

MARCADORES FENOTÍPICOS DE VALOR ADAPTATIVO EM
CAROLLIA PERSPICILLATA (LINNAEUS, 1758)

BRENO MELLADO DA ROCHA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

FEVEREIRO 2022

MARCADORES FENOTÍPICOS DE VALOR ADAPTATIVO EM
CAROLLIA PERSPICILLATA (LINNAEUS, 1758)

BRENO MELLADO DA ROCHA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

FEVEREIRO 2022

MARCADORES FENOTÍPICOS DE VALOR ADAPTATIVO EM
CAROLLIA PERSPICILLATA (LINNAEUS, 1758)

BRENO MELLADO DA ROCHA

Tese apresentada ao Centro de
Biociências da Universidade Estadual do
Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como
parte das exigências para a obtenção do
título de doutor em Ecologia e Recursos
Naturais

Orientador: Dr. Leandro Rabello Monteiro

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

R672 Rocha, Breno Mellado da.

MARCADORES FENOTÍPICOS DE VALOR ADAPTATIVO EM *CAROLLIA PERSPICILLATA* (LINNAEUS, 1758) / Breno Mellado da Rocha. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2022.

172 f.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologia, 2022. Orientador: Leandro Rabello Monteiro.

1. Valor adaptativo. 2. Marcação-recaptura. 3. Seleção natural. 4. Seleção sexual. 5.

Marcadores fenotípicos. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 577

MARCADORES FENOTÍPICOS DE VALOR ADAPTATIVO EM
CAROLLIA PERSPICILLATA (LINNAEUS, 1758)

BRENO MELLADO DA ROCHA

Tese apresentada ao Centro de
Biotecnologias da Universidade Estadual do
Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como
parte das exigências para a obtenção do
título de doutor em Ecologia e Recursos
Naturais

Aprovada em:

Comissão examinadora:

APC Neto

Prof. Ariovaldo Pereira da Cruz Neto (UNESP)

CRM

Prof. Carlos Ramón Ruiz-Miranda (UENF)

Bernard

Prof. Enrico Bernard (UFPE)

L R M

Prof. Leandro Rabello Monteiro (UENF)
(Orientador)



Governo do Estado do Rio de Janeiro
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

DECLARAÇÃO

Eu, Marina Satika Suzuki, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPG-ERN) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), seguindo a Resolução CPPG nº2 de 2021, declaro validadas as assinaturas constantes da Folha de Assinaturas da Tese intitulada “**Marcadores Fenotípicos de Valor Adaptativo em *Carollia perspicillata* (Linnaeus, 1758)**” de autoria de Breno Mellado da Rocha, defendida no dia 18 de março de 2022.

Campos dos Goytacazes, 15 de junho de 2022

Marina Satika Suzuki
Coordenadora PPG-ERN / UENF
ID. Funcional 641333-1



Documento assinado eletronicamente por **Marina Satika Suzuki, Coordenadora**, em 15/06/2022, às 08:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento nos art. 21º e 22º do [Decreto nº 46.730, de 9 de agosto de 2019](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.fazenda.rj.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=6, informando o código verificador **34537345** e o código CRC **228B80EC**.

Sumário

Introdução.....	1
Estimadores de valor adaptativo.....	2
Modelos de marcação-recaptura multiestado.....	5
Marcadores Fenotípicos De Valor Adaptativo.....	10
Sistema modelo e objetivos do estudo.....	13
Referências bibliográficas.....	20
Capítulo 1: The impacts of marking on bats: mark-recapture models for assessing injury rates and tag loss.....	32
Introduction.....	34
Materials and Methods.....	36
Results.....	41
Discussion.....	46
Literature Cited.....	50
Supplementary Data.....	56
<i>Supplementary Data S1.....</i>	<i>56</i>
<i>Supplementary Data S2.....</i>	<i>57</i>
<i>Supplementary Data S3.....</i>	<i>58</i>
<i>Supplementary Data S4.....</i>	<i>59</i>
<i>Supplementary Data S5.....</i>	<i>60</i>
<i>Supplementary Data S6.....</i>	<i>61</i>
Capítulo 2: Instabilidade do desenvolvimento, reprodução e resposta imunológica em morcegos-de-cauda-curta (<i>Carollia perspicillata</i>).....	62
Introdução.....	64
Metodologia.....	66
<i>Área de estudo e procedimentos de campo.....</i>	<i>66</i>
<i>Análise da assimetria.....</i>	<i>67</i>
<i>Avaliação da resposta imunológica.....</i>	<i>68</i>
<i>Análises estatísticas.....</i>	<i>70</i>
Resultados.....	70
Discussão.....	75
Conclusão.....	80
Referências Bibliográficas.....	81

Capítulo 3: Morfologia, dimorfismo sexual e atividade reprodutiva como preditores da força de mordida em morcegos-de-cauda-curta (<i>Carollia perspicillata</i>).....	89
Resumo.....	90
Introdução.....	91
Metodologia.....	93
<i>Área de estudo e procedimentos no campo.....</i>	<i>93</i>
<i>Análise de assimetria.....</i>	<i>94</i>
Estimativa da força de mordida.....	95
<i>Análises estatísticas.....</i>	<i>96</i>
Resultados.....	97
Discussão.....	99
Conclusão.....	102
Referências Bibliográficas.....	103
Capítulo 4: Medidas de tamanho corporal: dinâmica evolutiva e associações com valor adaptativo em morcegos-de-cauda-curta (<i>Carollia perspicillata</i>)....	109
Introdução.....	111
Materiais e Métodos.....	115
<i>Área de estudo e procedimentos de campo.....</i>	<i>115</i>
<i>Marcação, medição e avaliação dos morcegos.....</i>	<i>116</i>
<i>Variação na massa corporal e comprimento do antebraço.....</i>	<i>117</i>
<i>Modelos de marcação e recaptura multiestado.....</i>	<i>119</i>
Resultados.....	122
<i>Variação da massa corporal e comprimento do antebraço.....</i>	<i>122</i>
<i>Modelos de marcação e recaptura multiestado.....</i>	<i>124</i>
Discussão.....	126
Referências Bibliográficas.....	133
Figuras.....	143
Tabelas.....	147
Conclusão Geral.....	152

Lista de Figuras

Introdução

Figura 1. Diagrama dos eventos de captura e das probabilidades de transição para animais capturados com evidência de estado reprodutivo ou não-reprodutivo na primeira captura. Adaptado de Nichols *et al.* (1994).....

Figura 2. Abrigos utilizados por *C. perspicillata* na Reserva Biológica União, grupos de indivíduos no abrigo e métodos de captura.....

Figura 3. Métodos de trabalho utilizados neste estudo.....

Figura 4. Fluxograma geral do estado do conhecimento (Monteiro *et al.*, 2019) sobre as relações entre as variáveis fenotípicas, de performance, e componentes do valor adaptativo no sistema de estudo, de acordo com a estrutura conceitual de Arnold (1983) e Higham *et al.* (2021).....

Capítulo 1: The impacts of marking on bats: mark-recapture models for assessing injury rates and tag loss

Figure 1. Examples of injury types and damage to arm bands on *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil.....

Figure 2. Effect plots for the mixed-effects model predicting body condition (SMI) from arm band injury type and sex for *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil.....

Supplementary Data S2. Kaplan-Meier survival curves plotted as proportion of injury events (L1+L2) (upper panels) and arm band damage events (lower panels), comparing Sex (left panel) and age categories at first mark (right panels) for *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil.....

Capítulo 2: Instabilidade do desenvolvimento, reprodução e resposta imunológica em morcegos-de-cauda-curta (*Carollia perspicillata*)

Figura 1. Gráfico de efeitos do modelo linear relacionando resposta imunológica (índice PHA), com interações entre Sexo x Assimetria do Antebraço (A) e Sexo x tempo relativo à estação reprodutiva (B) em *Carollia perspicillata*.....

Figura 2. Gráfico de efeitos do modelo linear relacionando resposta imunológica (índice PHA), assimetria do antebraço e Comprimento do Testículo em machos de *Carollia perspicillata*.....

Capítulo 3: Morfologia, dimorfismo sexual e atividade reprodutiva como preditores da força de mordida em morcegos-de-cauda-curta (*Carollia perspicillata*)

Figura 1. Sistemas de medição de força de mordida utilizados neste estudo. (A) medidor baseado em um transdutor piezoelétrico (Kistler) (Herrel *et al.*, 1999).....

Figura 2. Gráfico de efeitos do modelo linear relacionando a força de mordida e massa corporal em machos de *Carollia perspicillata*.....

Figura 3. Gráfico de efeitos do modelo linear relacionando a força de mordida e o comprimento do testículos antes, durante e após os eventos reprodutivos de *Carollia perspicillata*.....

Capítulo 4: Medidas de tamanho corporal: dinâmica evolutiva e associações com valor adaptativo em morcegos-de-cauda-curta (*Carollia perspicillata*)

Figura 1. Gráficos dos efeitos do modelo misto predizendo a variação de massa corporal. Os pontos indicam resíduos parciais em relação ao preditor de cada gráfico.....

Figura 2. Gráficos dos efeitos do modelo misto predizendo a variação de comprimento do antebraço para a interação entre categoria etária e ano.....

Figura 3. Predições da probabilidade de sobrevivência aparente (S) para valores das covariáveis massa corporal e comprimento do antebraço, nos modelos de machos e fêmeas.

Figura 4. Predições da probabilidade de sobrevivência aparente (S) para valores das covariáveis estação e ano, nos modelos de machos e fêmeas.

Figura 5. Predições das probabilidades de transição entre estados reprodutivos para as covariáveis comprimento do antebraço de fêmeas, massa corporal de fêmeas, massa corporal de machos, estação e idade para ambos os sexos.....

Conclusão Geral

Figura 1. Fluxograma com as relações entre as variáveis fenotípicas, de performance, e componentes do valor adaptativo no sistema de estudo, de acordo com a estrutura conceitual de Arnold (1983) e Higham *et al.* (2021).....

Lista de Tabelas

Capítulo 1: The impacts of marking on bats: mark-recapture models for assessing injury rates and tag loss

Table 1. summary of occurrence of injury types and damage to arm bands in the sample of 531 recaptured *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil, by sex and age category at first marking.....

Table 2. Matrix with transition probabilities between injury levels for the two month interval between captures, estimated for the average SMI, by the multistate mark-recapture model for arm band-related injuries in *Carollia perspicillata* from southeastern Brazil.....

Supplementary Data S1. Parameter estimates for the mixed-effects model with data for *Carollia perspicillata* from southeastern Brazil, relating SMI to Sex, Band Injury Type, Year (as factor) and Month (as a sinusoidal term) as fixed effects, and individuals and month (as factor) as random effects.....

Supplementary Data S3. Model selection results for the mark-recapture multistate models fitted on the tag loss data for *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil.....

Supplementary Data S4. Betas estimated for covariates of each parameter in the best fitting mark-recapture multistate model for Tag loss data.....

Supplementary Data S5. Model selection results for the mark-recapture multistate models fitted on the arm band injury data for *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil.....

Supplementary Data S6.—Betas estimated for covariates of each parameter in the best fitting mark-recapture multistate model for Arm band-related injury data.....

Capítulo 2: Instabilidade do desenvolvimento, reprodução e resposta imunológica em morcegos-de-cauda-curta (*Carollia perspicillata*)

Tabela 1. Seleção de modelos predizendo resposta imunológica (índice PHA) em relação às variáveis predictoras Massa Corporal (MC), Estação Reprodutiva (Est), Assimetria do Antebraço (AAnt), Comprimento do Antebraço (CAnt), Sexo, e a interação entre AAnt e Sexo em *Carollia perspicillata*.....

Tabela 2. Seleção de modelos predizendo resposta imunológica (índice PHA) em relação às variáveis preditoras Assimetria do Antebraço (Aant), Comprimento do Antebraço (Cant), Peso e Comprimento do Testículo (CT) em machos de *C. perspicillata*.....

Capítulo 3: Morfologia, dimorfismo sexual e atividade reprodutiva como preditores da força de mordida em morcegos-de-cauda-curta (*Carollia perspicillata*)

Tabela 1. Seleção de modelos predizendo força de mordida de *Carollia perspicillata* (machos) em relação às variáveis preditoras.....

Capítulo 4: Medidas de tamanho corporal: dinâmica evolutiva e associações com valor adaptativo em morcegos-de-cauda-curta (*Carollia perspicillata*)

Tabela 1. Seleção de modelos lineares mistos predizendo massa corporal. Apenas os dez primeiros são mostrados.....

Tabela 2. Parâmetros estimados para os efeitos do modelo misto com melhor ajuste predizendo a variação de massa corporal de *Carollia perspicillata* na Reserva Biológica União.....

Tabela 3. Seleção de modelos lineares mistos predizendo Comprimento do Antebraço. Apenas os dez primeiros são mostrados.....

Tabela 4. Parâmetros estimados para os efeitos do modelo misto com melhor ajuste predizendo a variação de Comprimento do Antebraço de *Carollia perspicillata* na Reserva Biológica União.....

Tabela 5. Resultado da seleção de modelos multiestado ajustados aos dados de marcação e recaptura de *Carollia perspicillata* no sudeste do Brasil.....

Tabela 6. Betas estimados para as covariáveis de cada parâmetro no modelo multiestado com melhor ajuste para marcação e recaptura de fêmeas de *Carollia perspicillata* na Reserva Biológica União.....

Tabela 7. Betas estimados para as covariáveis de cada parâmetro no modelo multiestado com melhor ajuste para marcação e recaptura de machos de *Carollia perspicillata* na Reserva Biológica União.....

Resumo

O valor adaptativo é a moeda corrente do processo de seleção natural, integrando a expressão fenotípica dos genótipos e seu desempenho funcional, levando à sobrevivência e reprodução. Devido à dificuldade de medir os componentes do valor adaptativo em populações naturais, é necessário encontrar medidas indiretas que possam ser utilizados como marcadores (*proxies*). O objetivo geral deste estudo foi testar hipóteses de associação entre variáveis fenotípicas, como assimetria individual (associada à instabilidade do desenvolvimento - ID), tamanho corporal e indicadores reprodutivos (como o tamanho dos testículos), e componentes de performance: condição corporal, força de mordida e resposta imunológica. A partir destas relações, buscamos elucidar os mecanismos responsáveis por associações fenótipo-performance-valor adaptativo, assim como entender de que maneira estas relações influenciam os padrões de seleção natural e sexual em *Carollia perspicillata*. O presente estudo é parte de um projeto de longo prazo que acompanha desde 2013 uma população de *C. perspicillata* na Reserva Biológica União - RJ. No primeiro capítulo apresentamos o efeito da marcação a longo prazo sobre a sobrevivência e condição corporal de *C. perspicillata*. Observamos que colares são menos prejudiciais que anilhas, mas são perdidos com maior frequência. Nos capítulos seguintes, mostramos que diferenças de resposta imunológica entre os sexos possivelmente são associadas ao custo energético da reprodução resultando em soluções de compromisso. A assimetria do antebraço apresentou relação inversamente proporcional com a resposta imunológica, corroborando a hipótese da influência sistêmica da ID. O dimorfismo sexual na performance da força de mordida e sua associação positiva com a massa corporal e comprimento dos testículos sugere uma forte influência no contexto de seleção sexual e dominância dos machos. O comprimento do antebraço não apresentou associação com marcadores de performance (força de mordida e resposta imunológica) e teve menor influência do que a massa corporal na predição da sobrevivência e reprodução. A massa corporal é positivamente associada com componentes de sobrevivência e reprodução, mostrando ser uma medida de tamanho estrutural dos morcegos, mas influenciada também pelo estado nutricional e reprodutivo. Diferentes indicadores de tamanho possuem interpretações diferentes, além de apresentar dinâmicas evolutivas e demandas funcionais particulares. É preciso que as medidas

mantenham conexão com o contexto teórico, a escala e a estrutura relacional empírica que pretendem representar.

Abstract

Fitness is the currency of natural selection, integrating the phenotypic expression of genotypes and their functional performance, leading to survival and reproduction. Due to the difficulty of measuring the fitness components in natural populations, it is necessary to find indirect measures that can be used as proxies. The overall objective of this study was to test hypotheses of association between phenotypic variables, such as individual asymmetry (associated with developmental instability-ID), body size and reproductive indicators (such as testes size), and performance components: body condition, bite force and immune response. From these relationships, we seek to elucidate the mechanisms responsible for phenotype-performance-fitness associations, as well as to understand how these relationships influence patterns of natural and sexual selection in *Carollia perspicillata*. The present study is part of a long-term project that has been monitoring a population of *C. perspicillata* since 2013, in the Reserva Biológica União - RJ. In the first chapter we present the effect of long-term tagging on survival and body condition of *C. perspicillata*. We observed that collars are less damaging than arm bands, but are lost more frequently. In the following chapters, we show that differences in immune response between the sexes possibly are associated with the energetic cost of reproduction, resulting in trade-offs. Forearm asymmetry showed a negative relationship with immune response, supporting the hypothesis of systemic influence of ID. Sexual dimorphism in bite force performance and its positive association with body mass and testis length suggests a strong influence in the context of sexual selection and dominance of males. Forearm length showed no association with performance (bite force and immune response) and had less influence than body mass in predicting survival and reproduction. Body mass is positively associated with components of survival and reproduction, showing it to be a measure of structural size in bats, but also influenced by nutritional and reproductive status. Different size measurements have different interpretations, as well as presenting particular evolutionary dynamics and functional demands. Measures need to maintain a connection to the theoretical context, scale, and empirical relational structure they are intended to represent.

Introdução

O valor adaptativo ou aptidão é um dos conceitos centrais na biologia evolutiva e foi de extrema importância na construção da teoria da seleção natural (Wagner, 2010; Abrams, 2012), sendo moeda corrente em modelos para o estudo da evolução, seja no nível de populações ou mesmo macroevolutivo (Bell, 2008; Roff, 2010; Hendry, 2017). O valor adaptativo dos organismos pode ser quantificado como a quantidade de descendentes deixados ao longo da vida, combinando um componente de sobrevivência e um componente de reprodução (Roff, 2010), os quais são por sua vez influenciados pela performance funcional do organismo na obtenção de alimento, fuga de predadores, resistência a parasitas, habilidades em encontrar abrigo e parceiros para acasalamento, entre outros agentes de seleção (Roff, 2001; Irschick e Higham, 2016). A consequência dessa sobrevivência e fecundidade é a propagação das características favoráveis geneticamente determinadas para as futuras gerações (Orr, 2009).

Acessar o valor adaptativo médio de um genótipo é um passo fundamental para explicar a dinâmica evolutiva (Hendry et al., 2018). Entender os padrões microevolutivos dentro das populações, como as mudanças nas frequências gênicas entre gerações, permite prever a intensidade e a direcionalidade da seleção, contribuindo assim para o entendimento dos padrões macroevolutivos de especiação (Hendry e Kinnison, 1999). O aumento do valor adaptativo médio populacional durante o processo de adaptação contribui para o aumento da taxa de crescimento e da probabilidade de persistência da população em um determinado ambiente (Coulson et al., 2006; Harrison et al., 2019). O valor adaptativo é um parâmetro fundamental que conecta a biologia evolutiva e a ecologia de populações, servindo como ferramenta para auxiliar o manejo e a conservação de populações suscetíveis à mudança ambiental (Johnson et al., 2021; Volzke et al., 2021) e à degradação genética (Harrison et al., 2019).

Apesar da sua relevância, medir o valor adaptativo diretamente é desafiador e muitas vezes logisticamente impraticável (Rouan et al., 2008). No entanto, é possível encontrar medidas correlacionadas com os componentes do valor adaptativo que podem ser utilizadas como marcadores (*proxy*) para estudos de seleção natural (Brommer et al., 2004; Irschick, 2003). Estas aproximações do

valor adaptativo, em geral incorporam medidas de vigor físico, como a força de mordida ou condição corporal (Anderson *et al.*, 2008), diferenças bilaterais (assimetria) em variáveis fenotípicas (Van Dongen, 2006), medição de respostas imunológicas (Demas *et al.*, 2011), além de medidas mais diretas como a contagem de filhotes ou testes genéticos de paternidade quando possível (Fasel *et al.*, 2016).

Estimadores de valor adaptativo

Existe uma discussão na ecologia evolutiva, se as estimativas de valor adaptativo devem focar em agregações de indivíduos (estimadores demográficos) ou nos próprios indivíduos (estimadores individuais) (Brommer *et al.*, 2002; Cooch *et al.*, 2002). Apesar de ambos estimadores, individuais e populacionais, medirem taxas de crescimento de alguma unidade biológica, as medidas representam estimativas conceitualmente diferentes (Brommer *et al.*, 2004).

Os modelos teóricos assumem que o valor adaptativo é um parâmetro que permite prever o crescimento populacional, o aumento da frequência de um gene, ou, no caso da genética quantitativa, a mudança na média de algum caráter quantitativo (Cooch *et al.*, 2002). Em aplicações práticas, se não existem grupos claros como clones ou indivíduos que compartilham genótipos, as estimativas de valor adaptativo precisam ser realizadas no nível individual (Link *et al.*, 2002). O valor adaptativo estimado no nível individual busca representar o valor adaptativo demográfico, através de propriedades demográficas como sobrevivência e fecundidade (McGraw e Caswell, 1996). Conceitualmente, o somatório das médias dos valores adaptativos individuais deveria representar o valor adaptativo estimado demograficamente. No entanto, existe uma limitação metodológica que faz com que os resultados obtidos a partir de estimadores individuais e demográficos sejam diferentes em alguns casos (Brommer *et al.*, 2002; Cooch *et al.*, 2002). Apesar destas críticas, existem situações onde não é possível estimar o valor adaptativo demograficamente (Benton e Grant, 2000). Do ponto de vista pragmático, em populações naturais, os pesquisadores realizam as estimativas no nível individual e assumem que o resultado reflete uma tendência demográfica (Link *et al.*, 2002).

As estimativas de valor adaptativo podem ser obtidas a partir de estudos longitudinais ou transversais (Charlesworth, 1994). Os estudos com abordagem transversal são baseados em sucessivas amostras de dados coletados em pontos específicos no tempo (Kingsolver *et al.*, 2001). Estudos longitudinais acompanham os indivíduos em um espaço temporal maior, possibilitando acessar componentes que não são observados nos estudos transversais. Por exemplo, uma abordagem a longo prazo permite detectar a variação do valor adaptativo em diferentes classes de indivíduos e coortes (Gaillard *et al.*, 2000; Loison *et al.*, 2004), avaliar com maior precisão e detalhamento a relação entre características fenotípicas e o sucesso reprodutivo dos indivíduos (Salles *et al.*, 2020), assim como detectar soluções de compromisso entre o investimento reprodutivo e sobrevivência (Hayward *et al.*, 2014; Oosthuizen *et al.*, 2019).

Do ponto de vista analítico os estudos longitudinais também são mais indicados para estimativas de valor adaptativo, pois as análises propostas para abordagens transversais envolvem uma quantidade considerável de premissas, como ambiente constante e de não dependência de densidade (Benton e Grant, 2000). No entanto, o desenvolvimento de estudos a longo prazo exige um esforço maior por parte dos pesquisadores, sendo em alguns casos, impossível de se realizar em populações naturais (Barrowclough e Rockwell, 1993). Por este motivo, a maior parte das estimativas de valor adaptativo que envolvem populações naturais apresentam uma abordagem transversal, com estudos curtos em relação ao tempo de vida da espécie, considerando uma ou poucas gerações (Brommer *et al.*, 2002; Hendry *et al.*, 2018).

Os estimadores de valor adaptativo também podem ser distinguidos pela incorporação do tempo de início da reprodução nas estimativas, ou se apenas consideram o número total de filhotes produzidos (Brommer *et al.*, 2004). No caso dos estimadores sensíveis às taxas reprodutivas, leva-se em consideração que as probabilidades futuras de sobrevivência e fecundidade de cada classe de indivíduos dependem da sua idade (Clutton-Brock *et al.*, 2004). É recomendado que estas populações sejam estudadas a partir de estimadores que levam em consideração o início da idade reprodutiva dos indivíduos (Charlesworth, 1994), pois em alguns casos o resultado obtido a partir de cada estimador pode levar a interpretações diferentes sobre o sistema (Brommer, 2000), principalmente no que diz respeito aos padrões de seleção (McGraw e Caswell, 1996).

Os estimadores mais encontrados em estudos com populações naturais são o sucesso reprodutivo total (SRT), que representa o número total de filhotes produzidos e que sobreviveram até uma certa idade (nascimento, 1 ano de idade) ou estágio (recém nascido, desmame, recrutas) (McLoughlin *et al.*, 2006; Pigeon e Pelletier, 2018); e o sucesso de acasalamento total (SAT) que corresponde ao número de filhotes produzidos desde o nascimento até a morte de um indivíduo (Hayward *et al.*, 2014; Lukas e Clutton-Brock, 2014). Estes estimadores não incorporam informações sobre o tempo de início da reprodução dos indivíduos. O importante é a quantidade de filhotes, não quando eles foram produzidos (Gimenez e Gaillard, 2018). McGraw e Caswell (1996) propuseram a taxa de propensão ao crescimento ou λ_{ind} , que incorpora o número total de filhotes produzidos ao longo da vida e a idade dos indivíduos reprodutores em cada evento reprodutivo. Sua estimativa é baseada na matriz de projeção classificada por idade de cada indivíduo ($A^{(m)}$). Essa matriz combina as probabilidades de sobrevivência e fecundidades específicas por idade, sendo o autovalor dominante de $A^{(m)}$, $\lambda^{(m)}$, uma estimativa do valor adaptativo do indivíduo m (ver Brommer *et al.*, 2002), que *corresponde* a uma taxa de crescimento populacional dos seus descendentes (McGraw e Caswell, 1996).

Estimadores demográficos de valor adaptativo em estudos com populações naturais são a taxa reprodutiva líquida (R_0) e a taxa de crescimento intrínseco (λ_{pop}). Ambos permitem avaliar mudanças ao longo das gerações como o crescimento e diminuição populacional (Stearns, 1992; Brommer *et al.*, 2002). A taxa reprodutiva líquida representa o número esperado de filhotes do mesmo sexo produzidos por um indivíduo ao longo de toda sua vida, sem incluir o tempo de reprodução dos indivíduos (Charlesworth, 1994). Por outro lado, a taxa de crescimento populacional intrínseco (λ_{pop}) é análoga ao λ_{ind} , pois leva em consideração a variação temporal na sobrevivência e reprodução (Brommer *et al.*, 2004), mas utiliza a matriz de projeção populacional A , com estimativas de fecundidade e probabilidades de sobrevivência baseadas na população como um todo.

Os estudos que buscam estimar o valor adaptativo em populações naturais requerem o acompanhamento dos indivíduos para determinar a história de vida dos organismos e estimar os componentes do valor adaptativo, como a sobrevivência e a fecundidade (Rouan *et al.*, 2009). Estimar a sobrevivência em

populações naturais é particularmente difícil devido à dificuldade de amostragem e de detecção dos organismos (Lebreton *et al.*, 2009). A dificuldade de detecção no campo normalmente está associada a questões como o esforço amostral, baixa densidade populacional, ampla área de vida ou devido ao comportamento críptico das espécies (Kellner e Swihart, 2014).

Modelos de marcação-recaptura multiestado

Os modelos de de marcação-recaptura de multiestado possuem um grande potencial de contribuir para melhor entendimento de questões ecológicas e evolutivas (Nichols e Kendall, 1995), e podem realizar a conexão entre o trabalho de monitoramento de indivíduos no campo e os modelos populacionais para o cálculo do valor adaptativo (Clobert, 1995). Considerando que diferentes capítulos desta tese utilizaram versões de modelos multiestado para atingir os objetivos, uma introdução um pouco mais detalhada e técnica sobre estes modelos tem lugar nesta seção. Descrevemos aqui a versão dos modelos multiestado implementados no programa MARK (White e Burnham, 1999), e pelo pacote RMark (Laake, 2013), que foram utilizados nos capítulos da tese. Modelos de marcação-recaptura são utilizados para estimar parâmetros de sobrevivência desde a década de 1930 (Seber e Schofield, 2019). Na época, a ênfase dos métodos era a estimativa do tamanho populacional, mas ecólogos e biólogos evolutivos já mostravam grande interesse na estrutura das probabilidades de sobrevivência (Lebreton *et al.*, 1992). Posteriormente, os modelos Cormack-Jolly-Seber (CJS) para populações abertas começaram a receber maior atenção para estimativas de parâmetros demográficos como probabilidade de sobrevivência e probabilidade de recrutamento (Cam, 2008). Os modelos de marcação-recaptura multiestado foram propostos como versões mais generalizadas dos modelos tradicionais (Amstrup *et al.*, 2005) para lidar com as diferenças nas probabilidades de sobrevivência e de detecção de acordo com diferentes classes ou estados dos animais, assim como suas transições, que podem ser definidas de acordo com a localização, fisiologia, comportamento, estado reprodutivo ou qualquer outra característica de relevância biológica (Nichols e Kendall, 1995; Lebreton *et al.*, 2009; Rotella, 2009). Os modelos multiestado lidam com a incerteza na classificação dos estados, possibilitando que os pesquisadores estimem

componentes do valor adaptativo quando a amostragem é imperfeita (Desprez *et al.*, 2017; Oosthuizen *et al.*, 2019).

