterns that are produced by the ultrastructure of the feathers (Prum 2006), or even a combination of both. It will be interesting to understand what is the proximate nature of color variation for the traits that differ between males and females in these species.

CONCLUSION

Sexually dimorphic hummingbird species have been considered a model group for the role of sexual selection in the evolution of variable traits (Berns and Adams 2013, Bleiweiss 1992, 1999, Darwin 1871, Evans et al. 1995, Rico-Guevara and Araya-Salas 2015). Sexual dimorphism varies from exuberant to quite moderate in this clade, as our study shows, and it would be very interesting to understand why that is so. Also, enlarging increasing information about sexual dichromatism in hummingbirds will be particularly useful for the development of models on the role of sexual dimorphism in the speciation process (Cardoso and Mota 2008, Hugall and Stuart-Fox 2012, Kraaijeveld et al. 2011, McGuire et al. 2014, Ornelas et al. 2016).

Acknowledgments – We thank the many people, too many to list, who have helped in our study of hummingbirds, but especially Jaqueline Evelyn Persegona for the considerable help in the field. Also, we thank Dr. Rafael Maia, of Columbia University, for their help in the understanding of JNDs as well as in discussions of some important points about visual models and Dr. Sandra Trigo, for helping with the color analysis. By Luiz Carlos da Costa Ribenboim the transferred photos. The Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) provided financial support (# 99999.010906/2014-02). Birds were captured under permit number 30803-1 of the Ministério do Meio Ambiente do Brasil. All birds were treated following ethics standards of the Federal University of Paraná and Brazil. Finally, we thank Aspects Inc., manufacturer of Hummzinger© hummingbirds feeders, for their donation of feeders for this research.

REFERENCES

- Amundsen, T. 2000a. Why are female birds ornamented? – *Trends Ecol. Evol.* 15: 149–155.
- Amundsen, T. 2000b. Female ornamentation, mate choice, and sexual selection. – *Trends Ecol. Evol.* 15: 471–472.
- Amundsen, T. and Pärn, H. 2006. Female coloration: review of functional and non-functional hypotheses. – In: Hill, G. E. and McGraw, K. J. (eds.), *Bird coloration: Volume I, Mechanisms and Measurements*. Harvard Univ. Press, pp. 280–345.
- Andersson, M. 1994. *Sexual selection*. – Princeton Univ. Press.
- Armenta, J. K., Dunn, P. O. and Whittingham, L. A. 2008. Quantifying avian sexual dichromatism: a comparison of methods. – *J. Exp. Biol.* 211: 2423–2430.
- Berns, C. M. and Adams, D. C. 2013. Becoming different but staying alike: patterns of sexual size and shape dimorphism in hummingbirds. – *Evol. Biol.* 40: 246–260.
- Bleiweiss, R. 1992. Widespread polychromatism in female sunangel hummingbird (*Heliangelus*: Trochilidae). – *Biol. J. Linn. Soc.* 45: 291–314.
- Bleiweiss, R. 1999. Joint effects of feeding and breeding behaviour of trophic dimorphism in hummingbirds. – *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 266: 2491–2497.
- Cardoso, G. C. and Mota, P. G. 2008. Speciation evolution of coloration in the genus *Carduelis*. – *Evolution* 62: 753–762.
- Cardoso, G. C. and Mota, P. G. 2010. Evolution of female carotenoid coloration by sexual constraint in *Carduelis* finches. – *BMC Evol. Biol.* 10: 82.
- Cardoso, G. C., Leitão, A. V., Funghi, C., Batalha, H. R., Lopes, R. J. and Mota, P. G. 2014. Similar preferences for ornamentation in opposite- and same-sex choice experiments. – *J. Evol. Biol.* 27: 2798–2806.

- Cuthill, I. C. 2006. Color perception. – In: Hill, G. E. and McGraw, K. J. (eds.), Bird coloration: Volume I, Mechanisms and Measurements. Harvard Univ. Press, pp. 3–40.
- Cuthill, I. C., Partridge, J. C., Bennett, A. T. D., Church, S. C., Hart, N. S. and Hunt, S. 2000. Ultraviolet vision in birds. – *Adv. Stud. Behav.* 29: 159–214.
- Dale, J. 2006. Intraspecific variation in coloration. – In: Hill, G. E. and McGraw, K. J. (eds.), Bird coloration: Volume II, Function and Evolution. Harvard Univ. Press, pp. 36–86.
- Darwin, C. R. 1871. *The descent of man, and selection in relation to sex.* – John Murray.
- Doucet, S. M. 2002. Structural plumage coloration, male body size, and condition in the blue-black grassquit. – *Condor* 104: 30–38.
- Eaton, M. D. 2005. Human vision fails to distinguish widespread sexual dichromatism among sexually “monochromatic” birds. – *PNAS* 102: 10942–10946.
- Endler, J. A. and Théry, M. 1996. Interacting effects of lek placement, display behavior, ambient light, and color patterns in three Neotropical forest-dwelling birds. – *Am. Nat.* 3: 421–452.
- Evans, M. R., Martins, T. L. E. and Haley, M. P. 1995. Inter-sexual and intra-sexual patterns of fluctuating asymmetry in the Red-billed Streamertail- should symmetry always increase with ornament size. – *Behav. Ecol. Sociobiol.* 37: 15–23.
- Hart, N. S. 2001. The visual ecology of avian photoreceptors. – *Prog. Retin. Eye Res.* 5: 675–703.
- Hart, N. S., Partridge, J. C. Cuthill, I. C. and Bennett, A. T. 2000. Visual pigments, oil droplets, ocular media and cone photoreceptor distribution in two species of passerine bird: the blue tit (*Parus caeruleus* L.) and the blackbird (*Turdus merula* L.). – *J. Comp. Physiol. A* 186: 375–387.

- Håstad, O., Ernstdotter, E. and Ödeen, A. 2005. Ultraviolet vision and foraging in dip and plunge diving birds. – *Biol. Lett.* 1: 306–309.
- Herrera, G., Zagal, J. C., Diaz, M., Fernandez, M. J., Vielma, A., Cure, M., Martinez, J., Bozinovic, F. and Palacios, A. G. 2008. Spectral sensitivities of photoreceptors and their role in colour discrimination in the green-backed firecrown hummingbird (*Sephaniodes sephaniodes*). – *J. Comp. Physiol. A* 194: 785–794.
- Hill, G. E. 1991. Plumage coloration is a sexually selected indicator of male quality. – *Nature* 350: 337–339.
- Hill, G. E. 2006. Female mate choice for ornamental coloration. – In: Hill, G. E. and McGraw, K. J. (eds.), *Bird coloration: Volume II, Function and Evolution*. Harvard Univ. Press, pp. 137–200.
- Hill, G. E. 2011. Condition-dependent traits as signals of the functionality of vital cellular processes. – *Ecol. Lett.* 14: 625–634.
- Hugall, A. F. and Stuart-Fox, D. 2012. Accelerated speciation in colour-polymorphic birds. – *Nature* 485: 631–634.
- Hunt, S., Bennett, A. T. D., Cuthill, I. C. and Griffiths, R. 1998. Blue tits are ultraviolet tits. – *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 265: 451–455.
- Huth, H. H. and Burkhardt, D. 1972. Der spektrale sehbereich eines *Violetta* Kolibris. – *Naturwissenschaften* 59: 650.
- INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. 2015. Gráficos climatológicos. – <http://www.inmet.gov.br/> (access on 17 November 2015).
- Johnsen, A., Delhey, K., Schlicht, E., Peters, A. and Kempenaers, B. 2005. Male sexual attractiveness and parental effort in blue tits: a test of the differential allocation hypothesis. – *Anim. Behav.* 70: 877–888.

- Jones, I. L. and Hunter, F. M. 1993. Mutual sexual selection in a monogamous seabird. – *Nature* 362: 238–239.
- Jones, I. L. and Hunter, F. M. 1999. Experimental evidence for mutual inter- and intrasexual selection favouring a crested auklet ornament. – *Anim. Behav.* 57: 521–528.
- Kraaijeveld, K., Kraaijeveld-Smit, F. J. L. and Komdeur, J. 2007. The evolution of mutual ornamentation. – *Anim. Behav.* 74: 657–677.
- Kraaijeveld, K., Kraaijeveld-Smit, F. J. L. and Maan, M. E. 2011. Sexual selection and speciation: the comparative evidence revisited. – *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 86: 367–377.
- Krebs, E. A., Hunte, W. and Green, D. J. 2004. Plume variation, breeding performance and extra-pair copulations in the Cattle egret. – *Behaviour* 141: 479–499.
- Lande, R. 1980. Sexual dimorphism, sexual selection, and adaptation in polygenic characters. – *Evolution* 34: 292–305.
- Langmore, N. E. and Bennett, A. T. D. 1999. Strategic concealment of sexual identity in an estrildid finch. – *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 266: 543–550.
- Maia, R., Eliason, C. M., Bitton, P., Doucet, S. M. and Shawkey, M. D. 2013. pavo: an R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. – *Methods Ecol. Evol.* 4: 906–913.
- Mays, H. L., McGraw, K. J., Ritchirson, G., Cooper, S., Rush, V. and Parker, R. S. 2004. Sexual dichromatism in the Yellow-breasted Chat *Icteria virens*: spectrophotometric analysis and biochemical basis. – *J. Avian Biol.* 35: 125–134.
- McGraw, K. J. 2006a. The mechanics of carotenoid-based coloration in birds. – In: Hill, G. E. and McGraw, K. J. (eds.), *Bird coloration: Volume I, Mechanisms and Measurements*. Harvard Univ. Press, pp. 177–242.

- McGraw, K. J. 2006b. The mechanics of melanin coloration in birds. – In: Hill, G. E. and McGraw, K. J. (eds.), *Bird coloration: Volume I, Mechanisms and Measurements*. Harvard Univ. Press, pp. 243–294.
- McGuire, J. A., Witt, C. C., Remsen, J. V., Corl, A., Rabosky, D. L., Altshuler, D. L. and Dudley, R. 2014. Molecular phylogenetics and the diversification of hummingbirds. – *Curr. Biol.* 24: 1–7.
- Meadows, M. G. and McGraw, K. J. 2006. How hummingbirds choose their fights: the role of iridescent coloration in aggressive interactions. – *Integr. Comp. Biol.* 46: 95.
- Mennill, D. J., Doucet, S. M., Montgomerie, R. and Ratcliffe, L. M. 2003. Achromatic color variation in black-capped chickadee, *Poecile atricapillus*: black and white signals of sex and rank. – *Behav. Ecol. Sociobiol.* 53: 350–357.
- Midamegbe, A., Grégoire, A., Perret, P. and Doutrelant, C. 2011. Female-female aggressiveness is influenced by female coloration in blue tits. – *Anim. Behav.* 82: 245–253.
- Montgomerie, R. 2006. Analyzing colors. – In: Hill, G. E. and McGraw, K. J. (eds.), *Bird coloration: Volume I, Mechanisms and Measurements*. Harvard Univ. Press, pp. 90–147.
- Ödeen, A. and Håstad, O. 2003. Complex distribution of avian color vision systems revealed by sequencing the SWS1 opsin from total DNA. – *Mol. Biol. Evol.* 20: 855–861.
- Ödeen, A. and Håstad, O. 2013. The phylogenetic distribution of ultraviolet sensitivity in birds. – *BMC Evol. Biol.* 13: 36 doi: 10.1186/1471-2148-13-36.
- Ödeen, A., Håstad, O. and Alström, P. 2011. Evolution of ultraviolet vision in the largest avian radiation – the passerines. – *BMC Evol. Biol.* 11: 313.

- Ornelas, J. F., González, C., Hernández-Baños, B. E. and García-Moreno, J. 2016. Molecular and iridescent feather reflectance data reveal recent genetic diversification and phenotypic differentiation in a cloud forest hummingbird. – *Ecol. Evol.* doi: 10.1002/ece3.1950.
- Osorio, D., Miklósi, A. and Gonda, Z. 1999. Visual ecology and perception of coloration patterns by domestic chicks. – *Evol. Ecol.* 13: 673–689.
- Palokangas, P., Korpimäki, E., Hakkarainen, H., Huhta, E., Tolonen, P. and Alatalo, R. V. 1994. Female kestrels gain reproductive success by choosing brightly ornamented males. – *Anim. Behav.* 47: 443–448.
- Peel, M. C., Finlayson, B. L. and McMahon, T. A. 2007. Updated world map of the Köppen-Greiger climate classification. – *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 11: 1633–1644.
- Prum, R. O. 2006. Anatomy, physics and evolution of avian structural colors. – In: Hill, G. E. and McGraw, K. J. (eds.), *Bird coloration: Volume I, Mechanisms and Measurements*. Harvard Univ. Press, pp. 295–353.
- Quesada, J. and Senar, J. C. 2007. The role of melanin- and carotenoid-based plumage coloration in nest defence in the great tit. – *Ethology* 113: 640–647.
- Rankin, D. J. and Kokko, H. 2007. Do males matter? The role of males in population dynamics. – *Oikos* 116: 335–348.
- Rico-Guevara, A. and Araya-Salas, M. 2015. Bills as daggers? A test for sexually dimorphic weapons in a lekking hummingbirds. – *Behav. Ecol.* 26: 21–29.
- Roulin, A., Jungi, T. W., Pfister, H. and Dijkstra, H. 2000. Female barn owls (*Tyto alba*) advertise good genes. – *Proc. R. Soc. Lond. B [Biol.]* 267: 937–941.
- Saks, L., McGraw, K. J. and Hőrak, P. 2003a. How feather colour reflects its carotenoid content. – *Funct. Ecol.* 17: 555–561.

- Saks, L., Ots, I. and Hõrak, P. 2003b. Carotenoid-based plumage coloration of male greenfinches reflects health and immunocompetence. – *Oecologia* 134: 301–307.
- Schuchmann, K. L. 1999. Family Trochilidae (hummingbirds). – In: del Hoyo, J., Elliott, A. and Sargatal, J. (eds.), *Handbook of the Birds of the World, Barn-owls to hummingbirds*. Lynx Edicions, pp. 468–680.
- Selander, R. K. 1966. Sexual dimorphism and differential niche utilization in birds. – *Condor* 68: 113–151.
- Servedio, M. R. and Lande, R. 2006. Population genetic models of male and mutual mate choice. – *Evolution* 60: 674–685.
- Servedio, M. R. 2007. Male versus female mate choice: sexual selection and the evolution of species recognition via reinforcement. – *Evolution* 61: 2772–2789.
- Sick, H. 1997. *Ornitologia Brasileira*. – Ed. Nova Fronteira.
- Siefferman, L. and Hill, G. E. 2003. Structural and melanin coloration indicate parental effort and reproductive success in male eastern bluebirds. – *Behav. Ecol.* 14: 855–861.
- Vorobyev, M. 2003. Coloured oil droplets enhance colour discrimination. – *Proc. R. Soc. Lond. B [Biol.]* 270: 1255–1261.
- Vorobyev, M., Osorio, D., Bennett, A., Marshall, N. and Cuthill, I. 1998. Tetrachromacy, oil droplets and bird plumage colours. – *J. Comp. Physiol. A* 183: 621–633.

Table 1. The average reflectance of the four cones and the double-cone of the five species of hummingbirds, comparing females (F) and males (M) on each sampled body region. Comparisons that were statistically significant by ANOVA are in bold (see Table 2).

Species	Body region	Cones (means)											
		N		UVS		SWS		MWS		LWS		Double-cone	
		F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
<i>Amazilia versicolor</i>	belly	4	13	0.0359	0.0348	0.1348	0.1290	0.1626	0.1532	0.1674	0.1599	0.1557	0.1475
	throat			0.0603	0.0759	0.2241	0.2842	0.2685	0.3322	0.2822	0.3419	0.2586	0.3192
<i>Colibri serrirostris</i>	belly			0.0280	0.0475	0.1169	0.1748	0.1428	0.2050	0.1507	0.2116	0.1371	0.1971
	tail blue	2	20	0.0088	0.0155	0.0540	0.1088	0.0568	0.0820	0.0455	0.0510	0.0517	0.0753
	tail green			0.0100	0.0101	0.0623	0.0914	0.1066	0.1494	0.0891	0.1032	0.0921	0.1235
	throat	2	19	0.0285	0.0920	0.1258	0.3004	0.0704	0.0731	0.0602	0.1114	0.0736	0.1153
	throat*			0.0170	0.0369	0.0584	0.1101	0.0362	0.0433	0.0581	0.0638	0.0441	0.0576
<i>Eupetomena macroura</i>	belly	10	10	0.0271	0.0239	0.1017	0.0848	0.1215	0.0999	0.1288	0.1053	0.1172	0.0964
	throat			0.0083	0.0077	0.0560	0.0423	0.0282	0.0237	0.0255	0.0220	0.0314	0.0256
<i>Florisuga fusca</i>	belly			0.0299	0.0367	0.1039	0.1280	0.1196	0.1470	0.1243	0.1516	0.1155	0.1418
	tail	12	4	0.0567	0.0600	0.1981	0.2108	0.2261	0.2400	0.2316	0.2440	0.2178	0.2308
	throat			0.0127	0.0063	0.0425	0.0210	0.0513	0.0249	0.0577	0.0281	0.0504	0.0246
<i>Leucochloris albicollis</i>	belly			0.0254	0.0320	0.0908	0.1095	0.1074	0.1268	0.1126	0.1319	0.1036	0.1225
	tail	5	17	0.0199	0.0118	0.0656	0.0352	0.0769	0.0386	0.0827	0.0388	0.0748	0.0373
	throat			0.0392	0.0469	0.1443	0.1724	0.1697	0.2028	0.1762	0.2115	0.1633	0.1954

*measured at 45°.

