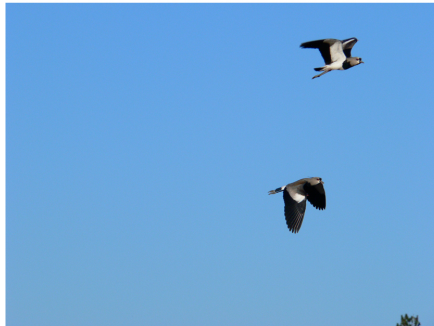




Universidade de Brasília
Instituto de Biologia
Departamento de Ecologia

Biologia reprodutiva de *Vanellus chilensis* (Aves: Charadriidae): Por que reproduzir em grupo?



Eduardo da Silva Alves dos Santos

Orientadora: Regina H. F. Macedo

Dissertação apresentada ao Departamento de Ecologia da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ecologia.

Brasília, 2009



Universidade de Brasília
Instituto de Biologia
Departamento de Ecologia

Biologia reprodutiva de *Vanellus chilensis* (Aves: Charadriidae): Por que reproduzir em grupo?

Eduardo da Silva Alves dos Santos

Orientadora: Regina H. F. Macedo

Dissertação apresentada ao Departamento de Ecologia da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ecologia.

Brasília, 2009

EDUARDO DA SILVA ALVES DOS SANTOS

Biologia reprodutiva de *Vanellus chilensis* (Aves: Charadriidae): Por que reproduzir em grupo?

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

Banca Examinadora:

Prof^ª. Regina H. F. Macedo
Orientadora – UnB

Prof^ª. Maria Alice S. Alves
Membro Titular – UERJ

Prof. Glauco Machado
Membro Titular – USP

Prof. Miguel Â. Marini
Membro Titular – UnB

Brasília, março de 2009

Sumário

Agradecimentos	ii
Resumo	iv
Abstract	v
INTRODUÇÃO.....	1
METODOLOGIA.....	3
Área de Estudo.....	3
Biologia Reprodutiva do quero-quero	4
Ninhos.....	4
Tamanho da Unidade Social Reprodutiva	5
Duração da Incubação	5
Qualidade dos Ovos	8
Qualidade dos Filhotes.....	10
Análises Estatísticas.....	11
Abordagem Meta-analítica.....	12
RESULTADOS.....	13
Resultados Gerais.....	13
Qualidade dos Ovos	15
Qualidade dos Filhotes.....	16
Abordagem meta-analítica.....	16
DISCUSSÃO.....	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

Agradecimentos

Principalmente à minha família, Papai e Mamãe, Raquel, Rodrigo, e aos meus avós Déa e Fernando, Maria Lydia e Antônio Henrique, que me apoiou muito em todas as minhas empreitadas acadêmicas. Sou para sempre grato por todo o carinho, pelos ensinamentos e por todos os tipos de apoio que recebi de vocês. Espero que esta “obra” justifique tanto tempo longe de vocês, enquanto estava no campo, no laboratório ou viajando.

À minha orientadora, que também não deixa de ser família (né, tia?), Regina Macedo, cujas horas em cima de andaimes, observando os *Guiras*, devem ter me impressionado tanto quando era menino, que decidi seguir seus passos e tornar-me ecólogo comportamental. Seu carinho, conselhos, atenção e entusiasmo alimentam minha motivação de aprender cada vez mais sobre o comportamento das aves. Espero poder retribuir, um dia, tudo que fez por mim.

À minha esposa Luana, que além de ser família, também é a mais importante ajudante de campo, melhor fotógrafa e, acima de tudo, companheira de vida. Sem o seu amor e compreensão os trancos do mestrado teriam sido muito piores. Ter você ao meu lado torna mais difícil levantar nas madrugadas frias e escuras para ir ao campo (hehehe), literalmente. E é por isso que eu te amo, gatinha.

Aos amigos Daniel Paz, Marcos “Roca” Lima, Rafael Maia e Raphael Igor Dias, pelas diversas discussões, idéias, sugestões e risadas. Sem esses camaradas teria sido muito difícil chegar até aqui. Foi muito divertido pesquisar ao lado de vocês, espero que, num futuro não muito distante, tenhamos mais oportunidades.

Aos amigos de pós e de UnB Roberto Lacava, Luiza Brasileiro, Alexandre Dias, Fabricius Maia e Aryanne Amaral, por todas as conversas ~~durante as aulas~~ nos corredores durante estes dois anos. Elas tornaram a UnB mais divertida. À Valéria Saracura, por ter fornecido dicas importantes sobre os quero-queros e por ter me enviado os “endereços” de alguns deles.

Aos ajudantes de campo Pedro Diniz, Eduardo “Xará” Carvalho Filho, Sandra Souza, Larissa Veras e David Cho, por terem ficado ao meu lado durante os ataques

de quero-queros, e também pelas inúmeras idas ao campo e idéias mirabolantes sobre como capturar quero-queros.

Ao professor Luiz Antônio Borgo, por permitir que utilizasse o Laboratório de Análise de Alimentos para analisar os ovos de quero-quero. Ao Márcio Mendonça, pois sem seus ensinamentos e atenção não teria sido possível conduzir as análises, uma vez que química não é o meu forte! Ao professor Shinichi Nakagawa, por ter disponibilizado os scripts para calcular as estatísticas de tamanho de efeito.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela bolsa de estudos que possibilitou a realização deste trabalho. À Animal Behavior Society e à National Geographic Society, pelos financiamentos concedidos, sem os quais a execução do projeto não teria sido possível. Ao IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) pela autorização para a coleta de ovos deste estudo (licença número 10318-2 SISBIO).

Aos professores Glauco Machado, Maria Alice S. Alves e Miguel Marini, por aceitarem participar da minha banca examinadora e por fornecerem valiosas críticas e sugestões. Em homenagem a vocês, não verificarei mais nada!

Tenho certeza de que esqueci de algumas pessoas, não porque são menos importantes, mas porque a memória não facilita a esta altura do campeonato (a pressão da apresentação aumenta a cada dia!). Sou muito grato a todos que me ajudaram durante esta etapa importante de minha vida. Muito obrigado!

Resumo

Recentemente, foi demonstrado que fêmeas reprodutoras reduzem o investimento nutricional nos ovos sem que os filhotes sejam prejudicados. Isso ocorre porque ajudantes de ninho compensam a redução de nutrientes dos ovos trazendo alimento extra para os filhotes. Usando o quero-quero (*Vanellus chilensis*) como objeto de estudo, esta dissertação testou o efeito da presença de indivíduos extra no investimento maternal de fêmeas reprodutoras. Para isso, este trabalho avaliou 4 hipóteses: (1) o tamanho da ninhada é maior em ninhos de grupos, (2) o período de incubação é reduzido em grupos que contém indivíduos extra, (3) a qualidade dos ovos é reduzida na presença de indivíduos extra, e (4) os filhotes de ovos de fêmeas com ajudantes possuem menor índice de massa corporal (IMC). A meta-análise flexível foi adaptada para gerar uma estimativa de tamanho de efeito médio para a relação entre tamanho do grupo e o investimento maternal. Os resultados da meta-análise indicam uma associação negativa entre a duração da incubação e o tamanho do grupo. Uma associação negativa entre o volume dos ovos e o tamanho do grupo também foi observada. Uma pequena associação negativa entre as variáveis de investimentos nutricional (massa da gema, proteínas e lipídios) nos ovos e a presença de ajudantes foi observada, porém não foi significativa. Não houve associação entre o tamanho da ninhada, o IMC dos filhotes e o tamanho do grupo. O resultado da meta-análise indica, de forma geral, uma associação entre a presença de indivíduos extra e a redução de investimentos maternais, sem que a prole seja afetada. Assim, este estudo suporta a hipótese da redução de investimento maternal em espécies cooperativas.

Palavras-chave: Investimento maternal, cuidado parental, reprodução cooperativa, nutrientes, ovos.

Abstract

It has been recently demonstrated that females can reduce their egg investment without incurring costs onto the developing embryos. This happens when females breed in the presence of helpers-at-the-nest that compensate for the egg nutrient reduction by bringing more food for the chicks. Using the southern lapwing (*Vanellus chilensis*) as the study subject, this dissertation tested the effects of the presence of extra individuals on maternal investment. Hence, to achieve this objective the study evaluated 4 hypotheses: (1) clutch size is larger in nests of groups than in nests of pairs, (2) the incubation period is reduced in group with extra individuals, (3) egg quality is reduced by the presence of helpers in the breeding unit, and (4) chicks of mothers with helpers have lower body mass index (BMI). The flexible meta-analysis was adapted to estimate the average effect size for the association between group size and maternal investment. The results of the meta-analysis indicate a negative association between the duration of the incubation period and group size. A negative association between egg volume and group size was also observed. A small negative association between egg nutritional investment variables (yolk, protein and lipid mass) and group size was observed, however these were not significant. There was no association between clutch size, chick BMI and group size. The result of the meta-analysis shows a general association between the reduction in maternal investments and the presence of extra individuals, without affecting the offspring. This study supports the maternal investment reduction hypothesis in cooperatively breeding species.