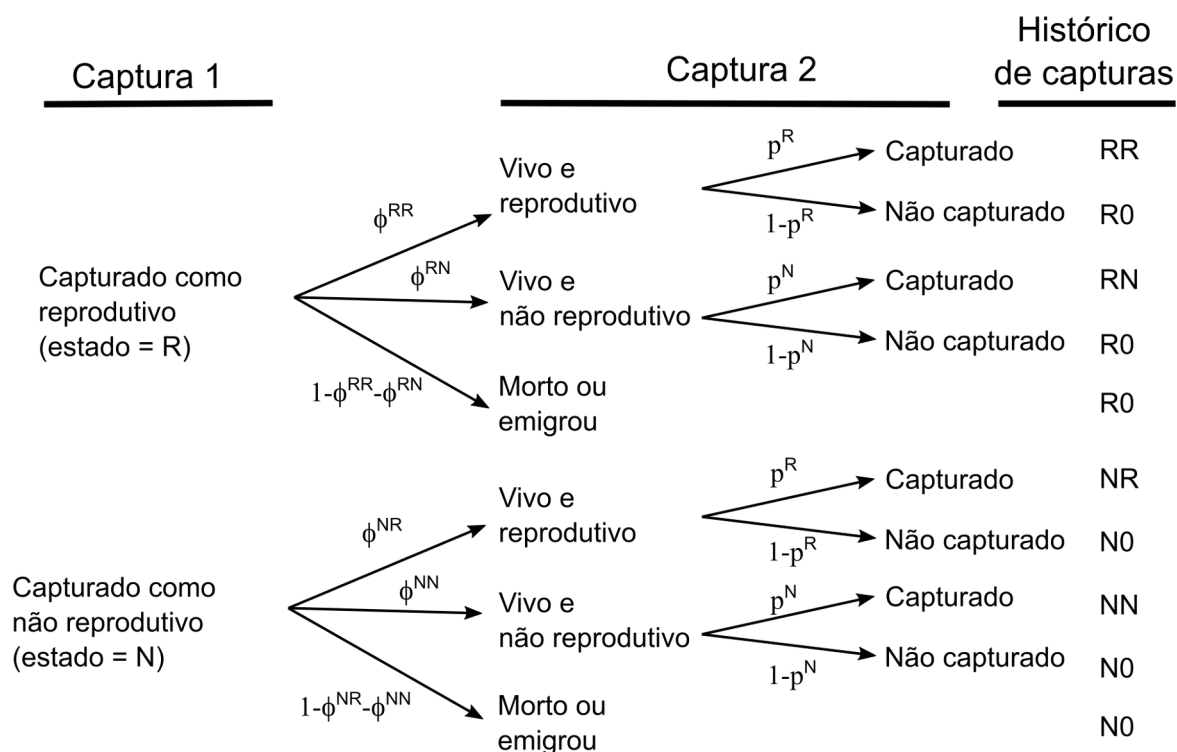


Figura 1: Diagrama dos eventos de captura e das probabilidades de transição para animais capturados com evidência de estado reprodutivo ou não-reprodutivo na primeira captura, em um exemplo de histórico com dois eventos de captura. Adaptado de Nichols *et al.* (1994).

Os dados incorporados nos modelos são obtidos através de múltiplos eventos de soltura e captura de animais marcados. Em cada evento de captura novos indivíduos são marcados e são registrados a recaptura de animais previamente marcados. A partir das recapturas dos animais é construído um histórico de capturas para cada indivíduo, que é utilizado para estimar os parâmetros do modelo (Figura 1). Os modelos de multiestado são estruturados a partir de uma distribuição multinomial, que descreve a probabilidade de um resultado quando o mesmo deve ser um dentre um conjunto de possibilidades, ou seja, os eventos devem ser mutuamente exclusivos (White *et al.*, 2006).

Os parâmetros deste modelo são: ϕ_i^{NR} que é a probabilidade de um animal no estado N no tempo i estar vivo no estado R no tempo $i + 1$, que multiplica a probabilidade de sobrevivência e de transição entre os estados; p_i^R que é a probabilidade de um animal previamente marcado estar vivo no estado R

no tempo i ser recapturado (Lebreton et al., 2009). Considerando independência entre sobrevivência e transição de estado, é possível decompor a probabilidade de transição em componentes separados:

$$\phi_i^{NR} = S_i^N \psi_i^{NR} ,$$

onde S_i^N é a probabilidade de um animal vivo no estado N no tempo i sobreviver até $i + 1$ e ψ_i^{NR} é a probabilidade de um animal vivo no estado N , no tempo i , estar no estado R no tempo $i + 1$ (probabilidade de transição entre estados). Desta maneira, um histórico de capturas igual a NR (capturado vivo em estado não reprodutivo na primeira ocasião e capturado vivo em estado reprodutivo na segunda ocasião) teria probabilidade igual a $S_i^N \psi_i^{NR} p^R$, o produto das probabilidades de sobreviver até a segunda captura, a probabilidade de mudar de estado (N - R) e a probabilidade de ser recapturado no estado R (White et al., 2006). As estimativas dos parâmetros do modelo são baseados na máxima verossimilhança, o produto das probabilidades de cada histórico de captura individual, permitindo encontrar o valor mais provável de um parâmetro dado um determinado conjunto de históricos (Amstrup et al., 2005).

É possível separar os históricos de captura individuais em grupos de acordo com covariáveis categóricas (como sexo ou tipo de marcação), de modo que parâmetros diferentes sejam estimados para cada grupo. Todos parâmetros podem também variar no tempo, de acordo com as ocasiões de captura, as quais podem ser associadas a covariáveis de delineamento (*design covariates*), que apresentam um valor (ou nível categórico) para cada ocasião de captura. Variação temporal nos parâmetros também pode ser implementada de acordo com a idade dos indivíduos ou o tempo desde a primeira marcação (White e Burnham, 1999). Os parâmetros do modelo podem ser substituídos por modelos ultraestruturais (Nichols e Kendall, 1995), relacionando os parâmetros a covariáveis individuais contínuas ou categóricas:

$$S_i = \frac{e^{\beta_1 + \beta_2(X_i)}}{1 + e^{\beta_1 + \beta_2(X_i)}} ,$$

e a função de ligação logit

$$\ln\left(\frac{S_i}{1-S_i}\right) = \beta_1 + \beta_2(X_i) ,$$

onde os betas são parâmetros do modelo linear para prever valores de S a partir da covariável X para o indivíduo i . No caso dos parâmetros de transição (ψ) dos

modelos multiestado, uma restrição adicional é exigida (i.e. $\psi^{NN} = 1 - \psi^{NR}$), ou no caso de mais de dois estados, que a soma de todas as transições seja igual a 1, o que é conseguido com um conjunto de funções logit multinomiais (White *et al.*, 2006):

$$\psi_i^{NR} = \frac{e^{\beta_1 + \beta_2(X_i)}}{1 + e^{\beta_1 + \beta_2(X_i)}} ,$$

$$\psi_i^{NN} = \frac{e^{\beta_1 + \beta_2(X_i)}}{1 + e^{\beta_1 + \beta_2(X_i)}} ,$$

que precisam ser estimadas em conjunto. Desta maneira, a heterogeneidade entre indivíduos causada por diferenças fenotípicas pode ser incorporada nos modelos, predizendo probabilidades de sobrevivência e de transição entre estados para diferentes valores das covariáveis individuais. Os parâmetros evolutivos de maior interesse passam a ser os betas relacionando as covariáveis individuais com as probabilidades de sobrevivência ou de transição entre estados reprodutivos. O ajuste dos modelos com diferentes combinações de covariáveis para cada parâmetro pode ser realizado por máxima verossimilhança e os modelos ajustados comparados a partir de critérios de informação (Amstrup *et al.*, 2005).

O uso dos modelos multiestado assumem as mesmas premissas dos modelos CJS:

1. Todos animais marcados e presentes na população na ocasião de captura (i) apresentam a mesma probabilidade de recaptura (p).
2. Todos animais marcados na população imediatamente após a ocasião (i) apresentam a mesma probabilidade de sobreviver até a ocasião ($i+1$).
3. As marcas não são perdidas.
4. As amostras em cada captura são instantâneas, relativas ao intervalo entre as ocasiões (i) e ($i+1$).

Além destas, os modelos multiestado assumem adicionalmente que (Amstrup *et al.*, 2005):

1. O estado do indivíduo na recaptura é registrado sem erro.
2. As probabilidades de transição entre estados são as mesmas para todos os indivíduos no estado s , na ocasião (i).
3. A probabilidade de transição e recaptura não depende do histórico passado do animal.

A quebra destas premissas pode gerar viés na confiabilidade das estimativas dos parâmetros, como no caso de sobredispersão em modelos lineares generalizados, o que pode ser testado e, até certo ponto corrigido a partir de fatores de inflação de variância (Lebreton *et al.*, 1992). Os testes de ajuste (*goodness of fit*), assim como as premissas, não contemplam a heterogeneidade e a variação dos parâmetros no nível dos indivíduos de acordo com os modelos lineares. Desta maneira, os testes de ajuste podem ser conservadores demais e os fatores de inflação de variância representarem uma “super-correção” dos erros dos parâmetros (J. Laake, comunicação pessoal). Por fim, é importante ressaltar que a relação entre covariáveis fenotípicas e os parâmetros de sobrevivência e reprodução é basicamente correlativa (Nichols *et al.*, 1994), sem que seja explicitado o mecanismo responsável pela associação. Além disso, associações fenotípicas incorporam informações sobre a variabilidade genética subjacente, mas a direção das associações baseadas em valores fenotípicos e genéticos (*breeding values*) podem ser diferentes (Bonnet *et al.*, 2017), sendo relevante, quando possível, utilizar estimativas de parentesco no cálculo das covariáveis.

Os modelos de multiestado permitem testar hipóteses sobre compromissos em relação aos custos reprodutivos para a sobrevivência ou reprodução futura ou em ambos componentes do valor adaptativo (Nichols, *et al.*, 1994). De uma maneira geral, os compromissos ou *trade-off* se referem aos diferentes processos ou mecanismos fisiológicos, genéticos, morfológicos e ecológicos que causam o aumento em um dos componentes do valor adaptativo e a diminuição de outro componente, gerando um limite no valor adaptativo factível, a solução de compromisso (Cohen *et al.*, 2019).

As soluções de compromisso podem ser definidas e categorizadas em, pelo menos, seis maneiras diferentes, que não são mutuamente exclusivas (Garland Jr. *et al.*, 2021). Três são reportadas com maior frequência e serão abordadas ao longo do presente estudo: (1) restrições na alocação de algum recurso limitante, como energia, tempo, balanço hídrico, etc (Muñoz-Garcia *et al.*, 2022; Mowles e Jepson, 2015); (2) seleção sexual, que ocorre quando um caráter sexual secundário (geralmente nos machos) aumenta o sucesso reprodutivo, mas prejudica a sobrevivência ou impõe custos energéticos ou restrições que reduzem outros componentes do valor adaptativo (Pitnick *et al.*, 2006; Komar *et al.*, 2022);

(3) conflitos funcionais, que ocorrem quando o aumento na performance em uma atividade diminui a performance da outra (Wilson e James 2004).

Marcadores Fenotípicos De Valor Adaptativo

Estimar o valor adaptativo em populações naturais pode ser uma tarefa desafiadora, dependendo do sistema modelo (Gimenez et al., 2009). De uma maneira geral, as dificuldades encontradas no campo estão relacionados à detecção dos organismos (Lebreton et al., 2009), ao monitoramento de uma grande quantidade de indivíduos em um espaço temporal longo e à determinação da condição reprodutiva (Rouan et al., 2009; Gimenez e Gaillard, 2018). Acompanhar uma coorte de indivíduos ao longo de suas vidas, desde o nascimento até a morte, pode ser uma tarefa impossível para grupos com baixa probabilidade de recaptura (Bell, 2008).

Quando não é possível realizar a quantificação diretamente pela contagem do número de filhotes ou através de teste genético de paternidade, pode-se utilizar variáveis que sejam correlacionadas com os componentes de sobrevivência e reprodução como marcadores (*proxies*) de valor adaptativo (McGraw e Caswell, 1996; Irschick, 2003; Brommer et al., 2004). A evidência de gravidez em si pode representar o componente reprodutivo do valor adaptativo de mamíferos de pequeno porte (Maloney et al., 2017; Taylor et al., 2018; Monteiro et al., 2019). No entanto, a presença de gestação não significa que seu filhote nascerá vivo ou que ele sobreviverá e produzirá descendentes, mas serve como um indicativo do potencial reprodutivo quando não é possível estimar o número de filhotes diretamente. O tamanho relativo dos testículos costuma ser utilizado como marcador de valor adaptativo de mamíferos, pois é associado tanto à quantidade quanto à qualidade do esperma produzido (Schulte-Hostedde et al., 2005a; Bordes et al., 2012). Em morcegos, o tamanho dos testículos está relacionado ao tamanho do grupo, possivelmente devido a maior chance de competição espermática (Hosken, 1997)(Wilkinson e McCracken, 2003). Por este motivo, o tamanho dos testículos é utilizado como marcador de sucesso reprodutivo principalmente em espécies que apresentam sistema de acasalamento poligínico, como *Carollia perspicillata* (Monteiro et al., 2019) e *Scaccopteryx billineata* (Voigt et al., 2008).

Índices de condição física medem a massa corporal relativa a um tamanho estrutural e são popularmente utilizados para avaliar a saúde geral dos animais, refletindo o estado fisiológico e as reservas energéticas (gordura) (Peig e Green, 2009), sendo capazes de predizer os componentes do valor adaptativo (Jakob et al., 1996). Índices de condição são bastante populares como marcadores de aptidão em diferentes grupos taxonômicos (Blondel et al., 2006; Cox e Calsbeek, 2014; Bowen et al., 2015; Kingsbury et al., 2020). Apesar de sua popularidade, os índices de condição física também recebem críticas, pois não existe consenso sobre se realmente seriam relacionados às reservas de gordura (Wilder et al., 2016), ou mesmo se esta seria a “moeda corrente” mais apropriada para ser relacionada com o valor adaptativo, gerando um grande debate do ponto de vista analítico (Schulte-Hostedde et al., 2005b; Hayes e Shonkwiler, 2008; Peig e Green, 2010; Labocha et al., 2014). A falta de uma congruência entre os métodos analíticos e conseqüentemente nos resultados dos índices de condição, abre espaço para questionamentos sobre a sua adequabilidade (Wilder et al., 2016). Em morcegos, particularmente, os índices de condição não predizem a porcentagem de gordura corporal mais acuradamente que a massa corporal (McGuire et al., 2018).

A condição física precisa ser compreendida no contexto da discussão sobre "tamanho do corpo". Existem muitas maneiras de medir tamanho, cada qual com diferentes significados biológicos (Hayes e Shonkwiler, 2008). O tamanho estrutural depende em grande parte de uma combinação linear multivariada de variáveis medidas em diferentes partes do corpo, como o primeiro componente principal (Monteiro e Reis, 1999). Medidas lineares univariadas podem englobar aspectos do tamanho, como comprimento do corpo ou de uma parte relevante da morfologia. No entanto, é preciso tomar cuidado com sua interpretação, pois estas medidas podem estar associadas a dinâmicas ecológicas e evolutivas diferentes, assim como o significado biológico (Meiri, 2010; Houle et al., 2011). A massa corporal é possivelmente, o índice de tamanho corporal mais utilizado, devido à sua associação com variáveis fisiológicas, ecológicas e evolutivas (Savage et al., 2004; Sibly e Brown, 2007; Withers et al., 2016). A massa, no entanto, combina a medição do tamanho estrutural com informações sobre o estado nutricional (relevante para entender a condição física) e reprodutivo (Piersma e Davidson, 1991). Por este motivo índices de condição física são propostos para tentar

decompor a massa entre o estado nutricional e o tamanho estrutural. No entanto, dependendo da relação entre massa e a variável linear de tamanho (Green, 2001), os índices de condição podem não ser mais apropriados que a massa para representar a condição física (McGuire *et al.*, 2018). De qualquer maneira, a massa corporal é a variável de tamanho mais amplamente utilizada (LaBarbera, 1989) e comumente associada positivamente ao valor adaptativo (maior tamanho favorecido pela seleção natural) (Kingsolver e Pfennig, 2004; Kingsolver e Huey, 2008).

A assimetria flutuante (AF) é um tipo de desvio de simetria em organismos bilateralmente simétricos que resulta da incapacidade do organismo desenvolver estruturas repetidas com precisão (Moller e Swaddle, 1997). Este parâmetro populacional pode ser medido como a variância das diferenças absolutas entre lados direito e esquerdo e é utilizado como um índice de instabilidade do desenvolvimento (ID), e na determinação da influência do estresse ambiental e/ou genético no desenvolvimento dos organismos (Palmer, 1994; Palmer e Strobeck, 2003). As partes correspondentes nos lados esquerdo e direito de um organismo bilateralmente simétrico são réplicas refletidas da mesma estrutura. Como os dois lados do corpo compartilham o mesmo conjunto de genes, as partes correspondentes deveriam desenvolver uma estrutura idêntica (Klingenberg, 2003). Entretanto, pequenos distúrbios promovem uma variação aleatória em processos fisiológicos que podem influenciar o funcionamento normal de proteínas chaperonas (Leamy *et al.*, 2015) ou de vias de sinalização (Hippo) associadas ao desenvolvimento morfológico (Gontijo e Garelli, 2018; Juarez-Carreño *et al.*, 2018; Zheng e Pan, 2019), produzindo desvios em relação à simetria esperada de um organismo.

O uso da assimetria como indicador de estresse ou de valor adaptativo individual abre um leque de possibilidades de questões a trabalhar (Van Dongen, 2006; Klingenberg, 2015). Estes estudos se baseiam na ideia de que o estresse (ambiental e/ou genético) ou a menor aptidão individual (genótipos menos adaptados) leva a uma maior quantidade de ruído no desenvolvimento ou a uma capacidade diminuída para tamponar as variações ao longo do desenvolvimento, e que indivíduos com maior capacidade de tamponar o ruído do desenvolvimento são geralmente mais saudáveis possuindo um maior valor adaptativo (Moller e Swaddle, 1997; Hendrickx *et al.*, 2003; Klingenberg, 2003). Esta relação, assim

como a herdabilidade da assimetria não é corroborada amplamente, gerando dúvidas quanto à aplicabilidade destes índices para estudos evolutivos (Polak, 2008; Carter e Houle, 2011).

A força de mordida é uma variável funcional influenciada pelo tamanho do organismo, da morfologia craniana e muscular, além de aspectos fisiológicos e comportamentais (Herrel *et al.*, 2008). Ao longo das espécies a relação entre morfologia e performance não é tão clara (Dumont, 2004). Em morcegos filostomídeos, grande parte da variação da força de mordida é explicada por diferenças no tamanho corporal dos indivíduos, mais do que diferenças na morfologia craniana (Aguirre *et al.*, 2002). Quando consideramos diferenças dentro de uma mesma espécie, a força de mordida pode estar associada não apenas com a aquisição de alimento, mas também com a obtenção de parceiros para acasalamento e defesa contra predadores, representando uma medida de performance do organismo como um todo e fortemente associada ao valor adaptativo em contextos de seleção natural e sexual (Husak *et al.*, 2006; Anderson *et al.*, 2008).

A proteção contra parasitos e patógenos (vírus, bactérias e fungos) representa um aspecto fundamental da história de vida dos organismos, devido à sua relação com a sobrevivência (Demas *et al.*, 2011). A capacidade de produzir uma defesa imunológica efetiva frente à exposição a um patógeno é chamada de imunocompetência (Norris e Evans, 2000). Como o sistema imunológico possui um papel fundamental na defesa de um organismo, é esperado que uma redução na imunocompetência esteja associada a uma redução no valor adaptativo (Lee, 2006; Hammouda *et al.*, 2012). Marcadores de imunocompetência, como a intensidade de resposta de linfócitos-T à injeção de um antígeno (Christe *et al.*, 2000), são associados a uma resposta adaptativa do sistema imune, com potencial de refletir o valor adaptativo individual, pois podem prever sobrevivência e o investimento reprodutivo (Demas *et al.*, 2011; Schneeberger *et al.*, 2014), podendo inclusive ser associados a sinais químicos percebidos por parceiros (Kavaliers e Colwell, 1995; Martín e López, 2006), resultando em padrões de seleção sexual.

Sistema modelo e objetivos do estudo

Morcegos são modelos de estudo importantes para uma série de temas relevantes em ecologia e evolução (Fenton *et al.*, 1992; Wilkinson e McCracken, 2003; Dumont, 2007; Monteiro e Nogueira, 2010; Monteiro e Nogueira, 2011). Este grupo apresenta uma série de particularidades que facilitam a condução de estudos e experimentos, como facilidade de captura, recaptura e manuseio (Kunz *et al.*, 2009), longevidade, especializações reprodutivas, história de vida e ecologia relativamente bem conhecidas, permitindo a elaboração de questões mais complexas sobre a evolução do grupo. Dentro da família Phyllostomidae, é possível dizer que o morcego-de-cauda-curta, *Carollia perspicillata*, é uma das espécies mais estudadas, sendo considerada modelo para estudos ecológicos, evolutivos e de desenvolvimento (Fleming, 1988; Cretokos *et al.*, 2005; Rasweiler *et al.*, 2009; Monteiro *et al.*, 2019).

Carollia perspicillata é primariamente frugívoro com distribuição por grande parte da região Neotropical e grande tolerância a ambientes perturbados, sendo dominantes nestas situações (Willig *et al.*, 2007). Os abrigos mais utilizados por *C. perspicillata* são cavernas, ocos de árvores e construções humanas (Figura 2), apresentando alta fidelidade aos seus abrigos (Fleming, 1986) e elevadas taxas de recaptura, quando comparados com outros morcegos (Bernard e Fenton, 2003). *Carollia perspicillata* apresenta um sistema de acasalamento poligâmico onde os machos são capazes de monopolizar um grupo de fêmeas (harém), defendendo um recurso crítico (Williams, 1986; Fleming, 1988). As fêmeas têm preferência por determinados sítios dentro do abrigo, o que gera uma competição entre os machos adultos que buscam ampliar seu sucesso reprodutivo defendendo o melhor território dentro do abrigo (Fleming, 1986).



Figura 2. Abrigos utilizados por *C. perspicillata* na Reserva Biológica União, grupos de indivíduos no abrigo e métodos de captura. (A) Depósito abandonado utilizado como abrigo pela colônia monitorada entre 2015-2021. (B) Captura dentro do abrigo com puçá. (C) Grupo de fêmeas (harém). A fêmea marcada com anilha dourada está carregando um filhote. (D) Grupo de machos solteiros. (E) Manilha sob a BR-101, mostrando o autor da tese. (F) Samburá para captura dos animais na manilha.

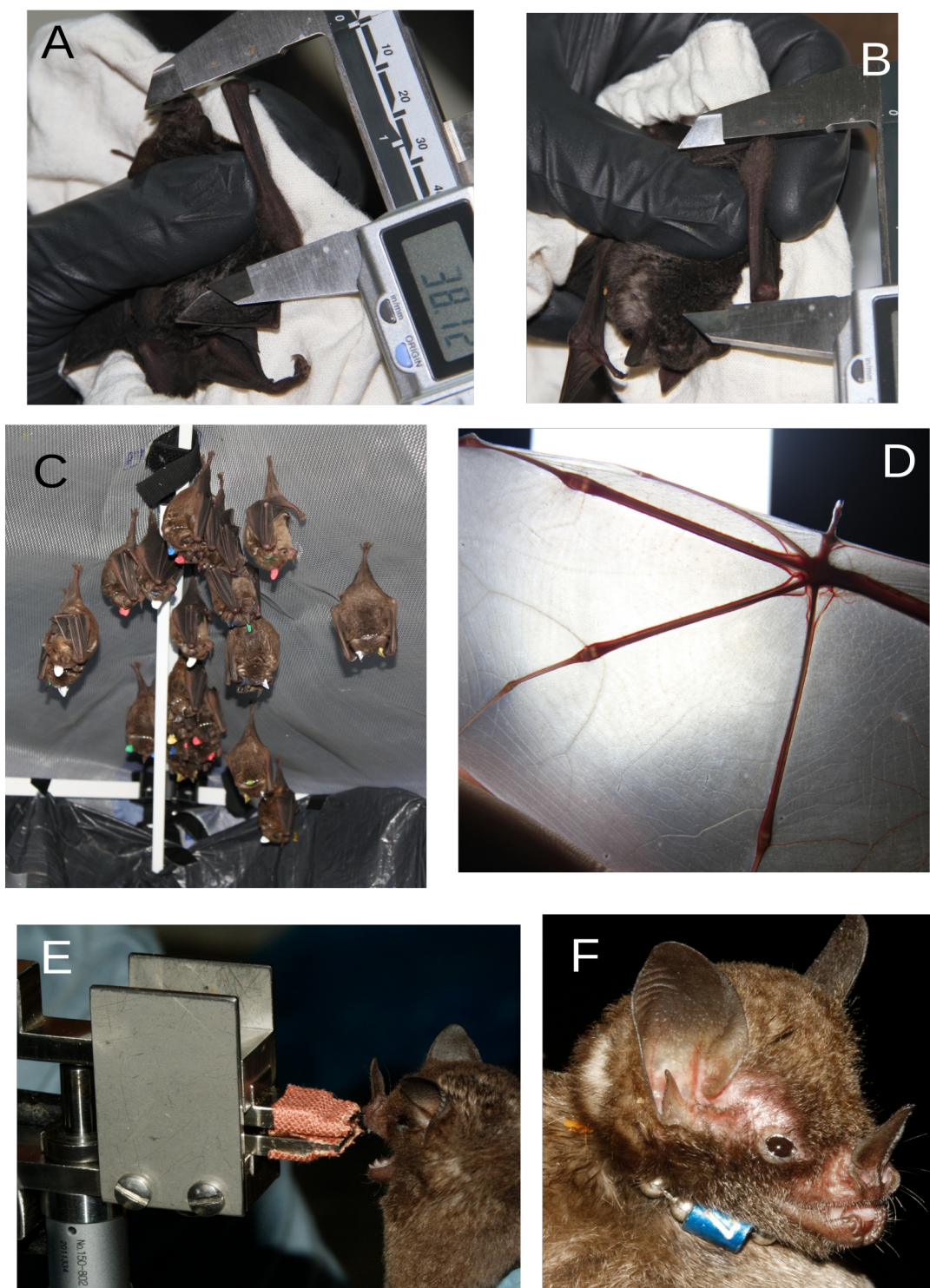


Figura 3. Métodos de trabalho utilizados neste estudo. (A) Medição do comprimento do antebraço direito. (B) Medição do comprimento do antebraço esquerdo (para o cálculo da assimetria). (C) Morcegos abrigados em uma tenda, como parte do ensaio imunológico. A identificação individual era realizada com colares e canetas Poska nas orelhas para marcação temporária. (D) Asa de *C. perspicillata* juvenil mostrando epífises não ossificadas. (E) Equipamento para medição de força de mordida. (F) Macho de *C. perspicillata* com colar Azul 177. Este indivíduo foi capturado juvenil em 02/2016, sendo monitorado até 06/2021, com histórico de 21 capturas e participado de todos os experimentos. O Azul 177 é a exceção que confirma a regra, apresentando uma assimetria de 1 mm entre os antebraços, mas com alta sobrevivência, testículos grandes, mordida forte e alta resposta imunológica.

As disputas entre machos envolvem um escalonamento de forças, podendo culminar na troca de socos entre os machos (Fernandez et al., 2014). Apesar das evidências de que fêmeas preferem os sítios, a possibilidade das fêmeas avaliarem aspectos físicos, indicadores da “qualidade” dos machos não está descartada (Knörnschild et al., 2014). Nem todos os machos disputam territórios dentro do abrigo. Machos solteiros ou periféricos (Figura 2D) formam agregações próximas aos haréns e apresentam estratégias alternativas, buscando oportunidades de acasalamento sem entrar em conflito direto com os machos territoriais, e conseguindo uma proporção razoável (~40%) da paternidade dos filhotes (Fasel et al., 2016).

A estação reprodutiva de *C. perspicillata* no Sudeste do Brasil ocorre em conjunto com os meses de maior precipitação, quando também ocorre o período de frutificação do seu principal recursos alimentar, os arbustos pioneiros do gênero *Piper* (Mello e Fernandez, 2000; Mello et al., 2004). Nos meses secos, as fêmeas e machos solteiros costumam abandonar os abrigos e forragear em áreas mais extensas e distantes, enquanto os machos de harém permanecem defendendo o território dentro do abrigo e forrageiam em áreas próximas (Mellado et al., 2018; Monteiro et al., 2019). Considerando a elevada abundância local (Mellado et al., 2018), o sistema de acasalamento, a fidelidade ao abrigo, facilidade de captura e manejo (Fleming, 1988), *C. perspicillata* é uma espécie ideal para ser utilizada como modelo em estudos que exigem o acompanhamento de populações a longo prazo.

O presente estudo é parte de um projeto de monitoramento de longo prazo da população de *Carollia perspicillata* na Reserva Biológica União – RJ (Figura 3). O objetivo inicial do projeto foi gerar uma longa série temporal de históricos de capturas individuais para testar o efeito de variáveis individuais sobre sobrevivência e reprodução. O estudo de Monteiro et al. (2019) mostrou que indivíduos mais simétricos e com melhor condição corporal possuem maior probabilidade de sobrevivência e potencial reprodutivo (Figura 4). Fêmeas mais simétricas e em melhor condição apresentavam maior probabilidade de se reproduzir duas vezes por estação reprodutiva, ao passo que as fêmeas menos simétricas tendem a reproduzir-se apenas uma vez. Machos mais simétricos, com melhor condição corporal apresentaram maiores testículos, sendo que os machos de harém não eram uma amostra aleatória da população de machos,

apresentando maiores testículos e massa que os demais. Novas questões foram surgindo ao longo do desenvolvimento do projeto, como o efeito da marcação sobre a sobrevivência e condição corporal dos morcegos, a compreensão dos mecanismos proximais responsáveis pela associação inversamente proporcional entre ID, medida pela assimetria do antebraço, e valor adaptativo, assim como avaliar outros atributos fenotípicos que pudessem prever sobrevivência e reprodução.