Table 2. Results of comparisons by ANOVAs reflectance of the four cones and double-cone, between the sexes of the five species of hummingbirds, for each sampled body region. The results with significant p-values are in bold.

Species	Body region	Cones									
		UVS		SWS		MWS		LWS		Double-cone	
		F	P-value								
<i>Amazilia versicolor</i>	belly	0.030	0.86	0.065	0.80	0.105	0.74	0.059	0.81	0.089	0.76
	throat	5.519	0.03	5.519	0.03	4.472	0.05	3.676	0.07	4.397	0.05
<i>Colibri serrirostris</i>	belly	9.100	0.0068	5.125	0.03	4.426	0.04	4.216	0.05	4.510	0.04
	tail blue	1.910	0.18	4.353	0.05	3.285	0.08	0.351	0.05	3.292	0.08
	tail green	0.004	0.94	1.684	0.20	1.527	0.23	0.441	0.51	1.357	0.25
	throat	25.615	0.0001	27.817	0.0001	0.037	0.84	1.538	0.23	4.766	0.04
	throat*	19.044	0.0003	16.313	0.0007	1.000	0.32	0.277	0.60	3.935	0.06
<i>Eupetomena macroura</i>	belly	0.920	0.35	1.906	0.18	2.238	0.15	2.432	0.13	2.240	0.15
	throat	0.283	0.60	4.434	0.04	2.115	0.16	1.328	0.26	3.003	0.10
<i>Florisuga fusca</i>	belly	5.620	0.03	6.176	0.02	5.532	0.03	4.583	0.05	5.382	0.03
	tail	0.200	0.66	0.213	0.65	0.198	0.66	0.157	0.69	0.189	0.66
	throat	5.067	0.04	5.727	0.03	6.062	0.02	6.289	0.02	6.088	0.02
<i>Leucochloris albicollis</i>	belly	1.112	0.30	0.730	0.40	0.613	0.44	0.619	0.44	0.637	0.43
	tail	11.612	0.0028	12.551	0.0020	13.234	0.0016	14.500	0.0011	13.480	0.0015
	throat	1.179	0.29	1.085	0.30	1.108	0.30	1.192	0.28	1.124	0.30

*measured at 45°.

Figure Captions

Figure 1. Photos of the five studied species: A) *Amazilia versicolor*, B) *Colibri serrirostris*, C) *Eupetomena macroura*, D) *Florisuga fusca* and E) *Leucochloris albicollis*.

Figure 2. Reflectance spectra for males and females of the five species of hummingbirds, for the body regions measured: A) *Amazilia versicolor*, B) *Florisuga fusca*, C) *Colibri serrirostris*, D) *Eupetomena macroura* and E) *Leucochloris albicollis*. The throat of *C. serrirostris* was also measured at 45° as indicated. The dashed lines represent females and continues the males.

Figure 3. Color differences between males and females estimated in Just Noticeable Difference units (JNDs) for each body region (y-axis) for the five hummingbirds species: A) *Amazilia versicolor*, B) *Colibri serrirostris*, C) *Eupetomena macroura*, D) *Florisuga fusca* and E) *Leucochloris albicollis*. The horizontal dashed line indicates JND = 1. Values above 1 indicate the difference is large enough to be distinguishable among individuals. Box plots represent medians, 25% and 75% quartiles and lines 5% and 95% quartiles.

Figure 4. Values for the reflectance peaks that differed significantly between the sexes for UVS, SWS, MWS, LWS cones and double-cone for the five hummingbirds species: A) *Amazilia versicolor*, B) *Colibri serrirostris*, C) *Eupetomena macroura*, D) *Florisuga fusca* and E) *Leucochloris albicollis*. Values for males (gray) and females (white) are means with 95% confidence intervals.

Figure 1

A) *Amazilia versicolor***B)** *Colibri serrirostris***C)** *Eupetomena macroura***D)** *Florisuga fusca***E)** *Leucochloris albicollis*

Figure 2

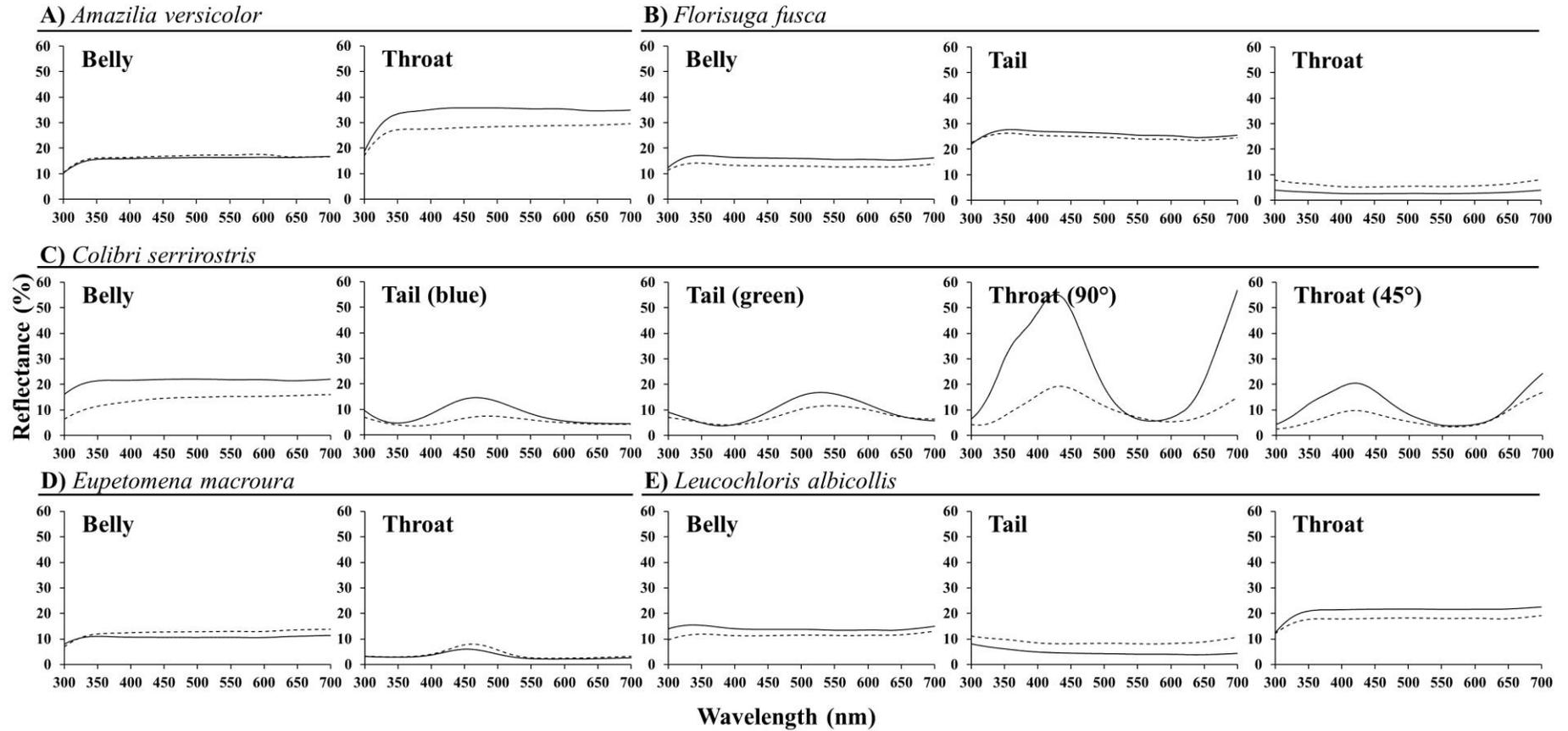


Figure 3

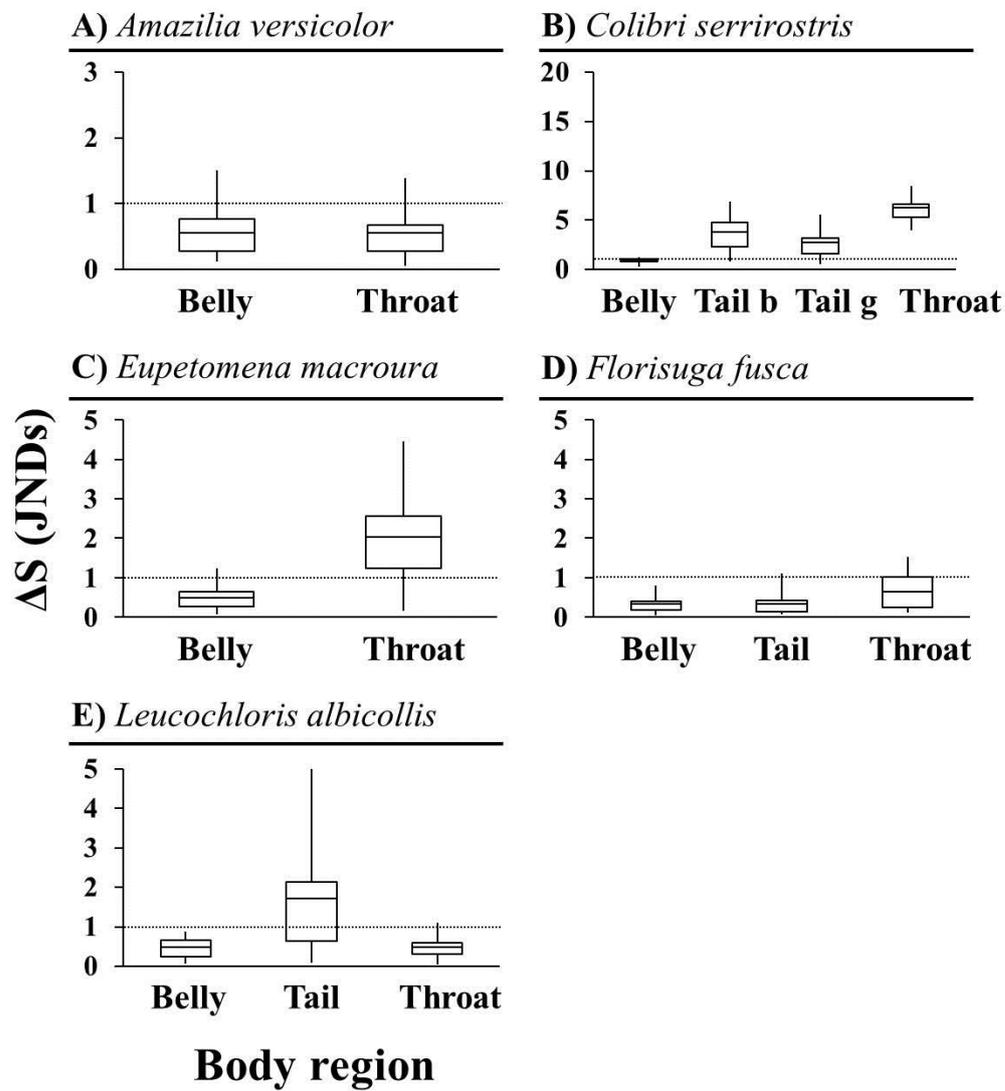
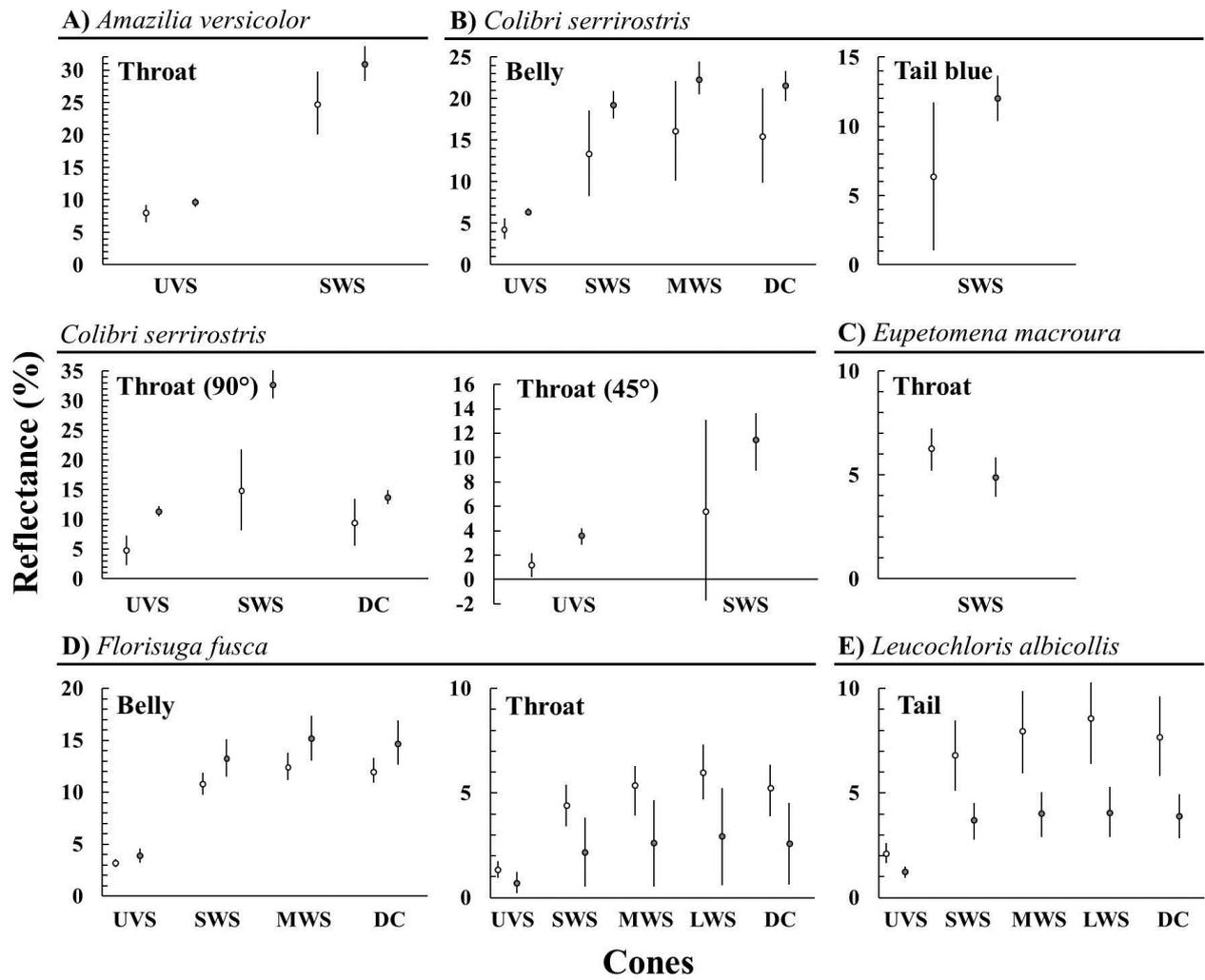


Figure 4



CAPÍTULO 3

Padrão de muda das penas de voo em beija-flores subtropicais*

* Artigo elaborado de acordo com as normas do periódico The Auk.

Padrão de muda em beija-flores

RESEARCH ARTICLE

Padrão de muda das penas de voo em beija-flores subtropicais

Felipe L. S. Shibuya,^{1*} & James J. Roper^{1,2*}

¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas, Universidade de Vila Velha, Vila Velha, Espírito Santo, Brasil.

*Autores para correspondência: Felipe Shibuya, felipe.shibuya@gmail.com; James Roper, jjroper@gmail.com

RESUMO

A muda demanda um alto gasto energético, cujas consequências devem ser importantes para outros aspectos da vida, como a reprodução e a migração. Em beija-flores, o período da muda requer até 40% do metabolismo basal do indivíduo, despertando a curiosidade sobre este processo nessas aves. Mas, pouco se sabe sobre a muda em beija-flores, para além de outras regiões não subtropicais. Aqui, descrevemos o processo de muda em algumas espécies de beija-flores no subtropico do Brasil, detalhando o período e as sequências da muda das penas de voo. Após capturar e identificar a espécie, sexo e idade do indivíduo, determinamos quais penas se encontravam em muda. Pelas recapturas e capturas únicas (fotografias), observamos mudas em 466 indivíduos, em sete de 13 espécies. O período da muda durou 125 dias, sendo a sequência de troca das penas (remiges e retrizes) maioritariamente na ordem proximal à distal, com poucas exceções. Algumas espécies e indivíduos não apresentaram mudas completas. Jovens foram registrados alguns dias antes do início da muda. Nossos resultados corroboram padrões de muda já registrados em outras espécies, incluindo beija-flores, mas com muito mais consistência e regularidade. Ainda, jovens aparecendo antes do início da muda pode indicar a não sobreposição de eventos energeticamente importantes para este grupo. A ausência de muda em algumas espécies e indivíduos pode indicar que a muda ocorre parcialmente, sendo realizada após a migração, sob condições são favoráveis.