Keywords: Maternal investment, parental care, cooperative breeding, nutrients, eggs.

INTRODUÇÃO

O cuidado parental exigido para criar filhotes até que esses saiam do ninho e tornem-se independentes é extremamente custoso (Clutton-Brock 1991). Para se ter uma idéia da magnitude dos custos sofridos por aves durante o cuidado parental, a taxa metabólica do par reprodutor pode chegar a ser até sete vezes mais elevada do que a taxa metabólica basal (Peterson *et al.* 1990). A elevação das atividades metabólicas está principalmente relacionada aos custos envolvidos na produção de ovos (quantidade e qualidade), na incubação, na alimentação dos filhotes e na proteção da ninhada. O custo aditivo desses componentes do investimento parental é denominado esforço reprodutivo (Bennett e Owens 2002). Esse esforço reprodutivo afeta negativamente características da história de vida em diversas famílias de aves (Bennett e Owens 2002). Por exemplo, incrementos na fecundidade anual, determinada pelo número total de filhotes produzidos em um ano, e no tamanho da ninhada causam diminuições significativas na taxa de sobrevivência anual de aves de várias linhagens (Bennett e Owens 2002).

Existe uma forte pressão seletiva atuando sobre indivíduos para que o sucesso reprodutivo total, ao longo de toda a vida, seja maximizado (Clutton-Brock 1991). Para tanto, é necessário que indivíduos sofram menos custos, em termos de aumento da mortalidade, gerados pelo esforço reprodutivo (Williams 1966, Bennett e Owens 2002). Como previamente mencionado, o incremento no investimento em reprodução promove um aumento no metabolismo do par reprodutor, podendo levar também a diminuição da resposta imune. Estudos que manipularam o esforço reprodutivo experimentalmente causam quedas na resposta imune de aves que, conseqüentemente, elevam os níveis de infecções parasitárias (Gustafsson *et al.* 1994, Deerenberg *et al.* 1997, Nordling *et al.* 1998). Muitas vezes os efeitos negativos do esforço reprodutivo são observados não só durante o evento reprodutivo que sofreu a manipulação, mas também em eventos futuros (Lessells 1991). Portanto, se uma infecção parasitária não causar a morte do indivíduo durante a reprodução atual, as conseqüências podem acarretar em maior probabilidade de não participar de tentativas reprodutivas futuras.

Diversos estudos em aves (revisados em Koenig e Dickinson 2004) demonstram que o auxílio fornecido por ajudantes de ninho minimiza o esforço

reprodutivo do par reprodutor, criando possibilidades para o par reprodutor elevar o seu sucesso reprodutivo total. Por exemplo, em *Prunella modularis* (Aves, Prunellidae) a presença de ajudantes de ninho leva o par reprodutor a reduzir as taxas de entrega de alimento para os filhotes (Davies 1992). No entanto, apesar do par reprodutor diminuir as taxas de entrega, os filhotes recebem mais alimento no total do que os filhotes criados na ausência de ajudantes (Hatchwell 1999). Conseqüentemente, um indivíduo parental pode otimizar seu sucesso reprodutivo enquanto reduz o esforço reprodutivo atual e, possivelmente, evita afetar negativamente o sucesso reprodutivo da prole. Ao mesmo tempo, com a redução do investimento, os custos reprodutivos (por exemplo, metabólicos e imunológicos) também são diminuídos. Portanto, em espécies cooperativas, a obtenção e a manutenção de uma posição hierárquica reprodutiva por um indivíduo é particularmente competitiva, devido aos diversos benefícios conferidos por ajudantes (Cockburn 2004).

A primeira demonstração experimental de que fêmeas de aves podem reduzir o investimento parental na presença de ajudantes foi apresentada para *Malurus cyaneus* (Maluridae), uma espécie que apresenta reprodução cooperativa (Russell *et al.* 2007). Esse estudo demonstrou que fêmeas reprodutoras se beneficiam diretamente ao reduzirem o investimento na qualidade dos ovos quando estão na presença de ajudantes. Ao contarem com o auxílio de ajudantes de ninho, as fêmeas diminuem o investimento energético na produção de ovos e, conseqüentemente, diminuem o efeito negativo do esforço reprodutivo na taxa de mortalidade anual. Com essa redução da mortalidade anual, as fêmeas reprodutoras podem participar de tentativas reprodutivas futuras, maximizando o seu sucesso reprodutivo sem sacrificar o sucesso reprodutivo de suas proles. Russell e colaboradores (2007) propuseram que o fenômeno da redução do investimento maternal durante o estágio de ovos deve ser padrão em espécies de aves cooperativas.

Aves costeiras (família Charadriidae e Scolopacidae) são um objeto de estudo adequado para se testar hipóteses relacionadas ao investimento parental, seus custos e benefícios, pois apresentam uma diversidade de sistemas de acasalamento (Székely *et al.* 2006) e filhotes precoces, que não são alimentados pelos adultos (Reynolds e Székely 1997). Apesar de não alimentar os filhotes, aves costeiras apresentam outras formas de cuidado parental, *i.e.* defesa contra predadores e termo-regulação

(Reynolds e Székely 1997). O quero-quero *Vanellus chilensis* (Charadriidae) é uma ave costeira Neotropical que apresenta um sistema de acasalamento flexível (Saracura *et al.* 2008). Esse sistema de acasalamento é caracterizado pela presença de pares reprodutores isolados, geneticamente monogâmicos, e por pares reprodutores em grupos compostos por um ou mais indivíduos extra (Saracura *et al.* 2008). Nos grupos reprodutores há presença de paternidade extra-par (Saracura *et al.* 2008) e todos os indivíduos que compõem os grupos participam das atividades parentais (Saracura *et al.* 2008, observações pessoais). Por apresentar indivíduos extra que realizam comportamentos de cuidado com a prole, o quero-quero pode ser considerado uma espécie cooperativa.

O principal objetivo do presente estudo foi testar o efeito da presença de indivíduos extra no investimento maternal de fêmeas reprodutoras de quero-quero. Para isso, este trabalho avaliou as seguintes hipóteses (1) o tamanho da ninhada é maior em ninhos de grupos, (2) o período de incubação é reduzido em unidades sociais que contém indivíduos extra, (3) o investimento maternal na qualidade dos ovos é reduzido na presença de indivíduos extra, e (4) os filhotes oriundos de ovos de fêmeas de grupos com ajudantes possuem menor índice de massa corporal (IMC). Além disso, se investigou se a proposta da redução do investimento maternal, de Russell e colaboradores (2007), ocorre no quero-quero, uma espécie cooperativa cujos ajudantes de ninho não alimentam os filhotes.

METODOLOGIA

Área de Estudo

O estudo foi conduzido em áreas urbanas nos bairros Asa Sul (15°81' S 47°87' W) e Park Way (15°91' S 47°94' W), situados no Distrito Federal. A escolha das áreas urbanas deveu-se à abundância de quero-queros nesses locais. As duas áreas são distintas com relação a suas características e quanto à proximidade a áreas naturais. Apesar disso, o estudo foi realizado em locais semelhantes nestes bairros. Ambas as áreas apresentam extensos gramados que são utilizados por quero-queros durante todo o ano para forrageamento e, na estação reprodutiva, para construção de ninhos.

A busca e o monitoramento de ninhos foram realizados durante duas estações reprodutivas, sendo a primeira entre 3 de agosto e 6 de dezembro de 2007, e a segunda entre 8 de agosto e 16 de outubro de 2008. O acompanhamento da segunda estação reprodutiva foi encerrado em outubro de 2008, antes do término das atividades reprodutivas, devido à realização das análises laboratoriais dos ovos durante novembro e dezembro (ver a seguir).

Biologia Reprodutiva do quero-quero

Na região do Distrito Federal, o quero-quero habita e se reproduz em áreas abertas, de vegetação rasteira (Saracura 2003). Durante a estação reprodutiva, indivíduos dessa espécie são observados em dois tipos de unidades sociais: pares isolados ou grupos constituídos de um par reprodutor primário e um ou mais indivíduos extra que defendem ativamente os ninhos contra predadores (Walters 1982, Saracura 2003). Durante uma estação reprodutiva, indivíduos podem produzir até três ninhadas, que possuem, em média, três ovos e dão origem a filhotes precoces (Walters 1982). Esses filhotes não são alimentados pelos adultos de seu grupo, no entanto, recebem cuidado parental, de todos os adultos do grupo, na forma de proteção contra predadores e contra fenômenos climáticos (chuva, chuva de granizo, baixas temperaturas) (Saracura 2003, observação pessoal). Apesar de todos os indivíduos participarem das atividades de cuidado parental, nem todos copulam (observação pessoal). A fidelidade ao parceiro social nos grupos é de 72%, sendo que 92% dos grupos mantém o mesmo tamanho e composição individual e retornam ao mesmo sítio reprodutivo utilizado em anos anteriores (Saracura 2003).