O objetivo geral do presente estudo foi testar hipóteses de relação entre variáveis fenotípicas como assimetria individual (associada à ID), variáveis de tamanho e indicadores reprodutivos (como o tamanho dos testículos), e componentes de performance funcional (condição corporal, força de mordida e resposta do sistema imunológico), com o propósito de elucidar os mecanismos responsáveis por associações estatísticas observadas anteriormente entre fenótipo e componentes de valor adaptativo (Figura 2). Buscamos também entender de que maneira estas relações fenótipo-performance-valor adaptativo

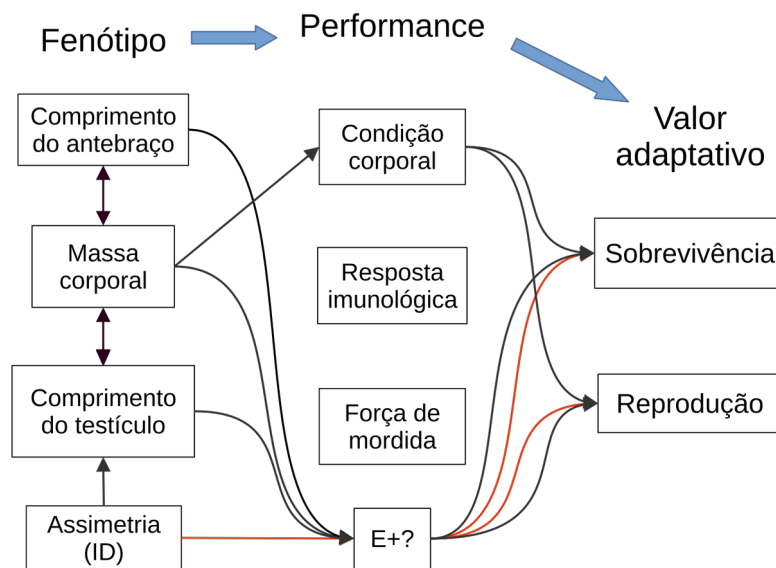


Figura 4. Fluxograma geral do estado do conhecimento (Monteiro *et al.*, 2019) sobre as relações entre as variáveis fenotípicas, de performance, e componentes do valor adaptativo no sistema de estudo, de acordo com a estrutura conceitual de Arnold (1983) e Higham *et al.* (2021). Relações positivas e inversamente proporcionais são mostradas como setas pretas e vermelhas, respectivamente. A caixa E+? representa componentes de performance desconhecidos, intermediando as relações estatísticas conhecidas entre fenótipo e valor adaptativo.

influencia os padrões de seleção natural e sexual em *Carollia perspicillata*. O primeiro capítulo teve como objetivo específico determinar o efeito a longo prazo da marcação sobre a sobrevivência e condição corporal de *C. perspicillata*, avaliando as taxas de perda e lesão devido à marcação dos animais com anilhas de aço inoxidável e colares. Este é um passo inicial importante em estudos de

marcação e recaptura, pois o efeito da marcação sobre o bem estar animal, além das implicações éticas, pode ter uma influência direta nas estimativas, gerando tendências nos parâmetros. O segundo capítulo teve como objetivo avaliar a relação entre instabilidade do desenvolvimento e intensidade da resposta imunológica em *C. perspicillata*. O propósito desta relação seria testar a plausibilidade da resposta imunológica intermediar a relação entre ID e sobrevivência observada em (Monteiro *et al.*, 2019). O terceiro capítulo teve como objetivo avaliar a relação entre instabilidade do desenvolvimento, medida através da assimetria do antebraço, tamanho corporal e força de mordida em machos e fêmeas de *C. perspicillata*, além da relação entre comprimento do testículo, como marcador de investimento reprodutivo, e a força de mordida nos machos. A força de mordida, como medida de vigor físico, poderia estar associada à sobrevivência maior em indivíduos com menor assimetria. Por outro lado, dimorfismo ou diferenças entre machos na força de mordida associadas aos testículos poderiam indicar um padrão de seleção sexual. O quarto capítulo teve como objetivo avaliar a relação entre diferentes variáveis associadas ao tamanho (massa corporal e comprimento do antebraço) e as probabilidades de sobrevivência e reprodução, no contexto da dinâmica evolutiva destes caracteres na série temporal. Os resultados possibilitarão avaliar a existência de solução de compromisso entre sobrevivência e reprodução, intermediadas pelo tamanho corporal, o que pode ter implicações sobre a evolução fenotípica em *C. perspicillata*.

Referências bibliográficas

- Abrams, M. (2012). Measured, modeled, and causal conceptions of fitness. *Frontiers in Genetics* 3:196.
- Aguirre, L.F., Herrel, A., van Damme, R., Matthysen, E. (2002). Ecomorphological analysis of trophic niche partitioning in a tropical savannah bat community. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* 269:1271–1278.
- Amstrup, S.C., McDonald, T.L., Manly, B.F.J. (2005). *Handbook of capture-recapture analysis*. Princeton, NJ: Princeton University Press. 313 p.
- Anderson, R.A., McBrayer, L.D., Herrel, A. (2008). Bite force in vertebrates: opportunities and caveats for use of a nonpareil whole-animal performance measure. *Biological Journal of the Linnean Society* 93:709–720.

- Arnold, S.J. (1983). Morphology, performance and fitness. *American Zoologist* 23:347–361.
- Barrowclough, G.F., Rockwell, R.F. (1993). Variance of lifetime reproductive success: estimation based on demographic data. *The American Naturalist* 141:281–295.
- Bell, G. (2008). *Selection: the mechanism of evolution*. Oxford, UK: Oxford University Press. 553 p.
- Benton, T.G., Grant, A. (2000). Evolutionary fitness in ecology: comparing measures of fitness in stochastic, density-dependent environments. *Evolutionary Ecology Research* 2:769–789.
- Bernard, E., Fenton, B. (2003). Bat mobility and roosts in a fragmented landscape in central Amazonia, Brazil. *Biotropica* 35:262-277.
- Blondel, J., Thomas, D.W., Charmantier, A., Perret, P., Bourgault, P., Lambrechts, M.M. (2006). A thirty-year study of phenotypic and genetic variation of blue tits in Mediterranean habitat mosaics. *Bioscience* 56:661–673.
- Bonnet, T., Wandeler, P., Camenisch, G., Postma, E. (2017). Bigger Is fitter? quantitative genetic decomposition of selection reveals an adaptive evolutionary decline of body mass in a wild rodent population. *PLOS Biology* 15:e1002592.
- Bordes, F., Ponlet, N., de Bellocq, J.G., Ribas, A., Krasnov, B.R., Morand, S. (2012). Is there sex-biased resistance and tolerance in Mediterranean wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) populations facing multiple helminth infections?. *Oecologia* 170:123–135.
- Bowen, W.D., den Heyer, C.E., McMillan, J.I., Iverson, S.J. (2015). Offspring size at weaning affects survival to recruitment and reproductive performance of primiparous gray seals. *Ecology and Evolution* 5:1412–1424.
- Brommer, J.E. (2000). The evolution of fitness in life-history theory. *Biological Reviews* 75:377–404.
- Brommer, J.E., Gustafsson, L., Pietiäinen, H., Merilä, J. (2004). Single-generation estimates of individual fitness as proxies for long-term genetic contribution. *The American Naturalist* 163:505–517.
- Brommer, J.E., Merilä, J., Kokko, H. (2002). Reproductive timing and individual fitness. *Ecology Letters* 5:802–810.

- Cam, E. (2008). Contribution of capture-mark-recapture modeling to studies of evolution by natural selection. *In*: Thomson, D.L.; Cooch, E.G.; Conroy, M.J. (eds.) *Modeling demographic processes in marked populations*. Berlin: Springer Science & Business Media. p. 83–130.
- Carter, A.J.R., Houle, D. (2011). Artificial selection reveals heritable variation for developmental instability. *Evolution* 65:3558–3564.
- Charlesworth, B. (1994). *Evolution in age-structured populations*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 306 p.
- Christe, P., Arlettaz, R., Vogel, P. (2000). Variation in intensity of a parasitic mite (*Spinturnix myoti*) in relation to the reproductive cycle and immunocompetence of its bat host (*Myotis myotis*). *Ecology Letters* 3:207-212.
- Clobert, J. (1995). Capture-recapture and evolutionary ecology: A difficult wedding?. *Journal of Applied Statistics* 22:989–1008.
- Clutton-Brock, T.H., Grenfell, B.T., Coulson, T., MacColl, A.D.C., Illius, A.W., Forchhammer, M.C., Wilson, K., Lindstrom, J., Crawley, M.J., Albon, S.D. (2004). Population dynamics in Soay sheep. *In*: Clutton-Brock, T.H.; Pemberton, J.M. (eds.) *Soay sheep dynamics and selection in an island population*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. p. 52–88.
- Cooch, E.G., Cam, E., Link, W. (2002). Occam's shadow: Levels of analysis in evolutionary ecology—where to next?. *Journal of Applied Statistics* 29:19–48.
- Coulson, T., Benton, T.G., Lundberg, P., Dall, S.R.X., Kendall, B.E., Gaillard, J.-M. (2006). Estimating individual contributions to population growth: evolutionary fitness in ecological time. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273:547–555.
- Cohen, A. A., Coste, C. F., Li, X. Y., Bourg, S., & Pavard, S. (2020). Are trade-offs really the key drivers of ageing and life span?. *Functional Ecology*, 34(1), 153-166.
- Cox, R.M., Calsbeek, R. (2014). Survival of the fattest? Indices of body condition do not predict viability in the brown anole (*Anolis sagrei*). *Functional Ecology* 29:404–413.
- Cretekos, C.J., Weatherbee, S.D., Chen, C.-H., Badwaik, N.K., Niswander, L., Behringer, R.R., Rasweiler, J.J. (2005). Embryonic staging system for the short-tailed fruit bat, *Carollia perspicillata*, a model organism for the

mammalian order Chiroptera, based upon timed pregnancies in captive-bred animals. *Developmental Dynamics* 233:721–738.

- Demas, G.E., Zysling, D.A., Beechler, B.R., Muehlenbein, M.P., French, S.S. (2011). Beyond phytohaemagglutinin: assessing vertebrate immune function across ecological contexts. *Journal of Animal Ecology* 80:710–730.
- Desprez, M., Gimenez, O., McMahon, C.R., Hindell, M.A., Harcourt, R.G. (2017). Optimizing lifetime reproductive output: Intermittent breeding as a tactic for females in a long-lived, multiparous mammal. *Journal of Animal Ecology* 87:199–211.
- Dumont, E. R. (2004). Patterns of diversity in cranial shape among plant-visiting bats. *Acta Chiropterol.* 6:59–74.
- Dumont, E.R. (2007). Feeding mechanisms in bats: variation within the constraints of flight. *Integr. Comp. Biol.* 47:137–146.
- Fasel, N., Saladin, V., Richner, H. (2016). Alternative reproductive tactics and reproductive success in male *Carollia perspicillata* (Seba's short-tailed bat). *Journal of Evolutionary Biology* 29:2242–2255.
- Fenton, M.B., Acharya, L., Audet, D., Hickey, M.B.C., Merriman, C., Obrist, M.K., Syme, D.M., Adkins, B. (1992). Phyllostomidae Bats (Chiroptera: Phyllostomidae) as indicators of habitat disruption. *Biotropica* 24:440-446.
- Fernandez, A.A., Fasel, N., Knörnschild, M., Richner, H. (2014). When bats are boxing: aggressive behaviour and communication in male Seba's short-tailed fruit bat. *Animal behaviour* 98:149–156.
- Fleming, T.H. (1986). The structure of Neotropical bat communities: a preliminary analysis. *Revista Chilena de Historia Natural* 59:135-150.
- Fleming, T.H. (1988). *The short-tailed fruit bat: a study in plant-animal interactions*. 1427 E. 60th Street Chicago, IL 60637 USA: University of Chicago Press. 363 p.
- Gaillard, J.-M., Festa-Bianchet, M., Delorme, D., Jorgenson, J. (2000). Body mass and individual fitness in female ungulates: bigger is not always better. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 267:471–477.
- Garland Jr, T., Downs, C. J., & Ives, A. R. (2022). Trade-Offs (and Constraints) in Organismal Biology. *Physiological and Biochemical Zoology*, 95(1), 82-112.

- Gimenez, O., Gaillard, J.-M. (2018). Estimating individual fitness in the wild using capture–recapture data. *Population Ecology* 60:101–109.
- Gimenez, O., Grégoire, A., & Lenormand, T. (2009). Estimating and visualizing fitness surfaces using mark–recapture data. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 63(12), 3097–3105.
- Gontijo, A.M., Garelli, A. (2018). The biology and evolution of the Dilp8-Lgr3 pathway: A relaxin-like pathway coupling tissue growth and developmental timing control. *Mechanisms of Development* 154:44–50.
- Green, A.J. (2001). Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results?. *Ecology* 82:1473–1483.
- Hammouda, A., Selmi, S., Pearce-Duvel, J., Chokri, M.A., Arnal, A., Gauthier-Clerc, M., Boulinier, T. (2012). Maternal antibody transmission in relation to mother fluctuating asymmetry in a long-lived colonial seabird: the yellow-legged gull *Larus michahellis*. *PLoS ONE* 7:e34966.
- Harrison, K.A., Magrath, M.J.L., Yen, J.D., Pavlova, A., Murray, N., Quin, B., Menkhorst, P., Miller, K.A., Cartwright, K., Sunnucks, P. (2019). Lifetime fitness costs of inbreeding and being inbred in a critically endangered bird. *Current Biology* 29:2711–2717.
- Hayes, J.P., Shonkwiler, J.S. (2008). Morphological indicators of body condition: useful or wishful thinking?. In: Speakman, J.R. (eds.) *Body composition analysis of animals: a handbook of non-destructive methods*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. p. 8–38.
- Hayward, A.D., Mar, K.U., Lahdenperä, M., Lummaa, V. (2014). Early reproductive investment, senescence and lifetime reproductive success in female Asian elephants. *Journal of Evolutionary Biology* 27:772–783.
- Hendrickx, F., Maelfait, J.P., Lens, L. (2003). Relationship between fluctuating asymmetry and fitness within and between stressed and unstressed populations of the wolf spider *Pirata piraticus*. *Journal of Evolutionary Biology* 16:1270–1279.
- Hendry, A.P. (2017). *Eco-evolutionary dynamics*. Princeton, NJ: Princeton University Press. 397 p.
- Hendry, A.P., Kinnison, M.T. (1999). Perspective: the pace of modern life: measuring rates of contemporary microevolution. *Evolution* 53:1637–1653.

- Hendry, A.P., Schoen, D.J., Wolak, M.E., Reid, J.M. (2018). The contemporary evolution of fitness. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 49:457–476.
- Herrel, A., De Smet, A., Aguirre, L.F., Aerts, P. (2008). Morphological and mechanical determinants of bite force in bats: do muscles matter?. *J. Exp. Biol.* 211:86–91.
- Higham, T. E., Ferry, L.A., Schmitz, L., Irschick, D.J., Starko, S., Anderson, P.S., Bergmann, P. J., Jamniczky, H.A., Monteiro, L.R., Navon, D., Messier, J., Carrington, E., Farina, S.C., Feilich, K.L., Hernandez, L.P., Johnson, M.A., Kawano, S. M., Law, C.J., Longo, S.J., Martin, C.H., Martone, P.T., Rico-Guevara, A., Santana, S.E., Niklas, K.J. (2021). Linking ecomechanical models and functional traits to understand phenotypic diversity. *Trends in Ecology & Evolution* 36:860–873.
- Houle, D., Pélabon, C., Wagner, G.P., Hansen, T.F. (2011). Measurement and meaning in biology. *The Quarterly Review of Biology* 86:3–34.
- Hosken, D. J. (1997). Sperm competition in bats. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 264(1380), 385-392.
- Husak, J.F., Lappin, A.K., Fox, S.F., Lemos-Espinal, J.A. (2006). Bite-force performance predicts dominance in male venerable collared lizards (*Crotaphytus antiquus*). *Copeia* 2006:301-306.
- Irschick, D. J. (2003). Measuring performance in nature: implications for studies of fitness within populations. *Integrative and Comparative Biology* 43:396–407.
- Irschick, D. J., Herrel, A., Vanhooydonck, B., Huyghe, K., & Damme, R. V. (2005). Locomotor compensation creates a mismatch between laboratory and field estimates of escape speed in lizards: A cautionary tale for performance-to-fitness studies. *Evolution*, 59(7), 1579-1587.
- Irschick, D. J ., Higham, T.E. (2016). *Animal athletes: an ecological and evolutionary approach*. Oxford, UK: Oxford University Press. p.
- Jakob, E. M., Marshall, S.D., Uetz, G.W. (1996). Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos* 77:61–67.
- Johnson, C., Brown, D.J., Sanders, C., Stihler, C.W. (2021). Long-term changes in occurrence, relative abundance, and reproductive fitness of bat species in

- relation to arrival of White-nose Syndrome in West Virginia, USA. *Ecology and Evolution* 11:12453–12467.
- Juarez-Carreño, S., Morante, J., Dominguez, M. (2018). Systemic signalling and local effectors in developmental stability, body symmetry, and size. *Cell Stress* 2:340–361.
- Komar, E., Fasel, N. J., Szafrńska, P. A., Dechmann, D. K., Zegarek, M., & Ruczyński, I. (2022). Energy allocation shifts from sperm production to self-maintenance at low temperatures in male bats. *Scientific reports*, 12(1), 1-11.
- Lee, K. A. (2006). Linking immune defenses and life history at the levels of the individual and the species. *Integrative and comparative biology*, 46(6), 1000-1015.
- Kavaliers, M., Colwell, D.D. (1995). Discrimination by female mice between the odours of parasitized and non-parasitized males. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 261:31–35.
- Kellner, K. F., Swihart, R.K. (2014). Accounting for imperfect detection in ecology: a quantitative review. *PloS one* 9:e111436.
- Kingsbury, K. M., Gillanders, B.M., Booth, D.J., Coni, E.O., Nagelkerken, I. (2020). Range-extending coral reef fishes trade-off growth for maintenance of body condition in cooler waters. *Science of the Total Environment* : 134598, V.703.
- Kingsolver, J. G., Hoekstra, H.E., Hoekstra, J.M., Berrigan, D., Vignieri, S.N., Hill, C., Hoang, A., Gibert, P., Beerli, P. (2001). The strength of phenotypic selection in natural populations. *The American Naturalist* 157:245–261.
- Kingsolver, J. G., Huey, R.B. (2008). Size, temperature, and fitness: three rules. *Evolutionary Ecology Research* 10:251–268.
- Kingsolver, J. G., Pfennig, D.W. (2004). Individual-level selection as a cause of Cope's rule of phyletic size increase. *Evolution* 58:1608–1612.
- Klingenberg, C. P. (2003). A developmental perspective on developmental instability: theory, models and mechanisms. *In: Polak, M. (eds.) Developmental instability: causes and consequences*. New York: Oxford University Press. p. 14–34.
- Klingenberg, C. P. (2015). Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry* 7:843–934.

- Knörnschild, M., Feifel, M., Kalko, E.K. (2014). Male courtship displays and vocal communication in the polygynous bat *Carollia perspicillata*. *Behaviour* 151:781–798.
- Kunz, T. H., Hodgkison, R., Weise, C.D. (2009). Methods of capturing and handling bats. In: Kunz, T.H.; Parsons, S. (eds.) *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Baltimore, USA: The Johns Hopkins University Press. p. 3-35.
- Laake, J. L. (2013). RMark: An R Interface for Analysis of Capture-Recapture Data with MARK. . Seattle, WA. <http://www.afsc.noaa.gov/Publications/ProcRpt/PR2013-01.pdf>.
- LaBarbera, M. (1989). Analyzing body size as a factor in ecology and evolution. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20:97–117.
- Labocha, M. K., Schutz, H., Hayes, J.P. (2014). Which body condition index is best?. *Oikos* 123:111-119.
- Leamy, L. J., Klingenberg, C.P., Sherratt, E., Wolf, J.B., Cheverud, J.M. (2015). The genetic architecture of fluctuating asymmetry of mandible size and shape in a population of mice: Another look. *Symmetry* 7:146–163.
- Lebreton, J. D., Burnham, K.P., Clobert, J., Anderson, D.R. (1992). Modeling survival and testing biological hypotheses using marked animals. A unified approach with case studies. *Ecological Monographs* 62:67-118.
- Lebreton, J. D., Nichols, J.D., Barker, R.J., Pradel, R., Spendelov, J.A. (2009). Modeling individual animal histories with multistate capture–recapture models. In: Caswell, H. (eds.) *Advances in Ecological Research*. London, UK: Academic Press. p. 88-159.
- Link, W. A., Cooch, E.G., Cam, E. (2002). Model-based estimation of individual fitness. *Journal of Applied Statistics* 29:207–224.
- Loison, A., Solberg, E.J., Yoccoz, N.G., Langvatn, R. (2004). Sex differences in the interplay of cohort and mother quality on body mass of red deer calves. *Ecology* 85:1992–2002.
- Lukas, D., Clutton-Brock, T. (2014). Costs of mating competition limit male lifetime breeding success in polygynous mammals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281:20140418.
- Maloney, S. K., Marsh, M.K., McLeod, S.R., Fuller, A. (2017). Heterothermy is associated with reduced fitness in wild rabbits. *Biology Letters* 13:20170521.

- Martín, J., López, P. (2006). Links between male quality, male chemical signals, and female mate choice in Iberian Rock Lizards. *Functional Ecology* 20:1087–1096.
- McGraw, J. B., Caswell, H. (1996). Estimation of individual fitness from life-history data. *The American Naturalist* 147:47–64.
- McGuire, L. P., Kelly, L.A., Baloun, D.E., Boyle, W.A., Cheng, T.L., Clerc, J., Fuller, N. W., Gerson, A.R., Jonasson, K.A., Rogers, E.J., Sommers, A.S., Guglielmo, C.G. (2018). Common condition indices are no more effective than body mass for estimating fat stores in insectivorous bats. *Journal of Mammalogy* 99:1065–1071.
- McLoughlin, P. D., Boyce, M.S., Coulson, T., Clutton-Brock, T. (2006). Lifetime reproductive success and density-dependent, multi-variable resource selection. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273:1449–1454.
- Meiri, S. (2010). Length–weight allometries in lizards. *Journal of Zoology* 281:218–226.
- Mellado, B. R., Carneiro, L.O., Nogueira, M.R., Monteiro, L.R. (2018). Diversity and seasonality of a Phyllostomid assemblage from the Atlantic Forest of southeastern Brazil. *Mastozoologia Neotropical* 25:363–377.
- Mello, M. A. R., Fernandez, F.A.S. (2000). Reproductive ecology of the bat *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a fragment of the Brazilian Atlantic coastal forest. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 65:340-349.
- Mello, M. A. R., Schittini Schittini, G.M.P., Bergallo, H.G. (2004). A test of the effects of climate and fruiting of *Piper* species (Piperaceae) on reproductive patterns of the bat *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae). *Acta Chiropterologica* 6:309-318.
- Moller, A. P., Swaddle, J.P. (1997). *Asymmetry, developmental stability, and evolution*. New York: Oxford University Press. 291 p.
- Monteiro, L. R., Mellado, B., Nogueira, M.R., Morais-Jr, M.M. (2019). Individual asymmetry as a predictor of fitness in the bat *Carollia perspicillata*. *Journal of Evolutionary Biology* 32:1207–1229.
- Monteiro, L. R., Nogueira, M.R. (2010). Adaptive radiations, ecological specialization, and the evolutionary integration of complex morphological structures. *Evolution* 64:724–744.

- Monteiro, L. R., Nogueira, M.R. (2011). Evolutionary patterns and processes in the radiation of phyllostomid bats. *BMC Evol. Biol.* 11:137.
- Monteiro, L. R., Reis, S.F. (1999). *Princípios de morfometria geométrica*. Ribeirão Preto, SP: Holos Editora. 188 p.
- Muñoz-García, A., Ben-Hamo, M., Pilosof, S., Williams, J. B., & Korine, C. (2022). Habitat aridity as a determinant of the trade-off between water conservation and evaporative heat loss in bats. *Journal of Comparative Physiology B*, 1-9.
- Nichols, J. D., Hines, J.E., Pollock, K.H., Hinz, R.L., Link, W.A. (1994). Estimating breeding proportions and testing hypotheses about costs of reproduction with capture-recapture data. *Ecology* 75:2052–2065.
- Nichols, J. D., Kendall, W.L. (1995). The use of multi-state capture-recapture models to address questions in evolutionary ecology. *Journal of Applied Statistics* 22:835–846.
- Norris, K., Evans, M.R. (2000). Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioral Ecology* 11:19–26.
- Oosthuizen, W.C., Pradel, R., Bester, M.N., Bruyn, P.J.N. (2019). Making use of multiple surveys: Estimating breeding probability using a multievent-robust design capture–recapture model. *Ecology and Evolution* 9:836–848.
- Orr, H. A. (2009). Fitness and its role in evolutionary genetics. *Nature Reviews Genetics* 10:531–539.
- Palmer, A. R. (1994). Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In: Markow, T.A. (eds.) *Developmental instability: its origins and evolutionary implications*. Dordrecht, Netherlands: Kluwer. p. 335-364.
- Palmer, A. R., Strobeck, C. (2003). Fluctuating asymmetry analyses revisited. In: Polak, M. (eds.) *Developmental Instability: Causes and Consequences*. New York: Oxford University Press. p. 279-319.
- Peig, J., Green, A.J. (2009). New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos* 118:1883–1891.
- Peig, J., Green, A.J. (2010). The paradigm of body condition: a critical reappraisal of current methods based on mass and length. *Functional Ecology* 24:1323–1332.

- Piersma, T., Davidson, N.C. (1991). Confusions of mass and size. *The Auk* 108:441–443.
- Pigeon, G., Pelletier, F. (2018). Direct and indirect effects of early-life environment on lifetime fitness of bighorn ewes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 285:20171935.
- Polak, M. (2008). The developmental instability — sexual selection hypothesis: a general evaluation and case study. *Evolutionary Biology* 35:208–230.
- Pitnick, S., Jones, K. E., & Wilkinson, G. S. (2006). Mating system and brain size in bats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1587), 719-724.
- Rasweiler, J. J., Cretekos, C.J., Behringer, R.R. (2009). The short-tailed fruit bat *Carollia perspicillata*: A model for studies in reproduction and development. *Cold Spring Harbor Protocols* 2009:pdb–emo118.
- Roff, D. A. (2001). *Life history evolution*. Oxford, UK: Oxford University Press. 527.
- Roff, D. A. (2010). *Modeling evolution: an introduction to numerical methods*. Oxford, UK: Oxford University Press. 451 p.
- Rotella, J. (2009). Estimating reproductive costs with multi-state mark-recapture models, multiple observable states, and temporary emigration. In: Thomson, D. L.; Cooch, E.G.; Conroy, M.J. (eds.) *Modeling demographic processes in marked populations*. New York: Springer. p. 157–172.
- Rouan, L., Gaillard, J.-M., Guédon, Y., Pradel, R. (2009). Estimation of lifetime reproductive success when reproductive status cannot always be assessed. In: Patil, G. P.; Gregoire, T.G.; Lawson, A.B.; Nussbaum, B.D. (eds.) *Modeling demographic processes in marked populations*. Berlin: Springer. p. 867–879.
- Salles, O. C., Almany, G.R., Berumen, M.L., Jones, G.P., Saenz-Agudelo, P., Srinivasan, M., Thorrold, S.R., Pujol, B., Planes, S. (2020). Strong habitat and weak genetic effects shape the lifetime reproductive success in a wild clownfish population. *Ecology Letters* 23:265–273.
- Savage, V. M., Gillooly, J.F., Brown, J.H., West, G.B., Charnov, E.L. (2004). Effects of body size and temperature on population growth. *The American Naturalist* 163:429–441.

- Schneeberger, K., Courtiol, A., Czirják, G. A., Voigt, C. C. (2014). Immune profile predicts survival and reflects senescence in a small, long-lived mammal, the greater sac-winged bat (*Saccopteryx bilineata*). *PLoS ONE* 9:e108268.
- Schulte-Hostedde, A. I., Millar, J. S., Hickling, G. J. (2005a). Condition dependence of testis size in small mammals. *Evolutionary Ecology Research* 7:143–149.
- Schulte-Hostedde, A.I., Zinner, B., Millar, J.S., Hickling, G.J. (2005b). Restitution of mass-size residuals: validating body condition indices. *Ecology* 86:155–163.
- Seber, G.A.F., Schofield, M.R. (2019). *Capture-recapture: parameter estimation for open animal populations*. Switzerland : Springer International Publishing. 669 p.
- Sibly, R.M., Brown, J.H. (2007). Effects of body size and lifestyle on evolution of mammal life histories. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104:17707–17712.
- Stearns, S.C. (1992). *The evolution of life histories*. New York: Oxford University Press. 248 p.
- Taylor, C.H., Wanelik, K.M., Friberg, I.M., Lowe, A., Hall, A.J., Ralli, C., Birtles, R.J., Begon, M., Paterson, S., Jackson, J.A., Bradley, J.E. (2018). Physiological, but not fitness, effects of two interacting haemoparasitic infections in a wild rodent. *International Journal for Parasitology* 48:463–471.
- Van Dongen, S. (2006). Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *Journal of Evolutionary Biology* 19:1727-1743.
- Voigt, C. C., Behr, O., Caspers, B., von Helversen, O., Knörnschild, M., Mayer, F., & Nagy, M. (2008). Songs, scents, and senses: sexual selection in the greater sac-winged bat, *Saccopteryx bilineata*. *Journal of Mammalogy*, 89(6), 1401-1410.
- Volzke, S., McMahon, C.R., Hindell, M.A., Burton, H.R., Wotherspoon, S.J. (2021). Climate influences on female survival in a declining population of southern elephant seals (*Mirounga leonina*). *Ecology and Evolution* 11:11333–11344.

- Wagner, G.P. (2010). The measurement theory of fitness. *Evolution* 64:1358–1376.
- White, G.C., Burnham, K.P. (1999). Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study* 46:S120–S139.
- White, G.C., Kendall, W.L., Barker, R.J. (2006). Multistate survival models and their extensions in program MARK. *The Journal of Wildlife Management* 70:1521–1529.
- Wilder, S.M., Raubenheimer, D., Simpson, S.J. (2016). Moving beyond body condition indices as an estimate of fitness in ecological and evolutionary studies. *Functional Ecology* 30:108-115.
- Wilkinson, G.S., McCracken, G.F. (2003). Bats and balls: sexual selection and sperm competition in the Chiroptera. In: Kunz, T.H.; Fenton, M.B. (eds.) *Bat ecology*. Chicago: The University of Chicago Press. p. 128-155.
- Williams, C.F. (1986). Social organization of the bat, *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Ethology* 71:265–282.
- Willig, M.R., Presley, S.J., Bloch, C.P., Hice, C.L., Yanoviak, S.P., Diaz, M.M., Chauca, L.A., Pacheco, V., Weaver, S.C. (2007). Phyllostomid Bats of Lowland Amazonia: Effects of Habitat Alteration on Abundance. *Biotropica* 39:737–746.
- Withers, P.C., Cooper, C.E., Maloney, S.K., Bozinovic, F., Cruz-Neto, A.P. (2016). *Ecological and environmental physiology of mammals*. Oxford, UK: Oxford University Press. 560 p.
- Zheng, Y., Pan, D. (2019). The hippo signaling pathway in development and disease. *Developmental Cell* 50:264–282.

Capítulo 1: The impacts of marking on bats: mark-recapture models for assessing injury rates and tag loss

Este manuscrito está publicado no Journal of Mammalogy

<https://doi.org/10.1093/jmammal/gyab153>

Qualis-Capes (Área de Biodiversidade, 2021): A2

Breno Mellado, Lucas de Oliveira Carneiro, Marcelo Rodrigues Nogueira, Leandro Rabello Monteiro*

Laboratório de Ciências Ambientais, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. cep 28013-602.