Palavras-chave: sobreposição muda-reprodução, Trochilidae, plumagem, remiges, retrizes, migração

INTRODUÇÃO

A muda, que consiste no processo através do qual uma ave troca suas penas, demanda um alto gasto energético, cujas consequências devem ser importantes para outros aspectos da vida, como a reprodução e a migração (Jenni e Winkler 1994, Marini e Durães 2001). Especialmente em beija-flores (Família Trochilidae), nos quais o período da muda pode requerer até 40% do total do metabolismo basal de um indivíduo (Chai 1997, Schuchmann 1999), este processo se torna ainda mais singular, aumentando o interesse por seu entendimento. Porém, os padrões de muda nesta família são quase somente conhecidos no México (Wagner 1955) e na Costa Rica (Stiles 1995), mas devem variar sobre latitudes, ambientes e espécies, como já observado em outras espécies de aves (Prys-Jones 1991, Murphy e King 1992, Murphy e Taruscio 1995, Rohwer et al. 2008, Johnson e Wolfe 2014).

A muda é variável em diversos aspectos entre espécies, populações e indivíduos, e esta variação inclui o período, a duração e a sequência de substituição das penas, que dependem de outros fatores do ciclo anual (Prys-Jones 1991, Jenni e Winkler 1994, Ryder e Wolfe 2009). Assim, conhecer os detalhes da renovação das penas em aves pode auxiliar na compreensão de fatores ecológicos, evolutivos, fisiológicos e filogenéticos neste grupo. Entretanto, mesmo considerando a importância deste processo, a descrição detalhada de períodos e estratégias de mudas em aves tropicais ainda é escassa e, quando realizadas, são frequentemente gerais (Davis 1971, Piratelli et al. 2000, Marini e Durães 2001, Rohwer et al. 2008, Ryder e Wolfe 2009, Bridge 2011, Silveira e Marini 2012).

Na América do Sul, a maioria dos estudos que relataram a muda em beija-flores se baseou em poucas e superficiais observações (Ruschi 1962a, 1962b, 1962c, 1962d), não agregando informações suficientes para afirmar padrões de muda para as espécies. Haja vista que no subtropical as assembleias de Trochilidae são compostas por espécies

residentes e migrantes, entender os padrões de muda das espécies é fundamental para compreender também como os gastos energéticos da migração e da reprodução podem mudar ao longo do ano em associação com a muda. Assim, o objetivo deste trabalho foi descrever o processo de muda em algumas espécies de beija-flores na região subtropical do Brasil, detalhando o período e as sequências da muda das penas de voo (rêmiges e retrizes).

MÉTODOS

Área de Estudo

O estudo foi realizado no sul do Brasil, em uma área rural no município de Piraquara, Paraná (25.5214° S, 49.0925° W). Originalmente, a área era composta por Floresta Atlântica, mas atualmente possui fragmentos e corredores de mata original entre casas e fazendas. Não há uma estação seca definida, sendo fevereiro o mês mais quente, com temperaturas máximas médias próximas aos 27°C, e julho o mais frio, com temperaturas mínimas médias próximas aos 8,5°C. A precipitação média anual é de aproximadamente 1,527 mm (Peel et al. 2007, INMET 2015).

Captura das Aves e Coleta dos Dados

Há aproximadamente 14 anos, bebedouros para beija-flores são disponibilizados na área de estudo. A partir de 2005, os bebedouros do tipo HummZinger® foram inseridos dentro de armadilhas-gaiolas, para facilitar a captura dos indivíduos, que eram pegos através do fechamento da gaiola a partir de dispositivos eletrônicos acionados manualmente (Apêndice Figura 4). Entre março de 2013 a março de 2015, foram realizadas capturas de beija-flores para examinar a presença de muda. Cada indivíduo foi identificado quanto ao sexo (fêmea ou macho, quando perceptíveis) e a idade, além de receber uma marcação com

anilha metálica numerada fornecida pelo CEMAVE. Para evitar recapturas no mesmo dia, utilizamos um método de pintura com tinta solúvel em água na nuca do indivíduo, que permitia observá-lo a distância e não capturá-lo. Durante a manipulação, fotografamos todos os indivíduos para medir posteriormente a morfologia das penas no computador (ImageJ 1.47t, National Institutes of Health, USA). Foram realizadas ao menos três fotografias no ângulo de 90° em relação ao indivíduo, com escala em milímetros, utilizando o *flash* para registrar detalhes das estruturas.

Sabendo que os beija-flores possuem 10 rêmiges primárias (a partir de agora usaremos a sigla P mais o número da pena, por exemplo, décima primária = P10), como na maioria dos Passeriformes (Jenni e Winkler 1994) com variações interespecíficas no número de secundárias (S), seis, e retrizes (R), cinco, em cada lado (Baltosser 1995, Chai 1997; Figura 1), ao capturar os indivíduos identificamos as penas que se encontravam em muda, para definir a sequência da troca. A pena nodal foi determinada quando a vizinha aparentava-se desgastada ou em crescimento, porém em comprimento menor do que a pena focal. Já a pena terminal deveria apresentar o padrão inverso à nodal. As terminologias seguem Rohwer (2008) e foram adotadas para determinar a direção da muda, se ocorria de dentro para fora ou vice-versa. Para ter maior precisão da sequência da muda, utilizamos indivíduos recapturados ao longo do tempo, que permitiram definir a direção da muda (Tabela 1). Porém, alguns indivíduos capturados apenas uma vez também puderam ser utilizados, quando foi possível observar penas em troca ao lado de penas velhas pelas fotografias (Figura 2).

Para estimar a taxa diária de crescimento e o tempo total de crescimento das penas, retiramos duas penas (P10 e R5) de 10 indivíduos de *Leucochloris albicollis* a fim de os recapturar durante um intervalo curto de tempo, medindo o comprimento destas penas em cada recaptura.

RESULTADOS

Entre março de 2013 a março de 2015 foram capturados 2302 indivíduos, em 5417 capturas, de 13 espécies de beija-flores. A muda foi evidente em 466 indivíduos, de sete espécies (Tabela 1). Não foram observadas reposições das penas retiradas manualmente em *L. albicollis*, não permitindo estimar a taxa diária e o tempo de crescimento das mesmas.

Período da Muda

No ciclo 2013/2014, os primeiros indivíduos em muda foram capturados em 20 de dezembro de 2013 (*L. albicollis* e *Thalurania glaucopis*), e os últimos em 24 de abril de 2014 (*Amazilia versicolor*, *Colibri serrirostris* e *L. albicollis*), totalizando um período de 125 dias de muda das penas de voo. Contudo, houve variação no período apresentado em cada espécie (Figura 3). No ciclo 2014/2015, os primeiros indivíduos em muda foram observados em 17 de dezembro de 2014 (*Eupetomena macroura*, *L. albicollis* e *T. glaucopis*). Jovens nunca tiveram evidência de troca das penas, e começaram a ser registrados, em todas as espécies, alguns dias antes do início do período da muda ser observado em adultos (Figura 3).

Padrões da Muda

A sequência de troca das penas de voo tende a seguir a ordem proximal a distal, com poucas exceções (Figura 1). Nas rêmiges primárias, em geral, a troca ocorre aos pares, o que possibilitou estabelecer um padrão pelas recapturas e pelos indivíduos capturados apenas uma vez. Usando a contagem no manuseio ($n = 127$), combinado com as fotografias ($n = 302$; Figura 2), foi possível obter a informação da sequência de muda de 429 indivíduos, e as substituições ocorreram no sentido padrão (P1 a P10; Tabela 2, Figura 1A). As exceções observadas foram em dois, de 59 indivíduos, de *C. serrirostris* e 22, de

231 indivíduos, de *L. albicollis*, que trocaram as três últimas penas em sentido contrário (P8-P10-P9; Figura 1B).

Para as secundárias, foi possível inferir a sequência de 21 indivíduos recapturados, dos quais sequências completas foram observadas (Tabela 3). A muda começando pela S1 foi mais comum, e somente um, de sete indivíduos, de *L. albicollis* e dois, de 10 indivíduos, de *A. versicolor* começaram pela S4. A S6 foi a última a ser trocada, exceto em um indivíduo de *A. versicolor*, que terminou pela S3. Em *Florisuga fusca*, foi registrada muda nas secundárias em apenas dois indivíduos, capturados em 18 de março de 2014 e 07 de março de 2015, com mudas nas penas S1 e S6. Mas, pela falta de recapturas destes indivíduos, não foi possível determinar um padrão para esta espécie (Tabela 3). Indivíduos fotografados não foram utilizados aqui por não permitirem determinar a sequência, uma vez que pelas fotos não foi possível inferir qual a próxima pena seria trocada.

As cinco retrizes foram sempre trocadas sequencialmente, uma por uma. Assim, foi possível analisar a sequência da troca através das recapturas ($n = 32$) e fotografias ($n = 114$) de 146 indivíduos. A muda nas retrizes tende a começar na pena R1 e termina na R5 (Figura 1C). Exceções com inversão na troca das últimas penas caudais (R3-R5-R4) foram registradas em quatro, de 92 indivíduos, de *L. albicollis* (Tabela 4, Figura 1D).

Ausência de Muda

A muda não foi observada em seis espécies, sendo que ainda para algumas delas, alguns tipos de penas nunca foram observadas em troca, como as secundárias em *Anthracothorax nigricollis* e retrizes em *F. fusca*. Além disso, nem todas as espécies apresentaram uma série completa de muda, sendo que determinadas penas nunca foram observadas em troca (P8, P9 e P10 em *A. nigricollis* e P7, P8, P9 e P10 em *F. fusca*; e S2, S3, S4 e S5 em *F. fusca*). *Chlorostilbon lucidus* ($n = 288$), *Clytolaema rubricauda* ($n = 42$), *Amazilia*

fimbriata (n = 6), *Calliphlox amethystina* (n = 5), *Lophornis chalybeus* (n = 3) e *Stephanoxis lalandi* (n = 2) foram capturadas no mesmo período das demais espécies, mas sem evidências de muda.

Taxa Diária e Tempo de Crescimento das Penas

Nos 10 indivíduos de *L. albicollis* capturados em que uma primária e uma retriz foram retiradas, somente três foram recapturados de seis a 11 vezes, sobre 128 dias (entre agosto ao início de dezembro, antes do período da muda). Mas em nenhum caso houve reposição, impossibilitando estimar a taxa diária de crescimento por este método.

DISCUSSÃO

Aqui mostramos um padrão predominante da muda (proximal ao distal), com poucas exceções (~20% dos indivíduos), que ocorrem em uma assembleia de beija-flores da região subtropical do Brasil. Também, segue o sentido da muda encontrado por Stiles (1995), em uma assembleia de beija-flores na Costa Rica, mas em nosso conjunto de espécies há muito mais consistência e regularidade nos padrões. Apenas a muda nas penas secundárias não sugere nenhum padrão, como também visto nos estudos anteriores, em que houve maior variação de trocas comparada aos outros tipos de penas (Wagner 1955, Ruschi 1962a, 1962b, 1962c, 1962d, Stiles 1995). Além disso, testamos que não há reposição de penas perdidas fora do período da muda e que este período não se sobrepõe ao reprodutivo, visto que o aparecimento de jovens só ocorre alguns dias antes do início da muda nos adultos.

Período da Muda

Nossos resultados apontaram que a muda nos Trochilidae em regiões subtropicais ocorre pós-nupcialmente, tendo início após o aparecimento de jovens, indicando a saída destes

dos ninhos e o final da reprodução. Esse resultado reforça a ideia de que as aves devem alocar energia para as atividades que realmente são importantes em determinados períodos de seus ciclos anuais, e que a sobreposição desses eventos pode não ser vantajoso para os indivíduos, especialmente se são migrantes, o que aumenta o desgaste energético (Payne 1972, Prys-Jones 1991, Baltosser 1995, Yuri e Rohwer 1997).

Padrões da Muda

Em geral, os indivíduos apresentaram um padrão de muda com substituição das penas em sentido proximal ao distal. Esta sequência já foi registrada em diversas espécies, além dos Trochilidae (Wagner 1955, Ashmole 1968, Stiles 1995, Yuri e Rohwer 1997, Butler et al. 2002, Voelker e McFarland 2002, Ryder e Rimmer 2003; mas ver Stresemann e Stresemann 1966, Payne 1972). Alguns poucos indivíduos de *C. serrirostris* e *L. albicollis* apresentaram uma inversão nas trocas das P9 e P10. Stiles (1995) encontrou este padrão com muito maior frequência, e foi o padrão predominante nas 13 espécies por ele estudadas. O padrão de troca com substituição das últimas primárias em sequência P8-P9-P10 (nosso padrão predominante) só foi observado em três espécies. Em outras espécies de aves, em especial Passeriformes de regiões temperadas, estas exceções foram raramente documentadas e somente registradas em indivíduos jovens (Rasmussen 1988, Shugart e Rohwer 1996).

A sequência da muda nas secundárias foi mais variável. Na maioria dos indivíduos, a substituição iniciou-se pela S1, finalizando pela S6, com penas no meio trocando sem padrão reconhecível. Dos padrões observados no nosso trabalho, nenhum foi registrado por Stiles (1995), sendo que, apesar da maioria das substituições se iniciar pela S1, não houve nenhuma finalização pela S6. A sequência S1-S2-S3-S4-S5-S6, aqui observada em *L. albicollis* (14%) e *A. versicolor* (10%), foi a mesma observada em *Eugenes fulgens*, no

México (Wagner 1955). Ainda, em nossas espécies, um padrão cuja a primeira substituição é iniciada pela S4 (S4-S1-S2-S5-S3-S6), foi observado em *L. albicollis* (14%) e *A. versicolor* (10%). A variação encontrada nas penas secundárias pode indicar que a importância no voo destas penas é menor do que nas primárias, e sendo que a troca ocorre uma a uma, cada pena é mais ou menos igual em termos aerodinâmicos, tornando-se mais irregular entre os indivíduos, quando comparada aos outros tipos de penas (Barta et al. 2006).

As retrizes, de modo geral, apresentaram o padrão de muda em sentido proximal ao distal, em todas as espécies, também sugerindo a sua importância para o voo. Apenas quatro indivíduos (5%) de *L. albicollis* inverteram a troca das últimas duas penas (sentido R3-R5-R4). Em Wagner (1955), a sequência de troca das retrizes em R1-R2-R3-R4-R5 também foi a mais comum, observada em quatro de suas espécies. Stiles (1995) observou esta sequência em uma única espécie e em um indivíduo de *Heliodoxa jacula*. As exceções registradas em nosso estudo também foram observadas por Wagner (1955) e Stiles (1995), mas, ao contrário do nosso estudo, Stiles (1995) teve a sequência R1-R2-R3-R5-R4 como a segunda dominante em suas espécies, e Wagner (1955) demonstrou este padrão também como um exceção, em *Amazilia candida*.

O padrão de muda predominante em nossos resultados diferiram dos já relatados em estudos com beija-flores em regiões tropicais (Wagner 1955, Stiles 1995). A variação entre estes resultados pode ser em resposta as diferentes estratégias de muda, resultantes das condições do ambiente ou migração, que refletem na fenologia, duração e sequência de substituição, resultando em várias estratégias de muda que devem ser consequências de outras demandas energéticas, como migração e reprodução (Prys-Jones 1991, Murphy e King 1992, Baltosser 1995, Murphy e Taruscio 1995, Ryder e Wolfe 2009).

Ausência de Muda

A ausência da muda em seis espécies (346 indivíduos) indica que esta ocorre em outros lugares após a migração e antes da reprodução (Baltosser 1995, Yuri e Rohwer 1997, Barta et al. 2006, Arizaga et al. 2014). A muda, apesar de ser um processo custoso para as aves, jamais pode ser evitada e deve ser realizada em algum momento onde as condições sejam favoráveis aos indivíduos (Baltosser 1995, Chai 1997, Ryder e Wolfe 2009). Assim, o motivo pelo qual algumas espécies mudam e outras não, sob as mesmas condições, é um mistério (Arizaga et al. 2014, Linz 1986). Porém, o fato de que a muda obviamente pode ocorrer durante a migração (nas espécies em que somente uma parte da muda foi observada, *A. nigricollis* e *F. fusca*), indica que esta pode ocorrer antes, durante e depois da migração. A estratégia parcial de muda já foi registrada na literatura e pode ser adotada para minimizar os prejuízos na aerodinâmica (Prys-Jones 1991, Murphy e King 1992, Murphy e Taruscio 1995, Edwards e Rohwer 2005, Rohwer et al. 2009, Johnson e Wolfe 2014). Em Trochilidae, que são totalmente dependentes do voo, realizar a muda parcial quando as condições não são totalmente favoráveis torna-se vantajoso, uma vez que o gasto energético pode ser alocado em outras atividades como a migração, permitindo que a muda se complete quando as condições estiverem favoráveis (Baltosser 1995, Chai 1997). Baltosser (1995) registrou em duas espécies de beija-flores, *Archilochus colubris* e *A. alexandri*, mudas ocorrendo em áreas de invernada, iniciando-se logo após a migração. Ainda, estes padrões nas estratégias de muda podem diferir entre residentes e migratórios, sendo que os indivíduos migrantes devem alocar suas energias para migrarem e, em seguida, realizarem a muda em locais onde as condições estejam favoráveis. Assim, nosso resultado pode sugerir que a realização parcial da muda das penas de voo nesses indivíduos ocorre durante ou após a migração, como em outras espécies de aves (Prys-Jones 1991, Yuri e Rohwer 1997, Butler et al. 2002, Rohwer et al. 2008).