Ninhos

Durante o período de monitoramento, a busca de ninhos foi efetuada nos dois locais. Um veículo foi utilizado para percorrer as vias adjacentes aos potenciais ninhos, os quais eram encontrados através da observação de indivíduos adultos em posição de incubação ou sombreamento dos ovos. Nenhum ninho foi encontrado antes do início da postura, pois não foi observado nenhum comportamento de construção dos mesmos. Os ninhos foram vistoriados uma vez ao dia, em intervalos de dois a quatro dias. A vistoria ocorreu do momento em que os ninhos foram encontrados até que os

filhotes deixassem os territórios dos pares reprodutores ou até a interrupção do evento reprodutivo promovida por predação (parcial ou total) da ninhada, abandono dos ovos ou coleta dos ovos para análises laboratoriais. O tamanho da ninhada foi determinado a partir do número máximo de ovos observados em um ninho durante o período de incubação.

Tamanho da Unidade Social Reprodutiva

Durante a estação reprodutiva, quero-queros deixam os bandos de forrageamento nos quais passam o restante do ano (período não reprodutivo) para formar unidades sociais reprodutivas (USRs). USRs são constituídas por indivíduos que participam tanto de atividades de acasalamento como de atividades de cuidado parental. Duas categorias de USRs foram observadas durante o estudo: pares isolados (dois adultos: um macho e uma fêmea) e grupos (> 2 adultos).

O tamanho das USRs foi determinado a partir do número máximo de indivíduos adultos que participou de atividades parentais durante duas inspeções consecutivas do ninho. Como nenhuma USR alterou seu tamanho durante as duas estações reprodutivas que foram acompanhadas, o método empregado para determinar o tamanho das USRs parece ser eficiente.

Duração da Incubação

Todos os ninhos monitorados no presente estudo foram encontrados já ativos, sendo necessário empregar um método para estimar a idade dos embriões. Sem uma estimativa da idade dos embriões, não seria possível determinar a duração do período de incubação e nem seria possível prever a data de eclosão. Um problema ainda maior seria a impossibilidade de testar a segunda hipótese deste estudo; *i.e.* a existência do efeito negativo do tamanho da USR na duração da incubação. Para contornar esses problemas, a idade dos embriões foi estimada através de uma adaptação do método de flutuação dos ovos (Hays e LeCroy 1971, Liebezeit *et al.* 2007). O método da flutuação se baseia no fato de que ao longo do desenvolvimento embrionário, a densidade relativa do ovo muda de maior para menor do que àquela da água. Portanto, ovos recém colocados afundam na coluna d'água e, ao longo do desenvolvimento,

giram ao redor de seus eixos (extremidade mais afilada aponta para o fundo) e finalmente flutuam na superfície (Figura 1).

A partir do método utilizado por Liebezeit e colaboradores (2007), elaborei um modelo para quantificar o desenvolvimento embrionário, medindo apenas: 1) o ângulo entre o eixo longitudinal do ovo e o plano horizontal e 2) a posição do ovo na coluna d'água (fundo, meio, ou superfície). Para determinar a relação entre características da flutuação do ovo e idade do embrião foi necessário utilizar ninhadas cujas datas de eclosão dos ovos eram conhecidas. Para os ninhos com data de eclosão conhecida, a idade do embrião foi estimada através da contagem do número de dias do momento da flutuação até a data de eclosão. A relação entre características da flutuação (estágio de desenvolvimento do embrião) e idade do embrião (o número de dias até a eclosão) foi utilizada para gerar uma equação de previsão do desenvolvimento embrionário e assim antecipar a data na qual os ovos eclodiriam.

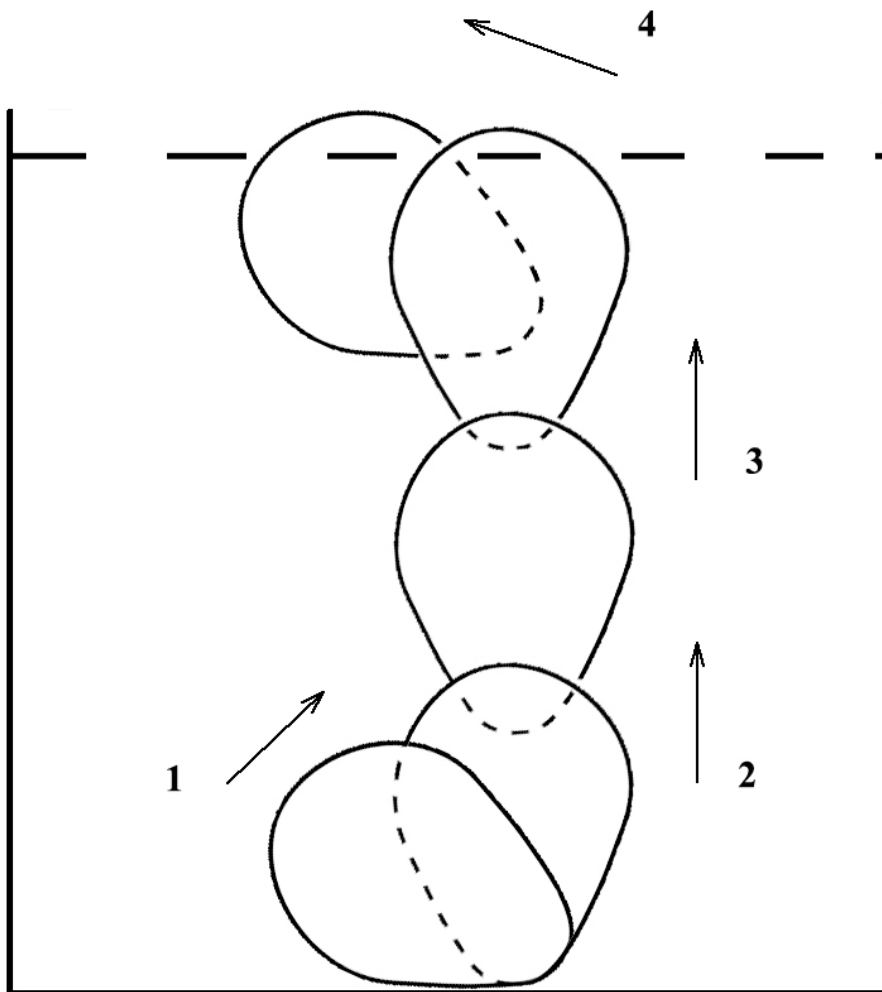


Figura 1. Diagrama representando as posições do ovo na coluna d'água durante o desenvolvimento embrionário. A linha tracejada representa a superfície da água do recipiente. As setas acompanhadas por números representam a seqüência de movimentos do ovo ao longo do desenvolvimento do embrião. Posição 1, ovo a aproximadamente 20° no fundo; Posição 2, ovo a 90° no fundo; Posição 3, ovo no meio da coluna d'água; e Posição 4, ovo na superfície.

O método consiste em utilizar um modelo linear polinomial para modelar a relação entre o ângulo do ovo e o número de dias para a eclosão. O modelo polinomial foi utilizado porque a relação entre as variáveis é quadrática, o ângulo aumenta de 20° a 90° até que o ovo chegue na superfície e depois diminui de 90° até aproximadamente 70°.

Para testar o efeito do tamanho da USR na duração da incubação, tratei o ângulo (medida do desenvolvimento) como variável dependente, a idade do embrião (quantidade de dias até a eclosão) como variável independente e a categoria de tamanho da USR (casal ou grupo) foi incluída na equação como fator independente. O ângulo dos ovos foi transformado para logit. Os ângulos mínimo e máximo medidos no estudo foram, respectivamente, 20° e 90°. Para transformar os ângulos em logits, foi necessário convertê-los para proporções (P). Ovos com ângulos observados de 20° e 90° foram ajustados para 21° a 89° para evitar ângulos proporcionais de exatamente 0 e 1, que não podem ser transformados para logit. Os ângulos proporcionais foram então transformados para logit através da fórmula:

$$\text{logit } P = \ln \left[\frac{P}{(1-P)} \right] \quad \text{eq. (1).}$$

O ângulo médio dos ovos do ninho foi utilizado para que não houvesse pseudo-replicação nas análises. O efeito do tamanho da USR foi avaliado através da relação descrita acima, entre o estágio do desenvolvimento do embrião e a quantidade de dias até a eclosão.

Qualidade dos Ovos

Para avaliar o efeito do tamanho da USR no investimento maternal, todos os ovos encontrados em ninhos ativos tiveram o comprimento (C) e a largura (L) medidos em milímetros com paquímetro (precisão de 0,01 mm). A partir dessas medições o volume (V) de cada ovo foi calculado com a fórmula:

$$V = 0,51 \times C \times L^2 \quad \text{eq. (2),}$$

sendo 0,51 a constante do volume (Hoyt 1979). Para evitar problemas de falta de independência entre os dados e devido ao fato da unidade amostral ser o ninho, a média do volume dos ovos de cada ninho foi utilizada nas análises estatísticas.