The individual identification of animals is essential for long term population ecology studies. Injuries and tag loss can negatively impact animal welfare and parameter estimates. We used time-to-failure curves and multistate mark-recapture models to estimate injury rates, body condition decline, tag loss and survival probabilities associated with two tags commonly used in bats: metallic arm bands and steel ball chain collars. We monitored two colonies of *Carollia perspicillata* at União Biological Reserve, southeastern Brazil, from 2013 to 2019. Every other month, we marked individuals with arm bands, collars or both. Collars did not cause noticeable injuries, but were lost at a higher rate than arm bands (1.5-2.5 times). The arm band-related injury probability between captures was ~ 0.2 , and after 17 months, half the marked animals developed injuries. Animals marked as juveniles were less likely to get injured than adults. Injuries were associated with a lower body condition in females. Body condition was positively associated with apparent survival; however, a direct effect of arm band injuries on survival estimates was not observed. The tag loss rates caused a negative bias in survival estimates. Mark-recapture studies should evaluate the efficacy of the marking technique, accounting for potential animal injury, tag loss, and bias in parameter estimation. Marking individuals should be limited to studies that monitor species with high recapture probability, using the least harmful tags possible, and balancing the burden to the animals with the potential to generate knowledge.

Key words: body condition, *Carollia perspicillata*, multistate mark-recapture models, Phyllostomidae, survival analysis, tag loss.

A identificação individual de animais é essencial para estudos de ecologia populacional de longo prazo. Lesões e perda de marcação devem preocupar pesquisadores, devido ao bem-estar animal e aos efeitos nas estimativas dos parâmetros. Neste estudo, usamos curvas de tempo de ocorrência e modelos de marcação-recaptura multi-estado para estimar as taxas de lesão, declínio da condição corporal, perda de marcação e probabilidades de sobrevivência associadas a dois tipos de marcação comumente usados em morcegos: anilhas metálicas e colares de bola de aço inoxidável. Duas colônias de *Carollia perspicillata* foram monitoradas na Reserva Biológica União, sudeste do Brasil, entre 2013 e 2019 com sessões de captura bimestrais. Os indivíduos foram marcados com anilhas, colares ou ambos. Colares não causaram lesões perceptíveis, mas foram perdidos em uma taxa maior do que as anilhas (1,5-2,5 vezes). A probabilidade de lesão causada pela anilha entre as capturas foi de ~ 0.2 e, após 17 meses, metade dos animais marcados desenvolveu uma lesão. Os animais marcados como juvenis tinham menos probabilidade de sofrer lesões que os adultos. As lesões foram associadas a um declínio da condição corporal em fêmeas. A condição corporal foi positivamente associada à sobrevivência aparente; no entanto, um efeito direto das lesões associadas a anilhas nas estimativas de sobrevivência não foi observado no modelo multi-estado. As taxas de perda de marcação observadas provavelmente causaram uma subestimação da sobrevivência. Os estudos de marcação e recaptura devem avaliar a eficácia da técnica de marcação, levando em consideração o potencial de lesão do animal e o viés nas estimativas de parâmetros devido à perda de marcação. A marcação de indivíduos deve se limitar a estudos que monitorem espécies com alta probabilidade de recaptura, utilizando as marcações menos prejudiciais possíveis, e equilibrando o ônus para os animais com o potencial de geração de conhecimento.

Palavras chave: análise de sobrevivência, *Carollia perspicillata*, índice de condição corporal, modelos de marcação e recaptura multiestado, perda de marcação, Phyllostomidae.

Introduction

Individual animal identification is essential for long term monitoring of populations (Murray and Fuller 2000; Williams et al. 2002). Monitoring marked animals provides important information regarding survival rates, fitness, abundance, reproduction, and movement (Fleming 1988; Handley et al. 1991; O'Shea et al. 2004; Pryde et al. 2005; O'Donnell 2009; Monteiro et al. 2019). However, long term marking of wild animals is challenging, and requires matching of the species of interest with appropriate tags (Silvy et al. 2012). Tag loss, injuries, and effects of marking on survival, reproduction, and behavior should be properly evaluated by investigators, to insure animal health (Soulsbury et al. 2020) and avoid bias in parameter estimation (Murray and Fuller 2000). Tag loss has long been recognized as a source of bias for survival and population size estimation (Arnason and Mills 1981; McDonald et al. 2003; Seber and Schofield 2019), and specific models and corrections have been proposed to deal with this issue (Cowen and Schwarz 2006). A more serious problem might occur if tag loss differs between groups of interest, such as sex, age, and body size categories, confounding bias with biological effects (Arnason and Mills 1981).

Bats are keystone species in tropical ecosystems due to the role they play in plant pollination, seed dispersion, and herbivore population regulation (Gannon and Willig 1998). As a result, bat populations are commonly monitored as bioindicators in ecological impact assessments for development projects (Jones et al. 2009). Starting in 1921, banding of bats for population studies became increasingly common, and millions of bats were marked all over the world (O'Shea et al. 2004; Ellison 2008). However, small body size and the functional demands of active flight make marking bats with permanent tags difficult (Handley et al. 1991).

Injuries caused by arm bands are well documented in bats, mostly in the US, Europe and Australia, and they vary greatly among species due to morphology, behavior and body size (Baker et al. 2001; O'Shea et al. 2004; Ellison 2008). Many studies report injury rates (Fleming 1988; Handley et al. 1991; Trajano 1996; Dietz et al. 2006; Zambelli et al. 2009), but the direct consequences of banding to survival, body condition and reproduction are less frequently examined (Happold and Happold 1998; Baker et al. 2001; Locatelli et al. 2019). Understanding the effects of marking techniques on animals, is essential to

determine the type of tag to use, whether the tag meets the objectives of the study, and the potential impacts on behavior and health of the animals. Anecdotal and qualitative observations of tag effects on animals provide limited information. An appropriate evaluation of the effects of marking require demographic models with large samples or high recapture rates to reach robust statistical inferences from quantitative results (Murray and Fuller 2000).

Multistate mark-recapture models (Lebreton et al. 2009) are a general framework for capture histories where captured animals can be identified as belonging to different ages, capture sites (movement) (Ellison et al. 2007) or biological state (living/dead, reproductive, body mass) (Lebreton et al. 2009). Multistate models allow for the estimation of state-specific survival, capture probabilities, and the probability of transition between states. When animals are double tagged, it is possible to estimate tag loss as the probability of transition between states (double tag – single tag), as well as bias due to tag loss and survival differences associated with different marking methods (Arnason and Mills, 1981).

The aim of this study was to compare the impacts of arm bands and ball-chain collars on survival and body condition of Seba's short-tailed bats (*Carollia perspicillata*). We examined the following questions: 1. Do injuries caused by tags have an effect on body condition of *C. perspicillata*?; 2. Do probabilities of injury and tag damage differ between sex and age classes?; 3. Do tag loss rates differ between arm bands and collars?; 4. Do tag-related injuries reduce survival?; and 5. Does tag loss bias survival estimates? We used time-to-failure survival curves and multistate mark-recapture models to estimate probabilities of tag-related injury and tag loss, as well as their association with individual covariates, such as sex, forearm length and body condition. This is the first study to use survival analysis and multistate mark-recapture models to determine time-to-failure of tags, and estimate transition probabilities among tag-related injury levels.

Materials and Methods

Study site and population monitored.—We monitored two colonies of *Carollia perspicillata* at União Biological Reserve (RBU – State of Rio de Janeiro, Brazil, coordinates 22°25'40"S, 42°02'06"W) between January 2013 and April 2019. The RBU protects 7,756 ha of Atlantic Forest, connecting lowland and montane vegetation types (Mellado et al. 2018). The climate is hot and humid, with average temperatures between 18 and 24°C, and average rainfall between 1,100 and 2,400 mm/year (ICMBIO 2008). The dry season is from May to September when approximately 20% of the yearly rainfall occurs. Disturbed areas around RBU are dominated by pioneer plant species (Prieto et al. 2014), such as *Piper* and *Solanum* shrubs, which are important diet items for *C. perspicillata* (Mello et al. 2004a). The abundance of food resources are likely the reason why *C. perspicillata* is the dominant species in the phyllostomid ensemble in RBU (Mellado et al. 2018).

The first colony studied ("Colony 1" hereafter) roosts inside a road culvert under one of the main motorways in Southeastern Brazil that runs through RBU. We monitored Colony 1 from January 2013 to April 2015 (27 months). The second colony ("Colony 2" hereafter) roosts inside an abandoned building inside RBU, adjacent to an area of recovering lowland forest. Details of roosting sites are available in Monteiro et al. (2019). We monitored Colony 2 from April 2015 to April 2019 (36 months). We captured the bats every two months, using entomological nets at the roosts and mist nets along forest trails close to roosts. Captured bats were kept in a cylindrical mesh basket (120 cm long and 60 cm diameter) and taken to the field laboratory for measurement and assessment. We captured bats in the morning and released them on the same day (or night) at the site of capture. We followed recommendations in the ASM guidelines for the use of wild mammals in research (Sikes et al. 2016) and procedures were approved by the UENF Animal Use Ethics Committee (project 569030, protocol 354). Field work in RBU was approved by ICMBio in Authorization 53628-6. All data sets are available at (<https://doi.org/10.5281/zenodo.5643915>).

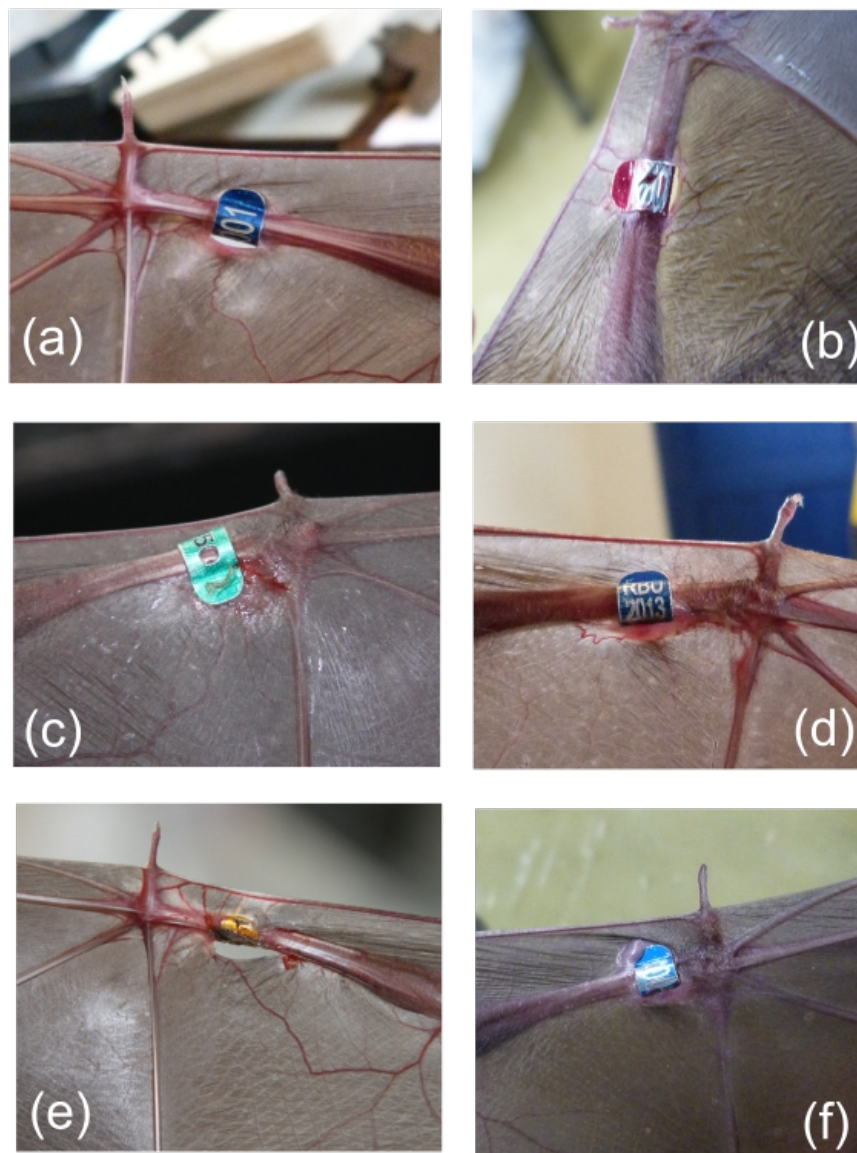


Fig. 1.—Examples of injury types and damage to arm bands on *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil. (a) Intact arm band with normal healing (L0), 3 months after marking as a juvenile. (b) Damaged arm band, L0. (c) and (d) Intact arm band causing a minor injury (L1). (e) and (f) Arm bands causing major injuries (L2), with inflammation and tissue growth.

Individual marking and injury assessment.— We brought the bats to a field laboratory, where each individual was sexed, weighed with a 0.01-g precision scale (S1002, BEL Engineering S.R.L., Italy), had the right forearm measured with 0.01-mm digital callipers (Model CD 6" PSX, Mitutoyo Corporation, Japan) and was aged (Juvenile, Adult), according to the degree of ossification of phalange epiphyseal plates (Brunet-Rossinni and Wilkinson 2009). We marked bats with two different methods: arm bands and ball-chain necklaces (collars) (Fleming 1988;

Kunz and Weise 2009). We fitted bats with uniquely numbered 3-mm anodized aluminium bands with lips (Anilhas Capri, SP, Brazil) around the forearm, making a small slit on the propatagium, to avoid trapping it under the ring (Kunz and Weise 2009). The collars were made of 2.5-mm stainless steel ball chains (14 beads plus clasping connector; 54 mm in total length) with a uniquely numbered, colored aluminium or plastic ring attached.

From January 2013 to June 2016, we marked bats with arm bands only. Starting on June 2016, we marked adults with collars, and juveniles with arm bands. Because collar length was fit for adult necks, juveniles would easily lose them. Juveniles cannot be marked with collars because, as they grow, the collars may choke them or cause severe injuries. Upon recapture as adults, we fitted the banded juveniles with collars. If the band was not damaged or causing injury, it was left in place.

When captured, we classified arm band damage to the forearm as no injury (L0), minor injury (lesion type 1 – L1) or major injury (lesion type 2 – L2) (Fig. 1) (Baker et al. 2001). Minor injuries were small swellings and/or abrasions, whereas major injuries were large swellings, usually with tissue growing around and over the arm band. Some major injuries (15 cases) were so serious that we had to remove the arm band and disinfect the lesions with iodine. We inspected and assessed bands for damage and readability, and categorized band condition as intact or damaged, and readable or unreadable (Fig. 1). We inspected all collars using a similar rating system.

Body condition and tag-related injuries — Body condition was estimated by the scaled mass index (SMI) (Peig and Green 2009). This is a measure of body mass (BM) scaled by forearm length (ForL), a common measure of linear “body size” for bats. Therefore, SMI for the *i*th individual is $SMI_i = BM_i(ForL_0/ForL_i)^{b_{SMA}}$, where the 0 subscript indicates the average, and b_{SMA} is the standardised major axis regression coefficient between $\log(BM)$ and $\log(ForL)$. Pregnant females and juvenile individual observations were excluded from this analysis, as their SMI is not comparable to non-pregnant adults. The SMI has been associated with the amount of energy reserves for small mammals (Peig and Green 2010), and was shown by Monteiro et al. (2019) to be positively associated with survival and reproduction in *C. perspicillata*.

SMI was used as a response variable in a mixed-effects linear model with Band Injury Type, Sex, Year (as factor) and Month (as a sinusoidal term) as fixed effects, and individuals and Month (as factor) as random effects. The levels of Band Injury were L0, L1, L2, plus a control (no arm band) for the first time the animal was captured or for individuals that only received collars. Only bats that were captured more than once were included in the model, with a total of 350 females (with 1,172 encounters) and 305 males (with 1,227 encounters). Seasonality was assessed in the model as a fixed effect sinusoidal term $\sin(\omega\text{Month}) + \cos(\omega\text{Month})$, where $\omega\text{Month} = (\pi/6) * (\text{Month})$ transforms each month into the 12th part in radians of a circle representing a Year (Pewsey et al. 2013). The variance in body condition explained by the model was calculated by conditional (explained by all effects) and marginal (explained by fixed effects) coefficients of determination for generalized mixed-effects models (Nakagawa et al. 2017). We fitted models in the R environment (R Core Team 2020) with package “lme4” (Bates et al. 2015), and explored results with packages “effects”, “car”, and “MuMIn” (Fox and Weisberg 2019; Bartoń 2020).

Time-to-failure analysis of tag damage — We performed a time-to-failure survival analysis (Moore 2016) to estimate the probability of arm bands causing injury or becoming damaged during the course of the study. The capture data was organized as right-censored, where each individual was monitored for a certain amount of time until it presented an injury (outcome = 1), or if not injured when captured for the last time it was censored (outcome = 0). There were too few animals with L2 lesions for statistical analyses, so we pooled L1 and L2 lesions. For the analysis of damage to arm band, we categorized the outcomes as 1 when the band was classified as unreadable or barely readable, and as 0 when the band was readable. We estimated Kaplan-Meier survival curves separating individuals by sex and age when first marked. We plotted the curves as probabilities of event occurrence (injury or damaged tag), and compared the curves using a Mantel-Haenszel log-rank test (Moore 2016). Survival analyses were performed using package “survminer” (Kassambara et al. 2020).

Multistate mark-recapture models.— We analyzed mark-recapture data using multistate models to estimate probabilities of apparent survival (S), recapture (p), tag-related injury and tag loss (as transition probabilities between states – Ψ). Arm band injury capture histories consisted of zeros (not captured), L0

(no injuries), L1 (minor injury), or L2 (major injury). Because Colony 1 was not monitored regularly after April 2015, the corresponding positions in the capture histories were dots instead of zeros. We estimated the probability of injury as the transition between states L0-L1, L0-L2 or L1-L2, whereas the possibility of injuries healing was modeled by transition probabilities L1-L0, L2-L0 and L2-L1. The transition L2-L0 was overestimated, because in 15 out of 54 observed cases of L2, the arm bands were removed. In 12 of these cases, the bats had collars so they could still be recaptured, but because the arm bands were not there, they would be classified as L0. For the tag loss models, the states were A = arm band, C = collar, B = both (double tagged). We estimated tag loss probabilities as transitions between states B-C (arm band loss) and B-A (collar loss). We fixed transitions between A-C, C-A, and C-B at zero.

We performed goodness of fit (GOF) tests (Seber and Schofield 2019) grouping capture histories by Colony, Sex, and Tag Type. For each factor level combination, we performed chi-square tests to check the assumptions that capture at a given occasion affects future capture probabilities (Test 2), and that the past history has an effect on future recaptures (Test 3). The overall chi-square GOF sums up the statistics and degrees of freedom of all Test 2 and Test 3 values.

We grouped the 31 capture events by Year (as factor) and Season (Wet/Dry), to generate temporal covariates. In the tag loss models, the full model was: $S(\text{ForL} + \text{SMI} + \text{Year} + \text{Season} + \text{Sex} + \text{Tag Type}) p(\text{Sex} + \text{Season} + \text{Tag Type}) \Psi(\text{ForL} + \text{Tag Age} + \text{Sex})$. ForL, SMI (averaged over all capture occasions), and time (Year+Season) were previously found to influence apparent survival probability, whereas Sex and Season were covariates of recapture probability (Monteiro et al. 2019). We performed model selection comparing models with all possible combinations of covariates for each parameter, but keeping covariates previously known to influence each parameter. We used the following covariates for tag loss: ForL, as larger animals might be less likely to lose a tag due to a tighter fit, and Tag Age to account for an increased probability of tag loss with time since marking. We included Sex to account for behavioral differences that might lead to differential tag loss between males and females. We estimated bias in survival estimates due to tag types by comparing survival estimates of models with and without Tag Type as a covariate.

In the arm band-related injury models, the full model was $S(\text{ForL} + \text{SMI} + \text{Year} + \text{Season} + \text{Sex} + \text{Injury Level}) p(\text{Sex} + \text{Season} + \text{Injury Level}) \Psi(\text{SMI} + \text{Tag Age} + \text{Sex})$. We used SMI, Tag Age, and Sex as covariates of the transition between injury states. This allowed us to test the hypotheses that individuals presenting body condition consistently below average were more likely to get injured, that older arm bands were more likely to cause injury and that one sex might be more prone to injury due to behavioral differences.

We compared models with different combinations of covariates using the small sample corrected Akaike Information Criterion (Seber and Schofield 2019). To account for overdispersion, we calculated a variance inflation factor based on the pooled chi-squared statistics from the GOF tests results as $\hat{c} = \chi^2/\text{df}$, where $\text{df} = \text{sum of degrees of freedom of Tests 2 and 3}$. The variance inflation factor allows for a quasiliikelihood adjustment of information criteria and confidence intervals of parameter estimates to account for increased uncertainty due to overdispersion (Seber and Schofield 2019). We implemented mark-recapture models in the R environment with package “RMark” (White and Burnham 1999; Laake 2013). Goodness of fit tests were performed with the “R2ucare” package (Gimenez et al. 2018).

Results

Bat capture summary — We captured 1,598 individuals (Colony 1 with 231 females and 124 males, Colony 2 with 654 females and 589 males). Out of the captured, 907 animals (505F, 402M) received arm bands only (most between 2013-2016), 452 animals (246F, 206M) received collars only (after August 2016), whereas 239 (134F, 105M) received both arm bands and collars. We assessed the injuries caused by tags in a set of 531 (309 females, 222 males) bats marked with arm bands and 411 (211F, 200M) bats marked with collars that were recaptured at least once, so injuries could be assessed. Approximately 25% of bats marked with arm bands presented minor (L1) injuries, and 10% presented more severe injuries (L2) (Table 1). No flesh injuries were observed due to collars, but alopecia was observed in 5% of individuals.

Body condition and tag-related injuries — The SMI was influenced by all predictors in the mixed-effects linear model (Fig. 2, Supplementary Data S1). A

high percentage of SMI variation was explained by the model (conditional $R^2 = 64.1\%$). The percentage of SMI variation explained only by fixed effects in the model was considerably smaller (marginal $R^2 = 17.4\%$), and most explained SMI variation results from random differences among individuals and months. All fixed effects presented interactions with Sex, and differences in body condition were more pronounced in females (Fig. 2, Supplementary Data S1). The SMI decreased in the years 2015 and 2016, followed by a steady increase in the subsequent years (Supplementary Data S1). Body condition was lower between May and September, and females had a greater seasonal decrease (Supplementary Data S1). Tagged animals with no lesions (L0) had similar SMI to unmarked individuals (beta = -0.1, 95% CI -0.3 to 0.1). In females, a decrease in SMI was observed both for L1 and L2 (Fig. 2), and the more serious injury level (L2) was associated with a decrease of ~ 1 g SMI in females.

Time-to-failure analysis of tag damage — There was no statistical support for differences between sexes (Mantel-Haenszel test $p = 0.98$) or age categories at first mark ($p = 0.62$) in the curves for injury probability (Supplementary Data S2). The median time to injury, when half the monitored animals were likely to be injured, was 17 months (95% CI 15-27 months). The median time to injury in juveniles was estimated at 35 months, (95% CI 17-37 months). However, there was statistical support for the association between age category at marking and the occurrence of injury L1+L2 ($X^2 = 4.579$, $df = 1$, $p = 0.032$), with animals marked when juveniles presenting 25% less injuries than expected. There was no statistical support for differences in probability of tag damage between sexes ($p = 0.65$). The estimated median time to damage the arm band was 24 months (95% CI 18-33 months). There were differences in tag damage between age categories ($p = 0.016$). The juvenile curve becomes different from the adult curve 9-12 months after tagging (Supplementary Data S2).

Table 1.—Summary of occurrence of injury types and damage to arm bands in the sample of 531 recaptured *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil, by sex and age category at first marking. Percentage corresponds to line sum (interaction between sex and age).

		Injury types		
Sex	Age Category	L0	L1	L2
Females	AD	151 (59%)	73 (28%)	32 (13%)
	JV	36 (68%)	10 (19%)	7 (13%)
Males	AD	106 (67%)	39 (24%)	14 (9%)
	JV	49 (78%)	13 (21%)	1 (2%)
Total %		65%	25%	10%

		Intact tag	Damaged tag
Females	AD	178 (70%)	78 (30%)
	JV	49 (92%)	4 (8%)
Males	AD	122 (77%)	37 (23%)
	JV	59 (94%)	4 (6%)
Total %		77%	23%

Mark-recapture models goodness of fit.—The overall goodness of fit tests of the global model indicated some overdispersion (Test 2 + Test 3 $\chi^2 = 453.42$, $df = 264$, $p < 0.0001$). The variance inflation factor ($\hat{c} = 1.72$) was used to adjust the information criteria and confidence intervals of estimates.

Multistate models for tag loss — The most parsimonious models included Tag Type as a covariate to apparent survival. There was no statistical support for differences in recapture probability between tags. Inclusion of ForL and Tag Age was supported in the top four models as covariates of transition probabilities between strata (Supplementary Data S3).

The probability of recapture (p) varied according to Sex and Season (Supplementary Data S4). For males, $p = 0.55$ (95% CI 0.51-0.59) in the dry season and $p = 0.73$ (95% CI 0.70-0.76) in the wet season, whereas for females, $p = 0.32$ (95% CI 0.29-0.34) in the dry season and $p = 0.50$ (95% CI 0.47-0.53) in the wet season. Apparent survival was higher in the years 2017-2018

(Supplementary Data S4). Survival in the wet season is 26% higher than in the dry season, and male survival was ~ 82% that of females in the same year and season. Survival was greatest with arm bands ($S = 0.91$, 95% CI = 0.89-0.92), followed by double tagging ($S = 0.79$, 95% CI = 0.75-0.83), and collars ($S = 0.66$, 95% CI = 0.60-0.73). SMI and ForL presented similar positive associations with S (Supplementary Data S4).

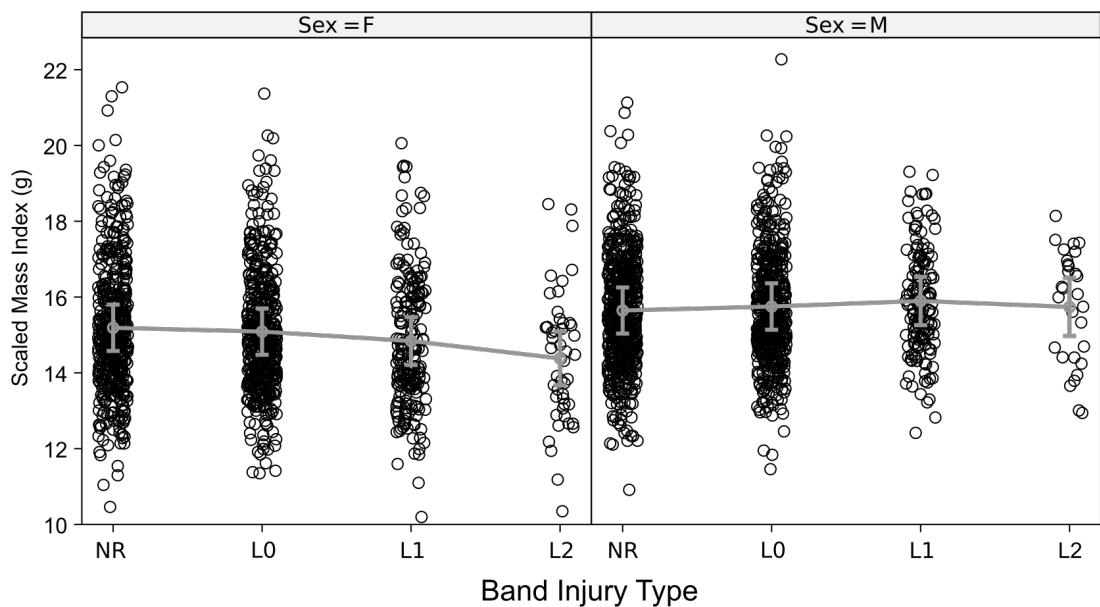


Fig. 2.—Effect plots for the mixed-effects model predicting body condition (SMI) from arm band injury type and sex for *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil. Categories are: NR – no arm band, L0 – banded without injury, L1 – banded with minor injury, L2 – banded with major injury. Open black circles are partial residuals. Open grey circles indicate estimated means for each effect and the error bars and bands in (c) indicate 95% confidence intervals for the fitted effects.

The probability of tag loss, for arm bands and collars, was negatively associated with ForL and positively with Tag Age (Supplementary Data S4). After 24 months, the probability of arm band loss increases from 0.016 (95% CI 0.0005-0.052) to 0.056 (95% CI 0.032-0.099). The average estimate for collar loss probability was 0.062 (95% CI 0.035 - 0.118). Based on survival estimates from models with and without Tag Type as covariate, collars under-estimated survival by 3-11%.

Multistate models for arm band-related injuries.—Among the five best models for multistate data on arm band-related injuries, only two included Injury

Level as a covariate to survival. There was no statistical support for an effect of Injury Level on apparent survival (Supplementary Data S5). For p , only covariates Sex and Season were included in the best models. For the probabilities of transition between injury states, SMI was included as a covariate in the two best ranked models. Tag Age is included in the fourth model, but its effect is uncertain (all betas include 0 in the 95% CI). Sex did not impact transition probability between injury states.

Body condition was inversely related to the transitions from normal to minor injury (L0-L1), normal to major injury (L0-L2), and minor to major injury (L1-L2) (Fig. 3, Supplementary Data S6). At the average SMI (~15 g), an increase in one gram SMI decreases the chance of major injury by ~19% (95% CI 17-21%), and the chance of a minor injury by 9% (95% CI 8-10%).

Table 2.—Matrix with transition probabilities between injury levels for the two month interval between captures, estimated for the average SMI, by the multistate mark-recapture model for arm band-related injuries in *Carollia perspicillata* from southeastern Brazil. Transitions are depicted from states in first column rows to states in subsequent columns. Estimates are followed by 95% confidence intervals (in parentheses).

Stratum/to Stratum	L0 (Normal healing)	L1 (Minor Injury)	L2 (Major injury)
L0 (Normal healing)	0.770 (0.737-0.799)	0.197 (0.169-0.229)	0.032 (0.021-0.050)
L1 (Minor Injury)	0.469 (0.391-0.549)	0.438 (0.358-0.522)	0.093 (0.054-0.154)
L2 (Major injury)	0.129 (0.039-0.347)	0.478 (0.329-0.631)	0.393 (0.224-0.591)

Transition probabilities between injury states (Table 2) indicate that for the average SMI, individuals with no lesion have ~0.2 probability of presenting minor injuries and ~0.03 probability of presenting major injuries in the next capture (Table 2). Once they present a minor injury, they are as likely to remain in the same state as they are to transition back to a less severe injury level, but the probability of developing a major injury increases to ~0.09 (95% CI 0.05-0.15)). Once a major injury occurs, it is likely to remain at the same level. The probability of transitioning between L2 and less severe states is overestimated because 27% of bats with L2 injuries had their arm bands removed.

Discussion

This study explored the effects of tagging *C. perspicillata*, focusing on animal welfare and the bias in parameter estimation due to tag loss. It should be emphasized that, even when injuries are not apparent or the animal seems in good condition, the behavioral and physiological toll can be underestimated.