A muda é um processo energeticamente caro para as aves, já que neste período necessitam alocar energia, nutrientes e tempo para substituírem suas penas (Lindström et al. 1993, Klaassen 1995). Este processo é ainda mais crítico para grupos de aves em que os gastos energéticos da muda podem corresponder a cerca de 40% do metabolismo basal, como os beija-flores (Chai 1997). Nossos resultados mostraram que há um padrão predominante e menos variável da muda em beija-flores subtropicais, exceto nas secundárias, comparado a outras espécies de beija-flores tropicais. Ainda, a ausência de muda em algumas espécies e indivíduos e a estratégia de muda parcial podem ser resultantes da fisiologia e dinâmica deste grupo, que por possuírem parte da população migrante, realizam a muda em outras regiões onde os recursos são favoráveis. Também, o aparecimento de jovens após o início da muda reforça a ideia de que não há sobreposição entre a muda e a reprodução, que demandam altos custos energéticos. Uma vez reduzido o gasto energético, especialmente na muda, os indivíduos migrantes podem alocar mais energia para migrarem. Estes resultados, em conjunto com o que já é conhecido para outras regiões (Wagner 1955, Baltosser 1995, Stiles 1995), ajudará a elucidar um amplo universo de questões ecológicas, evolutivas, fisiológicas e filogenéticas, em um grupo com constante mudanças filogenéticas como os Trochilidae (McGuire et al. 2014).

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Jaqueline Evelyn Persegona pela considerável ajuda em campo. Nós gostaríamos de agradecer também a Aspects Inc. pela sua gentil doação de bebedouros HummZinger® para apoiar essa pesquisa.

Financiamento: O financiamento foi fornecido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Declaração de Ética: As aves foram capturadas sob a permissão número 30803-1 do Ministério do Meio Ambiente (MMA) do Brasil. Todas as aves foram manipuladas seguindo os padrões éticos da Universidade Federal do Paraná e da legislação brasileira.

Contribuições do Autor: (1) J.J.R. concebeu a ideia para o trabalho e experimento (pesquisa supervisionada, formulação de questão e/ou hipótese); e (2) F.L.S.S. executou os experimentos (coleta de dados, condução da pesquisa), analisou os dados e escreveu o trabalho.

LITERATURA CITADA

- Arizaga, J., E. Unamuno, A. Azkona, M. Laso, e P. Peón (2014). Molt extent differs between populations of different migratory distances: preliminary insights from Bluethroats *Luscinia svecica*. *Revista Catalana d'Ornitologia* 30: 24–29.
- Ashmole, N. P. (1968). Breeding and molt of the White tern (*Gygis alba*) on Christmas Island, Pacific Ocean. *The Condor* 70: 35–55.
- Baltosser, W. H. (1995). Annual molt in Ruby-throated and Black-chinned hummingbirds. *The Condor* 97: 484–491.
- Barta, Z., A. I. Houston, J. M. McNamara, R. K. Welham, A. Hedenström, T. P. Weber, e O. Feró (2006). Annual routines of non-migratory birds: optimal moult strategies. *Oikos* 112: 580–593.
- Bridge, E. S. (2011). Mind the gaps: What's missing in our understanding of feather molt. *The Condor* 113: 1–4.
- Butler, L. K., M. G. Donahue, e S. Rohwer (2002). Molt-migration in western tanagers (*Piranga ludoviciana*): age effects, aerodynamics, and conservation implications. *The Auk* 119: 1010–1023.

- Chai, P. (1997). Hummingbird hovering energetics during moult of primary flight feathers. *The Journal of Experimental Biology* 200: 1527–1536.
- Davis, J. (1971). Breeding and molt schedules of the Rufous-collared sparrow in coastal Perú. *The Condor* 73: 127–146.
- Edwards, A. E., e S. Rohwer (2005). Large-scale patterns of molt activation in the flight feathers of two albatross species. *The Condor* 107: 835–848.
- INMET – Instituto Nacional de Meteorologia (2015). Gráficos climatológicos. <http://www.inmet.gov.br/> (access on 08 August 2015).
- Jenni, L., e R. Winkler (1994). *Moult and ageing of European Passerines*. Academic Press Limited, London, England.
- Johnson, E. I., e J. D. Wolfe (2014). Thamnophilidae (Antbird) molt strategies in a Central Amazonian Rainforest. *The Wilson Journal of Ornithology* 126: 451–462.
- Klaassen, M. (1995). Molt and basal metabolic costs in males of two subspecies of stonechats: the European *Saxicola torquata rubicula* and the east African *S. t. axillaris*. *Oecologia* 104: 424–432.
- Lindström, A., H. Visser, e S. Daan (1993). The energetic cost of feather synthesis is proportional to basal metabolic rate. *Physiological Zoology* 66: 490–510.
- Linz, G. M. (1986). Temporal, sex, and population characteristics of the first prebasic molt of Red-Winged Blackbirds. *Journal of Field Ornithology* 57: 91–98.
- Marini, M. Â., e R. Durães (2001). Annual patterns of molt and reproductive activity of Passerines in South-Central Brazil. *The Condor* 103: 767–775.
- McGuire, J. A., C. C. Witt, J. V. Remsen Jr., A. Corl, D. L. Rabosky, D. L. Altshuler, e R. Dudley (2014). Molecular Phylogenetics and the Diversification of Hummingbirds. *Current Biology* 24: 1–7.

- Murphy, M. E., e J. R. King (1992). Energy and nutrient use during moult by White-crowned Sparrows *Zonotrichia leucophrys gambelii*. *Ornis Scandinavica* 23: 304–313.
- Murphy, M. E., e T. G. Taruscio (1995). Sparrows increase their rates of tissue and whole-body protein synthesis during the annual molt. *Comparative Biochemistry and Physiology* 111: 385–396.
- Payne, R. B. (1972). Mechanisms and control of molt. In: *Avian Biology* (D. S. Farner, J. R. King e K. C. Parkes, Editors.). Academic Press, New York, USA.
- Peel, M. C., B. L. Finlayson, e T. A. McMahon (2007). Updated world map of the Köppen-Greiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences* 11: 1633–1644.
- Piratelli, A. J., M. A. C. Siqueira, e L. O. Marcondes-Machado (2000). Reprodução e muda de penas em aves de sub-bosque na região leste do Mato Grosso do Sul. *Ararajuba* 8: 99–107.
- Prys-Jones, R. M. (1991). The occurrence of biannual primary molt in passerines. *Bulletin of the British Ornithologist's Club* 111: 150–152.
- Rasmussen, P. C. (1988). Stepwise molt of remiges in Blue-Eyed and King Shags. *The Condor* 90: 220–227.
- Rohwer, S. (2008). A primer on summarizing molt data for flight feathers. *The Condor* 110: 799–806.
- Rohwer, V. G., S. Rohwer, e J. H. Barry (2008). Molt scheduling of western Neotropical migrants and up-slope movement of Cassin's vireo. *The Condor* 110: 365–370.
- Rohwer, S., R. E. Ricklefs, V. G. Rohwer, e M. M. Cople (2009). Allometry of the duration of flight feathers molt in birds. *PLoS Biology* 7: e1000132. doi:10.1371/journal.pbio.1000132.

- Ruschi, A. (1962a). A muda em: *Heliomaster furcifer* (Shaw) e *Heliomaster squamosus* (Temminck) (Aves Trochilidae). Boletim do Museu de Biologia Prof. Mello-Leitão 35: 1–2.
- Ruschi, A. (1962b). A muda em: *Calliphlox amethystina* (Boddaert) e *Calliphlox mitchellii* (Bourcier) (Aves Trochilidae). Boletim do Museu de Biologia Prof. Mello-Leitão 36: 1–2.
- Ruschi, A. (1962c). A muda em: *Chrysolampis moschitus* (Linné) e *Chlorestes notatus notatus* (C. Reichembach) (Aves Trochilidae). Boletim do Museu de Biologia Prof. Mello-Leitão 37: 1–2.
- Ruschi, A. (1962d). A muda nos Trochilidae. Boletim do Museu de Biologia Prof. Mello-Leitão 38: 1–16.
- Ryder, T. B., e C. C. Rimmer (2003). Latitudinal variation in the definitive prebasic molt of Yellow Warblers. *The Wilson Bulletin* 115: 325–332.
- Ryder, T. B., e J. D. Wolfe (2009). The current state of knowledge on molt and plumage sequences in selected Neotropical bird families: a review. *Ornitologia Neotropical* 20: 1–18.
- Schuchmann, K. L. (1999). Family Trochilidae (hummingbirds). In: *Handbook of the Birds of the World, Barn-owls to hommingbirds* (J. del Hoyo, A. Elliott e J. Sargatal, Editors). Lynx Edicions, Barcelona, Spain.
- Shugart, G. W., e S. Rohwer (1996). Serial descendant primary molt or staffelmauser in Black-Crowned Night-Herons. *The Condor* 98: 222–233.
- Silveira, M. B., e M. Â. Marini (2012). Timing, duration, and intensity of molt in birds of a neotropical savanna in Brazil. *The Condor* 114: 435–448.
- Stiles, F. G. (1995). Intraspecific and interspecific variation in molt patterns of some tropical hummingbirds. *The Auk* 112: 118–132.

Stresemann, E., e V. Stresemann (1966). Die Mauser der Vögel. *Journal für Ornithologie* 107: 1–447.

Voelker, G., e S. L. McFarland (2002). Molt patterns and molting grounds of Lucy's and Virginia's Warblers: similar yet different. *The Wilson Bulletin* 114: 255–263.

Yuri, T., e S. Rohwer (1997). Molt and migration in the Northern Rough-winged Swallow. *The Auk* 114: 249–262.

Wagner, H. O. (1955). The molt of hummingbirds. *The Auk* 72: 286–291.

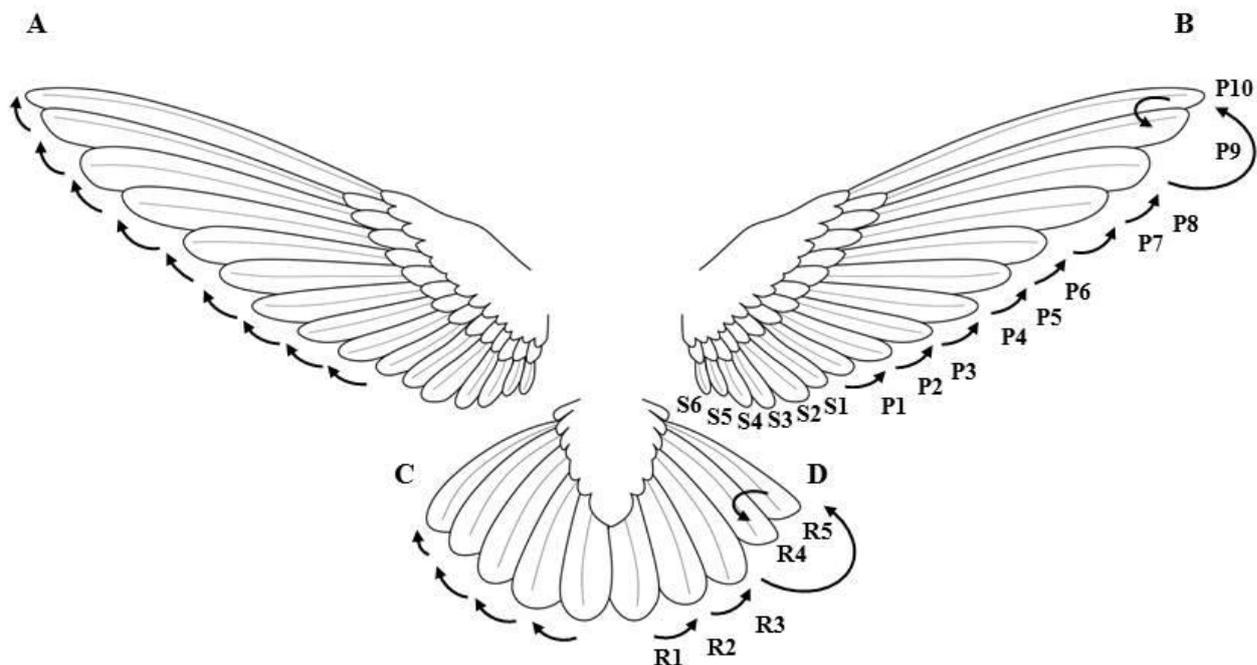


FIGURA 1. Padrões de muda da cauda e asas em beija-flores. O padrão de muda predominante (proximal ao distal) foi observado nas asas (A) e na cauda (C). Entretanto, exceções foram registradas, onde inversões ocorreram na última substituição P8, P9 e P10 (B) e R3, R4 e R5 (D).

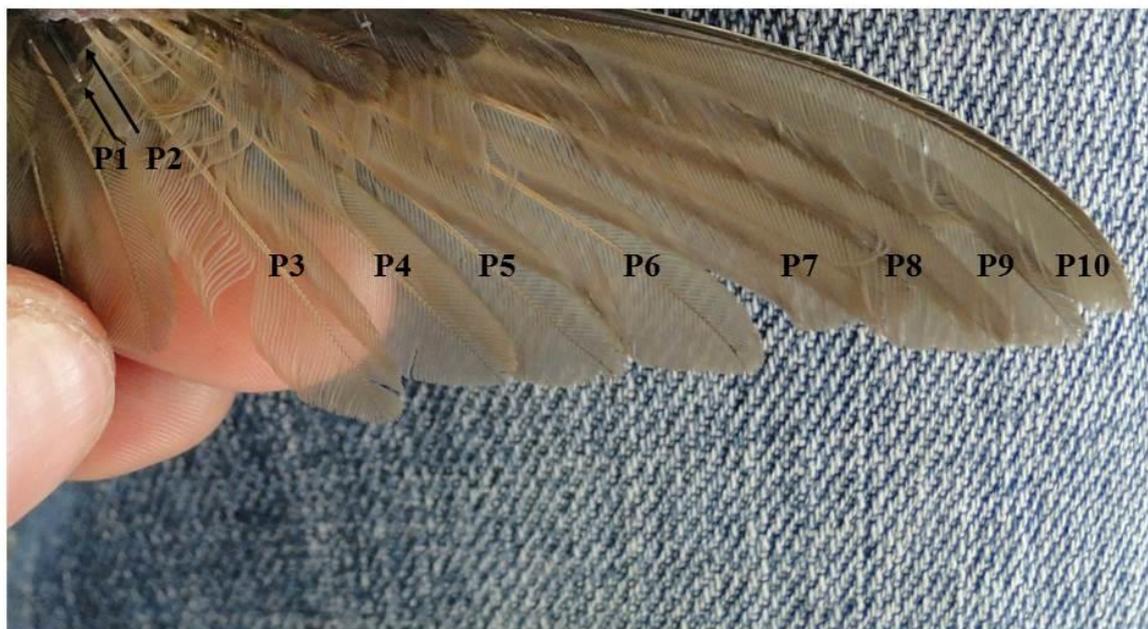


FIGURA 2. Fotografia de um indivíduo capturado uma única vez, onde foi possível observar o padrão de muda na direção proximal a distal. Na imagem, a muda pode ser observada na asa de um *Eupetomena macroura*, em P1 e P2. Note que na P1 é possível observar o canhão da pena, enquanto na P2 ainda não há crescimento aparente, sugerindo que a primeira pena foi substituída antes da segunda.