Além de avaliar a diferença no volume dos ovos, 20 posturas de diferentes USRs (10 de pares isolados: 28 ovos; e 10 de grupos: 29 ovos) foram totalmente coletadas para análises do conteúdo dos ovos. Foram coletados apenas ovos entre 20 de agosto e 3 de outubro de 2008 e que estavam no fundo da coluna d'água, com ângulo menor do que 25°. Esse cuidado foi tomado para certificar que todos os ovos utilizados estavam no mesmo período da incubação e que o embrião ainda não havia começado a se desenvolver. Os ovos tiveram suas massas medidas e foram congelados até o momento das análises. A determinação da quantidade de nutrientes dos ovos foi realizada no Laboratório de Análises de Alimentos da Universidade de Brasília. Mais uma vez, para evitar problemas de pseudo-replicação e para reduzir custos e tempo, um ovo de cada ninhada foi sorteado para a realização das análises.

No momento da análise, os 20 ovos sorteados foram descongelados e a albumina (clara) foi retirada para que a massa da gema úmida fosse obtida. Apenas a gema foi analisada, pois a energia utilizada pelo embrião na formação de tecidos vem principalmente dos nutrientes presentes nela (Gill 2007). Após a separação da albumina, as gemas foram mantidas em uma estufa (38 °C) por um período de 96 h (quatro dias) para a determinação da massa seca. Após a determinação da massa seca das gemas, foram separadas sub-amostras para a determinação da quantidade de

lipídios e de proteínas de cada gema. A separação e análise de sub-amostras foi necessária para evitar que possíveis problemas metodológicos inviabilizassem a correta estimativa dos nutrientes. Todas as medições foram realizadas em balança analítica (precisão de 0,0001 g).

Os métodos utilizados para quantificar os nutrientes dos ovos foram adaptados dos protocolos utilizados por Russell e colaboradores (2007). Uma adaptação do método de Soxhlet (Agência Nacional de Vigilância Sanitária *et al.* 2005) foi utilizada para a determinação da quantidade de lipídio das gemas secas. O método consiste em extrair os lipídios presentes nas amostras através da utilização de hexano, um solvente orgânico. Duas sub-amostras de 2 g foram retiradas de cada gema seca e posicionadas dentro de cartuchos permeáveis que foram introduzidos em tubos de extração. Durante o procedimento de extração, o conteúdo de lipídio da amostra atravessa o cartucho e é retido no tubo de extração. A quantidade de lipídios de cada amostra é determinada através da diferença de massa do tubo de extração após o procedimento com relação à sua massa inicial (tubo limpo), antes do processo de extração. A proporção de lipídios (L) presentes em cada amostra de 2 g (P) foi calculada com a fórmula:

$$L = \frac{N}{P} \quad \text{eq. (3),}$$

sendo N a massa de lipídios extraída de cada amostra. A massa média de lipídios totais (em gramas) para cada gema seca foi obtida a partir da multiplicação desta proporção (L) pela massa de cada gema seca.

A quantidade de proteínas presentes nas gemas secas foi estimada a partir da determinação do conteúdo de nitrogênio pelo método de Kjeldahl (Agência Nacional de Vigilância Sanitária *et al.* 2005). Esse método possui três etapas: digestão, destilação e titulação. Duas amostras de 0,3 g foram retiradas de cada gema seca e, em seguida, a matéria orgânica de cada amostra foi decomposta e o nitrogênio existente foi transformado em amônia. A quantidade de nitrogênio é determinada

através da titulação da amostra. O teor de nitrogênio (Pr) de cada amostra de 0,3 g (P) pode ser calculado pela fórmula:

$$Pr = \frac{V \times N \times 14}{P \times 1000} \quad \text{eq. (4),}$$

sendo V o volume de ácido clorídrico utilizado na titulação da amostra, N a normalidade do ácido clorídrico que é igual a 0,1, e 14 é o peso molecular do nitrogênio. A massa das proteínas totais (em g) para cada gema seca foi obtida a partir da multiplicação dessa proporção (Pr) pelo fator de conversão 6,25. As massas de lipídios e proteínas totais foram, então, utilizadas nas análises estatísticas.

Qualidade dos Filhotes

Para avaliar se os filhotes oriundos de ovos de fêmeas de grupos com ajudantes possuem menor IMC, todas as ninhadas monitoradas cujos ovos eclodiram, tiveram os filhotes capturados e mensurados (massa e comprimento do tarso-metatarso esquerdo). Para certificar que os filhotes tinham a mesma idade, a captura e coleta de dados dos filhotes ocorreu no mesmo dia da eclosão ou no dia seguinte. Apenas filhotes que ainda apresentavam calcificação na ponta do bico e que estavam no ninho foram utilizados. Devido à alta mortalidade de filhotes durante o período estudado, utilizei apenas os dados dos filhotes no momento da eclosão para a análise. Essa mortalidade resultou em um pequeno tamanho amostral, não permitindo a realização de inferências sobre o desenvolvimento dos filhotes antes que fizessem a muda e deixassem o grupo natal. Como medida de qualidade dos filhotes utilizei o IMC, a relação entre a massa e o comprimento do tarso. Valores altos indicam indivíduos proporcionalmente mais pesados, enquanto valores baixos indicam indivíduos proporcionalmente mais leves, independentemente do tamanho corporal. O IMC médio foi calculado para cada ninho e utilizado na análise estatística, assim não afetando a independência dos dados.

Análises Estatísticas

Apenas ninhos contendo três e quatro ovos (tanto para pares, quanto para grupos) foram utilizados para avaliar o efeito do tamanho da USR no tamanho da ninhada. Essa precaução foi tomada para evitar a introdução de ninhadas possivelmente parcialmente predadas na análise. Como nenhum ninho foi encontrado antes da postura do primeiro ovo, não foi possível determinar se ninhos contendo 1 ou 2 ovos são resultantes de fêmeas que produziram posturas menores do que o usual, ou se são o resultado de predações parciais. Esses ninhos (1 e 2 ovos) representaram 13,5% do total. Para analisar o efeito do tamanho da USR no tamanho da ninhada, um modelo generalizado linear (GLM) com erro binomial foi utilizado, uma vez que pode se assumir que o tamanho das ninhadas tem distribuição binomial, pois apresenta apenas duas possíveis categorias de tamanho. Ninhadas com três ovos foram tratadas como zeros (0) e ninhadas com quatro ovos como uns (1). O efeito da unidade social na duração da incubação (taxa de desenvolvimento do embrião) foi avaliado através do modelo linear polinomial descrito na seção Duração da Incubação (acima). Essa relação foi determinada para 21 ninhos.

Para avaliar o efeito do tamanho da USR na qualidade dos ovos, testes *t* para amostras independentes foram utilizados. Um teste *t* foi utilizado para cada uma das seguintes variáveis: volume do ovo, massa da gema úmida, massa da gema seca, massa de proteínas e massa de lipídios. O tamanho das amostras diferiu entre o volume dos ovos ($n = 73$) e as demais variáveis de qualidade dos ovos ($n = 19$). Essa diferença ocorreu porque o volume dos ovos foi obtido de praticamente todos os ninhos encontrados no estudo. Já as demais variáveis estavam sujeitas ao número de ovos coletados. Foram coletados 20 ovos para as análises de conteúdo, mas um precisou ser descartado.

O efeito da USR no IMC dos filhotes foi avaliado através de um teste *t* para amostras independentes, assim como feito para as medidas de investimento maternal na composição do ovo. O tamanho da amostra da qualidade dos filhotes ($n = 19$) diferiu das demais variáveis, pois nem todos os ovos em ninhos monitorados eclodiram (predações e abandonos) e alguns ninhos tiveram suas ninhadas coletadas para as análises laboratoriais.

Todas as análises foram computadas no pacote estatístico R (versão 2.7.2, R Development Core Team 2008). A não ser quando mencionado, os dados são apresentados no formato de média \pm erro padrão.

Abordagem Meta-analítica

Os resultados estatísticos obtidos nos testes estatísticos foram utilizados para calcular medidas de tamanho de efeito. O principal objetivo do presente estudo foi investigar a existência de um efeito do tamanho da USR no investimento maternal médio (todas as variáveis de investimento mensuradas). Para alcançar esse objetivo, o estudo investigou diversas características, e utilizou vários testes estatísticos. A utilização de múltiplos testes resultaria na necessidade de ajustar o nível de significância individual de cada teste, pois quanto mais testes utilizados, maior é a probabilidade de se cometer erros do Tipo I (Rice 1989). A forma tradicional de corrigir esse problema seria a utilização da correção de Bonferroni (Cabin e Mitchell 2000), no entanto, a sua utilização aumenta o risco de erros do Tipo II. Portanto, devido a esse e outros problemas (matemáticos e lógicos, ver Wright 1992, Nakagawa 2004), a correção de Bonferroni não foi utilizada.