Body condition and tag-related injuries — Body condition is a predictor of survival and reproduction in *C. perspicillata* (Monteiro et al. 2019), and females with major lesions from arm bands had lower SMI. The burden of parturition, nursing, and carrying a pup increases energetic expenditure (Fleming 1988) and depletes energy reserves (Heldstab et al. 2017), making them more sensitive to the injuries caused by arm bands. Bats that sustain a lower than average SMI over a long period of time are more likely to present injuries. At this point, it is not possible to determine the direction of causality between SMI and tag-related injuries. Nevertheless, the influence of SMI on survival and reproduction provides an important link between tag-related injuries and animal welfare.

Injury and tag damage according to sex and age classes —The rate of occurrence of injuries from arm bands varies according to species, band size, material, type of band and experience of bander (Happold and Happold 1998; Baker et al. 2001; Dietz et al. 2006; Zambelli et al. 2009). Our results indicate that 1 out of every 5 *C. perspicillata* become injured by banding. Not all minor injuries will progress to major injury, but a fitness cost is still likely. The accumulation curve indicates that after approximately 17 months, half the marked animals would be expected to show injury. Similar to our findings, Fleming (1988) noticed that within a period of two years, 54.1% of recaptured *C. perspicillata* had arm bands with obscured numbers due to chewing. Because arm bands typically injure *C. perspicillata* or become unreadable within two years, they are not suitable for long term identification.

Animals that received arm bands as juveniles were less likely to damage the arm bands and less likely to get injured by the tags. Because bats spend energy and time attempting to remove the band through biting, the bands cause injuries by tightening and/or causing inflammation (Baker et al. 2001). Our observations indicate that adult animals chew on the arm bands as soon as released, whereas juveniles do not, and get used to the foreign body, being less likely to get injured and cause damage to the tag.

Tag loss and injury rate differences between arm bands and collars — Injuries from arm bands are well documented in bats (Baker et al. 2001; O'Shea et al. 2004). However, the evidence for collar-related injuries is more anecdotal (Kunz and Weise 2009; Rodríguez-Posada and Santa-Sepúlveda 2013). Most studies reported no effects more serious than alopecia, even with a large number of recaptured animals (Handley et al. 1991; Gannon and Willig 1998), but Fleming (1988) reported 15 *Carollia perspicillata* with the collars embedded in the neck flesh (2.2% of 686 recaptures). Collars did not cause flesh injuries in our study, but were 1.5 to 2.5 times more likely to be lost than arm bands. When deciding on the collar size to be used, researchers need to consider the trade-off between probability of injury and probability of collar loss. We suspect that most losses occur when one bat pulls the collar from another while trying to grab hold of a roosting position. This behavior was observed when the animals were held prior to release (pers. obs.). The probability of collar loss estimated in our study is similar to other studies with phyllostomids (Fleming 1988; Handley et al. 1991). Tag loss could be reduced by fitting tighter collars, but would increase potential for injury. This loss rate may be acceptable if it can be quantified and incorporated into the estimation of population parameters.

Injury levels and survival — Injuries are likely to impact survival directly through energy demands for healing, pain, and reduced flight capacity, but also indirectly, through their correlation with body condition. Our mark-recapture models were limited regarding L2-injury survival because we removed arm bands from animals with the most severe injuries. Also, SMI is associated with both survival (positive) and major injury probability (negative). Because SMI is included as a covariate for survival, its effect is partialled out of the beta estimate for injury level. As a result, all injury impacts on survival are explained by SMI differences between injury levels.

Tag loss and parameter bias — Mark-recapture models operate under the assumption that tag loss is non-existent or negligible (Arnason and Mills 1981). Simulations and empirical studies have shown that tag losses can cause bias or increased uncertainty in parameter estimates such as abundance and survival (Arnason and Mills 1981; McDonald et al. 2003; Seber and Schofield 2019). Correction formulas and specific models have been proposed to incorporate tag loss adjustments into parameter estimation (Cowen and Schwarz 2006; Laake et

al. 2014). Collar loss rates in *C. perspicillata* were estimated to be approximately two times higher than arm band rates, but do not change with time since tagging. Comparing the survival estimates for years 2016-2018, the models that included Tag Type as a covariate, presented survival estimates that were 3-11% larger than models without Tag Type. This bias could be removed applying the correction for survival estimates based on tag loss rates, proposed by Arnason and Mills (1981).

Alternative tags —The search for tags that cause a minimum of harm to the bats, and yet have very high probability of retention is still under way. Alternative methods have been proposed, but still need to be examined in more detail. Plastic cable tie collars have been suggested as a potential inexpensive tag (Kunz and Weise 2009), but can have negative impacts on bat health (Rodríguez-Posada and Santa-Sepúlveda 2013). Passive integrated transponder (PIT) tags cause little harm (Rigby et al. 2012; Locatelli et al. 2019), have long retention rates, and can be read without requiring the capture of the animal (Ellison et al. 2007). However, PIT tag loss can be considerable over longer periods of time (Rigby et al. 2012). Visible elastomer implants have been successfully used in 22 bat species with no signs of injuries or health effects (Alencar et al. 2020). Another promising avenue of research is biometric identification of patterns formed by collagen fibers on bat wings (Amelon et al. 2017), but these still need to be implemented in pattern recognition software for large data bases, as well as an assessment of their long term permanence.

Consequences to conservation and recommendations — *Carollia perspicillata* is the species marked most often in Brazil (Barros et al. 2012). Ecological studies use marking to assess abundance or movement between sites (Bernard and Fenton 2003; Bianconi et al. 2006; Mello et al. 2008), but the typical percentage of recaptures is small (1-10%). One of the largest studies in Brazil marked 20,000 bats with a mixture of tags (plastic collars, plastic and metallic arm bands), and recaptured 1,400 (7%) within a 13-year interval (Esbérard et al. 2011), but no information of the impact of tags on animal welfare was provided.

Our study showed high recapture rates (0.32-0.73), but we worked at a roosting site, with a species that has high site fidelity. If a study depends on mist net captures away from roosting sites, the proportion of recaptures is expected to decrease considerably (Mello et al. 2004b). Simulations show that with recapture rates up to 10%, a monitoring study would need to mark 25,000-100,000 bats

annually to be able to detect a 10-15% population decline at landscape level (Schorr et al. 2014). Because recapture probabilities are important for power analyses and sample size estimates, it is of paramount importance that new studies consider the amount of knowledge that will be obtained against the potential harm that will be inflicted to bat populations. Marking a few hundred individuals that will be monitored over a short period of time is unlikely to be informative, but can cause a severe impact. In Brazil, this is particularly true of studies that monitor environmental impacts of development projects and species inventories (Arnone and Passos 2007; Esbérard et al. 2010; Luz et al. 2011). Investigators need to be concerned with the effect of marking large numbers of bats that, due to low recapture rates, will not be enough for population parameter estimates, and may only lead to eventual anecdotes about individual movements and longevity (Esbérard et al. 2011). Until a safe, long-lasting marking technique becomes available, environmental agencies should stop requiring bats to be marked, as it can harm the animals and fails to produce reliable information.

The effects of arm bands are not negligible for *C. perspicillata*, and probably similar in most phyllostomid species. Stainless-steel ball-chain collars may be less harmful for adult bats, if properly fit, but the probability of tag loss is higher and investigators should be aware of possible bias in population parameter estimates. New tagging methods need to be thoroughly assessed regarding permanence, retention rates, and their effect on the animals, before being widely used or recommended. Even if no external signs of injury are apparent, no marking device should be considered completely harmless, and investigators (and agencies that issue permits) need to consider carefully the actual need to use marking considering the burden to the animals, the objectives of the study, and the potential to generate knowledge (Baker et al. 2001; Soulsbury et al. 2020). Reporting injury rates and tag loss estimates should be required of studies that use marking. We second Barros et al. (2012) recommendation to limit marking individuals to studies that will monitor populations of species with high recapture probability in the long term, adding that study proposals need to consider the least harmful tags possible for each species. Rather than an afterthought, the development of less intrusive methods for individual identification should be an active and valued area of research in population ecology.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank W. Costa-Jr (RBU administrator) and ICMBIO staff for providing support and infrastructure. We also thank R. B. Lyra, K. Urbanowski and L. B. Mayer for help with field work. T. Onkelinx and T. Philippi provided helpful advice on the use of mixed models. J. M. Bubadu e and two anonymous Reviewers provided suggestions to improve a previous version of this manuscript. This work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Cient fico e Tecnol gico (CNPq), Funda o de Amparo   Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ), and Coordena o de Aperfei oamento de Pessoal de N vel Superior (CAPES) - Finance Code 001

Literature Cited

- Alencar D.R., Falc o F.C., Tinoco M.S. 2020. Use of visible implant elastomer (VIE) as an efficient method for marking bats. *Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia* 89:107–111.
- Amelon S.K., Hooper S.E., Womack K.M. 2017. Bat wing biometrics: using collagen–elastin bundles in bat wings as a unique individual identifier. *Journal of Mammalogy* 98:744–751.
- Arnason A.N., Mills K.H. 1981. Bias and loss of precision due to tag loss in Jolly-Seber estimates for mark-recapture experiments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38:1077–1095.
- Arnone I.S., Passos F.C. 2007. Estrutura de comunidade da quiropterofauna (Mammalia, Chiroptera) do Parque Estadual de Campinhos, Paran , Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 24:573–581.
- Baker G.B., Lumsden L.F., Dettmann E.B., Schedvin N.K., Schulz M., Watkins D., Jansen L. 2001. The effect of forearm bands on insectivorous bats (Microchiroptera) in Australia. *Wildlife Research* 28:229–237.
- Barros M.A.S., Luz J.L., Esberard C.E.L. 2012. Situa o atual da marca o de morcegos no Brasil e perspectivas para acria o de um programa nacional de anilhamento. *Chiroptera Neotropical* 18:1074–1088.
- Barto n K. 2020. MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.43.17. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>.

- Bates D., Mächler M., Bolker B., Walker S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67:1–48.
- Bernard E., Fenton B. 2003. Bat mobility and roosts in a fragmented landscape in central Amazonia, Brazil. *Biotropica* 35:262–277.
- Bianconi G.V., Mikich S.B., Pedro W.A. 2006. Movements of bats (Mammalia, Chiroptera) in Atlantic Forest remnants in southern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 23:1199–1206.
- Brunet-Rossinni A.K., Wilkinson G.S. 2009. Methods for age estimation and the study of senescence in bats. In: Kunz T.H., Parsons S., editors. *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland, USA; p. 315–325.
- Cowen L., Schwarz C.J. 2006. The Jolly-Seber model with tag loss. *Biometrics* 62:699–705.
- Dietz C., Dietz I., Ivanova T., Siemers B.M. 2006. Effects of forearm bands on horseshoe bats (Chiroptera: Rhinolophidae). *Acta Chiropterologica* 8:523–535.
- Ellison L.E. 2008. Summary and analysis of the U.S. Government Bat Banding Program: U.S. Geological Survey Open-File Report 2008-1363,. U. S. Geological Survey. Reston, Virginia, USA.
- Ellison L.E., O'Shea T.J., Neubaum D.J., Bowen R.A. 2007. Factors influencing movement probabilities of big brown bats (*Eptesicus fuscus*) in buildings. *Ecological Applications* 17:620–627.
- Esbérard C., Baptista M., Costa L., Luz J., Lourenço E. 2010. Morcegos de Paraíso de Tobias, Miracema, Rio de Janeiro. *Biota Neotropica* 10:249–255.
- Esbérard C.E.L., Freitas G.P., Luz J.L., Costa L.M., Freitas L.N. 2011. Intervalos máximos entre captura e recaptura de morcegos no estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. *Chiroptera Neotropical* 17:957–962.
- Fleming T.H. 1988. *The short-tailed fruit bat: a study in plant-animal interactions*. The University of Chicago Press.
- Fox J., Weisberg S. 2019. *An R companion to applied regression*. Sage. Thousand Oaks, California, USA.
- Gannon M.R., Willig M.R. 1998. Long-term monitoring protocol for bats: lessons from the Luquillo Experimental Forest of Puerto Rico. In: Dallmeier F., Comiskey J., editors. *Forest biodiversity in North, Central South America and*

- the Caribbean: research and monitoring. UNESCO and the Parthenon Publishing Group. Carnforth, Lancashire, United Kingdom; p. 271–291.
- Gimenez O., Lebreton J.-D., Choquet R., Pradel R. 2018. R2ucare: An R package to perform goodness-of-fit tests for capture–recapture models. *Methods in Ecology and Evolution* 9:1749–1754.
- Handley C.O., Wilson D.E., Gardner A.L. 1991. Demography and natural history of the common fruit bat, *Artibeus jamaicensis*, on Barro Colorado Island, Panamá. *Smithsonian Contributions to Zoology* 511:1–173.
- Happold D., Happold M. 1998. Effects of bat-bands and banding on a population of *Pipistrellus nanus* (Chiroptera: Vespertilionidae) in Malawi. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 63:65–78.
- Heldstab S.A., Schaik C.P., Isler K. 2017. Getting fat or getting help? How female mammals cope with energetic constraints on reproduction. *Frontiers in Zoology* 14:29.
- ICMBIO 2008. Plano de manejo da Reserva Biológica União, Encarte 3: Análise da Unidade de Conservação. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF, Brasil.
- Jones G., Jacobs D.S., Kunz T.H., Willig M.R., Racey P.A. 2009. Carpe noctem: the importance of bats as bioindicators. *Endangered Species Research* 8:93–115.
- Kassambara A., Kosinski M., Biecek P. 2020. survminer: Drawing Survival Curves using 'ggplot2'. <https://CRAN.R-project.org/package=survminer>.
- Kunz T.H., Weise C.D. 2009. Methods and devices for marking bats. In: Kunz T.H., Parsons S., editors. *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland, USA; p. 36–56.
- Laake J.L. 2013. RMark: An R interface for analysis of capture-recapture data with MARK. AFSC Processed Rep. Alaska Fish. Sci. Cent., NOAA, Natl. Mar. Fish. Serv. Seattle, Washington, USA.
- Laake J.L., Johnson D.S., Diefenbach D.R., Terner M.A. 2014. Hidden Markov model for dependent mark loss and survival estimation. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 19:522–538.
- Lebreton J.-D., Nichols J.D., Barker R.J., Pradel R., Spendelov J.A. 2009. Modeling individual animal histories with multistate capture–recapture

- models. In: Caswell H., editors. *Advances in Ecological Research* 41. Academic Press; p. 87–173.
- Locatelli A.G., Ciuti S., Presetnik P., Toffoli R., Teeling E. 2019. Long-term monitoring of the effects of weather and marking techniques on body condition in the Kuhl's pipistrelle bat, *Pipistrellus kuhlii*. *Acta Chiropterologica* 21:87–102.
- Luz J.L., de Moraes Costa L., Lourenço E.C., Esbérard C.E.L. 2011. Morcegos (Mammalia, Chiroptera) da Reserva Rio das Pedras, Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. *Biota Neotropica* 11:95–101.
- McDonald T.L., Amstrup S.C., Manly B.F.J. 2003. Tag loss can bias Jolly-Seber capture-recapture estimates. *Wildlife Society Bulletin* 31:814–822.
- Mellado B.R., Carneiro L.O., Nogueira M.R., Monteiro L.R. 2018. Diversity and seasonality of a Phyllostomid assemblage from the Atlantic Forest of southeastern Brazil. *Mastozoologia Neotropical* 25:363–377.
- Mello M.A.R., Kalko E.K.V., Silva W.R. 2008. Diet and abundance of the bat *Sturnira lilium* (Chiroptera) in a brazilian montane atlantic forest. *Journal of Mammalogy* 89:485–492.
- Mello M.A.R., Schittini G.M., Selig P., Bergallo H.G. 2004a. Seasonal variation in the diet of the bat *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) in an Atlantic Forest area in southeastern Brazil. *Mammalia* 68:49–55.
- Mello M.A.R., Schittini G.M., Selig P., Bergallo H.G. 2004b. A test of the effects of climate and fruiting of *Piper* species (Piperaceae) on reproductive patterns of the bat *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae). *Acta Chiropterologica* 6:309–318.
- Monteiro L.R., Mellado B., Nogueira M.R., Morais-Jr M.M. 2019. Individual asymmetry as a predictor of fitness in the bat *Carollia perspicillata*. *Journal of Evolutionary Biology* 32:1207–1229.
- Moore D.F. 2016. *Applied survival analysis using R*. Springer International Publishing.
- Murray D.L., Fuller M.R. 2000. A critical review of the effects of marking on the biology of vertebrates. In: Boitani L., Fuller T.K., editors. *Research techniques in animal ecology: controversies and consequences*. Columbia University Press; p. 15–64.

- Nakagawa S., Johnson P.C.D., Schielzeth H. 2017. The coefficient of determination R^2 and intra-class correlation coefficient from generalized linear mixed-effects models revisited and expanded. *Journal of The Royal Society Interface* 14:20170213.
- O'Donnell C.F.J. 2009. Population dynamics and survivorship in bats. In: Kunz T.H., Parsons S., editors. *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland, USA; p. 158–176.
- O'Shea T.J., Ellison L.E., Stanley T. 2004. Survival estimation in bats: historical overview, critical appraisal, and suggestions for new approaches. In: Thompson W.L., editor. *Sampling rare or elusive species: concepts, designs, and techniques for estimating population parameters*. Island Press. Washington DC, USA; p. 297–336.
- Peig J., Green A.J. 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos* 118:1883–1891.
- Peig J., Green A.J. 2010. The paradigm of body condition: a critical reappraisal of current methods based on mass and length. *Functional Ecology* 24:1323–1332.
- Pewsey A., Neuhauser M., Ruxton G.D. 2013. *Circular statistics in R*. Oxford University Press.
- Prieto P.V., Sansevero J.B.B., Garbin M.L., Braga J.M.A., Rodrigues P.J.F.P. 2014. Edge effects of linear canopy openings on understory communities in a lowland Atlantic tropical forest. *Applied Vegetation Science* 17:121–128.
- Pryde M.A., O'Donnell C.F., Barker R.J. 2005. Factors influencing survival and long-term population viability of New Zealand long-tailed bats (*Chalinolobus tuberculatus*): implications for conservation. *Biological Conservation* 126:175–185.
- Rigby E.L., Aegerter J., Brash M., Altringham J.D. 2012. Impact of PIT tagging on recapture rates, body condition and reproductive success of wild Daubenton's bats (*Myotis daubentonii*). *Veterinary Record* 170:101–101.
- Rodríguez-Posada M.E., Santa-Sepúlveda M.A. 2013. Reporte de lesiones en murciélagos causadas por el uso incorrecto de collares plásticos como método de marcaje. *Therya* 4:395–400.

- Schorr R.A., Ellison L.E., Lukacs P.M. 2014. Estimating sample size for landscape-scale mark-recapture studies of North American migratory tree bats. *Acta Chiropterologica* 16:231–239.
- Seber G.A.F., Schofield M.R. 2019. Capture-recapture: parameter estimation for open animal populations. Springer International Publishing.
- Sikes R.S., and the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists 2016. 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *Journal of Mammalogy* 97:663–688.
- Silvy N., Lopez R.R., Peterson M.J. 2012. Techniques for marking wildlife. In: Silvy N., editor. *The wildlife techniques manual: research*. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland, USA; p. 230–257.
- Soulsbury C.D., Gray H.E., Smith L.M., Braithwaite V., Cotter S.C., Elwood R.W., Wilkinson A., Collins L.M. 2020. The welfare and ethics of research involving wild animals: a primer. *Methods in Ecology and Evolution* 11:1164–1181.
- R Core Team 2020. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Trajano E. 1996. Movements of cave bats in southeastern Brazil, with emphasis on the population ecology of the common vampire bat, *Desmodus rotundus* (Chiroptera). *Biotropica* 28:121–129.
- White G.C., Burnham K.P. 1999. Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study* 46:S120–S139.
- Williams B.K., Nichols J.D., Conroy M.J. 2002. *Analysis and management of animal populations*. Academic Press.
- Zambelli N., Moretti M., Mattei-Roesli M., Bontadina F. 2009. Negative consequences of forearm bands that are too small for bats. *Acta Chiropterologica* 11:216–219.

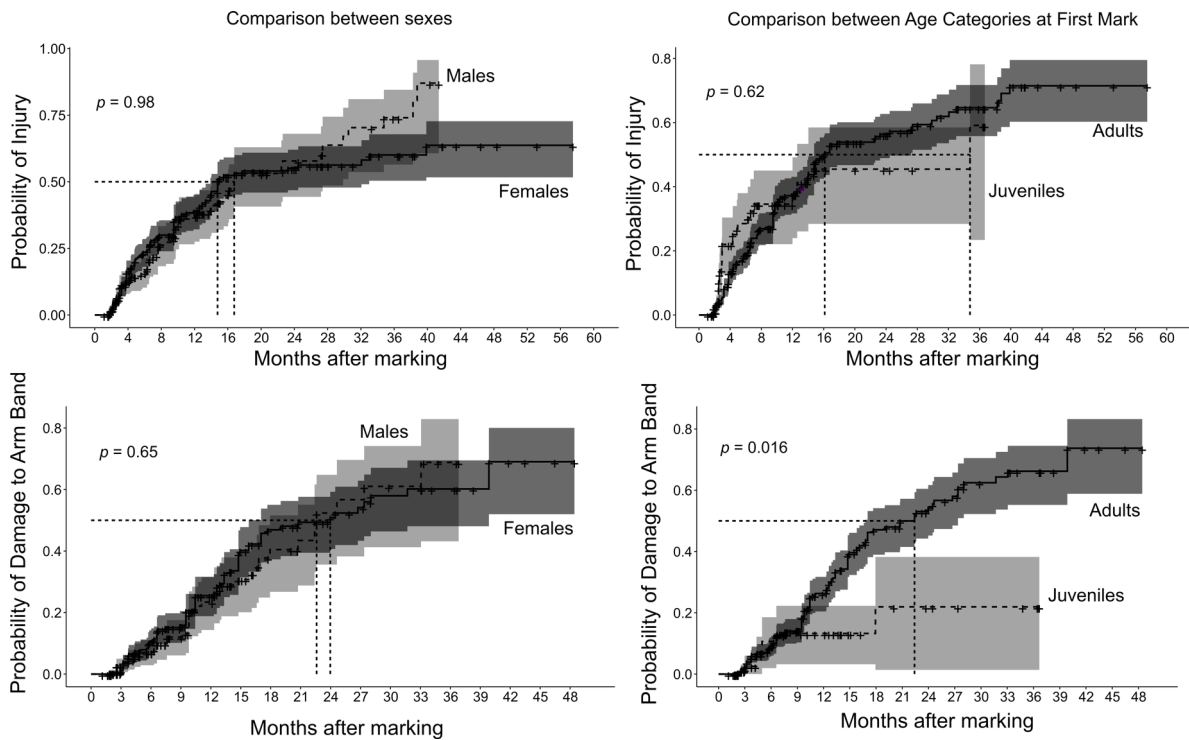
Supplementary Data

Supplementary Data S1

Supplementary Data S1.—Parameter estimates for the mixed-effects model with data for *Carollia perspicillata* from southeastern Brazil, relating SMI to Sex, Band Injury Type, Year (as factor) and Month (as a sinusoidal term) as fixed effects, and individuals and month (as factor) as random effects. Estimates for fixed effects are differences, whereas estimates for random factors are standard deviations. LCL: lower confidence level (95%), UCL: upper confidence level (95%).

Fixed effects	Estimate	LCL	UCL
(Intercept)	16.1305	15.7448	16.5157
SexM	-0.2775	-0.7035	0.1492
Injury-L0	-0.1006	-0.2857	0.0867
Injury-L1	-0.3491	-0.5808	-0.1114
Injury-L2	-0.8093	-1.2109	-0.3988
Year2014	0.0995	-0.1978	0.3840
Year2015	-1.0873	-1.4275	-0.7610
Year2016	-0.8022	-1.1259	-0.4740
Year2017	0.3724	0.0034	0.7297
Year2018	0.2601	-0.1167	0.6335
Year2019	1.1510	0.6210	1.6759
sin(Month)	0.0156	-0.4008	0.4319
cos(Month)	0.7345	0.3034	1.1657
SexM:Injury-L0	0.2061	-0.0631	0.4727
SexM:Injury-L1	0.6010	0.2476	0.9489
SexM:Injury-L2	0.9033	0.2602	1.5366
SexM:Year2014	-0.0979	-0.5519	0.3616
SexM:Year2015	0.2571	-0.2149	0.7330
SexM:Year2016	0.6044	0.1157	1.0928
SexM:Year2017	0.2956	-0.2277	0.8187
SexM:Year2018	0.7446	0.2000	1.2927
SexM:Year2019	0.8451	0.0384	1.6506
SexM:sin(Month)	-0.1644	-0.3047	-0.0245
SexM:cos(Month)	-0.4144	-0.5753	-0.2554
Random Effects			
Individual	1.1230	1.0399	1.2035
Month(factor)	0.4796	0.2456	0.6822
Residual	1.0994	1.0589	1.1319

Supplementary Data S2



Supplementary Data S2.—Kaplan-Meier survival curves plotted as proportion of injury events (L1+L2) (upper panels) and arm band damage events (lower panels), comparing Sex (left panel) and age categories at first mark (right panels) for *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil. P-values are for Mantel-Haenszel tests comparing curves in each plot. Dotted lines indicate median time to event (0.5 probability) for each curve.

Supplementary Data S3

Supplementary Data S3.—Model selection results for the mark-recapture multistate models fitted on the tag loss data for *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil. Only the first 5 models are shown (weight sum = 0.71). Columns show the covariates for each parameter: S – apparent survival probability, p – recapture probability, Ψ – transition probability between strata. K is the number of parameters in the model, ΔQAICc are differences in quasi-Akaike information criteria from the best fitting model, $w\text{QAICc}$ are Akaike weights. Abbreviated covariates are ForL – Forearm Length, SMI – Scaled Mass Index, and Tag Age – time since marking. Tag Type indicates the mark type state (Arm band, Collar, or both).

S	p	Ψ	K	ΔQAICc	$w\text{QAICc}$
~ForL + SMI + Year + Season + Sex + Tag Type	~Sex + Season	~ForL + Tag Age	21	0.0000	0.3623
~ForL + SMI + Year + Season + Sex + Tag Type	~Sex + Season	~ForL + Sex + Tag	24	2.2614	0.1170
~ForL + SMI + Year + Season + Tag Type	~Sex + Season	Age ~ForL + Tag Age	20	2.6664	0.0955
~ForL + SMI + Year + Season + Sex + Tag Type	~Sex + Season + Tag Type	~ForL + Tag Age	23	3.3550	0.0677
~ForL + SMI + Year + Season + Sex + Tag Type	~Sex + Season	~Sex + Tag Age	24	3.3724	0.0671

Supplementary Data S4

Supplementary Data S4.—Betas estimated for covariates of each parameter in the best fitting mark-recapture multistate model for Tag loss data. SE – standard error of estimate, LCL – 95% lower confidence level, UCL – 95% upper confidence level. Parameters estimated were: S – apparent survival probability, p – recapture probability, Ψ – transition probability between strata (Arm band – A, Collar – C, or both – B). Abbreviated covariates are: ForL – Forearm Length, SMI – Scaled Mass Index, Tag Age – time since marking.

Parameter:Covariate	Estimate	SE	LCL	UCL
S:(Intercept)	-22.5118	1.8336	-26.1057	-18.9180
S:ForL	0.4431	0.0388	0.3670	0.5192
S:SMI	0.4422	0.0267	0.3900	0.4945
S:Year2014	-0.0221	0.1740	-0.3631	0.3190
S:Year2015	0.0723	0.1562	-0.2338	0.3784
S:Year2016	0.1920	0.1558	-0.1133	0.4974
S:Year2017	1.3857	0.2278	0.9393	1.8321
S:Year2018	1.2455	0.2059	0.8420	1.6490
S:Season(Wet)	0.2344	0.1275	-0.0154	0.4843
S:Sex(Male)	-0.1973	0.0695	-0.3336	-0.0610
S:Tag Type B	-0.9597	0.1678	-1.2886	-0.6308
S:Tag Type C	-1.6289	0.1758	-1.9734	-1.2844
p :(Intercept)	-0.7732	0.0654	-0.9014	-0.6450
p :Sex(Male)	0.9773	0.0858	0.8092	1.1455
p :Season(Wet)	0.7797	0.0747	0.6332	0.9262
Ψ (stratum B to A):ForL	-0.0763	0.0103	-0.0966	-0.0560
Ψ (stratum B to C):ForL	-0.1016	0.0117	-0.1245	-0.0788
Ψ (stratum B to A):Tag Age	0.0311	0.0206	-0.0094	0.0715
Ψ (stratum B to C):Tag Age	0.0558	0.0208	0.0151	0.0965

Supplementary Data S5

Supplementary Data S5.—Model selection results for the mark-recapture multistate models fitted on the arm band injury data for *Carollia perspicillata* in southeastern Brazil. Only the first 5 models are shown (weight sum = 0.9712). Columns show the covariates for each parameter: S – apparent survival probability, p – recapture probability, Ψ – transition probability between strata. K is the number of parameters in the model, ΔQAICc are differences in quasi-Akaike information criteria from the best fitting model, $w\text{QAICc}$ are Akaike weights. Abbreviated covariates are ForL – Forearm Length, SMI – Scaled Mass Index, and Tag Age – time since marking. InjuryLevel indicates the observation state with regard to arm band-related injury (L0, L1, L2).