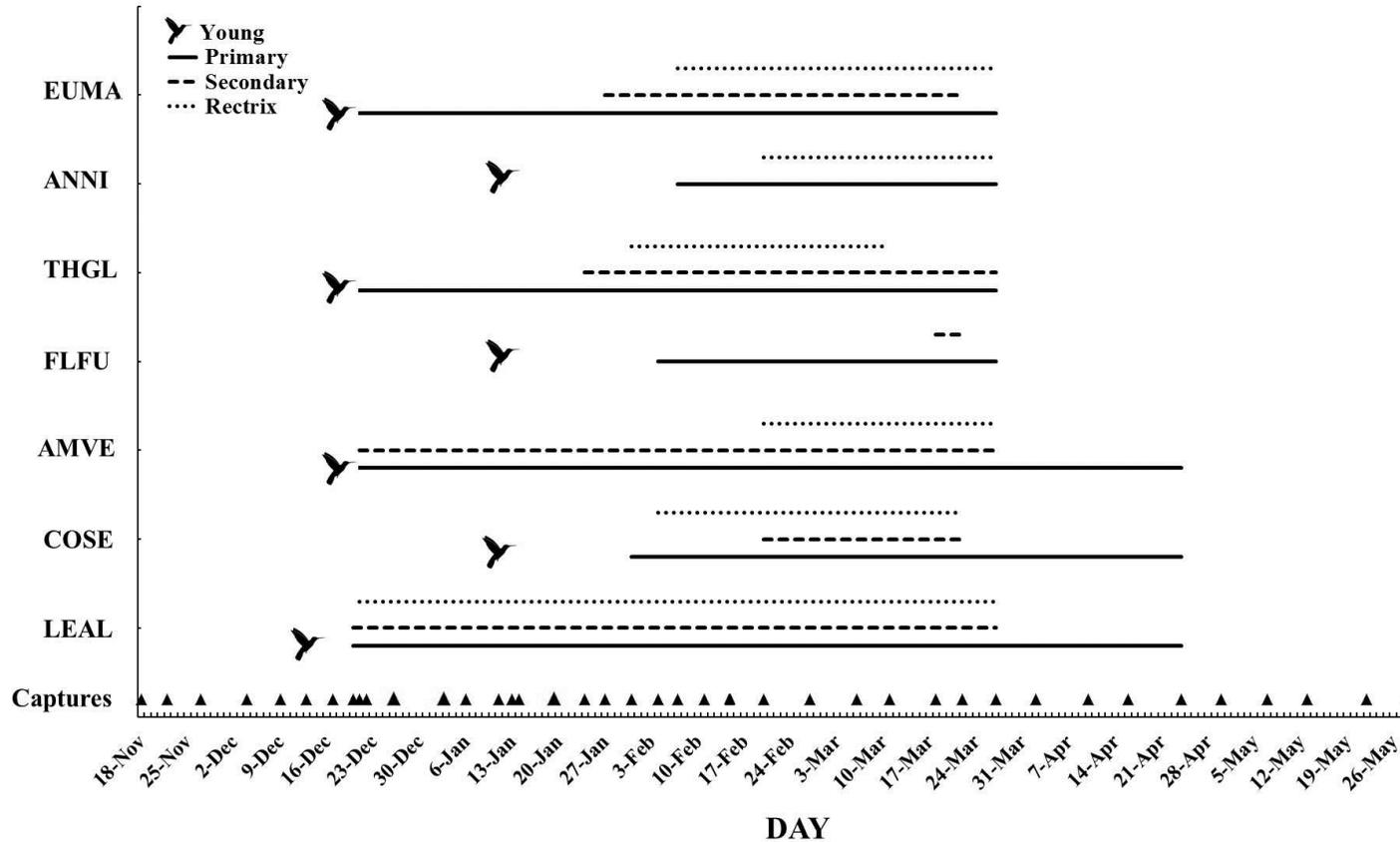


FIGURA 3. Cronograma da muda nas penas primárias, secundárias e retrizes em sete espécies de beija-flores durante o ciclo 2013/14. Os triângulos na base indicam os dias de captura. Note que a presença de indivíduos jovens (indicando a saída destes do ninho) foi observada em todas as espécies poucos dias antes da muda se iniciar, apontando que a muda ocorre após a fase reprodutiva. As espécies estão ordenadas de baixo a cima seguindo a abundância de indivíduos em muda. LEAL – *Leucochloris albicollis*; COSE – *Colibri serrirostris*; AMVE – *Amazilia versicolor*; FLFU – *Florisuga fusca*; THGL – *Thalurania glaucopis*; ANNI – *Anthracothorax nigricollis*; e EUMA – *Eupetomena macroura*.

APÊNDICE

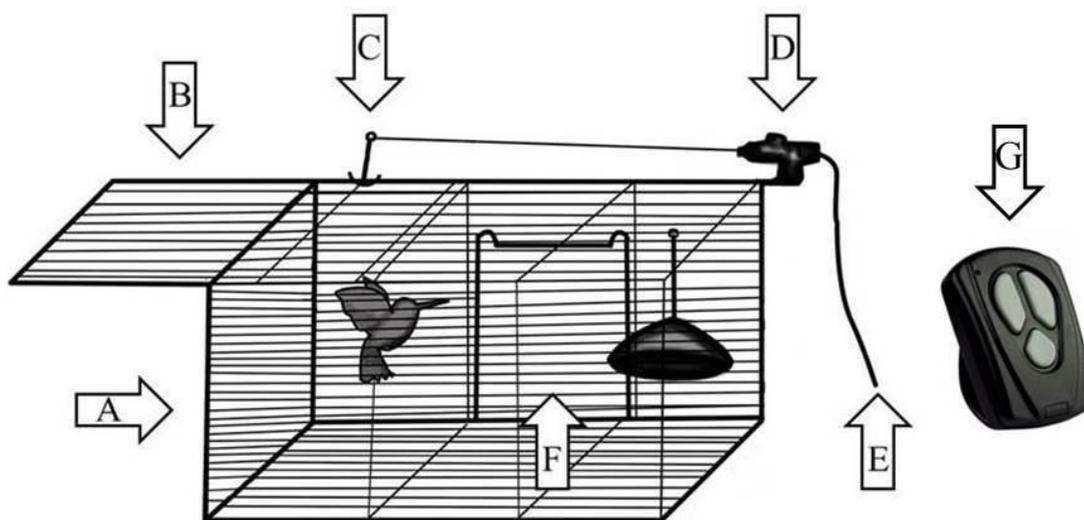


FIGURA 4. Método para captura em armadilha do tipo gaiola com controle remoto. (A) porta principal; (B) porta; (C) gancho para desarme; (D) motor elétrico com unidade de controle; (E) terminal externo que pode ser conectado a saídas elétricas ou baterias; (F) porta lateral por onde as aves capturadas são retiradas; e (G) controle remoto.

TABELA 1. Número de indivíduos capturados com e sem muda nas penas de voo, indivíduos recapturados com muda e número de penas em muda, por espécie de beija-flor. O período de observação foi de março de 2013 a março de 2015, em Piraquara, Paraná, Brasil. As espécies estão ordenadas pela abundância de indivíduos em muda.

Espécie	Muda			Pena (n)
	Sim (%)	Não	Recaptura	
<i>Leucochloris albicollis</i>	236 (27)	630	62	2360
<i>Colibri serrirostris</i>	83 (47)	92	15	445
<i>Amazilia versicolor</i>	78 (16)	396	26	712
<i>Florisuga fusca</i>	28 (19)	121	5	125
<i>Thalurania glaucopis</i>	19 (18)	86	8	214
<i>Anthracothorax nigricollis</i>	13 (16)	66	3	79
<i>Eupetomena macroura</i>	9 (8)	99	1	102

TABELA 2. Sequência da muda nas penas primárias da asa. Os valores indicados em cada coluna correspondem ao número total de indivíduos recapturados e fotografados (capturas únicas) e mostram que as trocas entre pares de penas primárias em cada espécie é predominantemente na direção proximal à distal. Exceções no padrão de troca foram observadas em *Leucochloris albicollis* e *Colibri serrirostris*, onde houve inversão na sequência das duas últimas penas (P8-P10-P9). Espaços em branco correspondem as penas em que não foram registradas mudas nos indivíduos capturados. Mostrando as trocas em pares, a P1 não aparece na coluna 1, sendo a primeira coluna correspondente a muda entre P1-P2, e assim sucessivamente. A fonte refere-se a como a informação foi observada: captura e recaptura (C) ou fotografias (P).

Espécie	Fonte (n, exceções)	Padrão principal (n)									
		P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	
<i>Leucochloris albicollis</i>	C (60, 9)	21	26	25	28	23	27	29	34	35	
	P (149, 13)	22	16	15	21	24	35	37	50	52	
<i>Colibri serrirostris</i>	C (15, 1)	5	7	7	8	6	5	5	2	2	
	P (42, 1)	11	9	14	9	5	6	8	4	3	
<i>Amazilia versicolor</i>	C (26, 0)	11	15	14	12	13	13	9	5	5	
	P (50, 0)	12	15	18	14	12	12	9	4	4	
<i>Florisuga fusca</i>	C (5, 0)	3	2	2	2	1					
	P (21, 0)	6	7	9	8	5					
<i>Thalurania glaucopis</i>	C (7, 0)	1	1	1	3	3	4	5	4	3	
	P (10, 0)	2	2	2	1	1	3	6	6	5	
<i>Anthracothorax nigricollis</i>	C (3, 0)	3	3	3	1						
	P (9, 0)	2	4	4	5	3	2				
<i>Eupetomena macroura</i>	C (1, 0)						1	1	1	1	
	P (7, 0)	2	1	2	1	2	1	1	3	3	

TABELA 3. Sequência da muda nas penas secundárias da asa em indivíduos recapturados. A maior parte dos indivíduos iniciou a muda em S1, terminando em S6. Entretanto, as sequências entre S2 a S5 tiveram variações. Essas sequências inesperadas estão destacadas em negrito.

Espécie	Sequência de muda						<i>n</i>
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	
<i>Leucochloris albicollis</i>	1	2	3	4	5	6	1
	1	2	3	5	4	6	2
	1	2	4	5	3	6	1
	1	4	2	3	5	6	1
	1	4	5	2	3	6	1
	4	1	2	5	3	6	1
<i>Colibri serrirostris</i>	1	2	5	3	4	6	1
<i>Amazilia versicolor</i>	1	2	3	4	5	6	1
	1	2	3	5	4	6	1
	1	2	4	5	3	6	1
	1	2	5	3	4	6	1
	1	4	2	3	5	6	1
	1	4	3	2	5	6	1
	1	4	5	6	2	3	1
	1	5	4	2	3	6	1
	4	1	2	5	3	6	2
<i>Thalurania glaucopis</i>	1	3	2	4	5	6	1
	1	4	3	2	5	6	1
<i>Eupetomena macroura</i>	1	2	4	3	5	6	1

TABELA 4. Sequência da muda nas penas da cauda. O valor indicado em cada coluna corresponde ao número total de indivíduos recapturados (C) e fotografados (P). Esses indivíduos mostram que a forma predominante de troca das penas da cauda acontece na direção proximal à distal. Uma exceção foi observada em *Leucochloris albicollis* com inversão das duas últimas penas (R3-R5-R4). Essa exceção está registrada entre parênteses. Mostrando as trocas em pares, a R1 não aparece nas colunas, sendo a primeira coluna correspondente à troca entre R1-R2, e assim sucessivamente. A fonte refere-se a como a informação foi observada: captura e recaptura (C) ou fotografias (P).

Espécie	Fonte	Padrão principal (exceções)
		R2-R3-R4-R5
<i>Leucochloris albicollis</i>	C	18 (2)
	P	70 (2)
<i>Colibri serrirostris</i>	C	2
	P	15
<i>Amazilia versicolor</i>	C	5
	P	12
<i>Thalurania glaucopis</i>	C	4
	P	7
<i>Anthracothorax nigricollis</i>	P	3
<i>Eupetomena macroura</i>	C	1
	P	5

CAPÍTULO 4

Panorama sazonal de uma assembleia de beija-flores e dinâmica populacional do beija-flor-de-papo-branco *Leucochloris albicollis* em uma área da Floresta Atlântica no Sul do Brasil*

*Artigo elaborado de acordo com as normas do periódico Ibis.

RH: Dinâmica populacional do beija-flor-de-papo-branco

Panorama sazonal de uma assembleia de beija-flores e dinâmica populacional do beija-flor-de-papo-branco *Leucochloris albicollis* em uma área da Floresta Atlântica no Sul do Brasil

Felipe L. S. Shibuya^{1*} & James J. Roper^{1,2}

¹*Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.*

²*Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas, Universidade de Vila Velha, Vila Velha, Espírito Santo, Brasil.*

*Autor para correspondência: felipe.shibuya@gmail.com

RESUMO

Os beija-flores (Aves: Trochilidae) são potencialmente importantes para as dinâmicas das plantas no Neotrópico, sendo os principais polinizadores vertebrados para muitas espécies. Desta forma, compreender as dinâmicas populacionais destas aves se torna fundamental para entender o funcionamento dos ecossistemas. Nosso objetivo foi mostrar um panorama sazonal por espécies, sexos e idades em uma assembleia de beija-flores na Floresta Atlântica no Sul do Brasil. Também, estimar a sobrevivência anual e o tamanho populacional para *Leucochloris albicollis*. Entre março de 2013 a março de 2015 foram realizadas observações semanais e capturas desenhadas segundo as necessidades de modelos de Desenho Robusto. Registramos 13 espécies de beija-flores, das quais cinco são endêmicas. A presença e a abundância variaram sazonalmente entre espécies, sexos e idades. Apenas duas espécies estiveram presentes durante todo o ano, e jovens foram observados a partir de dezembro até meados de julho. Machos e fêmeas apresentaram sobreposição em pelo menos um mês de registro para a maioria das espécies. A sobrevivência anual de *L. albicollis* foi estimada em 0.33 pelo melhor modelo, sendo comparada a baixas estimativas de sobrevivência, registradas em beija-flores de regiões não tropicais. O tamanho populacional variou entre nove e 464 indivíduos entre as sessões de captura. Os picos de abundância aconteceram no final do ciclo reprodutivo (março), quando uma grande quantidade de jovens foi observada. A queda populacional de *L. albicollis* ao longo do período estudado é intrigante, e pode ser reflexo de mudanças na paisagem. Mas, outras hipóteses devem ser consideradas, como o comportamento dos beija-flores ao evitarem os bebedouros nas armadilhas.

Palavras-chave: beija-flores, distribuição sazonal, sobrevivência anual, subtropical, tamanho populacional, Trochilidae.

INTRODUÇÃO

Os beija-flores (Aves: Trochilidae) são potencialmente importantes para a dinâmica de plantas no Neotrópico, sendo os principais polinizadores vertebrados para muitas espécies (Janzen 1975, Stiles 1981, Schuchmann 1999). Em algumas comunidades, a porcentagem de plantas polinizadas por estas aves pode corresponder até 15% do total das angiospermas (Sazima *et al.* 1996, Rodrigues & Araujo 2011). Assim, por sua alta dependência de recursos florais, as dinâmicas desse grupo apresentam grande variação sazonal associada à fenologia das plantas e à sazonalidade climática, especialmente nas regiões tropicais (Stiles 1992). Portanto, conhecer a dinâmica populacional dos Trochilidae torna possível a compreensão de questões relacionadas à dinâmica das plantas e outros organismos (Janzen 1975, Sazima *et al.* 1996, Regan *et al.* 2015).

A estrutura e a escala de distribuição espacial e sazonal de aves podem estar relacionadas a fatores como comportamento da espécie, sexo e idade. Ainda, em associação, as condições ambientais podem afetar a distribuição dos recursos, que por sua vez afeta também a distribuição das espécies, sexos e idades ao longo do tempo e, por conseguinte, suas dinâmicas populacionais (MacArthur 1972). A família Trochilidae depende basicamente dos recursos disponibilizados diretamente pelas plantas e está influenciada por estas dinâmicas, já que a fenologia das plantas conduz fortemente à relação das espécies consumidoras com o ambiente e a distribuição temporal destas, inclusive determinando eventos de migração associados ao sexo e idade (Stiles 1975, Stiles 1992, Wethington & Russell 2003, Fonseca *et al.* 2015).

A dinâmica populacional é um importante aspecto para a compreensão da configuração de uma determinada população, em uma área e por um período de tempo. Desse modo, os componentes da reprodução e fatores que influenciam essa dinâmica precisam ser conhecidos para que desvios de estabilidade nas populações sejam

compreendidos. Diversos parâmetros podem embasar estudos populacionais, dentre eles a sobrevivência e o tamanho populacional. Essas estimativas permitem compreender as taxas de entrada e saída de indivíduos na população e, por exemplo, compreender se esta se encontra fechada ou aberta, bem como sua flutuação ao longo do tempo (Jolly 1965, Seber 1965, Chao 1987). Assim, ambos os parâmetros podem ajudar na compreensão da dinâmica populacional de uma espécie, possibilitando que as ações de conservação que devem ser tomadas para as espécies e suas respectivas áreas de ocorrência sejam direcionadas, baseadas nos padrões observados (Martin 1995, Armstrong *et al.* 2002, Lima & Roper 2009, Hostetler *et al.* 2015).

Casos de declínios populacionais em aves são frequentes e a compreensão sobre a estrutura e dinâmica das populações e como elas podem ser afetadas pelos diversos fatores circundantes é fundamental para estimar o potencial de declínio de cada espécie (Fogden 1972, Armstrong *et al.* 2002, Lunardi *et al.* 2007, Lima & Roper 2009, França & Marini 2010, Hostetler *et al.* 2015). Entretanto, praticamente não há conhecimento sobre as dinâmicas populacionais da maioria das espécies, especialmente de aves tropicais (Roper *et al.* 2010). No Brasil, a Floresta Atlântica é uma das regiões em que o conhecimento sobre a biologia reprodutiva de aves está crescendo, porém, diante da diversidade encontrada neste bioma, nota-se o pouco que tem sido feito frente à riqueza de sua avifauna (Lima & Roper 2009, Pichorim & Monteiro-Filho 2010). Essa realidade também é observada na família Trochilidae para qual são escassas as informações sobre dinâmicas populacionais (mas ver Rodrigues *et al.* 2013). Apesar do grande número de espécies (338 registradas) e da ampla distribuição geográfica (Sick 1997, Schuchmann 1999, McGuire *et al.* 2014), grande parte dos estudos com esta Família se restringem ao enfoque de associação com a vegetação, particularmente sobre polinização (mas ver Stiles 1980, Calder *et al.* 1983, Mulvihill *et al.*

1992, Stiles 1992, Hilton & Miller 2003, Parker *et al.* 2006, Blake & Loiselle 2008, Rodrigues *et al.* 2013).