Alternativamente, como forma de se evitar os problemas (sugerida por Nakagawa, 2004) descritos previamente apresento o tamanho do efeito e seu intervalo de confiança (IC) para todas as relações investigadas (Garamszegi 2006). Essa abordagem considera a magnitude dos tamanhos do efeito em uma escala contínua, ao contrário do teste de hipótese convencional baseado em um nível de significância (Wilkinson e Task Force for Statistical Inference 1999, Thompson 2002, Garamszegi 2006). Além disso, a apresentação dos respectivos ICs de 95% fornece uma medida da precisão e do grau de repetibilidade da análise (Cumming e Finch 2001, Quinn e Keough 2002, Thompson 2002).

O coeficiente de correlação de Pearson (r) foi utilizado como medida de tamanho de efeito. Os coeficientes foram calculados para cada teste estatístico para avaliar o efeito do tamanho da USR em cada uma das variáveis estudadas. Subseqüentemente, essas estimativas foram convertidas para valores de Z com a transformação de Fisher (Z_r ; Sokal e Rohlf 1996) para a utilização no método meta-analítico. Os valores de Z_r foram utilizados por possuírem distribuição normal.

Para evitar o problema da falta de independência entre os dados, mencionado previamente, adaptei o método de meta-análise flexível desenvolvido por Nakagawa e colaboradores (2007) para calcular o efeito médio das variáveis medidas neste estudo. Um modelo linear de efeitos mistos ponderado (LMM) foi utilizado para calcular o efeito médio das variáveis. Com a utilização desse procedimento, relações baseadas em um tamanho amostral maior contribuem mais para o cálculo do efeito médio do tamanho da USR no investimento maternal. O método de máxima verossimilhança restrita (REML) foi empregado para estimar os parâmetros do modelo (pacote *nlme* no programa R; Pinheiro e Bates 2000). Para se obter o efeito médio, $Z_{médio}$, o modelo incluiu apenas a interseção ($Z_R \sim 1$). O LMM foi utilizado por permitir que um fator de agrupamento aleatório pudesse ser incluído. A incorporação desse fator de agrupamento permitiu a utilização de diversas medidas de tamanho de efeito extraídas do mesmo conjunto de dados (ou seja, cada variável medida no estudo). Um valor de t é fornecido para testar se o intercepto do LMM (tamanho médio do efeito) é significativamente maior do que zero.

Na meta-análise, a heterogeneidade total de uma amostra é calculada para determinar se o conjunto de tamanhos de efeito é homogêneo (Hedges e Olkin 1985). A heterogeneidade em modelos com efeitos aleatórios é estimada pela soma de quadrados residual ponderada (mais precisamente Q_{REML}) (Nakagawa *et al.* 2007). A significância da heterogeneidade é testada contra uma distribuição de χ^2 . Os valores de Z_r foram transformados de volta para valores de r para a apresentação dos resultados. Os tamanhos dos efeitos são acompanhados dos respectivos ICs 95%. As medidas de tamanho de efeito, os ICs e a meta-análise foram calculadas com equações padrão (Nakagawa e Cuthill 2007, Nakagawa *et al.* 2007).

RESULTADOS

Resultados Gerais

No total, foram encontrados 74 ninhos de quero-quero nas duas áreas amostradas. Do total de ninhos, 42 foram encontrados na estação reprodutiva de 2007 e 32 na de 2008. Do total de ninhos, 47 (63,5%) pertenceram a pares reprodutores e 27 (36,5%) a

casais acompanhados de indivíduos extras ($3,2 \pm 0,1$ ajudantes). O tamanho da ninhada variou de 1 a 4 ovos ($3,2 \pm 0,08$ ovos). No entanto, o tamanho da ninhada não foi afetado pela presença de indivíduos extras ($z = 0,65$; $P = 0,52$; pares reprodutores: $3,36 \pm 0,08$; $n = 39$; grupos: $3,44 \pm 0,10$; $n = 25$). A pequena diferença entre o número médio de ovos entre pares e grupos resultou em um tamanho de efeito (r) de apenas 0,08 (IC 95%: -0,17 a 0,32). Como não houve efeito do tamanho da USR no tamanho da ninhada, a proporção de ninhos de cada classe de tamanho (3 ou 4 ovos) é reportada independente do tamanho do grupo. Logo, do total de ninhos, 39 ninhos (61%) apresentaram 3 ovos e 25 ninhos (39%) apresentaram 4 ovos.

Não houve diferença na duração do período de incubação entre USRs compostas por pares acompanhados por ajudantes e por pares isolados (Tabela 1). O modelo linear polinomial explicou 82% da variação no desenvolvimento do embrião ($F_{(3,17)} = 32,46$; $P < 0,0001$) (Figura 2). Apesar da diferença não ser significativa, a magnitude do efeito da presença de ajudantes na duração do período de incubação foi moderada ($r = -0,38$, IC 95%: -0,71 a 0,09; *sensu* Cohen 1988; $r = 0,1, 0,3$ e $0,5$ para efeitos “pequeno”, “moderado” e “grande”, respectivamente).

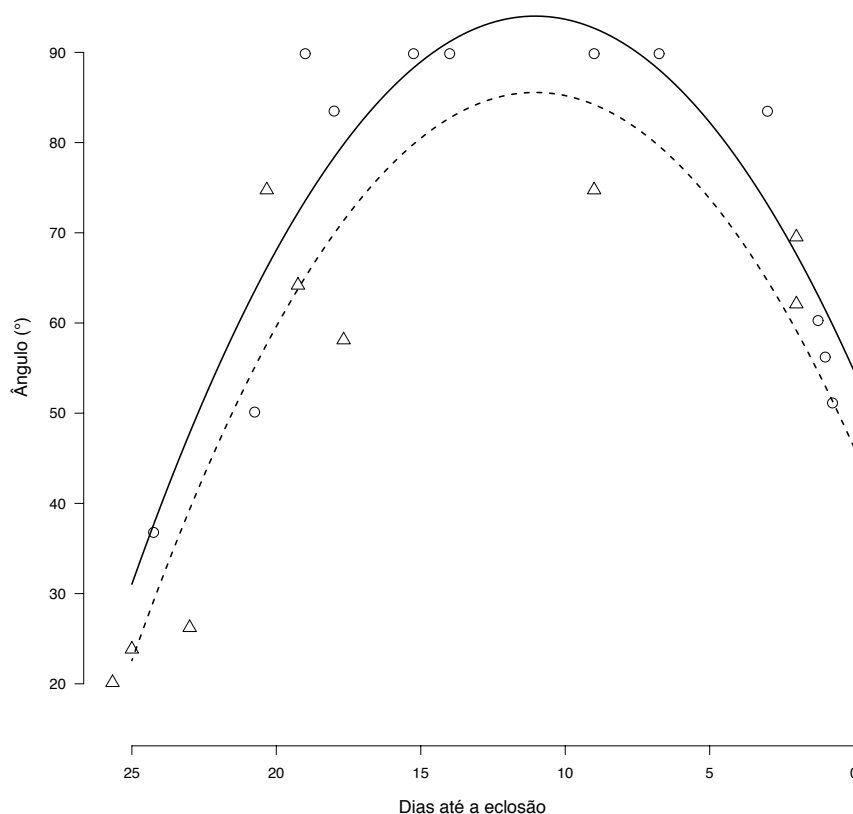


Figura 2. Modelo linear polinomial que descreve a relação entre o número de dias até a eclosão e o ângulo proporcional dos ovos de quero-quero transformados em logit. Linha contínua e círculos representam ninhos de pares reprodutores isolados. Linha tracejada e triângulos representam ninhos de pares reprodutores acompanhados de indivíduos extras.

Qualidade dos Ovos

Fêmeas que reproduziram em grupos produziram ovos menores do que fêmeas que reproduziram sem ajudantes ($t_{71} = 2,01$; $P = 0,04$; pares: $24,06 \pm 0,2 \text{ cm}^3$; $n = 47$; grupos: $23,31 \pm 0,34 \text{ cm}^3$; $n = 26$). A diferença média de $0,75 \text{ cm}^3$ entre ovos de fêmeas de pares e fêmeas de grupos resultou em um tamanho de efeito (r) de $-0,23$ (IC 95%: $-0,44$ a $-0,002$). Apesar da diferença no volume dos ovos entre fêmeas que reproduziram em USRs com e sem indivíduos extra, as outras variáveis de investimento maternal (massa da gema úmida e seca, massa de lipídios e massa de proteínas) não apresentaram diferenças significativas de acordo com o tipo de USR (todas, $P > 0,05$) (Tabela 1). Mesmo não apresentando diferenças significativas, os tamanhos dos efeitos para essas variáveis foram menores do que $r = -0,2$ (Tabela 1; Figura 3). Todos esses valores de tamanho de efeito negativos mais extremos do que $r = -0,2$, indicam uma associação negativa entre o tamanho do grupo e a variável de investimento maternal em questão.

Tabela 1. Tamanho dos efeitos e resultados da meta-análise utilizando o LMM com REML para o efeito médio do tamanho da unidade social reprodutiva no investimento maternal de quero-quero no volume dos ovos (Volume), na massa da gema seca (Gema seca), na massa da gema úmida (Gema úmida), na massa de proteínas da gema (Proteína), na massa de lipídios da gema (Lipídio) e na duração da incubação (Incubação). Os efeitos estatisticamente significativos (Volume e Efeito médio) estão indicados em negrito.