	S	p	Ψ	K	ΔQAICc	$w\text{QAICc}$
~ForL + SMI + Year + Season + Sex		~Sex + Season	~SMI	20	0.0000	0.6988
~ForL + SMI + Year + Season + Sex + InjuryLevel		~Sex + Season	~SMI	22	3.5666	0.1175
~ForL + SMI + Year + Season + Sex		~Sex + Season	~1	19	3.9602	0.0965
~ForL + SMI + Year + Season + Sex		~Sex + Season	~SMI + Tag Age	26	5.6002	0.0425
~ForL + SMI + Year + Season + Sex + InjuryLevel		~Sex + Season	~1	21	7.5682	0.0159

Supplementary Data S6

Supplementary Data S6.—Betas estimated for covariates of each parameter in the best fitting mark-recapture multistate model for Arm band-related injury data. SE – standard error of estimate, LCL – 95% lower confidence level, UCL – 95% upper confidence level. Parameters estimated were: S – apparent survival probability, p – recapture probability, Ψ – transition probability between strata (Injury levels: L0, L1, L2). Abbreviated covariates are: ForL – Forearm Length, SMI – Scaled Mass Index

Parameter:Covariate	Estimate	SE	LCL	UCL
S:(Intercept)	-20.8532	2.0387	-24.8492	-16.8573
S:ForL	0.4313	0.0436	0.3459	0.5167
S:SMI	0.3529	0.0286	0.2967	0.4090
S:Year2014	0.0705	0.1686	-0.2599	0.4008
S:Year2015	0.3433	0.1546	0.0403	0.6462
S:Year2016	-0.0330	0.1291	-0.2861	0.2200
S:Year2017	0.6536	0.2069	0.2481	1.0592
S:Year2018	0.3784	0.1688	0.0475	0.7093
S:Season(Wet)	0.4319	0.1457	0.1464	0.7174
S:Sex(Male)	-0.3190	0.0766	-0.4691	-0.1689
p :(Intercept)	-0.7870	0.0691	-0.9225	-0.6516
p :Sex(Male)	0.9888	0.0951	0.8023	1.1753
p :Season(Wet)	0.6419	0.0807	0.4837	0.8001
Ψ (stratum L0 to L1):SMI	-0.0905	0.0049	-0.1001	-0.0809
Ψ (stratum L0 to L2):SMI	-0.2105	0.0115	-0.2330	-0.1879
Ψ (stratum L1 to L2):SMI	-0.1034	0.0160	-0.1348	-0.0720
Ψ (stratum L1 to L0):SMI	0.0045	0.0088	-0.0128	0.0218
Ψ (stratum L2 to L0):SMI	-0.0740	0.0346	-0.1418	-0.0062
Ψ (stratum L2 to L1):SMI	0.0131	0.0221	-0.0302	0.0564

Capítulo 2: Instabilidade do desenvolvimento, reprodução e resposta imunológica em morcegos-de-cauda-curta *Carollia perspicillata*

Breno Mellado¹, Lucas de O. Carneiro¹, Marcelo R. Nogueira¹, L. Gerardo Herrera², Ariovaldo P. Cruz-Neto³, Leandro R. Monteiro¹

1 - Laboratório de Ciências Ambientais, CBB, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ.

2 - Universidade Nacional Autónoma de Mexico, México

3 - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, Brasil

Contribuições dos autores

BM, LRM conceberam as ideias e delineararam a metodologia junto com APCN e LGH. Todos os autores participaram da coleta de dados, BMR analisou os dados e escreveu o manuscrito, com auxílio de LRM. Todos os autores contribuíram intelectualmente com discussões sobre os resultados. Esta versão final ainda não passou pelo crivo dos coautores APCN, LGH, MRN e LOC.

Resumo

Genótipos incapazes de tamponar distúrbios durante a ontogenia apresentam instabilidade no desenvolvimento (ID), produzindo assimetria em organismos bilaterais. Espera-se que um efeito sistêmico dos genótipos com maior ID seja uma diminuição de performance generalizada e, conseqüentemente do valor adaptativo. Estudos prévios mostraram uma associação inversamente proporcional entre assimetria e valor adaptativo no morcego *Carollia perspicillata*. Os objetivos deste estudo foram testar as hipóteses: (1) que indivíduos com maior ID, medida através da assimetria, apresentem redução da resposta imunológica celular, medida através da reação à fitohemaglutinina (PHA); (2) que exista uma solução de compromisso entre reprodução e intensidade da resposta imunológica observando uma variação sazonal e variáveis individuais. Foram realizados quatro ensaios imunológicos (dois antes e dois após o período reprodutivo) com um total de 74 machos e 65 fêmeas de *C. perspicillata* na Reserva Biológica União, RJ. Modelos lineares foram ajustados para prever a resposta imunológica a partir da massa corporal, assimetria do antebraço, comprimento do antebraço, sexo, estação reprodutiva e comprimento do testículo (machos). O modelo com melhor ajuste incluiu a assimetria, o sexo, a sazonalidade e a interação entre assimetria e sexo, explicando aproximadamente 22% da resposta imunológica. Machos apresentaram uma relação inversamente proporcional entre resposta imunológica e assimetria e as fêmeas tiveram uma relação incerta. Ambos os sexos apresentaram menor resposta imune no final do período reprodutivo. Os machos tiveram maior resposta que as fêmeas. O dimorfismo sexual pode ser associado a diferenças na solução de compromisso entre reprodução e imunidade. O modelo ajustado somente com machos explica aproximadamente 20% da resposta imunológica e associou negativamente o comprimento do testículo e a assimetria do antebraço à resposta imunológica. A relação inversamente proporcional entre assimetria e resposta imunológica corrobora a hipótese que, pelo menos nos machos, maior ID está associada a genótipos com menor performance frente ao desafio imunológico. A relação inversamente proporcional entre tamanho do testículo e resposta imunológica ocorre possivelmente devido a uma supressão do sistema imunológico mediada por hormônios esteroides, como a testosterona. Associado à diminuição da

resposta imunológica após o período reprodutivo, este resultado corrobora a hipótese de solução de compromisso entre reprodução e defesa imunológica.

Introdução

A capacidade do sistema imunológico fornecer proteção contra patógenos, como vírus bactérias e parasitos representa um aspecto fundamental da história de vida dos organismos, devido à sua influência sobre o valor adaptativo (Martin et al., 2003; Demas et al., 2012). No entanto, a ativação do sistema imunológico é custosa do ponto de vista energético e nutricional, podendo impossibilitar a manutenção da imunocompetência ao mesmo tempo que ocorrem outros processos fisiológicos exigentes do ponto de vista energético (Lochmiller e Deerenberg, 2000; McKean e Lazzaro, 2011). Estudos ecoimunológicos demonstraram uma solução de compromisso entre a resposta imunológica e componentes associados a história de vida dos organismos como reprodução (Ilmonen et al., 2000), crescimento (Soler et al., 2003) e sobrevivência (Møller e Saino, 2004).

A história de vida dos organismos é um reflexo do ambiente em que habitam (Roff, 2001). Consequentemente, a solução de compromisso imposta pela limitação energética pode variar de acordo com a sazonalidade das restrições ambientais (Sandland e Minchella, 2003). Já foi reportada a variação sazonal na imunocompetência de vertebrados de acordo com a atividade reprodutiva, temperatura, fotoperíodo e disponibilidade de alimento (Nelson et al., 2002; Altizer et al., 2006; Martin et al., 2008). No entanto, existe uma inconsistência nos padrões sazonais de diferentes aspectos do sistema imune (Lochmiller et al., 1994; Sinclair e Lochmiller, 1999), sugerindo que generalizações a respeito de diferenças sazonais na imunocompetência devem ser realizadas com cautela e ressaltando a necessidade de estudos que investiguem a variação sazonal e individual na resposta imunológica, particularmente em populações naturais.

Pequenos desvios de simetria em organismos bilaterais, podem fornecer uma medida de instabilidade no desenvolvimento (ID) (Van Dongen, 2006). Os lados direito e esquerdo do corpo são cópias de uma estrutura produzida a partir do mesmo conjunto de genes sob as mesmas condições ambientais. Assim, é esperado que o resultado final do desenvolvimento sejam cópias idênticas que se aproximam ao fenótipo alvo (Leamy e Klingenberg, 2005). No entanto, estresses

ambientais e/ou genéticos, causam distúrbios aleatórios em processos celulares que afastam a estrutura final do alvo (Klingenberg, 2015). A diferença entre fenótipo produzido e esperado é conhecida como ID, que é a consequência do acúmulo do ruído do desenvolvimento (Klingenberg, 2019). Quando a principal fonte de diferenças de simetria entre os lados do corpo é a ID, a população deve expressar um padrão chamado assimetria flutuante (AF) (Palmer, 1996), onde as diferenças entre lados (com sinal) apresentam uma expectativa média igual a 0 e uma expectativa de distribuição Normal (Palmer e Strobeck, 2003). Estudos que abordam a relação entre AF e valor adaptativo são baseados na premissa que a menor aptidão individual está associada a uma maior ID devido a uma capacidade diminuída do genótipo para tamponar os distúrbios ao longo do desenvolvimento, assim como manter funções corporais importantes, aumentando a assimetria e diminuindo o valor adaptativo (Møller e Swaddle, 1997; Van Dongen, 2006).

Evidências da relação inversamente proporcional entre o sistema imunológico e ID são encontradas a partir da observação de associações entre medidas de ID, parâmetros imunológicos e parasitismo (Lagesen e Folstad, 1998; Martín e López, 2006; Møller, 2006; Hammouda *et al.*, 2012). Por um lado, desafios imunológicos podem gerar estresse durante o desenvolvimento, levando a um aumento na assimetria (Fair *et al.*, 1999; Whitaker e Fair, 2002). Por outro lado, um desenvolvimento simétrico está associado a genótipos com maior regulação sobre o crescimento de diferentes órgãos, homeostase e imunidade (Yu *et al.*, 2015; Juarez-Carreño *et al.*, 2018), gerando uma expectativa de que a simetria seja indicadora da condição de saúde geral do organismo e “qualidade do genótipo” (Martín e López, 2006; Stephenson *et al.*, 2020).

O morcego *Carollia perspicillata* é uma espécie modelo para estudos de ecologia populacional e evolução, por apresentar alta fidelidade aos abrigos, altas taxas de recaptura, grande abundância local e facilidade de manuseio e manutenção em cativeiro (Fleming, 1988; Rasweiler *et al.*, 2009; Monteiro *et al.*, 2019). Estudos populacionais de longo prazo mostraram uma associação inversamente proporcional entre ID (medida através da assimetria do antebraço), sobrevivência e potencial reprodutivo em *C. perspicillata* (Monteiro *et al.*, 2019). Estes autores consideraram a hipótese de uma influência direta da assimetria do antebraço na aerodinâmica do voo menos parcimoniosa que a hipótese de influência sistêmica da ID, pois a magnitude observada de assimetria flutuante

não seria grande o bastante para causar alterações notáveis na manobrabilidade e custo energético do voo (Thomas, 1993; Voigt, 2013). Neste contexto, se faz relevante investigar a relação da assimetria com outras medidas de performance, como a imunocompetência, permitindo avaliar possíveis mecanismos responsáveis pelo efeito sistêmico da ID sobre a sobrevivência dos indivíduos.

Baseado na premissa que a ID está associada a uma diminuição da homeostase, eficiência metabólica e capacidade imunológica, tem-se como objetivo principal deste estudo testar a hipótese de associação inversamente proporcional entre assimetria do antebraço e intensidade da resposta imunológica celular em *Carollia perspicillata*. Como existe uma expectativa de solução de compromisso entre a resposta imunológica e a atividade reprodutiva, testamos também a hipótese de que a resposta imunológica deve ser menor ao final do período reprodutivo, examinando a possibilidade de dimorfismo sexual nesta relação.

Metodologia

Área de estudo e procedimentos de campo

O estudo foi realizado na Reserva Biológica União (ReBio União), localizada dentre os municípios de Rio das Ostras, Macaé e Casimiro de Abreu, no Estado do Rio de Janeiro. A reserva possui uma área total de 7.756 ha coberta principalmente por floresta de baixada e submontana (ICMBIO, 2008). Estudos anteriores mostraram que a comunidade de morcegos da ReBio União é dominada por *C. perspicillata* (Mellado *et al.*, 2018), possivelmente pela disponibilidade de áreas perturbadas onde proliferam os arbustos do gênero *Piper*, cujos frutos são recurso central na dieta destes morcegos (Mello *et al.*, 2004). *Carollia perspicillata* apresenta elevadas taxas de captura (Mello e Schittini, 2005) e rápida adaptação ao cativeiro (Cretokos *et al.*, 2005). Aspecto positivo devido a necessidade de manter os animais em tendas durante a realização do experimento.

Os experimentos foram realizados somente com animais adultos, sem evidência de atividade reprodutiva (gravidez ou lactação). No total, foram utilizados 74 machos e 65 fêmeas. As avaliações imunológicas foram realizadas em quatro ocasiões diferentes, sendo duas no início (01/2018, 10/2020) e duas

no final do período reprodutivo (05/2019, 05/2021). O período reprodutivo da espécie coincide com o período chuvoso (de setembro a maio) na região, e a maior proporção de fêmeas em atividade reprodutiva é observada entre novembro e abril (Monteiro *et al.*, 2019).

Os animais utilizados no estudo foram em sua maioria capturados durante o dia em quatro abrigos situados dentro da ReBio União. Para o desafio imunológico, evitamos utilizar animais previamente marcados (indivíduos que fazem parte do projeto de acompanhamento de longo prazo da população). Coletas noturnas com redes de neblina foram realizadas para conseguir uma amostra balanceada de acordo com o sexo. Após capturados, os animais foram transportados para o laboratório onde foram medidos os comprimentos dos antebraços, massa corporal, comprimento dos testículos e a espessura da pata de ambos lados, direito e esquerdo. As variáveis de comprimento foram medidas com um paquímetro digital (Mitutoyo Japão precisão de 0.01mm) e a massa corporal foi obtida através de uma balança de precisão (Bel S220H resolução de 0.01g). Cada indivíduo recebeu um colar de esferas de aço cirúrgico inoxidável com uma anilha numerada seguindo a metodologia utilizada por Mellado *et al.* (2022). A metodologia utilizada para marcação dos animais já estava sendo utilizada desde o início das atividades de campo, mas a publicação da metodologia só aconteceu no final do período do doutoramento. Durante o experimento, os animais foram mantidos por duas noites em uma tenda com 4x4x2,5m e alimentados *ad libitum* com banana no período noturno. O projeto possui autorização do SISBIO 53628-3 e da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UENF), registrado sob o protocolo 498.

Análise da assimetria

O primeiro passo em um estudo de assimetria flutuante é estimar o erro de mensuração. Esta é uma preocupação importante pois a assimetria é medida pela diferença entre os lados de um mesmo indivíduo. Como estas diferenças são sutis (normalmente <1% do tamanho da estrutura), deve-se tomar cuidado tanto no momento da medição, quanto na posterior análise dos dados para aumentar a probabilidade de detecção de diferenças entre amostras (Graham *et al.*, 2010). O erro de mensuração pode tanto obscurecer a magnitude da assimetria como levar a erros de interpretação nas comparações realizadas (Palmer, 1996). Idealmente,

a magnitude da assimetria flutuante deve ser pelo menos o dobro da magnitude do erro de medição (Palmer e Strobeck, 2003). Utilizamos o comprimento do antebraço (medido entre o cotovelo e o punho, com a asa dobrada) para avaliação da assimetria flutuante. O tamanho do antebraço não varia após o indivíduo atingir sua maturidade (Fleming, 1988) e apresenta boa repetibilidade para medição em animais vivos (diminuindo o erro de mensuração), quando comparado com outras partes do animal (Monteiro *et al.*, 2019). Devido ao fato do antebraço ser uma estrutura diretamente associada ao voo, com alta funcionalidade para morcegos, o caractere deve sofrer grande pressão seletiva durante seu desenvolvimento sendo, possivelmente, mais conservador em sua variabilidade (Palmer e Strobeck, 1986). O estudo de Monteiro *et al.* (2019) estimou o erro de mensuração e validou a medida de assimetria do antebraço como indicador de instabilidade no desenvolvimento, utilizando uma grande amostra de indivíduos da mesma população do presente estudo. Os resultados apresentados em Monteiro *et al.* (2019) indicam que a assimetria flutuante observada no antebraço de *C. perspicillata* foi ~ 10 vezes maior que a assimetria esperada na ausência de ID (apenas pelo erro de mensuração). A repetibilidade (R_{CI} – baseada no coeficiente de correlação intraclasse entre indivíduos) para assimetria do antebraço foi 0.585 (IC 95% 0.527-0.638). A repetibilidade hipotética para assimetria do antebraço estimada foi $R_{hip} = 0.18$. Estes resultados sugerem que a assimetria do antebraço pode ser usada como estimativa de ID, mas que a magnitude das associações entre ID e componentes de valor adaptativo podem ser subestimadas (Van Dongen, 2006). A assimetria individual foi calculada como o módulo da diferença |D-E| do comprimento dos antebraço direito e esquerdo.

Avaliação da resposta imunológica

O método de hipersensibilidade retardada (HR) é uma técnica amplamente utilizada para avaliar a imunocompetência de animais em populações naturais (Demas *et al.*, 2011). A HR consiste em uma resposta antigênica específica que provoca uma inflamação no local da aplicação de um antígeno. O inchaço local pode ser medido e corresponde à intensidade da resposta imunológica adaptativa, representando um marcador da qualidade individual (Martin *et al.*, 2006).

O antígeno fitohemaglutinina (PHA) é uma proteína vegetal não patogênica extraída do feijão-vermelho *Phaseolus vulgaris*. Em plantas, é uma molécula associada à atuação contra a herbivoria. Em vertebrados, a reação no local da aplicação do antígeno PHA é uma inflamação que aumenta a irrigação sanguínea e a infiltração celular (Demas *et al.*, 2011). As primeiras células que chegam no local da inflamação são os neutrófilos e outras células do sistema inato que são responsáveis por apresentar o antígeno ao sistema adaptativo (Kennedy e Nager, 2006). Isto desencadeia uma proliferação de células-T no local da injeção, causando um inchaço no local da aplicação. O maior inchaço local é equivalente a uma maior infiltração e proliferação de macrófagos e linfócitos (Turmelle *et al.*, 2010), representando uma maior resposta imunológica. Alguns autores consideram que a resposta à PHA é complexa e envolve ambos sistemas, inato e adaptativo, pois a resposta à PHA envolve células tanto do sistema imune inato quanto adaptativo (Martin *et al.*, 2006). No entanto, em mamíferos, a PHA está associado principalmente à resposta adaptativa, estimulando a mitose dos linfócitos T para o local da inflamação (Kennedy e Nager, 2006). Por ser induzida uma reação local, as alterações fisiológicas não contribuem significativamente para o estresse dos animais, o que poderia ter consequências sobre a sobrevivência e a reprodução dos animais (Merino *et al.*, 1999; Bowers *et al.*, 2016).

A superfície ventral do pé (almofada), foi o local selecionado para medir a resposta imunológica. A área apresenta uma superfície mensurável com elevada repetibilidade (Demas *et al.*, 2011). Os morcegos eram capturados no dia anterior ao experimento para que todos indivíduos tivessem acesso à alimentação *ad libitum* por uma noite. Após esse período, os animais foram submetidos a injeções de 0,03 ml de PHA diluída em solução fostato-salina (2,16 mg/ml) na parte ventral do pé. O volume de ambas soluções foram baseados em estudos prévios realizados com *C. perspicillata* (Cabrera-Martinez *et al.*, 2019) e adaptados de acordo necessidade. Um dos pés era aleatoriamente selecionado para receber a injeção de PHA, enquanto o pé contralateral foi utilizado como controle, onde era injetado o mesmo volume de solução fostato-salina (PBS) (Martin *et al.*, 2006; Allen *et al.*, 2008). Após a injeção, os indivíduos foram mantidos na tenda até o momento da medição do inchaço. O inchaço do pé não causou mudança comportamental durante o empoleiramento dos animais. A resposta imunológica

foi medida pela diferença de espessura padronizada entre os pés, de acordo com o Índice PHA $I_{PHA} = (E_{PHA} - E_{PBS}) / E_{PBS}$, onde E_{PHA} é a espessura do pé injetado com PHA e E_{PBS} é a espessura do pé injetado com PBS (Demas *et al.*, 2011). A espessura de cada pé era sempre medida três vezes, pelo mesmo pesquisador. Os índices foram calculados com as médias das três medições. Para evitar viés na medição do inchaço, o medidor não sabia em qual pé havia sido injetado a PHA. O perfil imunológico da espécie foi traçado no primeiro desafio imunológico realizado. O I_{PHA} foi medido após 3, 6, 9, 12, 24 e 36 horas após a injeção. Foi observado que a maioria dos indivíduos atingiram o pico de resposta (maior inchaço da pata) após 24 horas. Por este motivo, nas outras 3 repetições do experimento, a resposta imunológica foi medida somente 24 horas após a injeção, evitando stress desnecessário aos morcegos participantes da rodada de experimentos.

Análises estatísticas

Modelos lineares foram ajustados, para prever a resposta imunológica (I_{PHA}) a partir da Assimetria do antebraço (AAnt), Período da estação reprodutiva (Est, fator com dois níveis: anterior e posterior), Comprimento do antebraço (CAnt), Massa Corporal (MC), Sexo e Comprimento do testículo (CT), além das interações do Sexo com as demais variáveis. O CT foi utilizado somente em modelos ajustados apenas com machos reprodutivamente ativos (CT > 6.0mm) (Fleming, 1988). Os modelos foram comparados e selecionados através do critério de informação de Akaike corrigido para pequenas amostras (Burnham e Anderson, 2002). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R (R Core Team, 2021). A seleção de modelos com diferentes combinações das variáveis preditoras foi realizada a partir do pacote MuMIn (Bartoń, 2020) e a visualização dos efeitos obtida com o pacote effects (Fox e Weisberg, 2019).

Resultados

A resposta imunológica mediana foi $I_{PHA} = 0,48$, variando na amplitude entre 0,1 e 1,29, mas principalmente entre os quartis 0,36 e 0,62. Dois valores do I_{PHA} acima de 1,0 foram ressaltados como atípicos, mas não interferiram no ajuste do

modelo e não foram removidos do conjunto de dados. Um indivíduo apresentou $I_{PHA} = 0$, sendo considerado um problema metodológico e removido do conjunto dos dados. Não foi observado dimorfismo sexual na média do I_{PHA} (teste t de Welch, $t = -0,808$, $df = 134,78$, $P = 0,421$) nem na média da assimetria do antebraço (teste t de Welch, $t = -0,863$, $df = 136,46$, $P = 0,389$). No entanto, fêmeas apresentaram massa corporal em média 0,65 g menor que a dos machos, com intervalo de confiança de 95% da diferença entre 1,05 e 0,25 (teste t de Welch, $t = -3,217$, $df = 136,45$, $P = 0,002$).

Os modelos lineares ajustados para prever a resposta imunológica explicaram uma proporção moderada da variação do I_{PHA} . A seleção de modelos pelo critério de informação de Akaike sugere três modelos com melhor ajuste, mas os doze primeiros apresentam um somatório de pesos Akaike de 0,985 (Tabela 1). No conjunto de modelos ranqueado, todos incluem assimetria do antebraço, estação reprodutiva, sexo e a interação entre assimetria e sexo como variáveis preditoras da resposta imunológica. Os quatro primeiros incluíram também a interação entre sexo e estação reprodutiva. A massa corporal e o comprimento do antebraço apresentaram grande incerteza na sua relação com I_{PHA} , sendo excluídas de alguns dos modelos com melhor ajuste. Pelo critério da parcimônia, consideramos que o segundo modelo da Tabela 1 apresentou o melhor ajuste e inclui as variáveis mais relevantes de acordo com seus parâmetros beta.

O modelo com melhor ajuste explica aproximadamente 25% da resposta imunológica (22% R^2 ajustado) medida através do índice PHA (Tabela 1). Os gráficos de diagnóstico do modelo com melhor ajuste mostraram resíduos sem desvios das premissas de normalidade, linearidade e heterocedasticidade (resultado não mostrado). Os valores atípicos não foram influentes no ajuste do modelo.

Tabela 1. Seleção de modelos predizendo resposta imunológica (índice PHA) em relação às variáveis preditoras Massa Corporal (MC), Estação Reprodutiva (Est), Assimetria do Antebraço (AAnt), Comprimento do Antebraço (CAnt), Sexo, e a interação entre AAnt e Sexo em *Carollia perspicillata*. Int é o intercepto do modelo, R^2 é o coeficiente de determinação, gl (graus de liberdade) corresponde ao número de parâmetros estimados no modelo, AICc é o critério de informação de Akaike corrigido para pequenos tamanhos amostrais, $\Delta AICc$ é a diferença (delta) de AICc em relação ao modelo com melhor ajuste e wAICc são os pesos Akaike. Números correspondem aos coeficientes (betas) estimados para cada preditor numérico. Sinais de positivo e negativo (+, -) correspondem à inclusão ou exclusão de um fator categórico. A tabela mostrando o ajuste dos 10 primeiros modelos de um total de 40.

Int	MC	Est	AAnt	CAnt	Sexo	MC:Sexo	Est:Sexo	AAnt:Sexo	R^2	gl	AICc	$\Delta AICc$	wAICc
0,389	0,009	+	0,434	-	+	+	+	+	0,280	9	-80,0	0,00	0,25
0,511	-	+	0,459	-	+	-	+	+	0,249	7	-78,8	1,25	0,14
0,795	-0,021	+	0,514	-	+	-	+	+	0,261	8	-78,7	1,30	0,13
0,500	0,010	+	0,437	-0,003	+	+	+	+	0,280	10	-77,8	2,28	0,08
0,465	-	+	0,514	-	+	-	-	+	0,231	6	-77,8	2,28	0,08
0,741	-0,020	+	0,570	-	+	-	-	+	0,242	7	-77,6	2,46	0,07
1,010	-	+	0,478	-0,013	+	-	+	+	0,253	8	-77,3	2,72	0,07
0,989	-0,019	+	0,518	-0,006	+	-	+	+	0,262	9	-76,6	3,45	0,05
1,031	-	+	0,534	-0,014	+	-	-	+	0,237	7	-76,5	3,52	0,04
0,565	-0,008	+	0,548		+	+	-	+	0,246	8	-76,1	4,00	0,03
1,012	-0,017	+	0,573	-0,008	+	-	-	+	0,244	8	-75,6	4,45	0,03
0,822	-0,006	+	0,552	-0,007	+	+	-	+	0,248	9	-74	6,06	0,01

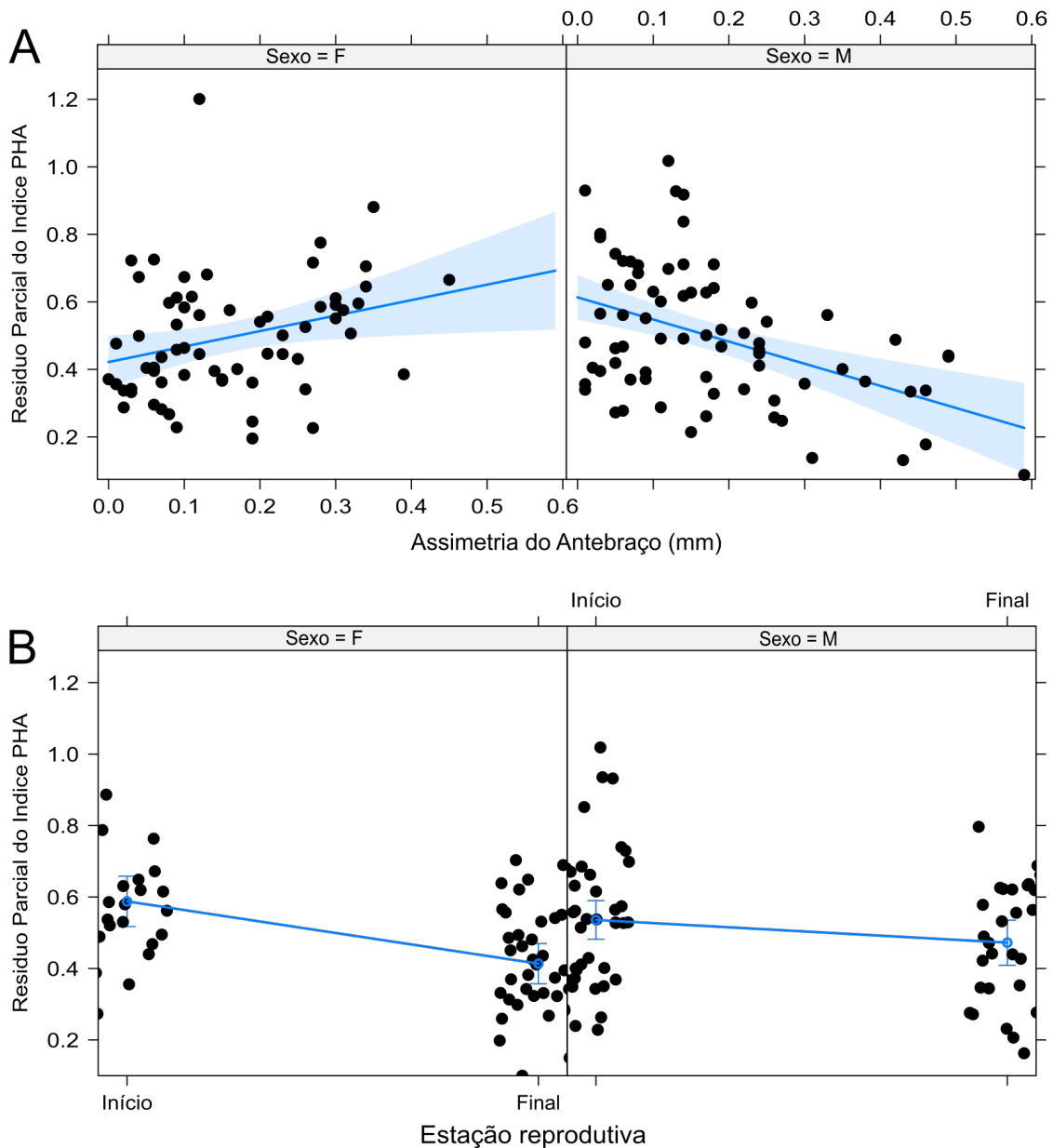


Figura 1. Gráfico de efeitos do modelo linear relacionando resposta imunológica (índice PHA), com interações entre Sexo x Assimetria do Antebraço (A) e Sexo x tempo relativo à estação reprodutiva (B) em *Carollia perspicillata*. Resíduos parciais são independentes dos demais preditores e mostram a incerteza associada a cada efeito.

O modelo sugere uma diferença entre os sexos na relação da assimetria do antebraço com a resposta imunológica (Figura 1A). As fêmeas apresentam uma relação diretamente proporcional entre assimetria e I_{PHA} , enquanto os machos apresentam uma relação inversamente proporcional entre as variáveis. A resposta imunológica de ambos os sexos foi mais baixa no final do período reprodutivo (Figura 1B), mas no caso das fêmeas, o efeito é mais pronunciado.

A resposta imunológica dos machos também foi avaliada separadamente, utilizando uma amostra de 50 indivíduos com testículos maiores que 6mm de comprimento (evidência de atividade reprodutiva) (Fleming, 1988). Os oito modelos com melhor ajuste incluem a assimetria do antebraço como preditora (Tabela 2). O comprimento do testículo aparece como preditor no modelo com melhor ajuste, mas este é estatisticamente equivalente ao segundo modelo melhor ajustado (sem CT). A massa corporal e o comprimento do antebraço não são incluídos nos dois modelos com melhor ajuste. Nestas variáveis, existe grande incerteza relativa ao sinal e à magnitude do seu efeito (betas), corroborando sua irrelevância como preditora da I_{PHA} .