O objetivo deste estudo foi descrever um panorama sazonal geral de uma assembleia de beija-flores na Floresta Atlântica no Sul do Brasil, descrevendo um cronograma das espécies por sexo e idade. Em seguida, estimar dois parâmetros populacionais: sobrevivência anual e tamanho populacional para o beija-flor-de-papo-branco *Leucochloris albicollis*, a espécie com maior abundância registrada na área de estudo.

MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado em uma área particular, localizada na parte rural do município de Piraquara, Paraná, Brasil (25.5214° S, 49.0925° W). A área é caracterizada por mata secundária, com fragmentos florestais no seu entorno, situando-se no ecótono entre a Floresta Ombrófila Mista e a Floresta Ombrófila Densa. Não há estação seca definida, sendo fevereiro o mês mais quente, com temperaturas máximas médias próximas aos 27°C, e julho o mais frio, com temperaturas mínimas médias próximas a 8.5°C. A precipitação média anual é de aproximadamente 1.527 mm (Peel *et al.* 2007, INMET 2015). Há disponibilidade de recursos florais durante todo o ano, com variação na fenologia de floração entre as espécies visitadas por beija-flores (Chupil & Roper 2014).

Coleta de dados

Entre março de 2013 a março de 2015, foram realizadas observações semanais com binóculo para registrar a presença das espécies, bem como de fêmeas, machos e jovens. Adicionalmente, capturas foram realizadas através de seis armadilhas tipo gaiolas, iscadas

com bebedouros para beija-flores (HummZinger® Aspects Inc.). Eventualmente, utilizaram-se redes de neblina (série M, malha de 14x14 mm, Ecotone®), para maximizar as capturas, especialmente de indivíduos e espécies com potencial de evitar as gaiolas.

As capturas seguiram um cronograma, estipulado de acordo com as premissas dos modelos de Desenho Robusto (Pollock 1982, Kendall *et al.* 1997). Para estes modelos, foram consideradas oito sessões primárias de captura com intervalos de aproximadamente 75 dias entre elas (com exceções), onde as populações foram consideradas “abertas”, ou seja, com ganhos e perdas de indivíduos por nascimentos, mortes e/ou migrações. Dentro de cada sessão primária, ocorreram sessões secundárias de captura com duração de três a cinco dias, com intervalos máximos de cinco dias entre cada dia de captura. Desta forma, considerou-se que dentro das sessões secundárias as populações se encontravam “fechadas”, ou seja, sem ganhos e perdas de indivíduos.

Todos os indivíduos capturados foram identificados quanto à espécie, sexo (fêmea ou macho, quando perceptíveis) e idade (jovem ou adulto). Além da marcação com anilhas metálicas (cedidas pelo Centro Nacional de Pesquisas e Conservação de Aves Silvestre, CEMAVE), cada beija-flor recebeu uma marca na cabeça com tinta colorida solúvel em água. Esta marcação foi utilizada com o propósito de evitar a recaptura de um mesmo indivíduo ao longo do mesmo dia. Para cada dia de captura secundária foi designada uma cor diferente de marcação, para que um controle de recapturas pudesse ser realizado durante toda a sessão primária.

Análise dos dados e desenvolvimento dos modelos

Para testar os modelos com estimativas de sobrevivência anual e tamanho populacional, foi utilizado o beija-flor-de-papo-branco, espécie com maior número de capturas na área de estudo dentro do nosso conjunto de dados (Tabela 1). A sobrevivência aparente (Φ) e a

probabilidade de captura (p) foram estimadas a partir de modelos Cormack-Jolly-Seber (CJS). Nesta análise, foram descartados jovens, dado que o número de indivíduos “transitórios” ($n = 144$), ou seja, aqueles capturados uma única vez, foi bem elevado comparado ao de residentes ($n = 11$). Em adultos, o número de transitórios ($n = 403$, de 566 indivíduos) não interferiu nas estimativas. Para afirmar isso, foram realizados testes com modelos de tempo desde a marcação (*time since marking*, TSM), que reconhecem a presença de indivíduos transitórios na amostragem, assumindo sua emigração permanente após a marcação.

As estimativas de tamanho populacional foram realizadas utilizando os modelos de Desenho Robusto, que levam em consideração as capturas-recapturas em múltiplas sessões primárias (população aberta), compostas por sessões secundárias (população fechada). Aqui, foram consideradas oito sessões primárias de captura, com 29 secundárias (com durações de 4, 5, 3, 3, 4, 4, 3 e 3 dias). Através destes modelos, foram estimados os parâmetros de sobrevivência aparente (Φ), emigração ou dispersão temporária (γ' e γ''), probabilidade de captura (p), probabilidade de recaptura (c) e tamanho populacional/abundância (N). As matrizes para a análise dos modelos foram construídas sobre a ausência (0) ou presença (1) do indivíduo no dia de captura.

Primeiramente, os modelos globais de sobrevivência foram submetidos ao teste de aderência (*goodness of fit test*, GOF), objetivando testar a sobredispersão dos dados, obtendo o \hat{c} . Este teste calcula um fator de inflação de variância, o qual é usado para ajustar o critério de Akaike (AIC). No Desenho Robusto, o GOF não foi realizado, visto que estes modelos não permitem tais estimativas. Os modelos de Desenho Robusto foram testados sobre dois possíveis tipos de emigração temporária: i) aleatória, onde a presença ou a ausência do indivíduo independe de seu registro em uma sessão anterior de captura, sendo nesse caso as taxas de emigração e imigração equivalentes ($\gamma' = \gamma''$); e ii)

Markoviana, onde a presença ou a ausência depende da fase anterior ($\gamma' \neq \gamma''$). Ainda, testes que consideravam a possibilidade de ausência de emigração temporária não foram realizados, uma vez que para a realidade biológica das espécies aqui estudadas essa não seria uma hipótese coerente. Por fim, os testes *a priori* apontaram melhores ajustes aos modelos que consideraram a emigração temporária como aleatória. Portanto, os modelos foram descritos a partir dessa escolha. As análises foram desenvolvidas no programa MARK (versão 8.0; White & Burnham 1999) e os modelos foram classificados de acordo com o AIC, sendo os menores valores considerados, por apresentarem melhores ajustes aos dados.

RESULTADOS

Estrutura sazonal da assembleia de beija-flores

Entre março de 2013 a março de 2015 foram realizadas 5417 capturas, de 2302 indivíduos, em 13 espécies (Tabela 1). A espécie mais abundante foi o beija-flor-de-papo-branco, com 866 indivíduos capturados (38%), seguida pelo beija-flor-de-banda-branca *Amazilia versicolor* e o besourinho-de-bico-vermelho *Chlorostilbon lucidus*, com 474 (20%) e 288 (12%) indivíduos, respectivamente. As espécies com menores números de registros foram o estrelinha-ametista *Calliphlox amethystina* ($n = 5$), o topetinho-verde *Lophornis chalybeus* ($n = 3$) e o beija-flor-de-topete *Stephanoxis lalandi* ($n = 2$). Cinco espécies registradas estão enquadradas na categoria de endêmicas da Floresta Atlântica, sendo elas: o beija-flor-rubi *Clytolaema rubricauda*, o beija-flor-preto *Florisuga fusca*, o beija-flor-de-papo-branco, o beija-flor-de-topete e o beija-flor-de-fronte-violeta *Thalurania glaucopis*. Ainda, o beija-flor-rubi possui distribuição restrita ao Brasil.

A presença e a abundância variaram sazonalmente entre as espécies, sexos e idades (Fig. 1). Apenas o beija-flor-de-banda-branca e o beija-flor-de-papo-branco estiveram

presentes em todos os meses, contrastando com o topetinho-verde, que foi observada somente em um mês de amostragem. Nenhuma das sete espécies cujo o dimorfismo sexual é aparente (beija-flor-de-veste-preta *Anthracothorax nigricollis*, estrelinha-ametista, besourinho-de-bico-vermelho, beija-flor-rubi, topetinho-verde, beija-flor-de-topete e beija-flor-de-fronte-violeta) esteve presente em todos os meses de amostragem. Com exceção do beija-flor-de-topete, em que apenas machos foram capturados, nas demais espécies houve um período de sobreposição entre fêmeas e machos, com variações nas chegadas e partidas de cada sexo (Fig. 1). Jovens foram capturados a partir de dezembro (beija-flor-de-banda-branca, beija-flor-tesoura *Eupetomena macroura*, beija-flor-de-papo-branco e beija-flor-de-fronte-violeta), e foram distinguíveis na área até meados de julho (beija-flor-de-papo-branco). A maioria dos jovens das espécies foi capturada entre janeiro e março. Não foram observados jovens do beija-flor-de-garganta-verde *Amazilia fimbriata*, do estrelinha-ametista, do topetinho-verde e do beija-flor-de-topete (Fig. 1).

Sobrevivência anual aparente de adultos de beija-flor-de-papo-branco

O modelo CJS que melhor explicou a variação nos dados foi o que considerou a sobrevivência anual aparente como constante e a probabilidade de captura ($\Phi_{(.)}$) como temporalmente variada ($p_{(t)}$, $\hat{c} = 1.40$). A probabilidade de captura variando entre os intervalos das sessões ($p_{(t)}$) explicou 84% da variabilidade no modelo ($\Delta\text{QAICc} = 0$, $w\text{QAICc} = 0.84$; Tabela 2). De acordo com este modelo a estimativa de sobrevivência anual aparente dos indivíduos adultos em 0.33. Em duas das sete sessões com recapturas, a estimativa de recaptura foi elevada, com 41% na quarta sessão e 49% na oitava sessão (Tabela 3). O segundo modelo apresentado, considerando a sobrevivência e a probabilidade de captura variando ao longo das sessões ($\Phi_{(t)} p_{(t)}$), não obteve peso suficiente para explicar a variação dos dados ($\Delta\text{QAICc} = 3.29$, $w\text{QAICc} = 0.16$; Tabela 2). Os demais modelos a

partir desses não foram apresentados como candidatos, uma vez que os valores de ΔQAICc foram > 20 .

O modelo TSM gerado para testar a influência de indivíduos transitórios na amostra não obteve peso suficiente para explicar os resultados ($\Phi_{(2M \dots)} p_{(c)}$; $\Delta\text{QAICc} = 90.04$, $w\text{QAICc} = 0$). Desta forma, não foi apresentado como um modelo candidato.

Tamanho populacional do beija-flor-de-papo-branco

O melhor modelo para as estimativas de tamanho populacional, com 32 parâmetros, assumiu emigração aleatória, sobrevivência constante, sem heterogeneidade de capturas entre os indivíduos e com probabilidades de captura e recaptura variando entre as sessões ($\Delta\text{QAICc} = 0$, $w\text{QAICc} = 1$; Tabela 2). A probabilidade de registros de indivíduos transitórios na amostragem (γ) foram maiores que 50% em quase todas as fases, sendo menor que isto apenas no último intervalo (44%). Em relação ao tamanho populacional (N), as estimativas variaram entre 464 indivíduos na primeira sessão a nove indivíduos na terceira sessão (Tabela 4). Ainda, as maiores estimativas de tamanho populacional ocorrem durante as sessões realizadas no final do ciclo reprodutivo (março), quando uma grande quantidade de jovens foi registrada na área (primeira, quarta e oitava sessões; Fig. 2, Tabelas 4 & 5). Assim como para os modelos de sobrevivência, os demais modelos de tamanho populacional não foram considerados como candidatos pelo baixo poder de explicação.

DISCUSSÃO

A taxa de sobrevivência anual em adultos de beija-flor-de-papo-branco foi baixa ($\Phi = 0.33$), se assemelhando ao já relatado para uma espécie norte-americana (beija-flor-de-garganta-vermelha *Archilochus colubris* $\Phi = 0.30$; Mulvihill *et al.* 1992, Hilton & Miller

2003), contrastando com espécies tropicais (*Adelomyia melanogenys* $\Phi = 0.48$, besourão-de-bico-grande *Phaethornis malaris* $\Phi = 0.53$ e *Heliodoxa jacula* $\Phi = 0.70$; Parker *et al.* 2006, Blake & Loiselle 2008). Segundo nossa estimativa, se a taxa de sobrevivência de adultos estiver em torno de 0.33, menos de 1% dos indivíduos da população sobreviverá após o quarto ano. Assim, nossos valores se aproximam ao limite inferior do que já é relatado na literatura para as aves tropicais (Karr *et al.* 1990, Sandercock *et al.* 2000). Outro resultado surpreendente foi a queda populacional do beija-flor-de-papo-branco ao longo do tempo, no decorrer deste trabalho. Inicialmente, em março de 2013, as estimativas populacionais apontaram 464 indivíduos, sendo que após esta captura os valores nunca chegaram a ultrapassar a metade da população inicial, variando entre nove a 191 indivíduos. Esta variabilidade pode ser explicada por fatores que vão desde a sazonalidade dos recursos no local até a capacidade dos indivíduos para evitarem as armadilhas (Wethington & Russell 2003, McCaffrey & Wethington 2008). O tamanho populacional variou entre as sessões, com picos de abundância nas fases em que a quantidade de jovens foi elevada. Já as taxas de emigração temporária atingiram valores superiores a 50% na maioria das sessões, com exceção da última, onde a emigração foi de 44%.

Estrutura sazonal da assembleia de beija-flores

Os Trochilidae, atualmente com 338 espécies descritas, compõem uma das famílias mais diversas entre os não-passeriformes, cuja a distribuição se limita às Américas, mas em uma grande variedade de habitats (Sick 1997, Schuchmann 1999, McGuire *et al.* 2014). Em estudos realizados em áreas consideradas altamente diversas, como os Andes equatoriais, o número de beija-flores registrados chegou a 25 espécies em determinadas comunidades (Parker *et al.* 1985, Robbins *et al.* 1987, Dziedziuch *et al.* 2003, Krömer & Kessler 2006).

Nosso levantamento apontou um total de 13 espécies, o que pode ser considerado um número elevado haja vista que os trabalhos com assembleias de beija-flores realizados no Brasil raramente atingem essa riqueza (Sazima *et al.* 1996, Mendonça & Anjos 2005, Rodrigues & Araujo 2011, Machado & Oliveira 2015, Ruiz-Esparza *et al.* 2015, Vizentin-Bugoni *et al.* 2015). Ainda, em nosso levantamento, 38% das espécies ($n = 5$) são consideradas endêmicas da Floresta Atlântica (Brooks *et al.* 1999), dentre as quais uma com ocorrência exclusivamente no território brasileiro, o beija-flor-rubi. Este endemismo resultante pode ser em resposta à área de estudo, que se localiza no ecótono entre a Floresta Ombrófila Mista e a Floresta Ombrófila Densa. É sabido que uma maior riqueza de espécies de aves é esperada em uma área com maior heterogeneidade, como a transição entre duas fitofisionomias (MacArthur & MacArthur 1961). Além disso, quando esta transição ocorre em um bioma com elevados níveis de endemismo como a Floresta Atlântica, tais resultados podem ser esperados (Sick 1997, Brooks *et al.* 1999).

A estrutura sazonal das populações variou entre as espécies, sexos e idades, e isso corrobora o que é esperado para a família Trochilidae. Os beija-flores são dependentes dos recursos disponibilizados pelas plantas, e esta relação influencia a dinâmica das espécies, uma vez que algumas aves podem aparecer apenas nos momentos em que determinadas flores estão disponíveis, resultando nas variações da distribuição ao longo do tempo (Janzen 1975, Stiles 1981, Wethington & Russell 2003, Cotton 2007). O aparecimento de fêmeas, machos e jovens pode diferir no tempo, em especial para as espécies que realizam migrações, e essa dinâmica na distribuição sazonal anual pode estar relacionada às estratégias reprodutivas da espécie, como a formação de leques e escolha de territórios (Gauthreaux 1982, Ketterson & Nolan 1983, Woodrey & Chandler 1997). Em nossos resultados não foi observado um padrão predominante na chegada de machos e fêmeas na área de estudo, sendo que para a maioria das espécies ambos os sexos estavam presentes

simultaneamente. Contudo, no beija-flor-de-veste-preta e no estrelinha-ametista, machos foram observados meses antes da presença de fêmeas. Esse padrão de aparecimento antecipado de machos pode ser em resposta ao benefício na escolha de um bom território ao chegar cedo nas áreas de reprodução, estratégia usada para atrair mais fêmeas quando estas chegam posteriormente ao local (Johnson 1965, Bildstein *et al.* 1984).

Na distribuição etária, para todas as espécies em que jovens foram observados, o período de registro variou entre dezembro a julho, com uma sobreposição entre janeiro a março. O aparecimento de jovens pode ser reflexo do término da estação reprodutiva, uma vez que a partir de janeiro um grande número de adultos foi observado com mudas nas penas de voo, o que pode ser indício do fim da reprodução, já que a presença da muda ocorre ao final do ciclo reprodutivo (Williamson 1956, Hussell 1980, Piratelli *et al.* 2000).