Variável	<i>n</i>	Tamanho do		Valor de <i>t</i> (<i>P</i> , gl)	Heterogeneidade Q_{REML} (<i>P</i> , gl)
		efeito <i>r</i>	IC 95% para <i>r</i>		
Volume	73	-0,23	-0,44 a -0,002	2,01 (0,04, 72)	-
Gema seca	19	-0,25	-0,65 a 0,26	1,05 (0,3, 18)	-
Gema úmida	19	-0,29	-0,67 a 0,22	1,24 (0,23, 18)	-
Proteína	19	-0,21	-0,63 a 0,3	0,89 (0,38, 18)	-
Lipídio	19	-0,24	-0,64 a 0,27	1,02 (0,32, 18)	-
Incubação	21	-0,38	-0,71 a 0,09	1,88 (0,07, 20)	-
Efeito médio	6	-0,26	-0,32 a -0,2	10,34 (< 0,0001, 5)	0,25 (0,99, 5)

Qualidade dos Filhotes

Apesar da redução observada no investimento maternal de acordo com o tamanho da USR, tanto na duração da incubação quanto na qualidade dos ovos, o IMC dos filhotes oriundos de fêmeas reprodutoras em grupo não foi reduzido ($t_{17} = 0,62$; $P = 0,54$; pares: $0,52 \pm 0,01$; $n = 12$; grupos: $0,53 \pm 0,15$; $n = 7$) (Figura 3). A diferença de 0,01 entre o IMC médio dos filhotes produzidos por fêmeas reprodutoras de pares isolados e fêmeas de grupos resultou em um tamanho de efeito pequeno, de apenas $r = 0,14$ (IC 95%: -0,36 a 0,58).

Abordagem meta-analítica

Os resultados individuais obtidos indicam que algumas características do investimento maternal foram afetadas pelo tamanho da USR de forma significativa, enquanto outras não. O tamanho do efeito para cada variável de investimento maternal foi utilizado no LMM para gerar um efeito médio de $r = -0,26$ (IC 95%: -0,32 a -0,2, $n = 6$) (Tabela 1; Figura 3). Portanto, o tamanho da USR apresentou uma pequena associação negativa com o investimento maternal geral.

As variáveis ‘Tamanho da Ninhada’ e ‘Qualidade dos Filhotes’ não foram incluídas nessa análise, pois seus efeitos foram tão próximos de zero ($r = 0,08$ e $0,14$, respectivamente), que foram consideradas como não sendo associadas ao tamanho da USR. Pode-se observar na Figura 3 que a inclusão das duas variáveis no cálculo do efeito médio (Combinado*) não alterou a interpretação do resultado da meta-análise. O teste da heterogeneidade entre os valores de Z_R não foi significativo ($Q_{REML} = 0,25$;

$P = 0,99$; g.l. = 5), indicando que as variáveis contribuíram de forma homogênea para o efeito médio.

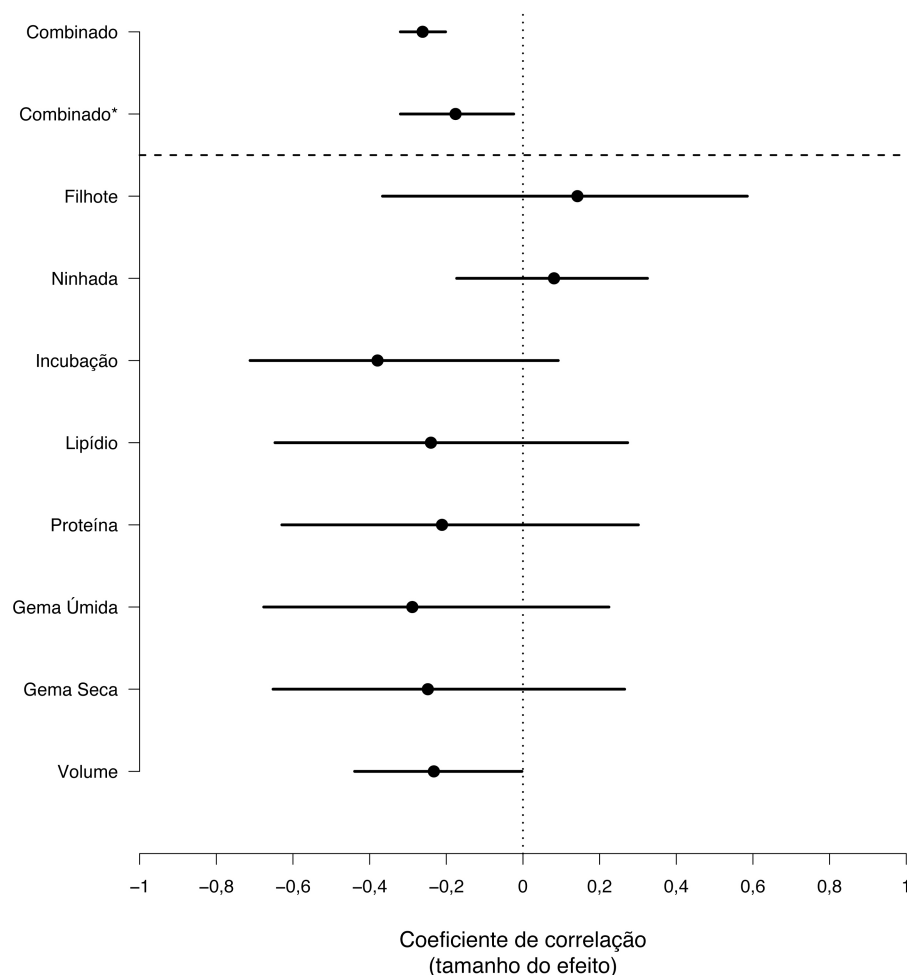


Figura 3. Apresentação dos resultados da abordagem meta-analítica das variáveis correlacionadas com o tamanho da unidade social reprodutiva de quero-quero (ver Tabela 1 para detalhes). O tamanho do efeito (coeficiente de correlação de Pearson) e intervalo de confiança de 95% são apresentados para cada resultado. O efeito médio calculado está representado como ‘Combinado’ que não inclui ‘Tamanho da Ninhada’ e ‘Qualidade dos Filhotes’, e por ‘Combinado*’ que inclui todas as variáveis.

DISCUSSÃO

O primeiro objetivo deste estudo foi testar a hipótese de que o tamanho das ninhadas de fêmeas reprodutoras de quero-quero é maior em grupos. Os resultados obtidos indicam que o tamanho da ninhada não sofre alteração com a presença de indivíduos extras. Existem evidências de que fêmeas podem manipular o tamanho de sua ninhada de acordo com expectativas de maior investimento por parte de ajudantes, (e.g., *Prunella modularis*: Davies 1992), ou até mesmo devido à qualidade de seus parceiros (Petrie e Williams 1993). Dessa forma, poderíamos esperar que em uma situação na qual as fêmeas de quero-quero contam com mais ajuda, o tamanho da prole fosse aumentado para maximizar a produtividade daquela tentativa reprodutiva.

No entanto, apesar das evidências de que fêmeas podem alterar o tamanho de sua prole, aves costeiras (famílias Scolopacidae e Charadriidae) apresentam uma restrição no tamanho da ninhada (Lack 1947). Essa restrição é um enigma persistente e sem solução desde Lack (1947). A maioria das aves costeiras, grupo do qual o quero-quero faz parte, põe ninhadas de 4 ovos (Maclean 1972, Wallander e Andersson 2002), sendo raros os casos com números diferentes de ovos. O presente estudo não teve como objetivo investigar o problema da limitação no tamanho da ninhada em aves costeiras, no entanto, fornece evidência de que nem mesmo a presença, possivelmente benéfica, de ajudantes de ninho é suficiente para alterar o tamanho da ninhada. É interessante mencionar, no entanto, que quero-queros não apresentam essa fixação do número de ovos, sendo que ninhadas com 3 (61%) e 4 (39%) ovos foram comumente encontradas no presente estudo.

Os três outros objetivos do presente estudo testaram as hipóteses de que a duração do período de incubação, a qualidade dos ovos e o IMC dos filhotes foram reduzidos quando a fêmea reprodutora estava na presença de ajudantes de ninho. A discussão desses resultados foi realizada sob o contexto da abordagem meta-analítica, uma vez que o principal interesse do trabalho foi o efeito biológico geral da reprodução em grupo no investimento maternal. É possível que a pressão seletiva para a redução do investimento maternal não seja uni-modal, ou seja, não afete apenas uma característica do investimento de forma incisiva, mas que seja, uma pressão multi-modal, afetando diversas características do investimento de forma mais ampla (Møller

e Jennions 2002, Garamszegi 2006). Os resultados obtidos no presente estudo indicam que os efeitos da reprodução em grupo não afetam uma única característica do investimento maternal, mas que diversos componentes do investimento são afetados negativamente pelo tamanho da USR. Uma abordagem analítica que não levasse em consideração essa possibilidade não teria detectado a diluição desse efeito no grupo de variáveis estudadas.