Tabela 2. Seleção de modelos predizendo resposta imunológica (índice PHA) em relação às variáveis preditoras Assimetria do Antebraço (Aant), Comprimento do Antebraço (Cant), Peso e Comprimento do Testículo (CT) em machos de *C. perspicillata*. Int é o intercepto do modelo, R^2 é o coeficiente de determinação, gl (graus de liberdade) corresponde ao número de parâmetros estimados no modelo, AICc é o critério de informação de Akaike corrigido para pequenos tamanhos amostrais, $\Delta AICc$ é a diferença (delta) de AICc em relação ao modelo com melhor ajuste, e wAICc são os pesos Akaike. Números correspondem aos coeficientes (betas) estimados para cada preditor numérico.

Int	MC	AAnt	CAnt	CT	R^2	gl	AICc	$\Delta AICc$	wAICc
0,933	-	-0,540	-	-0,045	0,205	4	-31,309	0,000	0,307
0,587	-	-0,548	-	-	0,156	3	-30,655	0,654	0,221
0,408	-	-0,543	0,014	-0,047	0,210	5	-29,145	2,164	0,104
0,939	-0,022	-0,604	-	-	0,168	4	-29,036	2,273	0,098
0,931	-	-0,539	-	-0,045	0,205	5	-28,835	2,475	0,089
0,316	0,000	-0,550	0,007	-	0,157	4	-28,363	2,946	0,070
0,315	-0,030	-0,629	0,019	-	0,176	5	-27,048	4,261	0,036
0,401	-0,007	-0,563	0,016	-0,044	0,211	6	-26,609	4,700	0,029
0,855	-	-	-	-0,047	0,054	3	-24,980	6,329	0,013
0,491	-	-	-	-	0,000	2	-24,456	6,854	0,010

No caso do comprimento do testículo, o efeito é consistente no conjunto de modelos, e o intervalo de confiança do beta (beta = -0,05, IC 95% -0,10, 0.008) mostra principalmente um efeito negativo. Por este motivo, ajustamos o modelo apenas com assimetria do antebraço e comprimento do testículo. Os gráficos de

diagnóstico do modelo mostram resíduos sem desvios notáveis das premissas de normalidade, linearidade e heterocedasticidade (resultado não mostrado).

O gráfico dos efeitos mostra uma associação inversamente proporcional entre o comprimento do testículo e resposta imunológica (Figura 2), independente e parcial em relação à assimetria, assim como a manutenção da relação inversamente proporcional entre assimetria do antebraço e resposta imunológica. Machos mais assimétricos e com testículos maiores apresentam menor resposta imunológica.

Discussão

O presente estudo mostra um dimorfismo sexual na associação entre resposta imunológica e ID (medida através da assimetria do antebraço), e uma solução de compromisso entre resposta imunológica e reprodução. A relação entre assimetria do antebraço e I_{PHA} é diretamente proporcional para fêmeas, mas inversamente proporcional nos machos. Além da diferença de sinal, a magnitude do efeito da assimetria (inclinação da reta) é maior nos machos, em aproximadamente 40%. A resposta imunológica decresce nas fêmeas após o período reprodutivo em aproximadamente 30%, ao passo que nos machos este decréscimo é apenas 12%. Desta maneira, a assimetria teve maior influência sobre a resposta imune dos machos, ao passo que nas fêmeas a sazonalidade

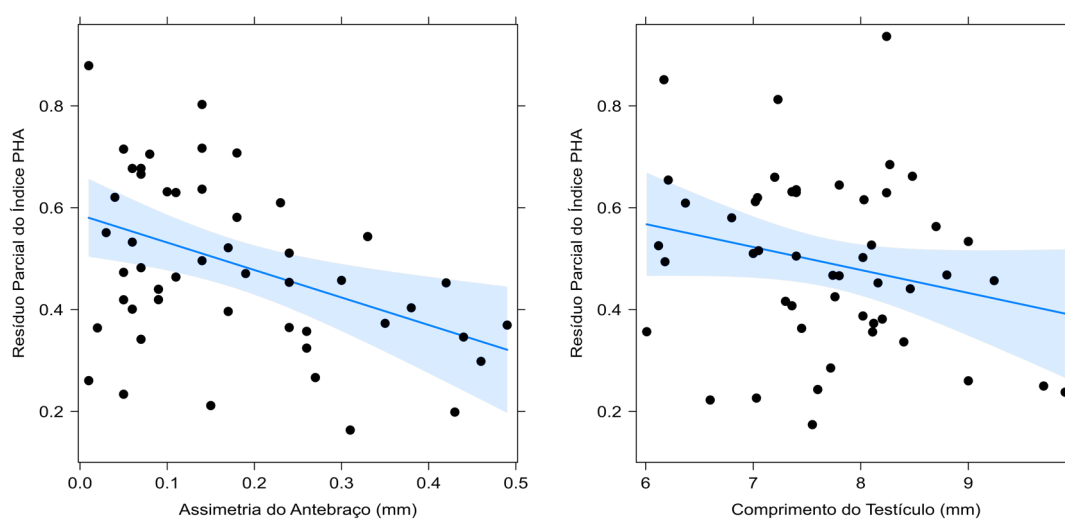


Figura 2. Gráfico de efeitos do modelo linear relacionando resposta imunológica (índice PHA), assimetria do antebraço e Comprimento do Testículo em machos de *Carollia perspicillata*. Resíduos parciais são independentes das demais variáveis independentes e mostram a incerteza associada a cada efeito.

reprodutiva foi o principal efeito. É esperado o dimorfismo sexual na resposta

imune, levando em consideração as diferenças nas estratégias de história de vida (Nunn *et al.*, 2008), e das diferentes relações entre hormônios sexuais e a intensidade de resposta imune de machos e fêmeas (Taneja, 2018).

A relação diretamente proporcional entre assimetria do antebraço e resposta imunológica nas fêmeas é um resultado inesperado, possivelmente é associado a uma maior demanda energética e de nutrientes das fêmeas durante o período reprodutivo. Fêmeas de *C. perspicillata* podem aumentar seu gasto energético em até 1,8 vezes durante o período reprodutivo (Fleming, 1988). São somados o custo da gestação, o deslocamento com peso extra durante a gravidez e nas primeiras semanas de vida (Stevens *et al.*, 2013) e na amamentação dos filhotes, que pode durar até dois meses (pelo menos um mês de lactação intensa) (Fleming, 1988), período mais longo do que observado na maioria dos mamíferos terrestres (Kunz e Weise, 2009). Existe alguma controvérsia sobre qual seria a real “moeda corrente” nas soluções de compromisso entre a resposta imunológica e outros aspectos da história de vida, como crescimento e reprodução (Martin *et al.*, 2008; McKean e Lazzaro, 2011; Cutrera *et al.*, 2014). Além do custo energético direto, são considerados mecanismos fisiológicos limitantes os custos em termos de nutrientes e do estresse oxidativo (Hasselquist e Nilsson, 2012). No caso específico dos morcegos, é possível que as adaptações ao voo no nível mitocondrial tenham evoluído para mitigar o estresse oxidativo, reduzindo este efeito também no caso de infecções (Brook e Dobson, 2015). Neste caso, é provável que os custos energéticos e nutricionais sejam mais relevantes. O estudo de Monteiro *et al.* (2019) com a mesma população de morcegos, mostrou que fêmeas mais simétricas têm maior probabilidade de se reproduzir duas vezes por estação reprodutiva, o que deve exaurir estes animais do ponto de vista energético e nutricional, diminuindo a intensidade da resposta à PHA mesmo em indivíduos mais competentes imunologicamente. Isto torna difícil a dissociação estatística dos efeitos da ID e da solução de compromisso entre imunidade e reprodução.

A relação inversamente proporcional entre assimetria e resposta imunológica nos machos reforça a ideia do efeito sistêmico da ID sobre genótipos de baixo valor adaptativo. Ainda há pouco conhecimento sobre os mecanismos que controlam a ID no nível individual ou de um caráter específico (Van Dongen, 2006). No entanto, efeitos sistêmicos de genes associados à assimetria, como as

proteínas de choque térmico (Leamy *et al.*, 2015), e os genes envolvidos na via de sinalização Hippo (Gontijo e Garelli, 2018; Juarez-Carreño *et al.*, 2018; Zheng e Pan, 2019) podem influenciar a imunocompetência assim como outros aspectos metabólicos, levando a consequências sobre o valor adaptativo dos indivíduos. A assimetria do antebraço não parece apresentar um efeito direto sobre a performance biomecânica do voo (Monteiro *et al.*, 2019). A relação inversamente proporcional entre assimetria, sobrevivência e resposta imunológica corrobora a hipótese do efeito sistêmico da ID, onde uma elevada ID é associada a uma diminuição da resposta imune (Lagesen e Folstad, 1998; Martín e López, 2006; Hammouda *et al.*, 2012) e da probabilidade de sobrevivência do indivíduo (Monteiro *et al.*, 2019).

A diminuição da resposta imunológica no final da estação reprodutiva, sugere uma solução de compromisso na alocação de recursos entre reprodução e imunidade, corroborando resultados encontrados em roedores (Martin *et al.*, 2008) e morcegos (Christe *et al.*, 2000). A base da teoria de história de vida prediz que, quando a ingestão de alimento e as reservas de energia são insuficientes para a manutenção de processos biológicos como crescimento, manutenção e reprodução, deve ocorrer uma alocação competitiva de recursos (Lochmiller e Deerenberg, 2000; Edward e Chapman, 2011). O índice PHA utilizado mede uma resposta inflamatória sistêmica que pode ser custosa do ponto de vista energético (Martin *et al.*, 2003), mas veja também Cutrera *et al.* (2014), sendo o período reprodutivo um momento de elevada demanda energética (Kunz e Orrell, 2004). Neste contexto, é esperado que a resposta imunológica seja menor após eventos reprodutivos. No entanto, os mecanismos de defesa e os custos da resposta imunológica podem variar entre os sexos devido ao comportamento de acasalamento, aspectos fisiológicos e interação com a prole (McKean e Lazzaro, 2011).

A solução de compromisso na alocação de recursos entre imunidade e expressão de caracteres sexuais secundários dos machos, como o tamanho do testículo, é conhecida como hipótese de deficiência de imunocompetência (immunocompetence handicap) (Folstad e Karter, 1992; Roberts *et al.*, 2004). Essa diminuição da resposta imunológica de acordo com o aumento no tamanho do testículo ocorre devido a uma supressão do sistema imunológico mediada por hormônios esteroides, como a testosterona (Klein, 2000a). Ao mesmo tempo em

que a testosterona aumenta o tamanho do testículo, ela também inibe o sistema imunológico (Klein, 2000b). Estudos envolvendo aves, répteis e peixes sugerem que a testosterona pode induzir a atrofia de órgãos linfoides (Zuk *et al.*, 1995; Hillgarth e Wingfield, 1997; Hasselquist *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2000), além de interferir nas vias de sinalização que determinam a expressão gênica e o fenótipo das células de defesa (Markle e Fish, 2014; Taneja, 2018), reduzindo a capacidade de resposta imunológica. Estudos futuros correlacionando níveis de testosterona a órgãos linfoides e células associadas ao sistema imune permitirão ter melhor entendimento sobre a solução de compromisso entre expressão de caracteres sexuais e resposta imunológica dos machos em *C. perspicillata*.

Os machos precisam lidar com a supressão do sistema imunológico causado pela testosterona, já que testículos maiores estão associados a um maior sucesso reprodutivo (Preston *et al.*, 2003; Schulte-Hostedde e Millar, 2004). Testículos maiores estão associados não só à quantidade, mas também à qualidade dos ejaculados (densidade e mobilidade dos espermatozoides) (Stockley e Purvis, 1993). O sistema de acasalamento de *C. perspicillata* é poligâmico por defesa de recurso, onde os machos formam haréns. Os haréns são os locais onde ocorrem a maioria dos acasalamentos (Porter, 1978) e, como consequência, os machos de harém possuem o maior sucesso reprodutivo dentro da colônia (paternidade de 60% dos filhotes) (Fasel *et al.*, 2016). No entanto, devido a táticas alternativas de acasalamento, machos periféricos e solteiros contribuem consideravelmente (40%) para a paternidade total da colônia. A possibilidade das fêmeas armazenarem esperma de diferentes machos (Rasweiler *et al.*, 2010), leva à competição espermática entre os machos (Fasel *et al.*, 2016). Neste contexto, mesmo estando mais vulneráveis a patógenos e menos resistente a doenças, testículos maiores podem favorecer os machos na competição espermática aumentando a chance de fecundação e o sucesso reprodutivo.

Níveis mais altos de testosterona podem auxiliar os machos na disputa pelos melhores territórios dentro do abrigo. Estudos fisiológicos mostram uma relação positiva entre o nível de testosterona e agressividade em mamíferos (Book *et al.*, 2001). No sistema de acasalamento de *C. perspicillata* as fêmeas escolhem o parceiro para o acasalamento de acordo com os territórios dentro do abrigo, gerando uma disputa entre os machos (Fleming, 1988). Os machos que

possuem harém defendem ativamente suas posições de outros machos que não conseguiram estabelecer um território (Porter, 1978). O estudo de Fasel *et al.* (2016) mostrou que existe uma probabilidade de transição entre os status sociais de acordo com a idade dos machos, mas não avaliou a influência do tamanho do testículo ou do nível de testosterona na transição entre as posições sociais. Estudos relacionando os níveis de testosterona com o status social dos machos durante o período reprodutivo podem esclarecer a influência da testosterona na manutenção dos territórios e conseqüentemente no sucesso reprodutivo em *C. perspicillata*.

Contrário às expectativas, os resultados não mostram uma associação entre a massa corporal e resposta imunológica. A massa corporal representa a condição corporal dos indivíduos associada às reservas energéticas (McGuire *et al.*, 2018). Usualmente, a resposta imunológica é dependente da condição corporal dos organismos (Martin *et al.*, 2008), mas essa relação difere entre os estudos realizados com morcegos. Allen *et al.* (2008) estudando diferentes colônias de *Tadarida brasiliensis*, não observaram mudanças na resposta à PHA de acordo com a condição corporal. O estudo de Christe *et al.* (2000) que investigou o efeito da reprodução na resposta à PHA no morcego *Myotis myotis*, observou uma relação positiva entre condição corporal das fêmeas e resposta imunológica, mas somente durante a lactação. O presente estudo avaliou o efeito da massa (condição corporal) sobre a resposta imunológica antes e após os eventos reprodutivos, mas sempre utilizando fêmeas sem evidência de atividade reprodutiva, o que pode ter contribuído para a ausência de relação entre massa corporal e resposta imunológica nas fêmeas. Por outro lado, o custo energético da ativação do sistema imunológico em resposta à PHA pode ser baixo (Cutrera *et al.*, 2014; Otálora-Ardila *et al.*, 2016), o que não implicaria uma associação com a condição corporal dos indivíduos.

Outros fatores relacionados à história de vida, ecologia dos organismos e exposição a patógenos ou parasitas podem influenciar a resposta imunológica, dificultando a interpretação do inchaço (de Belloq *et al.*, 2006; Turmelle *et al.*, 2010). O estudo de Monteiro *et al.* (2019) observou diferenças na sobrevivência entre indivíduos de diferentes colônias (as mesmas colônias utilizadas no presente estudo), sugerindo uma heterogeneidade na qualidade dos abrigos e os estresses ambientais aos quais os animais estão submetidos. Não foram

avaliadas diferenças de parasitismo entre as colônias utilizadas no presente estudo, mas estas poderiam influenciar a resposta imunológica ao PHA (de Bellocq *et al.*, 2006), tanto na dinâmica temporal quanto na intensidade.

Conclusão

O presente estudo adiciona conhecimento sobre a variação da resposta imunológica em morcegos, mostrando uma solução de compromisso entre reprodução e imunocompetência, possivelmente associada ao elevado custo energético da reprodução. Esta relação é mais evidente nos machos, devido à supressão do sistema imunológico causado pela testosterona. Este estudo demonstrou também a relação inversamente proporcional entre ID e resposta imunológica à PHA em machos. A relação diretamente proporcional observada nas fêmeas pode estar relacionada ao custo reprodutivo, que deve diminuir a intensidade de resposta à PHA mesmo em indivíduos mais competentes imunologicamente. A resposta imunológica ao antígeno PHA representa um aspecto importante no combate a patógenos extracelulares e na resistência à doenças, sendo um bom indicativo da imunocompetência dos organismos. Os resultados corroboram a hipótese do efeito sistêmico da ID sobre o genótipo e reforçam o uso da assimetria de estruturas bilaterais como um índice de ID associado a performance funcional e o valor adaptativo dos organismos. Estudos futuros devem avaliar outros marcadores de performance reforçando o uso da assimetria como índice de ID.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a W. Costa-Jr (chefe da RBU) e a equipe do ICMBio pelo suporte e infraestrutura durante a realização do trabalho. Agradecem também a R. B. Lyra, K. Urbanowski, L. B. Mayer e J. M. Bubadué pelo auxílio no trabalho de campo. Este trabalho recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Finance Code 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Universidade Estadual do Norte Fluminense

Referências Bibliográficas

- Allen, L.C., Turmelle, A.S., Mendonça, M.T., Navara, K.J., Kunz, T.H., McCracken, G.F. (2008). Roosting ecology and variation in adaptive and innate immune system function in the Brazilian free-tailed bat (*Tadarida brasiliensis*). *Journal of Comparative Physiology B* 179:315.
- Altizer, S., Dobson, A., Hosseini, P., Hudson, P., Pascual, M., Rohani, P. (2006). Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecology Letters* 9:467–484.
- Bartoń, K. (2020). MuMIn: Multi-Model Inference. . . <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>.
- de Bellocq, J.G., Krasnov, B.R., Khokhlova, I.S., Pinshow, B. (2006). Temporal dynamics of a T-cell mediated immune response in desert rodents. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 145:554–559.
- Book, A.S., Starzyk, K.B., Quinsey, V.L. (2001). The relationship between testosterone and aggression: A meta-analysis. *Aggression and Violent Behavior* 6:579–599.
- Bowers, E.K., Sakaluk, S.K., Thompson, C.F. (2016). No effect of blood sampling or phytohaemagglutinin injection on postfledging survival in a wild songbird. *Ecology and Evolution* 6:3107–3114.
- Brook, C.E., Dobson, A.P. (2015). Bats as 'special' reservoirs for emerging zoonotic pathogens. *Trends in Microbiology* 23:172–180.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R. (2002). *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*. New York: Springer. 488.
- Christe, P., Arlettaz, R., Vogel, P., others (2000). Variation in intensity of a parasitic mite (*Spinturnix myoti*) in relation to the reproductive cycle and immunocompetence of its bat host (*Myotis myotis*). *Ecology letters* 3:207–212.
- Cretekos, C.J. et al. (2005). Embryonic staging system for the short-tailed fruit bat, *Carollia perspicillata*, a model organism for the mammalian order Chiroptera, based upon timed pregnancies in captive-bred animals.

Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists 233:721–738.

- Cutrerera, A.P., Luna, F., Merlo, J.L., Baldo, M.B., Zenuto, R.R. (2014). Assessing the energetic costs and trade-offs of a PHA-induced inflammation in the subterranean rodent *Ctenomys talarum*: Immune response in growing tuco-tucos. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 174:23–28.
- Demas, G., Greives, T., Chester, E., French, S. (2012). The energetics of immunity: mechanisms mediating trade-offs in ecoimmunology. *In*: Demas, G.E.; Nelson, R.J. (eds.) *Ecoimmunology*. Oxford, UK: Oxford University Press. p. 259–296.
- Demas, G.E., Zysling, D.A., Beechler, B.R., Muehlenbein, M.P., French, S.S. (2011). Beyond phytohaemagglutinin: assessing vertebrate immune function across ecological contexts. *Journal of Animal Ecology* 80:710–730.
- Edward, D.A., Chapman, T. (2011). Mechanisms underlying reproductive trade-offs: costs of reproduction. *In*: Flatt, T.; Heyland, A. (eds.) *Mechanisms of life history evolution: the genetics and physiology of life history traits and trade-offs*. Oxford, UK: Oxford University Press. p. 137–152.
- Evans, M.R., Goldsmith, A.R., Norris, S.R. (2000). The effects of testosterone on antibody production and plumage coloration in male house sparrows (*Passer domesticus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 47:156–163.
- Fair, J.M., Hansen, E.S., Ricklefs, R.E. (1999). Growth, developmental stability and immune response in juvenile Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 266:1735–1742.
- Fasel, N., Saladin, V., Richner, H. (2016). Alternative reproductive tactics and reproductive success in male *Carollia perspicillata* (Seba's short-tailed bat). *Journal of Evolutionary Biology* 29:177–201.
- Fleming, T. (1988). *The short-tailed fruit bat: a study in plant-animal interactions*. Chicago, USA: Chicago University Press. 365.
- Folstad, I., Karter, A.J. (1992). Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *The American Naturalist* 139:603–622.
- Fox, J., Weisberg, S. (2019). *An R companion to applied regression*. Thousand Oaks, California, USA : Sage. 802.

- Gontijo, A.M., Garelli, A. (2018). The biology and evolution of the Dilp8-Lgr3 pathway: A relaxin-like pathway coupling tissue growth and developmental timing control. *Mechanisms of Development* 154:44–50.
- Graham, J.H., Raz, S., Hel-Or, H., Nevo, E. (2010). Fluctuating asymmetry: methods, theory, and applications. *Symmetry* 2:466-540.
- Hammouda, A. et al. (2012). Maternal antibody transmission in relation to mother fluctuating asymmetry in a long-lived colonial Seabird: the yellow-legged gull *Larus michahellis*. *PLoS ONE* 7:e34966.
- Hasselquist, D., Marsh, J.A., Sherman, P.W., Wingfield, J.C. (1999). Is avian humoral immunocompetence suppressed by testosterone?. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 45:167–175.
- Hasselquist, D., Nilsson, J.-Å. (2012). Physiological mechanisms mediating costs of immune responses: what can we learn from studies of birds?. *Animal Behaviour* 83:1303–1312.
- Hillgarth, N., Wingfield, J.C. (1997). Testosterone and immunosuppression in vertebrates: implications for parasite-mediated sexual selection. In: Beckage, N.E. (eds.) *Parasites and pathogens*. London, UK: Springer. p. 143–155.
- Ilmonen, P., Taarna, T., Hasselquist, D. (2000). Experimentally activated immune defence in female pied flycatchers results in reduced breeding success. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 267:665–670.
- Juarez-Carreño, S., Morante, J., Dominguez, M. (2018). Systemic signalling and local effectors in developmental stability, body symmetry, and size. *Cell Stress* 2:340–361.
- Kennedy, M.W., Nager, R.G. (2006). The perils and prospects of using phytohaemagglutinin in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution* 21:653–655.
- Klein, S.L. (2000a). Hormones and mating system affect sex and species differences in immune function among vertebrates. *Behavioural processes* 51:149–166.
- Klein, S.L. (2000b). The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 24:627–638.
- Klingenberg, C.P. (2015). Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry* 7:843–934.

- Klingenberg, C.P. (2019). Phenotypic plasticity, developmental instability, and robustness: the concepts and how they are connected. *Frontiers in Ecology and Evolution* 7:56.
- Kunz, T.H., Orrell, K.S. (2004). Energy costs of reproduction. In: Cleveland, C.J. (eds.) *Encyclopedia of energy*. New York : Elsevier. p. 423-442.
- Kunz, T.H., Weise, C.D. (2009). Methods and devices for marking bats. In: thomas H Kunz; Parsons, S. (eds.) *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Washington, DC : The Johns Hopkins University Press. p. 36-56.
- Lagesen, K., Folstad, I. (1998). Antler asymmetry and immunity in reindeer. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 44:135–142.
- Leamy, L.J., Klingenberg, C.P. (2005). The genetics and evolution of fluctuating asymmetry. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 36:1–21.
- Leamy, L.J., Klingenberg, C.P., Sherratt, E., Wolf, J.B., Cheverud, J.M. (2015). The genetic architecture of fluctuating asymmetry of mandible size and shape in a population of mice: Another look. *Symmetry* 7:146–163.
- Lochmiller, R.L., Deerenberg, C. (2000). Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity?. *Oikos* 88:87–98.
- Lochmiller, R.L., Vestey, M.R., McMurry, S.T. (1994). Temporal variation in humoral and cell-mediated immune response in a *Sigmodon hispidus* population. *Ecology* 75:236–245.
- Markle, J., Fish, E. (2014). SeXX matters in immunity. *Trends in Immunology* 35:97–104.
- Martín, J., López, P. (2006). Links between male quality, male chemical signals, and female mate choice in Iberian Rock Lizards. *Functional Ecology* 20:1087–1096.
- Martin, L.B., Han, P., Lewittes, J., Kuhlman, J.R., Klasing, K.C., Wikelski, M. (2006). Phytohemagglutinin-induced skin swelling in birds: histological support for a classic immunoecological technique. *Functional Ecology* 20:290–299.
- Martin, L.B., Scheuerlein, A., Wikelski, M. (2003). Immune activity elevates energy expenditure of house sparrows: a link between direct and indirect costs?. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270:153–158.

- Martin, L.B., Weil, Z.M., Nelson, R.J. (2008). Seasonal changes in vertebrate immune activity: mediation by physiological trade-offs. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363:321–339.
- McGuire, L.P. et al. (2018). Common condition indices are no more effective than body mass for estimating fat stores in insectivorous bats. *Journal of Mammalogy* 99:1065–1071.
- McKean, K.A., Lazzaro, B.P. (2011). The costs of immunity and the evolution of immunological defense mechanisms. In: Flatt, T.; Heyland, A. (eds.) *Mechanisms of life history evolution: the genetics and physiology of life history traits and trade-offs*. Oxford, UK: Oxford University Press. p. 299–310.
- Mellado, B., de Oliveira Carneiro, L., Nogueira, M.R., Monteiro, L.R. (2018). Diversity and seasonality of a phyllostomid assemblage from the Atlantic forest of southeastern Brazil. *Mastozoología Neotropical* 25:363–377.
- Mellado, B., de Oliveira Carneiro, L., Nogueira, M.R., Monteiro, L.R. (2022). The impacts of marking on bats: mark-recapture models for assessing injury rates and tag loss. *Journal of Mammalogy* : 103:100–110
- Mello, M.A.R., Schittini, G.M. (2005). Ecological analysis of three bat assemblages from conservation units in the lowland Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil. *Chiroptera Neotropical* 11:1-2.
- Mello, M.A.R., Schittini, G.M., Selig, P., Bergallo, H.G. (2004). A test of the effects of climate and fruiting of Piper species (Piperaceae) on reproductive patterns of the bat *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae). *Acta Chiropterologica* 6:309–318.
- Merino, S. et al. (1999). Phytohaemagglutinin injection assay and physiological stress in nestling house martins. *Animal behaviour* 58:219–222.
- Monteiro, L.R., Mellado, B., Nogueira, M.R., Morais-Jr, M.M. (2019). Individual asymmetry as a predictor of fitness in the bat *Carollia perspicillata*. *Journal of Evolutionary Biology* 32:1207–1229.
- Møller, A.P. (2006). A review of developmental instability, parasitism and disease. *Infection, Genetics and Evolution* 6:133–140.
- Møller, A.P., Saino, N. (2004). Immune response and survival. *Oikos* 104:299–304.
- Møller, A.P., Swaddle, J.P. (1997). *Asymmetry, developmental stability and evolution*. Oxford, UK: Oxford University Press. 302.

- Nelson, R.J., Demas, G.E., Klein, S.L., Kriegsfeld, L.J. (2002). *Seasonal patterns of stress, immune function, and disease*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 291.
- Nunn, C. L., Lindenfors, P., Pursall, E. R., & Rolff, J. (2009). On sexual dimorphism in immune function. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1513), 61-69.
- Otálora-Ardila, A., L. Gerardo Herrera, M., Flores-Martnez, J.J., Welch, K.C. (2016). Metabolic cost of the activation of immune response in the fish-eating myotis (*Myotis vivesi*): The effects of inflammation and the acute phase response. *PLOS ONE* 11:e0164938.
- Palmer, A.R. (1996). Waltzing with asymmetry. *Bioscience* 46:518-532.
- Palmer, A.R., Strobeck, C. (1986). Fluctuating asymmetry: measurement, analysis and patterns. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 17:291-421.
- Palmer, A.R., Strobeck, C. (2003). Fluctuating asymmetry analyses revisited. In: Polak, M. (eds.) *Developmental Instability: Causes and Consequences*. New York: Oxford University Press. p. 279-319.
- Porter, F.L. (1978). Roosting patterns and social behavior in captive *Carollia perspicillata*. *Journal of Mammalogy* 59:627–630.
- Preston, B.T., Stevenson, I.R., Pemberton, J., Coltman, D., Wilson, K. (2003). Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270:633–640.
- Rasweiler, J.J., Badwaik, N.K., Mechineni, K.V. (2010). Selectivity in the transport of spermatozoa to oviductal reservoirs in the menstruating fruit bat, *Carollia perspicillata*. *Reproduction* 140:743–757.
- Rasweiler, J.J., Cretkos, C.J., Behringer, R.R. (2009). The short-tailed fruit bat *Carollia perspicillata*: A model for studies in reproduction and development. *Cold Spring Harbor Protocols* 2009:pdb–emo118.
- Roberts, M., Buchanan, K., Evans, M. (2004). Testing the immunocompetence handicap hypothesis: a review of the evidence. *Animal Behaviour* 68:227–239.
- Roff, D.A. (2001). *Life history evolution*. Oxford, UK: Oxford University Press. 527.