Sobrevivência anual aparente de adultos de beija-flor-de-papo-branco

A sobrevivência anual de indivíduos adultos de beija-flor-de-papo-branco foi constante ao longo do tempo, atingindo estimativas de 0.33. Resultados semelhantes para outras espécies de beija-flores já foram relatados, como em machos de beija-flor-de-garganta-vermelha (0.29–0.30), na América do Norte (Mulvihill *et al.* 1992, Hilton & Miller 2003), e em fêmeas (0.31) e machos (0.41) de beija-flor-de-gravata-verde *Augastes scutatus*, no Brasil (Rodrigues *et al.* 2013). Entretanto, esses valores podem se aproximar do limite inferior das estimativas encontradas na literatura para as aves tropicais (Karr *et al.* 1990, Sandercock *et al.* 2000). No Equador, valores de estimativas para sobrevivência de beija-flores foram considerados razoáveis, comparados ao que já é conhecido para os Trochilidae, em *A. melanogenys* (0.48) e no besourão-de-bico-grande (0.53), bem como elevadas para *H. jacula* (0.70; Parker *et al.* 2006, Blake & Loiselle 2008).

A explicação para os baixos valores de sobrevivência em nossa espécie, em contraste com espécies de regiões tropicais, pode estar relacionada a elevada sobrevivência já esperada e relatada para aves de regiões tropicais (Martin 1996, Ricklefs 2000). Além disso, as estimativas de sobrevivência neste grupo podem ter um viés decorrente da alta mobilidade dos indivíduos, em resposta aos recursos alimentares variáveis, que podem afetar as estimativas de sobrevivência pela baixa fidelidade local (Martin & Karr 1986, Loiselle & Blake 1992, Powell & Bjork 1995).

Tamanho populacional do beija-flor-de-papo-branco

As estimativas de tamanho populacional do beija-flor-de-papo-branco apresentaram uma variação temporal, com picos de abundância, especialmente no final das fases reprodutivas (março). Esse resultado pode estar correlacionado a grande presença de jovens na área de estudo, que começam a ser registrados em meados de dezembro, corroborando a ideia da variação na abundância relacionada ao ciclo reprodutivo e ao recrutamento (Pradel 1996, Hilton & Miller 2003). A queda populacional registrada ao longo do tempo pode estar relacionada às mudanças na paisagem, que refletem nos grupos dependentes da vegetação, como os beija-flores. Neste trabalho não foi possível medir alterações na paisagem circundante que pudessem resultar na queda da população, mas estudos que abordam estes padrões de flutuação populacional, na maioria das vezes, estão correlacionados à redução dos habitats (Brooks *et al.* 1999, MacHunter *et al.* 2006, Uezu & Metzger 2016). Stiles (1992) registrou uma drástica perda populacional no rabo-branco-de-bigode *Phaetornis superciliosus* após um severo período de seca na Costa Rica. Ainda, deve-se levar em consideração a hipótese do comportamento dos beija-flores para evitarem os bebedouros nas armadilhas, como já observado por McCaffrey & Wethington (2008). Entretanto, mesmo considerando este comportamento como resposta para a diminuição populacional,

ele não deve ser suficientemente forte para uma drástica mudança na população, como observado em nossos resultados.

Nosso melhor modelo apontou elevada emigração, com taxas que ultrapassaram, na maioria das vezes, os 50%. Esse resultado pode ser em resposta, primeiramente, à biologia dos Trochilidae, uma vez que por sua alta dependência de néctar, tem seus movimentos regidos pelas flutuações das florações, que claramente devem influenciar as dinâmicas populacionais (Gass & Montgomerie 1981, Diamond *et al.* 1986). Outra explicação associada pode estar no elevado número de indivíduos transitórios registrados em nossa área, que devem ter influência na abundância, como já observado em outras regiões (Hilton & Miller 2003, Rodrigues *et al.* 2013). Ainda, ambas as explicações podem estar associadas à característica da nossa área de estudo, que é utilizada como passagem para muitos indivíduos devido a oferta de recursos em forma de bebedouros, tornando-se uma área de abastecimento. Já é sabido que a presença de bebedouros pode estar associada à abundância de beija-flores, especialmente em épocas do ano em que os recursos se tornam escassos (McCaffrey & Wethington 2008). Porém, também é sabido que a presença dos bebedouros não deve afetar a flutuação das populações, dado que os beija-flores necessitam ainda do néctar para a sobrevivência (Pimm *et al.* 1985, Sandlin 2000, McCaffrey & Wethington 2008).

A Floresta Atlântica é considerada um dos biomas mais fragmentados e ameaçados do planeta, restando apenas de 11,4% a 16% de sua área original (Bibby *et al.* 1992, Ribeiro *et al.* 2009). Contudo, apesar da pressão antrópica, conserva uma alta diversidade de aves e níveis de endemismo (Stotz *et al.* 1996). Nosso trabalho mostrou que, em uma área de ecótono entre a Floresta Ombrófila Mista e a Floresta Ombrófila Densa, um número elevado de espécies de beija-flores pode ser encontrado, incluindo espécies endêmicas. Estes resultados ressaltam a importância da conservação destes ambientes,

sabendo-se que os Trochilidae são considerados espécies altamente interativas especialmente por sua relação com as plantas e os serviços ecossistêmicos (Janzen 1975, Sazima *et al.* 1996, Regan *et al.* 2015). Ainda, a junção da compreensão da estruturação sazonal da assembleia de beija-flores e as estimativas de sobrevivência e tamanho populacional do beija-flor-de-papo-branco podem ajudar na tomada de decisões sobre o manejo das espécies, especialmente sob os aspectos das dinâmicas populacionais ao longo do tempo.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Agradecemos a equipe de campo pelo auxílio com as capturas dos beija-flores, especialmente à Jaqueline Evelyn Persegona. Ao Luiz Carlos da Costa Ribenboim, por ceder as fotografias em alta resolução das espécies estudadas. À Aspects Inc. pela doação dos bebedouros para beija-flores HummZinger®. Todas as capturas foram realizadas sob a licença 30803-1, cedida pelo Ministério do Meio Ambiente do Brasil/ ICMBio/ SISBIO.

REFERÊNCIAS

- Armstrong, D.P., Davidson, R.S., Dimond, W.J., Perrott, J.K., Castro, I., Ewen, J.G., Griffiths, R. & Taylor, J.** 2002. Population dynamics of reintroduced forest birds on New Zealand islands. *J. Biogeogr.* **29**: 609–621.
- Bibby, C.J., Collar, N.J., Crosby, M.J., Heath, F., Imboden, C., Johnson, T.H., Long, A.J., Stattersfield, A.J. & Thirgood, S.J.** 1992. Putting biodiversity on the map: priority areas for global conservation. Cambridge: International Council for Bird Preservation.

- Bildstein, K.L., Clark, W.S., Evans, D.L., Field, M., Soucy, L. & Henckel, E.** 1984. Sex and age differences in fall migration of Northern Harriers. *J. Field Ornithol.* **55**: 143–286.
- Blake, J.G. & Loiselle, B.A.** 2008. Estimates of apparent survival rates for forest birds in Eastern Ecuador. *Biotropica* **40**: 485–493.
- Brooks, T., Tobias, J. & Balmford, A.** 1999. Deforestation and bird extinctions in the Atlantic forest. *Anim. Conserv.* **2**: 211–222.
- Calder III, W.A., Waser, N.M., Hiebert, S.M., Inouye, D.W. & Miller, S.** 1983. Site-fidelity, longevity, and population dynamics of Broad-tailed hummingbirds: a ten year study. *Oecologia* **56**: 359–364.
- Chao, A.** 1987. Estimating the population size for capture-recapture data with unequal catchability. *Biometrics* **43**: 783–791.
- Chupil, H. & Roper, J.J.** 2014. Assembleia de beija-flores (Família Trochilidae) em uma região de ecótono no município de Piraquara, Paraná. *Atual. Ornitol.* **175**: 7–9.
- Cotton, F.L.** 2007. Seasonal resource tracking by Amazonian hummingbirds. *Ibis* **149**: 135–142.
- Diamond, J.M., Karasov, W.H., Phan, D. & Carpenter, F.L.** 1986. Digestive physiology is a determinant of foraging bout frequency in hummingbirds. *Nature* **320**: 62–63.
- Dziedziuch, C., Stevens, A.-D. & Gottsberger, G.** 2003. The hummingbird plant community of a tropical montane rain forest in southern Ecuador. *Plant Biol.* **5**: 331–337.
- Fogden, M.P.L.** 1972. The seasonality and population dynamics of equatorial forest birds in Sarawak. *Ibis* **114**: 307–343.

- Fonseca, L.C.N., Vizentin-Bugoni, J., Rech, A.R. & Alves, M.A.S.** 2015. Plant-hummingbird interactions and temporal nectar availability in a *restinga* from Brazil. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **87**: 2163–2175.
- França, L.F. & Marini, M.Â.** 2010. Negative population trend for Chapada Flycatchers (*Suiriri islerorum*) despite high apparent annual survival. *J. Field Ornithol.* **81**: 227–236.
- Gass, C.L. & Montgomerie, R.D.** 1981. Hummingbird foraging behavior: decision-making and energy regulation. In Kamil, A.C. & Sargent, T.D. (eds) *Foraging behavior: ecological, ethological, and psychological approaches*: 159–196. Nova York: Garland STPM Press.
- Gauthreaux, S.A.** 1982. The ecology and evolution of avian migration systems. In: Farmer, D.S. & King, J.R. (eds) *Avian Biology*: 93–168. New York: Academic Press.
- Hilton, B. & Miller, M.W.** 2003. Annual survival and recruitment in a Ruby-throated Hummingbird population, excluding the effect of transient individuals. *Condor* **105**: 54–62.
- Hostetler, J.A., Sillett, T.S. & Marra, P.P.** 2015. Full-annual-cycle population models for migratory birds. *Auk* **132**: 433–449.
- Hussell, D.J.** 1980. The timing of fall migration and molt in Least Flycatchers. *J. Field Ornithol.* **51**: 65–71.
- INMET – Instituto Nacional de Meteorologia.** 2015. Gráficos climatológicos. – <http://www.inmet.gov.br/> (acessado em 17 de novembro de 2015).
- Janzen, D.H.** 1975. Ecology of plants in the tropics. Londres: Edward Arnold.
- Johnson, N.K.** 1965. Differential timing and routes of the spring migration in the Hammond Flycatcher. *Condor* **67**: 423–437.

- Jolly, G.M.** 1965. Explicit estimates from capture-recapture data with both death and immigration-stochastic model. *Biometrika* **52**: 225–247.
- Karr, J.R., Nichols, J.D., Klimkiewicz, M.K. & Brawn, J.D.** 1990. Survival rates of birds of tropical and temperate forests: will the dogma survive? *Amer. Nat.* **136**: 277–291.
- Kendall, W.L., Nichols, J.D. & Hines, J.E.** 1997. Estimating temporary emigration using capture-recapture data with Pollock's Robust Design. *Ecology* **78**: 563–578.
- Ketterson, E.D. & Nolan, V.** 1983. The evolution of differential bird migration. *Curr. Ornithol.* **1**: 357–402.
- Krömer, T. & Kessler, M.** 2006. Distribution and flowering ecology of bromeliads along two climatically contrasting elevational transects in the Bolivian Andes. *Biotropica* **38**: 183–195.
- Lima, A.M.X. & Roper, J.J.** 2009. Population dynamics of the black-cheeked gnateater (*Conopophaga melanops*, Conopophagidae) in southern Brazil. *J. Trop. Ecol.* **25**: 605–613.
- Loiselle, B.A. & Blake, J.G.** 1992. Population variation in a tropical bird community. *Bioscience* **42**: 838–845.
- Lunardi, V.O., Francisco, M.R. & Galetti, P.M.** 2007. Population structuring of the endemic black-cheeked gnateater, *Conopophaga melanops melanops* (Vieillot, 1818) (Aves, Conopophagidae), in the Brazilian Atlantic Forest. *Braz. J. Biol.* **67**: 867–872.
- MacArthur, R.H. & MacArthur, J.W.** 1961. On bird species diversity. *Ecology* **42**: 594–598.
- MacArthur, R.H.** 1972. Geographical Ecology: Patterns in the Distribution of Species. Princeton: Princeton University Press.

- Machado, A.O. & Oliveira, P.E.** 2015. Diversidade beta de plantas que oferecem néctar como recurso floral aos beija-flores em cerrados do Brasil Central. *Rodriguésia* **66**: 01–19.
- MacHunter, J., Wright, W., Loyn, R. & Rayment, P.** 2006. Bird declines over 22 years in forest remnants in southeastern Australia: evidence of faunal relaxation? *Can. J. For. Res.* **36**: 2756–2768.
- Martin, T.E.** 1995. Avian life history evolution in relation to nest sites, nest predation, and food. *Ecol. Monogr.* **65**: 101–127.
- Martin, T.E.** 1996. Life history evolution in tropical and south temperate birds: what do we really know? *J. Avian Biol.* **27**: 263–272.
- Martin, T.E. & Karr, J.R.** 1986. Temporal dynamics of Neotropical birds with special reference to frugivores in second-growth woods. *Wilson Bull.* **98**: 38–60.
- McCaffrey, R.E. & Wethington, S.M.** 2008. How the presence of feeders affects the use of local floral resources by hummingbirds: a case study from Southern Arizona. *Condor* **110**: 786–791.
- McGuire, J.A., Witt, C.C., Remsen, J.V., Corl, A., Rabosky, D.L., Altshuler, D.L. & Dudley, R.** 2014. Molecular phylogenetics and the diversification of hummingbirds. *Curr. Biol.* **24**: 1–7.
- Mendonça, L.B. & Anjos, L.** 2005. Beija-flores (Aves, Trochilidae) e seus recursos florais em uma área urbana do Sul do Brasil. *Rev. Bras. Zool.* **22**: 51–59.
- Mulvihill, R.S., Leberman, R.C. & Wood, D.S.** 1992. A possible relationship between reversed sexual size dimorphism and reduced male survivorship in the Ruby-throated Hummingbird. *Condor* **94**: 480–489.
- Parker, T.A., Schulenberg, T.S., Graves, G.R. & Braun, M.J.** 1985. The avifauna of the Huancabamba region, northern Peru. In Buckley, P.A., Foster, M.S., Morton, E.S.,

- Ridgely, R.S. & Buckley, F.G. (eds) *Neotropical Ornithology*: 169–197. Washington: American Ornithologists' Union.
- Parker, T.H., Becker, C.D., Sandercock, B.K. & Agreda, A.E.** 2006. Apparent survival estimates for five species of tropical birds in an endangered forest habitat in western Ecuador. *Biotropica* **38**: 764–769.
- Peel, M.C., Finlayson, B.L. & McMahon, T.A.** 2007. Updated world map of the Köppen-Greiger climate classification. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* **11**: 1633–1644.
- Pichorim, M. & Monteiro-Filho, E.L.A.** 2010. Population size, survival, longevity, and movements of the Biscutate Swift in Southern Brazil. *Ann. Zool. Fennici* **47**: 123–132.
- Pimm, S. L., Rosenzweig, M.L. & Mitchell, W.** 1985. Competition and food selection: field tests of a theory. *Ecology* **66**: 798–807.
- Piratelli, A.J., Siqueira, M.A.C. & Marcondes-Machado, L.O.** 2000. Reprodução e muda de penas em aves de sub-bosque na região leste de Mato Grosso do Sul. *Ararajuba* **8**: 99–107.
- Pollock, K.H.** 1982. A capture-recapture design robust to unequal probability of capture. *J. Wildl. Manage.* **46**: 757–760.
- Powell, G.V.N. & Bjork, R.** 1995. Implications of intratropical migration on reserve design: a case study using *Pharomachrus mocinno*. *Conserv. Biol.* **9**: 354–362.
- Pradel, R.** 1996. Utilization of capture-mark-recapture for the study of recruitment and population growth rate. *Biometrics* **52**: 703–709.
- Regan, E.C., Santini, L., Ingwall-King, L., Hoffmann, M., Rondinini, C., Symes, A., Taylor, J. & Butchart, S.H.M.** 2015. Global trends in the status of bird and mammal pollinator. *Conserv. Lett.* **8**: 397–406.

- Ribeiro, M.C., Metzger, J.P., Martensen, A.C., Ponzoni, F.J. & Hirota, M.M.** 2009. The Brazilian Atlantic Forest: much is left, and how is the remaining forest distributed? *Biol. Conserv.* **142**: 1141–1153.
- Ricklefs, R.E.** 2000. Density dependence, evolutionary optimization, and the diversification of avian life histories. *Condor* **102**: 9–22.
- Robbins, M.B., Ridgely, T.S., Schulenberg, T.S. & Gill, F.B.** 1987. The avifauna of the Cordillera-De-Cutucu, Ecuador, with comparisons to other Andean localities. *Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia* **139**: 243–259.
- Rodrigues, L.C. & Araujo, A.C.** 2011. The hummingbird community and their floral resources in an urban forest remnant in Brazil. *Braz. J. Biol.* **71**: 611–622.
- Rodrigues, L.C., Martins, F.I. & Rodrigues, M.** 2013. Survival of a mountaintop hummingbird, the Hyacinth visorbearer *Augastes scutatus*, in Southeastern Brazil. *Acta Ornithol.* **48**: 211–219.
- Roper, J.J., Sullivan, K.A. & Ricklefs, R.E.** 2010. Avoid nest predation when predation rates are low, and other lessons: testing the tropical-temperate nest predation paradigm. *Oikos* **119**: 719–729.
- Ruiz-Esparza, J., Santos, C.S., Cunha, M.A., Ruiz-Esparza, D.P.B., Rocha, P.A., Beltrão-Mendes, R. & Ferrari, S.F.** 2015. Diversity of birds in the Mata do Junco State Wildlife Refuge, a remnant of the Atlantic Forest of Northeastern Brazil. *Check List* **11**: 1647.
- Sandercock, B.K., Beissinger, S.R., Stoleson, S.H., Melland, R.R. & Hughes, C.R.** 2000. Survival rates of a Neotropical parrot: implications for latitudinal comparisons of avian demography. *Ecology* **81**: 1351–1370.
- Sandlin, E.A.** 2000. Cue use affects resource subdivision among three coexisting hummingbird species. *Behav. Ecol.* **11**: 550–559.