Os resultados mostram que as fêmeas de quero-quero que reproduziram em USRs com indivíduos extras reduziram seus investimentos na fase de produção de ovos. Essa redução ocorreu para todas as variáveis, com exceção de ‘Tamanho da Ninhada’ (discutida previamente) e ‘Qualidade dos Filhotes’. Isso quer dizer que quando uma determinada fêmea reproduz na presença de indivíduos extra, a quantidade de nutrientes destinados ao embrião é reduzida, assim como também são reduzidas a duração da incubação e o volume dos ovos. O presente estudo suporta a proposta de Russell e colaboradores (2007) de que em espécies cooperativas, fêmeas reduzem o investimento nos ovos quando estão acompanhadas de ajudantes de ninho. No entanto, é importante mencionar, que o quero-quero é uma espécie precocial – não alimenta os filhotes em nenhum momento do desenvolvimento e, contudo, apresentou essa redução no investimento maternal.

Os resultados da meta-análise mostram uma associação negativa entre a duração do período de incubação e o tamanho da USR. É necessário mencionar que o intervalo de confiança desse efeito é largo, porém está quase totalmente deslocado em direção a um efeito negativo do tamanho da USR. Como em regiões tropicais a taxa de predação de ninhos encontra-se, com frequência, acima de 80% (Stutchbury e Morton 2001), reduções no período de incubação podem ter um efeito importante para o sucesso reprodutivo de quero-queros. O presente estudo não testou se a taxa de predação dos ovos foi reduzida devido a redução do período de incubação. No entanto, apesar de não ter testado o efeito da redução do período de incubação na taxa de predação, é possível imaginar o benefício para as fêmeas que reproduzem em grupo, caso ocorra uma redução na taxa de predação.

Uma das formas como o período de incubação pode ser reduzido é através do maior esforço de incubação por unidade de tempo, ou seja, se um número maior de indivíduos do grupo incubam os ovos, é possível mantê-los na temperatura adequada

por mais tempo, tornando o processo mais estável e assim mais curto (Webb 1987). Se a fêmea incuba sozinha os ovos, a quantidade de tempo que os ovos ficam sem incubação pode ser maior, do que se ela tiver auxílio. Outro grande problema ao qual os embriões estão sujeitos é a temperatura ambiental elevada (Webb 1987). Nos trópicos, especialmente para espécies que nidificam em locais expostos ao Sol, esse problema talvez seja mais crítico do que a manutenção da constância da temperatura. Nesse caso, um maior número de indivíduos no grupo pode diminuir o impacto das temperaturas elevadas, sombreando o ninho de forma mais eficaz quando a fêmea deixa o ninho para se alimentar (observação pessoal). Outra forma de encurtar o período de incubação é permitindo que a fêmea reprodutora permaneça mais tempo incubando e/ou sombreando os ovos, ao invés de se ocupar com outras atividades, como forrageamento e defesa do sítio reprodutivo. Os estudos com espécies cooperativas demonstram que muitas vezes as fêmeas reprodutoras recebem alimentos dos ajudantes de ninho enquanto estão incubando (Cockburn 1998) de maneira que deixam menos os ninhos, impedindo que os embriões sejam expostos às temperaturas extremas. Nenhuma fêmea foi observada recebendo alimentos no ninho, no entanto, é possível que a presença de indivíduos extras no grupo tenha permitido que as fêmeas reprodutoras permanecessem mais tempo no ninho por não terem de participar de atividades de proteção com tanta frequência.

Além das duas formas de encurtar o período de incubação apresentadas previamente, é possível que a redução no período de incubação na presença de ajudantes seja um resultado do menor volume dos ovos postos por fêmeas que reproduziram na presença de indivíduos extra. Ovos precisam ser mantidos em ambientes termais relativamente estáveis para que o desenvolvimento embrionário ocorra da melhor forma possível (White e Kinney 1974). Um estudo recente demonstrou que o tamanho dos ovos de Charadriiformes está inversamente relacionado com o grau de dimorfismo sexual (Lislevand e Thomas 2006), ou seja, quanto maior for a diferença de tamanho entre machos e fêmeas (fêmeas de Charadriiformes tendem a ser maiores do que os machos), menores são os ovos. Essa proposta baseia-se no fato de que os embriões se desenvolvem melhor sob temperaturas constantes, de forma que em espécies que os machos são menores do que as fêmeas e incubam os ovos, os ovos são selecionados para terem tamanho menor, assim sendo mais eficientemente incubados. Dessa forma, é possível que em

quero-queros, os ovos de fêmeas que reproduzem em grupos sejam selecionados para serem menores, pois é possível que os ajudantes que incubam os ovos sejam menores do que a fêmea (Lislevand e Thomas 2006). Além disso, a constância termal dos ovos resulta em períodos de incubação mais curtos (Kim e Monagham 2006). Portanto, a incubação de ovos menores deve ser mais eficiente, causando a redução do período de incubação.

Na presença de ajudantes de ninho, fêmeas de *Malurus cyaneus* reduzem o investimento em lipídios e proteínas dos ovos, gerando ninhegos que são menores do que aqueles de fêmeas que não estão em grupo (Russell *et al.* 2007). Apesar dessa redução do investimento nos ovos, os ajudantes de ninho dessa espécie compensam o menor investimento reforçando a alimentação da prole, e os filhotes de grupos com ajudantes deixam os ninhos com a mesma qualidade dos filhotes de pares isolados. No presente estudo, demonstrou-se que, para o quero-quero, além da redução do período de incubação, o investimento maternal (na forma de volume, e nutrientes dos ovos) também diminuiu quando as fêmeas estavam na presença de ajudantes. Esse achado torna-se mais interessante porque trata-se de uma espécie cujo modo de desenvolvimento é precocial. Apesar dessa redução no investimento maternal, os resultados demonstram que os filhotes de ambos os grupos (com e sem indivíduos extra) eclodiram com a mesma qualidade (IMC). À primeira vista, não é claro como os filhotes dos dois grupos eclodiram com a mesma qualidade, dada a redução de investimento maternal observada nos ovos de fêmeas que reproduziram na presença de indivíduos extra. É possível que a diferença de qualidade dos ovos entre pares isolados e grupos tenha sido insignificante, não afetando a qualidade dos filhotes que eclodiram de ovos de menor qualidade.

Quero-queros são aves de vida longa, com alta taxa de retorno ao sítio reprodutivo e estabilidade na composição do grupo (Saracura 2003). Essas características indicam que, possivelmente, o sítio escolhido por um grupo oferece vários benefícios para a reprodução, *e.g.* fonte adequada de alimentos ou baixa incidência de predadores de ninho. Se essa premissa for verdadeira, tais sítios devem ser mantidos e defendidos contra a entrada de conspecíficos. Provavelmente, USRs com mais indivíduos conseguem manter sítios melhores do que aqueles ocupados por USRs menores. Considerando, ainda, a longevidade dessas aves, é de se esperar que exista uma demanda por sítios de alta qualidade, que são ocupados por grupos mais

numerosos. Diante dessa situação, é importante frisar que a obtenção e a manutenção de uma posição hierárquica reprodutiva em um grupo cooperativo é particularmente competitiva, devido aos diversos benefícios conferidos pelos ajudantes (Cockburn 2004). É plausível que fêmeas reprodutoras se beneficiem de recursos presentes nestas áreas para tornar mais eficiente a forma como investem na reprodução. Talvez, na presença de ajudantes, fêmeas usufruam de territórios melhores, em termos nutricionais, e também mais seguros. Essas características podem permitir que fêmeas invistam quantidades menores de nutrientes mais ricos e substâncias nos ovos que afetem positivamente os embriões, tais como anti-microbianos e hormônios (Gill 2007, Shawkey *et al.* 2008). Assim, criando a similaridade observada com os embriões das fêmeas que reproduzem isoladamente, e que investem em maiores quantidades de nutrientes.