- Sazima, I., Buzato, S. & Sazima, M.** 1996. An assemblage of hummingbird-pollinated flowers in a Montane Forest of southeastern Brazil. *Bot. Acta* **109**: 149–160.
- Schuchmann, K.L.** 1999. Family Trochilidae (hummingbirds). In del Hoyo, J., Elliott, A. & Sargatal, J. (eds) *Handbook of the Birds of the World, Barn-owls to hommingbirds*: 468–680. Barcelona: Lynx Edicions.
- Seber, G.A.F.** 1965. A note on the multiple-recapture census. *Biometrika* **52**: 249–259.
- Sick, H.** 1997. *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro: Ed. Nova Fronteira.
- Stiles, F.G.** 1975. Ecology flowering phenology, and hummingbird pollination of some Costa Rican *Heliconia* species. *Ecology* **56**: 285–301.
- Stiles, F.G.** 1980. The annual cycle in a tropical wet forest hummingbird community. *Ibis* **3**: 322–343.
- Stiles, F.G.** 1981. Geographical aspects of bird-flower coevolution, with particular reference to Central America. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **68**: 323–351.
- Stiles, F.G.** 1992. Effects of a severe drought on the population biology of a tropical hummingbird. *Ecology* **73**: 1375–1390.
- Stotz, D.F., Fitzpatrick, J.W., Parker III, T.A. & Moskovits, D.K.** 1996. *Neotropical birds: ecology and conservation*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Uezu, A. & Metzger, J.P.** 2016. Time-lag in responses of birds to Atlantic Forest fragmentation: restoration opportunity and urgency. *PLoS ONE* **11**: e0147909. doi:10.1371/journal.pone.0147909.
- Vizentin-Bugoni, J., Jacobs, F., Coimbra, M.A.A. & Dias, R.A.** 2015. Birds of the Reserva Biológica do Mato Grande and surroundings, Rio Grande do Sul, Brazil. *Check List* **11**: 1641.

- Wethington, S.M. & Russell, S.M.** 2003. The seasonal distribution and abundance of hummingbirds in oak woodland and riparian communities in southeastern Arizona. *Condor* **105**: 484–495.
- White, G.C. & Burnham, K.P.** 1999. Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study* **46**: 120–139.
- Williamson, F.S.L.** 1956. The molt and testis cycles of the Anna Hummingbird. *Condor* **58**: 342–366.
- Woodrey, M.S. & Chandler, C.R.** 1997. Age-related timing of migration: geographic and interspecific patterns. *Wilson Bull.* **109**: 52–67.

Tabela 1. Espécies de beija-flores registradas entre março de 2013 a março de 2015, ordenadas pela abundância de indivíduos capturados.

Espécie	Capturas (ind.)	Recapturas
<i>Leucochloris albicollis</i>	866	495
<i>Amazilia versicolor</i>	474	292
<i>Chlorostilbon lucidus</i>	288	162
<i>Colibri serrirostris</i>	175	90
<i>Florisuga fusca</i>	149	68
<i>Eupetomena macroura</i>	108	53
<i>Thalurania glaucopis</i>	105	68
<i>Anthracothorax nigricollis</i>	79	36
<i>Clytolaema rubricauda</i>	42	18
<i>Amazilia fimbriata</i>	6	4
<i>Calliphlox amethystina</i>	5	4
<i>Lophornis chalybeus</i>	3	1
<i>Stephanoxis lalandi</i>	2	1
Total	2302	1292

Tabela 2. Conjunto de modelos candidatos utilizados para estimar a sobrevivência anual aparente e o tamanho populacional de *Leucochloris albicollis*, entre março de 2013 a março de 2015 em uma área de Floresta Atlântica no Sul do Brasil.

Modelos	QAICc	Δ QAICc	wQAICc	Par.
sobrevivência				
$\Phi(.) p(t)$	947.2	0	0.84	8
$\Phi(t) p(t)$	950.5	3.29	0.16	13
tamanho populacional				
$\Phi(.) \gamma''(s)=\gamma'(s)$ emigração aleatória, $\pi_i=1$ $p(s) c(s)$	- 2009.0	0	1	32
$\Phi(.) \gamma''(s)=\gamma'(s)$ emigração aleatória, $\pi_i=1$ $p=c(s)$	- 1940.7	68.31	0	25

Tabela 3. Estimativas de sobrevivência (Φ) e capturabilidade (p) para adultos de *Leucochloris albicollis* segundo o melhor modelo ($\Phi_{(.)} p_{(t)}$).

Parâmetro	Estimativa (EP)	IC 95%
Φ	0.33 (0.04)	0.25 - 0.43
$p_{(S2)}$	0.25 (0.03)	0.19 - 0.33
$p_{(S3)}$	0.01 (0.01)	0.01 - 0.05
$p_{(S4)}$	0.41 (0.06)	0.28 - 0.54
$p_{(S5)}$	0.19 (0.04)	0.12 - 0.29
$p_{(S6)}$	0.09 (0.03)	0.05 - 0.17
$p_{(S7)}$	0.08 (0.02)	0.04 - 0.16
$p_{(S8)}$	0.49 (0.08)	0.32 - 0.65

Tabela 4. Parâmetros do tamanho populacional de *Leucochloris albicollis* de acordo com o melhor modelo ($\Phi_{(.)} \gamma''_{(s)} = \gamma'_{(s)}$ emigração aleatória, $\pi_i = 1 p_{(s)} c_{(s)}$).

Parâmetro	Estimativa (EP)	IC 95%
$N_{(S1)}$	464 (33)	415 - 549
$N_{(S2)}$	172 (14)	154 - 212
$N_{(S3)}$	9 (0.01)	9 - 9
$N_{(S4)}$	173 (7)	164 - 192
$N_{(S5)}$	53 (0.24)	53 - 53
$N_{(S6)}$	45 (3)	43 - 57
$N_{(S7)}$	23 (3)	21 - 39
$N_{(S8)}$	191 (6)	184 - 208
Φ	0.90 (0.01)	0.88 - 0.91
γ''	0.72 (0.03)	0.64 - 0.79
γ''	0.99 (0.01)	0.96 - 0.99
γ''	0.56 (0.06)	0.44 - 0.68
γ''	0.80 (0.03)	0.73 - 0.86
γ''	0.89 (0.02)	0.82 - 0.93
γ''	0.90 (0.03)	0.82 - 0.94
γ''	0.44 (0.08)	0.29 - 0.61
$p_{(S1)}$	0.29 (0.03)	0.23 - 0.36
$p_{(S2)}$	0.28 (0.04)	0.20 - 0.38
$p_{(S3)}$	0.64 (0.12)	0.37 - 0.84
$p_{(S4)}$	0.56 (0.04)	0.46 - 0.65
$p_{(S5)}$	0.67 (0.05)	0.56 - 0.77
$p_{(S6)}$	0.49 (0.08)	0.33 - 0.65
$p_{(S7)}$	0.52 (0.14)	0.25 - 0.77
$p_{(S8)}$	0.59 (0.04)	0.50 - 0.67
$c_{(S1)}$	0.32 (0.01)	0.28 - 0.35
$c_{(S2)}$	0.39 (0.02)	0.35 - 0.44
$c_{(S3)}$	0.61 (0.13)	0.34 - 0.83
$c_{(S4)}$	0.33 (0.03)	0.27 - 0.39
$c_{(S5)}$	0.27 (0.03)	0.20 - 0.35
$c_{(S6)}$	0.36 (0.04)	0.27 - 0.46
$c_{(S7)}$	0.24 (0.07)	0.11 - 0.43
$c_{(S8)}$	0.20 (0.02)	0.15 - 0.25

Tabela 5. Comparações entre as estimativas de tamanho populacional, capturas, recapturas e abundância de jovens e adultos de *Leucochloris albicollis*, nas sessões primárias entre março de 2013 a março de 2015.

Fase	Período	Estimativa	Capturas	Recapturas	Jovens	Adultos
1	mar/13	464	337	157	93	244
2	jun/13	172	126	91	15	111
3	nov/13	9	9	6	0	9
4	mar/14	173	139	66	22	117
5	jul/14	53	53	26	1	52
6	set/14	45	43	33	0	43
7	dez/14	23	21	6	1	20
8	mar/15	191	138	59	28	110

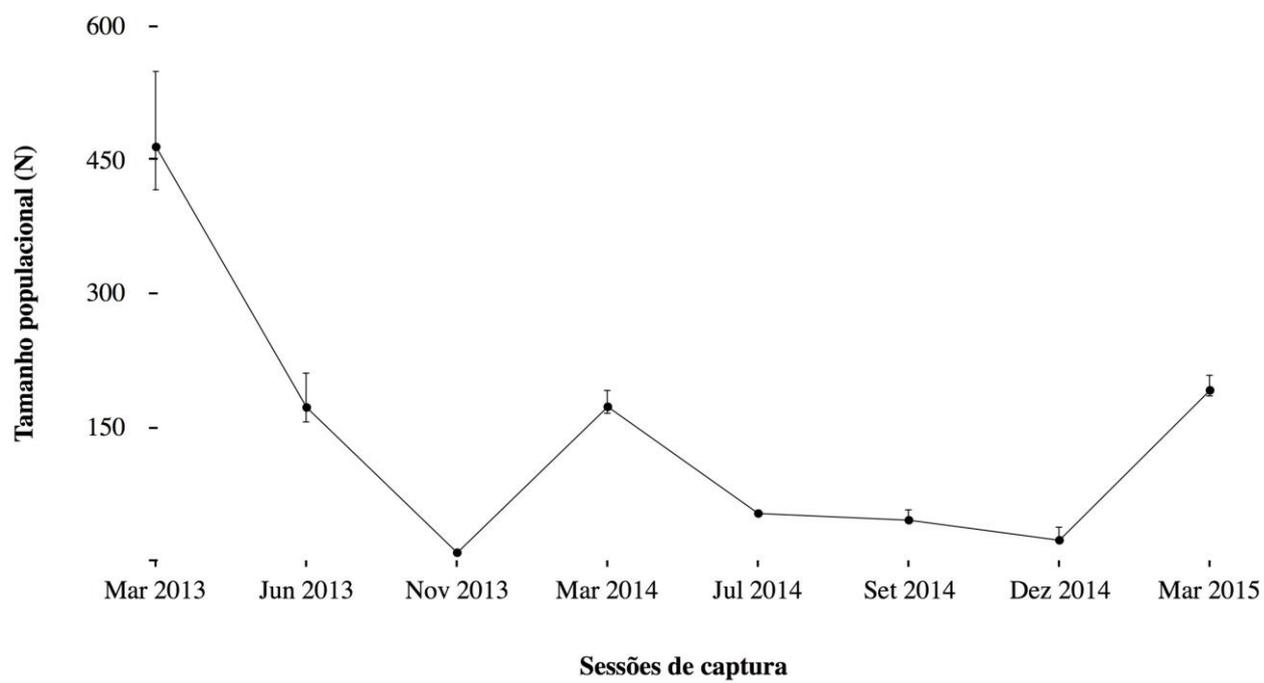
LEGENDAS DAS FIGURAS

Figura 1. Calendário anual de aparecimento das espécies, sexos e idades, de 13 espécies de beija-flores registradas entre março de 2013 a março de 2015, em uma área de Floresta Atlântica no Sul do Brasil.

Figura 2. Estimativas populacionais de *Leucochloris albicollis* entre março de 2013 a março de 2015. As barras representam os intervalos de confiança de 95%.

Figura 1



Figura 2

CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os beija-flores compõem um dos grupos de aves mais diversos em número de espécies e ocupações de habitats nas Américas. Além disso, desempenham um importante papel na polinização de muitas plantas, especialmente em regiões Neotropicais. Deste modo, compreender as dinâmicas populacionais dessas espécies torna-se um forte aliado para a manutenção e conservação dos ecossistemas. Entretanto, estudos populacionais de beija-flores são praticamente desconhecidos no subtropical, onde a diversidade de espécies é consideravelmente alta.

Este trabalho forneceu informações importantes e outrora pouco conhecidas sobre as dinâmicas populacionais de beija-flores subtropicais. Aqui, apresentamos, primeiramente, um método detalhado para a sexagem molecular de cinco espécies, aparentemente monomórficas: *Amazilia versicolor*, *Colibri serrirostris*, *Eupetomena macroura*, *Florisuga fusca* e *Leucochloris albicollis*. Esta técnica, descrita superficialmente em trabalhos anteriores, pode agora ser replicada com facilidade, uma vez que se encontra aqui detalhada. Desta forma, *a priori*, este método pode ser replicado em outras espécies aparentemente semelhantes, que possuam diferenças pequenas entre os pares de base, como os beija-flores.

Em seguida, averiguamos outras possibilidades que pudessem evidenciar diferenças sexuais nas mesmas espécies utilizadas nas análises moleculares. Contudo, testamos possíveis diferenças sexuais secundárias, em dois aspectos já conhecidos em outras espécies de aves aparentemente monomórficas: morfometria e coloração. Pelas medidas dos bicos, asas, caudas e pesos, não encontramos nenhuma diferença que apontasse dimorfismo. Quando analisamos a coloração, os resultados evidenciaram diferenças sexuais, em pelo menos três espécies (*C. serrirostris*, *E. macroura* e *L. albicollis*). Ressaltamos ainda, que essas diferenças são perceptíveis em duas escalas, tanto na visão

humana, por meio de espectrofotometria, quanto na visão das aves. Para as demais espécies, as diferenças não foram suficientemente significativas para afirmarmos a presença de dimorfismo.

O padrão de muda das penas de voo em beija-flores é conhecido para poucas regiões tropicais. Entretanto, este processo deve variar sobre diferentes latitudes, especialmente por sua demanda energética, que reflete em outros eventos importantes, como a reprodução e a migração e, conseqüentemente, nas dinâmicas populacionais. Assim, outra vertente deste trabalho foi descrever a muda das penas de voo para uma assembleia de Trochilidae, detalhando o período e as seqüências de troca. Sete espécies foram observadas em muda (*A. versicolor*, *Anthracothorax nigricollis*, *C. serrirostris*, *E. macroura*, *F. fusca*, *L. albicollis* e *Thalurania glaucopis*), com padrões mais consistentes e regulares do que o já conhecido em outras assembleias de beija-flores.

Por fim, apresentamos a estrutura sazonal das 13 espécies registradas em nossa área de estudo (*Amazilia fimbriata*, *A. versicolor*, *A. nigricollis*, *Calliphlox amethystina*, *Chlorostilbon lucidus*, *Clytolaema rubricauda*, *C. serrirostris*, *E. macroura*, *F. fusca*, *L. albicollis*, *Lophornis chalybeus*, *Stephanoxis lalandi* e *T. glaucopis*), com a descrição de aparecimento por espécie, sexo e idade. Também, estimamos dois parâmetros populacionais para a espécie com maior número de capturas, *L. albicollis*. As nossas estimativas são as primeiras a serem apresentadas em espécies de beija-flores subtropicais no Sul do Brasil. A taxa de sobrevivência anual, comparada a outras espécies tropicais, foi considerada baixa (0.33). Porém, se assemelha com taxas já registradas em espécies de outras regiões não tropicais. Além disso, o tamanho populacional variou entre os anos de captura, com uma queda populacional evidente no decorrer da amostragem. Esse resultado pode indicar uma perda de indivíduos por mudanças na paisagem, mas que não

comprovamos aqui. Contudo, não descartamos que o comportamento de alguns indivíduos, ao evitarem os bebedouros em armadilhas, possa interferir na abundância da espécie.

Assim, este trabalho torna-se um importante ponto de partida para futuros estudos que visam abordar as dinâmicas populacionais em beija-flores, visto que fornece novas informações para diversas espécies. Finalmente, deixamos aqui algumas sugestões que podem ser trabalhadas futuramente, com base no que já descrevemos durante nossa pesquisa: i) considerar outras regiões que possam evidenciar dimorfismo sexual em beija-flores, especialmente sobre a coloração; ii) testar ângulos diferentes de reflexão da luz nas análises de espectrofotometria, principalmente em penas iridescentes; iii) testar outras características que possam apontar dimorfismo sexual, como o comportamento; iv) utilizar as estimativas de taxas diárias de crescimento e tempo de crescimento total de cada pena, associadas a intensidade da muda; e v) considerar o dimorfismo sexual das espécies aqui apresentadas em análises de dinâmicas populacionais.