Concluindo, o presente estudo demonstrou o benefício da reprodução em grupos para as fêmeas reprodutoras de quero-quero. Elas desfrutam de uma diminuição do esforço reprodutivo conferido pelo tamanho da USR, ainda, sem que a prole sofra o ônus da redução de investimentos. Independentemente de como a presença de ajudantes afeta a redução de investimentos, é importante ressaltar que os filhotes eclodiram com a mesma qualidade a partir de ovos com diferentes condições nutricionais. Embora diversos estudos demonstrem os benefícios da reprodução em grupo (e.g. Brown 1987, Koenig e Dickinson 2004) para filhotes e para os indivíduos reprodutores, apenas um estudo relacionou a variação no investimento maternal ao tamanho do grupo (Russell *et al.* 2007). O presente estudo suporta o efeito observado por Russell e colaboradores (2007), mas para uma espécie precocial, na qual a prole não é alimentada, mas indivíduos ajudantes contribuem com a defesa contra predadores. No entanto, a forma como as fêmeas reprodutoras se beneficiam desse efeito não foi avaliada e nem pode ser inferida com base nos resultados obtidos. Estudos futuros devem buscar entender os mecanismos ecológicos, fisiológicos e, possivelmente, sociais responsáveis pela redução no investimento maternal em fêmeas de quero-quero. Somente assim, será possível determinar como os embriões que recebem menor investimento nutricional eclodem com qualidade similar aos embriões que receberam maior investimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde & Instituto Adolfo Lutz. 2005. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4^a ed. Zenebon, O. & Pascuet, N.S. (coordenadores). Brasília, Brasil: ANVISA, Min. Saúde. 1018 p.
- Bennett, P.M. & Owens, I.P.F. 2002. *Evolutionary ecology of birds: life histories, mating systems, and extinction*. Oxford, Reino Unido: Oxford University Press. 278 p.
- Brown, J.L. 1987. *Helping and communal breeding in birds: Ecology and evolution*. Princeton, EUA: Princeton University Press. 384 p.
- Cabin, R.J. & Mitchell, R.J. 2000. To Bonferroni or not to Bonferroni: when and how are the questions. *Bulletin of the Ecological Society of America*, 81, 246-248.
- Clutton-Brock, T.H. 1991. *The evolution of parental care*. Princeton, EUA: Princeton University Press. 352 p.
- Cohen, J. 1988. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. 2nd ed. Hillsdale, EUA: Lawrence Erlbaum Associates. 567 p.
- Cockburn, A. 1998. Evolution of helping behavior in cooperatively breeding birds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29, 141-177.
- Cockburn, A. 2004. Mating systems and sexual conflict. In: *Ecology and evolution of cooperative breeding in birds*, ed. W. Koenig & J. Dickinson. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press. pp. 81-101.
- Cumming, G. & Finch, S. 2001. A primer on the understanding, use, and calculation of confidence intervals that are based on central and noncentral distributions. *Educational and Psychological Measurement*, 61, 532-574.
- Davies, N.B. 1992. *Dunnock behaviour and social evolution*. Oxford, Reino Unido: Oxford University Press. 272 p.
- Deerenberg, C., Arpanius, V., Daan, S. & Bos, N. 1997. Reproductive effort decreases antibody responsiveness. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 264, 1021-1029.

- Garamszegi, L.Z. 2006. Comparing effect sizes across variables: generalization without the need for Bonferroni correction. *Behavioral Ecology*, 17, 682-687.
- Gill, F.B. 2007. *Ornithology*. 3rd ed. New York, EUA: W.H. Freeman e Co. 758 p.
- Gustafsson, L., Nordling, D., Andersson, M.S., Sheldon, B.C. & Qvarnstrom, A. 1994. Infectious diseases, reproductive effort and the cost of reproduction in birds. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B*, 346, 323-331.
- Hatchwell, B.J. 1999. Investment strategies of breeders in avian cooperative breeding systems. *The American Naturalist*, 154, 205-219.
- Hays, H. & LeCroy, M. 1971. Field criteria for determining incubation stage in eggs of the Common Tern. *Wilson Bulletin*, 83, 425-429.
- Hedges, L. & Olkin, I. 1985. *Statistical methods for meta-analysis*. New York, EUA: Academic Press. 369 p.
- Hoyt, D. 1979. Practical methods of estimating volume and fresh weight of bird eggs. *The Auk*, 96, 73-77.
- Kim, S-Y. & Monaghan, P. 2006. Effects of early incubation constancy on embryonic development: An experimental study in the herring gull *Larus argentatus*. *Journal of Thermal Biology*, 31, 416-421.
- Koenig, W. & Dickinson, J. 2004. *Ecology and evolution of cooperative breeding in birds*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press. 293 p.
- Lack, D. 1947. The significance of clutch-size. *Ibis*, 89, 302-352.
- Lessells, C.M. 1991. The evolution of life histories. In: *Behavioural ecology: An evolutionary approach*, ed. J.R. Krebs & N.B. Davies. Oxford, Reino Unido: Blackwell. pp 32-68.
- Liebezeit, J.R., Smith, P.A., Lanctot, R.B., Schekkerman, H., Tulp, I., Kendall, S.J., Tracy, D.M., Rodrigues, R.J., Meltofte, H., Robinson, J.A., Gratto-Trevor, C., McCaffery, B.J., Morse, J. & Zack, S.W. 2007. Assessing the development of shorebird eggs using the flotation method: species-specific and generalized regression models. *Condor*, 109, 32-47.

- Lislevand, T. & Thomas, G.H. 2006. Limited male incubation ability and the evolution of egg size in shorebirds. *Biological Letters*, 2, 206-208.
- Maclean, G.L. 1972. Clutch size and evolution in the Charadrii. *The Auk*, 89, 299-324.
- Møller, A.P. & Jennions, M.D. 2002. How much variance can be explained by ecologists and evolutionary biologists? *Oecologia*, 132, 492-500.
- Nakagawa, S. 2004. A farewell to Bonferroni: the problems of low statistical power and publication bias. *Behavioral Ecology*, 15, 1044-1045.
- Nakagawa, S. & Cuthill, I.C. 2007. Effect size, confidence interval and statistical significance: a practical guide for biologists. *Biological Reviews*, 82, 591-605.
- Nakagawa, S., Ockendon, N., Gillespie D.O.S., Hatchwell, B.J. & Burke, T. 2007. Assessing the function of house sparrows' bib size using a flexible meta-analysis method. *Behavioral Ecology*, 18, 831-840.
- Nordling, D., Andersson, M., Zohari, S. & Gustafsson, L. 1998. Reproductive effort reduces specific immune response and parasite resistance. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 265, 1291-1298.
- Peterson, C.C., Nagy, K.A. & Diamond, J. 1990. Sustained metabolic scope. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87, 2324-2328.
- Petrie, M. & Williams, A. 1993. Peahens lay more eggs for peacocks with larger trains. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 251, 127-131.
- Pinheiro, J.C. & Bates, D.M. 2000. *Mixed-effects models in S and S-Plus*. New York, EUA: Springer. 528 p.
- Quinn, G.P. & Keough, M.J. 2002. *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press. 537 p.
- R Development Core Team. 2008. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL (<http://www.R-project.org>).

- Reynolds, J.D. & Székely, T. 1997. The evolution of parental care in shorebirds: life histories, ecology, and sexual selection. *Behavioral Ecology*, 8, 126-134.
- Rice, W.R. 1989. Analysing tables of statistical tests. *Evolution*, 43, 223-225.
- Russell, A.F., Langmore, N.E., Cockburn, A., Astheimer, L.B. & Kilner, R.M. 2007. Reduced egg investment can conceal helper effect in cooperatively breeding birds. *Science*, 317, 941-944.
- Saracura, V. 2003. Estratégias reprodutivas e investimento parental em quero-quero. *Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal*, Universidade de Brasília, Brasília.
- Saracura, V., Macedo, R.H. & Blomqvist, D. 2008. Genetic parentage and variable social structure in breeding southern lapwings. *The Condor*, 110, 554-558.
- Shawkey, M.D., Kosciuch, K.L., Liu, M., Rohwer, F.C., Loos, E.R., Wang, J.M. & Beissinger, S.R. 2008. Do birds differentially distribute antimicrobial proteins within clutches of eggs? *Behavioral Ecology*, 19, 920-927.
- Sokal, R.R. & Rohlf, R.F. 1996. *Biometry*. New York, EUA: W.H. Freeman and Co. 880 p.
- Stutchbury, B.J.M. & Morton, E.S. 2001. *Behavioral ecology of tropical birds*. London, Reino Unido: Academic Press. 175 p.
- Székely, T., Thomas, G.H. & Cuthill, I.C. 2006. Sexual conflict, ecology, and breeding systems in shorebirds. *BioScience*, 56, 801-808.
- Thompson, B. 2002. What future quantitative social science research could look like: Confidence intervals for effect sizes. *Educational Researcher*, 31, 25-32.
- Wallander, J. & Andersson, M. 2002. Clutch size limitation in waders: experimental test in redshank *Tringa totanus*. *Oecologia*, 130, 391-395.
- Walters, J.R. 1982. Parental behavior in lapwings (Charadriidae) and its relationships with clutch sizes and mating systems. *Evolution*, 36, 1030-1040.
- Webb, D.R. 1987 Thermal tolerance of avian embryos: a review. *The Condor*, 89, 874-898.

- White, F.N. & Kinney, J.L. 1974. Avian incubation. Interactions among behaviour, environment, nest and eggs result in regulation of egg temperature. *Science*, 186, 107-115.
- Wilkinson, L. & Task Force on Statistical Inference. 1999. Statistical methods in psychology journals. *American Psychologist*, 54, 594-604.
- Williams, G.C. 1966. Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lack's principle. *The American Naturalist*, 100, 687-690.
- Wright, S.P. 1992. Adjusted P-values for simultaneous inference. *Biometrics*, 48, 1005-1013.