- Sandland, G.J., Minchella, D.J. (2003). Costs of immune defense: an enigma wrapped in an environmental cloak?. *Trends in Parasitology* 19:571–574.
- Schulte-Hostedde, A.I., Millar, J.S. (2004). Intraspecific variation of testis size and sperm length in the yellow-pine chipmunk (*Tamias amoenus*): implications for sperm competition and reproductive success. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 55:272–277.
- Sinclair, J.A., Lochmiller, R.L. (1999). Resistance to a pathogenic challenge lacks seasonal specificity in prairie voles (*Microtus ochrogaster*) and cotton rats (*Sigmodon hispidus*). *Journal of mammalogy* 80:1331–1335.
- Soler, J.J., de Neve, L., Pérez-Contreras, T., Soler, M., Sorci, G. (2003). Trade-off between immunocompetence and growth in magpies: an experimental study. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270:241–248.
- Stephenson, J.F., Stevens, M., Troscianko, J., Jokela, J. (2020). The size, symmetry, and color saturation of a male guppy's ornaments forecast his resistance to parasites. *The American Naturalist* 196:597–608.
- Stevens, R.D., Johnson, M.E., McCulloch, E.S. (2013). Absolute and relative secondary-sexual dimorphism in wing morphology: a multivariate test of the 'Big Mother' hypothesis. *Acta Chiropterologica* 15:163–170.
- Stockley, P., Purvis, A. (1993). Sperm competition in mammals: a comparative study of male roles and relative investment in sperm production. *Functional Ecology* 7:560–570.
- Taneja, V. (2018). Sex hormones determine immune response. *Frontiers in Immunology* 9:1931.
- R Core Team (2021). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Thomas, A.L. (1993). The aerodynamic costs of asymmetry in the wings and tail of birds: asymmetric birds can't fly round tight corners. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 254:181–189.
- Turmelle, A.S., Ellison, J.A., Mendonça, M.T., McCracken, G.F. (2010). Histological assessment of cellular immune response to the phytohemagglutinin skin test in Brazilian free-tailed bats (*Tadarida brasiliensis*). *Journal of Comparative Physiology B* 180:1155–1164.

- Van Dongen, S. (2006). Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *Journal of Evolutionary Biology* 19:1727-1743.
- Voigt, C.C. (2013). Bat flight with bad wings: is flight metabolism affected by damaged wings? *Journal of Experimental Biology* 216:1516–1521.
- Whitaker, S., Fair, J. (2002). The costs of immunological challenge to developing mountain chickadees, *Poecile gambeli*, in the wild. *Oikos* 99:161–165.
- Yu, F.-X., Zhao, B., Guan, K.-L. (2015). Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. *Cell* 163:811–828.
- Zheng, Y., Pan, D. (2019). The hippo signaling pathway in development and disease. *Developmental Cell* 50:264–282.
- Zuk, M., Johnsen, T.S., MacLarty, T. (1995). Endocrine-immune interactions, ornaments and mate choice in red jungle fowl. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 260:205–210.

Capítulo 3: Morfologia, dimorfismo sexual e atividade reprodutiva como preditores da força de mordida em morcegos-de-cauda-curta *Carollia perspicillata*

Breno Mellado¹, Lucas de O. Carneiro¹, Marcelo R. Nogueira¹, Leandro R. Monteiro¹

1 - Laboratório de Ciências Ambientais, CBB, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ.

Contribuição dos autores

BM, LRM e MRN conceberam as ideias e delinearão a metodologia. Todos os autores participaram da coleta de dados, BM analisou os dados e escreveu o manuscrito, com auxílio de LRM. Todos os autores contribuíram intelectualmente com discussões sobre os resultados. Esta versão final ainda não passou pelo crivo dos coautores MRN e LOC.

Resumo

A força de mordida é considerada um importante marcador de performance em diferentes grupos taxonômicos. A capacidade de morder é associada a desafios ecológicos, desde a aquisição de alimentos, até defesa e acasalamento. Como medida de performance, a força de mordida (FM) pode estar associada ao fenótipo e intermediar processos de seleção. Estudos prévios no morcego *Carollia perspicillata* mostraram uma associação inversamente proporcional entre instabilidade no desenvolvimento (ID), medida pela assimetria do antebraço, e sobrevivência e reprodução. Além disso, a massa corporal e o comprimento dos testículos (medida de investimento reprodutivo) apresentam associações positivas com sobrevivência e reprodução. O objetivo deste estudo foi avaliar as relações entre ID, massa corporal, comprimento dos antebraços, testículos e performance (FM), de modo a elucidar os mecanismos que intermediam as relações entre a morfologia e valor adaptativo. Foram utilizados 69 machos e 57 fêmeas de *C. perspicillata* capturados na Reserva Biológica União (RJ). A FM foi estimada com transdutores de força. O modelo linear predizendo FM de machos incluiu a Massa corporal (MC), o Comprimento do testículo (CT), o Aparelho de medição, o período em relação à reprodução e a interação entre o CT e período, explicando aproximadamente 35% da variação de força de mordida. Para fêmeas, nenhum preditor foi associado com FM. A ID não apresentou relação com FM. A relação positiva entre massa corporal e força de mordida é bem documentada em morcegos. A força de mordida foi positivamente associada com CT apenas antes e durante os eventos reprodutivos, o que pode estar relacionado com a quantidade de testosterona. Além da influência morfológica no aspecto mecânico na produção da força de mordida, existe também a motivação de morder o sensor, associada à agressividade de cada indivíduo, o que pode explicar a maior variabilidade na FM de fêmeas. A agressividade é importante na defesa e manutenção de territórios dentro do abrigo. Possivelmente, machos com maior CT e força de mordida possuem harém e se beneficiam da agressividade causada pela testosterona mantendo seu território protegido de machos solteiros.

Introdução

O valor adaptativo é considerado uma medida comparativa da capacidade de um indivíduo sobreviver e reproduzir em seu ambiente (Melbinger e Vergassola, 2015). Pode ser traduzido como o número de descendentes produzidos ao longo da vida, representando a passagem de genes ao longo das gerações (Orr, 2009). O valor adaptativo é influenciado pela performance dos indivíduos frente aos agentes de seleção (Irschick e Higham, 2016), como a capacidade de forrageio, encontrar abrigo e parceiro pro acasalamento, escapar de predadores, remoção de parasitos, resistência à doenças, entre outros (Irschick, 2003). Apesar da sua importância, não é simples estimar o valor adaptativo. Considerando dificuldades logísticas, nem sempre é possível estimar os componentes do valor adaptativo (sobrevivência e reprodução) de maneira ampla (Rouan *et al.*, 2009). Uma alternativa é utilizar medidas indiretas (*proxies*) que sejam correlacionadas com os componentes do valor adaptativo para que possam ser utilizadas como marcadores populacionais de valor adaptativo (Roff, 2001).

A força de mordida é um importante marcador de performance de todo o organismo para mamíferos (Anderson *et al.*, 2008), sendo influenciada por características comportamentais, fisiológicas e morfológicas (Herrel *et al.*, 2008). Em situações de conflitos intraespecíficos, a força de mordida pode ser utilizada para prever o sucesso reprodutivo de machos como resultado da superioridade de performance em contextos de disputa pelo acesso às fêmeas (Husak *et al.*, 2009). Por outro lado, é possível que a força de mordida esteja associada à performance em contextos que irão influenciar a sobrevivência dos organismos, como escapar de predadores ou auxiliar na aquisição e processamento do alimento (Aguirre *et al.*, 2003; Anderson *et al.*, 2008). Desta forma, a força de mordida representa uma medida de performance do organismo associada ao valor adaptativo que tem o potencial de contribuir para a melhor compreensão do sistema em contextos de seleção natural e sexual (Husak *et al.*, 2006).

Distúrbios no desenvolvimento podem produzir desvios de simetria em estruturas bilaterais que podem ser medidos e utilizados como índice de instabilidade do desenvolvimento (ID) (Palmer, 1996). A quantidade do desvio entre o fenótipo alvo (simétrico) e o produzido é proporcional à magnitude dos distúrbios e à capacidade do genótipo do indivíduo tamponar o ruído ao longo do

desenvolvimento (Juarez-Carreño *et al.*, 2018). Valores mais elevados de assimetria são interpretados como um reflexo de uma baixa qualidade genotípica. Além da capacidade diminuída do genótipo tamponar os distúrbios do desenvolvimento, importantes processos fisiológicos podem ser afetados, afetando a regeneração celular, imunologia e diminuindo o valor adaptativo (Hendrickx *et al.*, 2003; Van Dongen, 2006; Graham *et al.*, 2010).

Estudos mostram uma associação inversamente proporcional entre ID, sobrevivência e potencial reprodutivo (medido pelo comprimento dos testículos) no morcego frugívoro de cauda curta *Carollia perspicillata* (Monteiro *et al.*, 2019). Segundo os autores, a diminuição do valor adaptativo de acordo com o aumento da assimetria do comprimento do antebraço ocorre devido à influência sistêmica da ID sobre o genótipo que causa uma diminuição de performance generalizada, afetando a sobrevivência e o investimento reprodutivo (Preston *et al.*, 2003) dos animais. O sistema de acasalamento de *C. perspicillata* é poligâmico, onde os machos garantem prioridade reprodutiva defendendo um sítio dentro do abrigo preferido por um grupo de fêmeas (harém) (Williams, 1986; Fleming, 1988). Isto gera uma competição entre os machos que buscam aumentar seu sucesso reprodutivo defendendo um território de qualidade (Fleming, 1986). Existe também a possibilidade das fêmeas avaliarem aspectos da “qualidade” dos machos através de características físicas ou comportamento (Knörnschild *et al.*, 2014), preferindo sítios defendidos por machos específicos. Machos que não garantem haréns são chamados solteiros ou periféricos, e buscam acasalamentos oportunistas, conseguindo até 40% da paternidade dos filhotes (Fasel *et al.*, 2016). Além da ID, o estudo de Monteiro *et al.* (2019) também observou uma associação positiva entre um índice de condição física e comprimento do antebraço (que seria uma medida de tamanho estrutural) com sobrevivência e potencial reprodutivo dos machos. No entanto, Fleming (1988) reporta que machos territoriais tendem a ser mais velhos e mais pesados que os demais, mas não fica claro se existem outras características fenotípicas que os diferenciam. Neste contexto, *C. perspicillata* é uma espécie propícia para avaliar a relação entre ID, variáveis morfológicas e diminuição de performance associada à força de mordida dos machos no contexto de seleção sexual.

O estudo é baseado na premissa de que a ID está associada a um efeito sistêmico no genótipo, diminuindo a performance de forma generalizada e,

consequentemente o valor adaptativo (Van Dongen, 2006). Além disso, é possível prever que se a força de mordida tem um papel na maior sobrevivência de indivíduos com melhor condição física, devemos encontrar uma associação positiva entre massa e força em ambos sexos (Anderson *et al.*, 2008; Thomas *et al.*, 2015). Por outro lado, se a força de mordida representa uma medida de performance associada à reprodução e seleção sexual, deve ser observado um dimorfismo sexual na força de mordida (Husak *et al.*, 2006; Irschick e Higham, 2016) e a predição de associação positiva entre força de mordida e comprimento dos testículos deve ser confirmada. Machos com maior força de mordida podem ser favorecidos em disputas territoriais relacionadas a disputa e manutenção dos haréns, aumentando as chances de acasalamento e o valor adaptativo. Dessa forma, avaliamos as relações entre ID (medida pela assimetria do antebraço), massa corporal, comprimento dos antebraços, testículos e performance da força de mordida com intuito de elucidar os mecanismos que intermedeiam as relações entre morfologia e valor adaptativo em *Carollia perspicilla*.

Metodologia

Área de estudo e procedimentos no campo

Os animais utilizados no presente estudo foram coletados em quatro colônias de *C. perspicillata* estabelecidas em construções abandonadas (Monteiro *et al.*, 2019; Mellado *et al.*, 2022) dentro dos limites da Reserva Biológica União (RBU), situada na região da Baixada Litorânea do Estado do Rio de Janeiro dentro dos municípios de Casimiro de Abreu, Macaé e Rio das Ostras. A RBU Possui uma área total de 7.756 ha coberta principalmente por floresta de baixada e submontana (ICMBIO, 2008). Uma colônia é instalada em um galpão abandonado localizado próximo a um antigo pomar, outra se localiza no porão de uma antiga serraria dentro da reserva, a terceira colônia se abriga em uma manilha que corta a BR 101 e a quarta utiliza uma casa abandonada (sítio 10 alqueires) localizada próxima ao limite da reserva. Estudos anteriores mostraram que a comunidade de morcegos da RBU é dominada por *C. perspicillata* (Mellado *et al.*, 2018), possivelmente devido à disponibilidade de áreas perturbadas, propícias para o desenvolvimento de arbustos do gênero *Piper*, recurso central na dieta deste morcego (Mello *et al.*, 2004). O sistema de acasalamento, fácil

manuseio e a elevada abundância local são características que fazem de *C. perspicillata* um bom modelo para avaliar a performance funcional da força de mordida e sua associação com morfologia e reprodução.

Em construções abandonadas, os indivíduos foram capturados com auxílio de um puça entomológico. Na manilha, os animais foram capturados com um samburá (120 cm de comprimento, 60 cm de diâmetro) acoplado à saída da manilha (Monteiro *et al.*, 2019). Os animais foram acondicionados individualmente em sacos de pano ou no samburá. Após a captura os morcegos foram levados para o laboratório de campo dentro da RBU para a triagem. Na triagem foram registrados a massa corporal (em gramas), sexo, categoria etária (determinada pela ossificação das falanges), estágio reprodutivo, comprimento dos antebraços (direito e esquerdo), comprimento e largura do testículo esquerdo dos machos e a força de mordida dos animais (descrita adiante). Os comprimentos foram medidos com um paquímetro digital (Mitutoyo, Japão, precisão de 0.01mm) e a massa corporal foi obtida através de uma balança de precisão (BEL Engineering, Itália, S220H resolução de 0.01g).

Análise de assimetria

A primeira etapa em um estudo de assimetria flutuante é estimar o erro de mensuração. A assimetria medida pela diferença entre os lados de um mesmo indivíduo geralmente apresenta baixa magnitude (normalmente <1% do tamanho da estrutura) (Graham *et al.*, 2010). Portanto, o erro de mensuração pode obscurecer a magnitude da assimetria levando a erros de interpretação ou falhas na detecção de padrões (Palmer, 1996). Medimos o comprimento do antebraço (CAnt - entre o cotovelo e o punho, com a asa dobrada) para avaliação da assimetria individual. O CAnt apresenta boa repetibilidade para medição em animais vivos, diminuindo o erro de mensuração (Monteiro *et al.*, 2019). Os resultados apresentados em Monteiro *et al.* (2019) validam a assimetria do CAnt como marcador da instabilidade no desenvolvimento. A assimetria individual foi calculada como o módulo da diferença $D-E$ do comprimento dos antebraço direito e esquerdo.

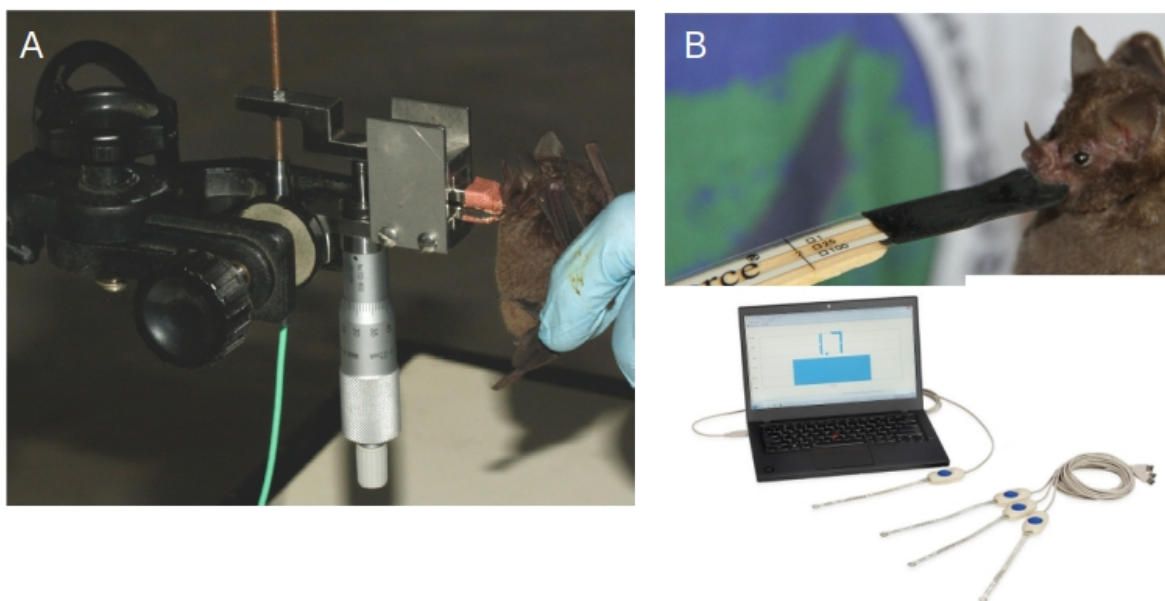


Figura 1. Sistemas de medição de força de mordida utilizados neste estudo. (A) medidor baseado em um transdutor piezoelétrico (Kistler) (Herrel *et al.*, 1999). (B) medidor baseado em um sensor piezoresistivo (Tekscan) (Freeman e Lemen, 2008; Manhães *et al.*, 2017).

Estimativa da força de mordida

A força de mordida foi registrada com auxílio de dois sistemas (Figura 1) amplamente utilizados em estudos com morcegos (Manhães *et al.*, 2017): O sistema 1 é composto por um transdutor de força isométrico Kistler (tipo 9203, alcance 500 N, acurácia 0,01 – 0,1 N) montado em um suporte e conectado a um amplificador de carga (tipo 5058 A, Kistler Inc.) (Herrel *et al.*, 1999; Aguirre *et al.*, 2002). Quando o morcego morde as placas de metal, a placa superior exerce uma tração no transdutor, gerando uma carga elétrica, e a força de mordida total é registrada usando um conversor de força (PC-Scope T512, IMTEC GmbH, Alemanha). A placa de metal onde os morcegos mordem é protegida com um pedaço de esparadrapo para evitar dano aos dentes dos morcegos, e para fornecer uma superfície antiderrapante. O sistema 2 é composto pelo ELFTM Force Measurement System da Tekscan® que utiliza sensores piezo-resistivos Flexiforce® B201 propostos por Freeman e Lemen (2008) para medir a força de mordida em pequenos mamíferos. O sistema grava as forças de mordida em intervalos de 0,125 segundos durante 30 segundos, após os quais o experimento é interrompido, mesmo se o animal se recusar a morder. Antes de ser utilizado, cada sensor foi calibrado para determinar a relação entre força aplicada (N) e a condutância. Devido à possibilidade dos sensores serem danificados pelas mordidas, a calibragem era continuamente checada com um dinamômetro

(Instrutemp ITFG5005, Brasil). Os sensores do sistema 2 foram protegidos com uma chapa de metal de 3 mm de diâmetro coberta com tinta spray de borracha e apresentados para os morcegos morderem (Manhães *et al.*, 2017).

Os morcegos normalmente costumam morder as luvas de raspa de couro dos pesquisadores enquanto estão sendo manipulados e não precisam de estímulos extras além de leves toques com os dedos no dorso dos animais para que eles mordam o local desejado. Na maior parte das vezes, basta posicionar as placas ou o sensor próximo à boca para provocar uma série de mordidas. Ambos sistemas foram configurados para registrar a maior força de mordida aplicada. Para cada indivíduo foram realizadas três medições da força de mordida. A maior força de mordida dentre as três gravadas foi utilizada como estimativa individual. Indivíduos que aparentavam estar desmotivados para morder o sensor foram removidos dos dados. No total foram utilizados 57 fêmeas (todas com sistema 1) e 69 machos adultos que apresentavam testículos acima de 6 mm de comprimento para a medição da força de mordida utilizando o sistema 1 (N = 40) e o sistema 2 (N = 29). A variável independente Sistema foi utilizada para diferenciar a força de mordida medida com os sistemas 1 e 2. A variável Período foi utilizada para diferenciar a força de mordida estimada antes, durante e após os eventos reprodutivos.

Análises estatísticas

Modelos lineares foram ajustados para prever a força de mordida a partir da Assimetria do antebraço (AAnt), Comprimento do Antebraço (CAnt), Massa Corporal (MC), Comprimento do Testículo (CT), Sistema (Sis) e Período (Per), além das interações do Sis e Per com as demais variáveis. No caso das fêmeas, apenas as variáveis morfológicas foram utilizadas no modelo. Os modelos foram comparados e selecionados através do critério de informação de Akaike corrigido para pequenas amostras (Burnham e Anderson, 2002). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R (R Core Team, 2021). A seleção de modelos com diferentes combinações das variáveis preditoras foi realizada a partir do pacote MuMIn (Bartoń, 2020) e a visualização dos efeitos obtida com o pacote effects (Fox e Weisberg, 2019).

Resultados

A força de mordida média observada para os machos foi 6,76 N (dp = 1,30 N), enquanto para fêmeas a média estimada foi 5,07 N (dp = 1,26 N). O dimorfismo observado é suportado estatisticamente ($t = -7,38$, gl = 121, $P < 0,00001$). Um valor de força de mordida foi ressaltado como atípico entre os machos (10,72 N), mas não interferiu de forma relevante no ajuste do modelo e foi mantido na amostra.

Tabela 1. Seleção de modelos predizendo força de mordida de *Carollia perspicillata* (machos) em relação às variáveis preditoras Assimetria do Antebraço (AAnt), Comprimento do Antebraço (CAnt), Sistema (Sis), Comprimento do testículo (CT), Período (Per), Massa corporal (MC) e a interação entre Sis, CT e Per. Int é o intercepto do modelo, R^2 é o coeficiente de determinação, gl (graus de liberdade) corresponde ao número de parâmetros estimados no modelo, AICc é o critério de informação de Akaike corrigido para pequenos tamanhos amostrais, $\Delta AICc$ é a diferença (delta) de AICc em relação ao modelo com melhor ajuste, e wAICc são os pesos Akaike. Números correspondem aos coeficientes estimados para cada preditor numérico. Sinais negativos (-) correspondem a exclusão da variável preditora. Tabela mostrando 15 modelos de um total de 152.

Int	AAnt	CAnt	Sis	CT	Per	MC	Sis:CT	Sis:Per	CT:Per	Sis:CT: Per	R^2	gl	AICc	$\Delta AICc$	wAICc
-3,004	-	-	+	-	-	0,616	-	-	-	-	0,246	4	220,43	0,00	0,17
-6,763	-	-	+	0,608	+	0,555	-	-	+	-	0,355	9	222,05	1,62	0,07
-7,109	-	-	-	0,785	+	0,476	-	-	+	-	0,330	8	222,12	1,69	0,07
0,943	-	-0,124	+	-	-	0,677	-	-	-	-	0,253	5	222,18	1,75	0,07
-3,036	0,694	-	+	-	-	0,612	-	-	-	-	0,251	5	222,28	1,85	0,07
-3,158	-	-	+	0,096	-	0,580	-	-	-	-	0,249	5	222,51	2,08	0,06
1,118	0,738	-0,130	+	-	-	0,676	-	-	-	-	0,258	6	224,03	3,60	0,03
-2,987	-	-0,116	+	0,602	+	0,611	-	-	+	-	0,361	10	224,21	3,79	0,03
-6,627	0,797	-	+	0,558	+	0,565	-	-	+	-	0,361	10	224,21	3,79	0,03
-3,636	-	-0,107	-	0,782	+	0,526	-	-	+	-	0,334	9	224,30	3,87	0,02

A seleção de modelo pelo critério de informação de Akaike sugere seis modelos com melhor ajuste para os machos (Tabela 1). Os seis primeiros modelos são estatisticamente equivalentes ($\Delta AICc$ menor que 3) e todos incluem a massa corporal como preditora da força de mordida. Os três primeiros modelos também incluem o CT, período e a interação entre CT e período. O beta do CT no segundo modelo da Tabela 1 foi 0,608 e seu intervalo de confiança (CI95% 0,036 - 1,180, $P = 0,038$) não inclui o zero. De modo a evitar deixar variáveis relevantes de fora da discussão, consideramos que o segundo modelo apresentou ajuste satisfatório e inclui as variáveis mais relevantes de acordo com seus parâmetros beta (Tabela 1).

O modelo selecionado inclui a MC, o sistema, o CT e a sua interação com o período reprodutivo como preditores da força de mordida (segundo modelo na Tabela 1). Este modelo explica aproximadamente 35% da variação da força de mordida dos machos de *C. perspicillata*. Os gráficos de diagnóstico do modelo com melhor ajuste mostraram resíduos sem desvios das premissas de normalidade, linearidade e heterocedasticidade (resultado não mostrado).

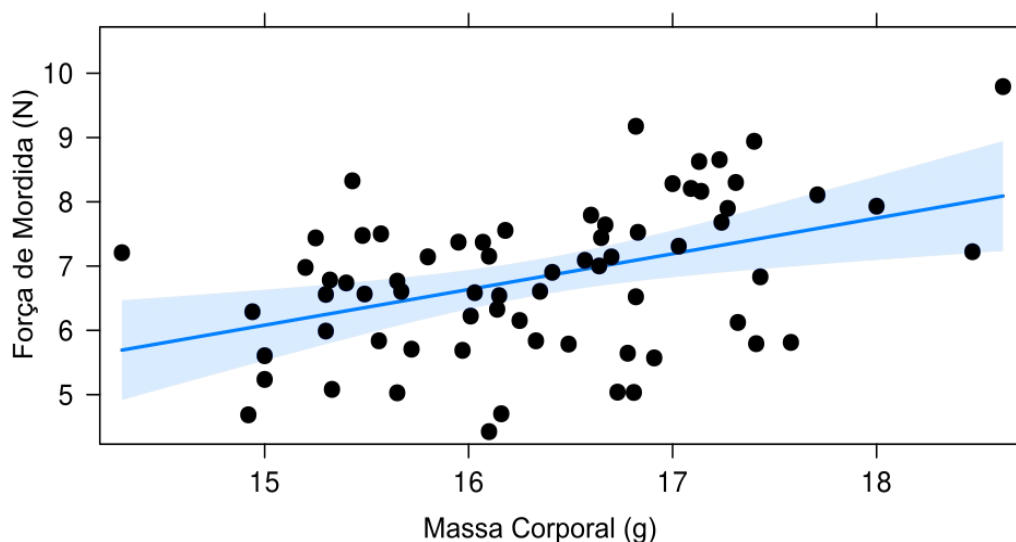


Figura 2. Gráfico de efeitos do modelo linear relacionando a força de mordida e massa corporal em machos de *Carollia perspicillata*. A linha e a banda azul mostram o efeito do preditor. Os pontos mostram resíduos parciais. Resíduos parciais em relação a um preditor são obtidos adicionando os betas do preditor aos resíduos totais, de modo que a distribuição dos pontos mostra a variabilidade residual independente dos demais termos do modelo.

O modelo mostra uma relação positiva entre força de mordida e massa corporal (Figura 2). O sistema de medição de força de mordida entra como preditor no modelo, mas o beta estimado (diferença entre médias) apresenta um intervalo de confiança amplo (beta = -0,518 N, IC95% -1,179 - 0,143 N, $P = 0,122$), levando a uma grande incerteza na direção e magnitude da diferença.

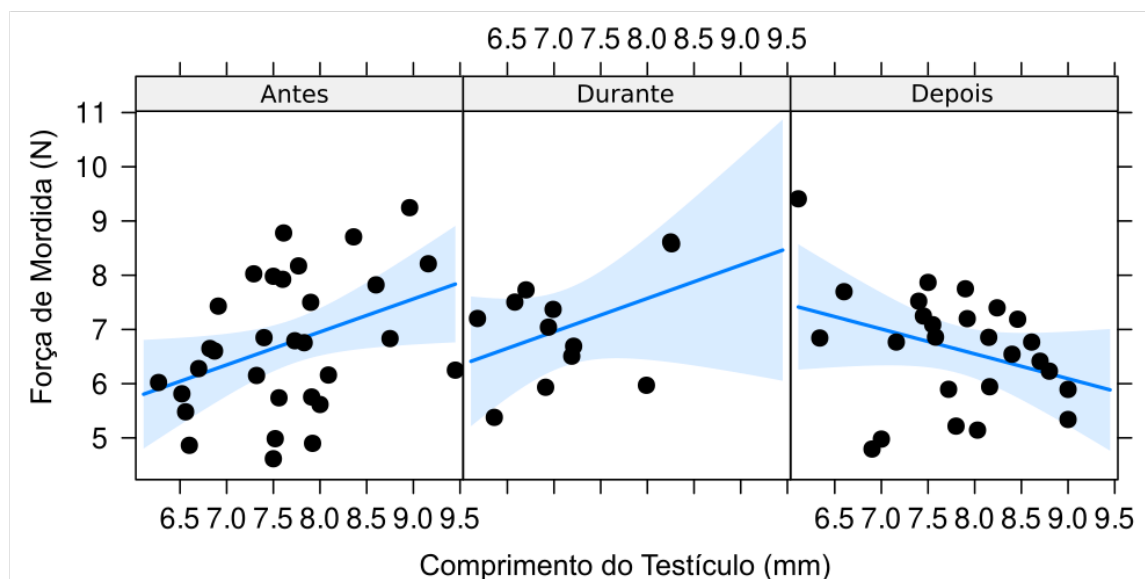


Figura 3. Gráfico de efeitos do modelo linear relacionando a força de mordida e o comprimento do testículos antes, durante e após os eventos reprodutivos de *Carollia perspicillata*. A linha e a banda azul mostram o efeito do preditor. Os pontos mostram resíduos parciais. Resíduos parciais em relação a um preditor são obtidos adicionando os betas do preditor aos resíduos totais, de modo que a distribuição dos pontos mostra a variabilidade residual independente dos demais termos do modelo.

O comprimento do testículo é relevante na predição da força de mordida, mas essa relação depende do período em que a estimativa foi realizada (Figura 3). O CT apresenta uma relação positiva com FM antes e durante os eventos reprodutivos. Depois dos eventos reprodutivos, essa relação se inverte e o CT passa a ter uma associação inversamente proporcional com a força de mordida (Figura 3).

A seleção dos modelos lineares ajustados aos dados das fêmeas mostrou dois modelos estatisticamente equivalentes: o primeiro apenas com MC como preditora da FM (beta = 0,247, IC95% -0,093 - 0,587), explicando 4% da variação de FM. O segundo foi o modelo nulo (sem preditores - $\Delta AICc = 0,13$). Considerando a baixa magnitude e o intervalo de confiança da estimativa, consideramos que nenhum preditor fenotípico foi satisfatoriamente associado à FM das fêmeas.

Discussão

O presente estudo mostrou a influência da massa corporal e do comprimento do testículo na predição da força de mordida em machos de *Carollia*

pespicillata. A força de mordida aumenta de acordo com a massa corporal e com comprimento do testículo. No entanto, após os eventos reprodutivos o comprimento do testículo apresentou uma relação inversamente proporcional com a força de mordida. Contrário às expectativas, o comprimento e a assimetria do antebraço não apresentaram relação com a força de mordida. Nas fêmeas, nenhum preditor fenotípico foi associado à força de mordida.

A massa corporal representa tanto a condição física associada às reservas de gordura (McGuire *et al.*, 2018) quanto o tamanho estrutural (esquelético) dos morcegos (Kunz e Weise, 2009). Animais com melhor condição corporal podem ter energia disponível para investir em defesa, que é o que os morcegos fazem ao morder o sensor e as placas de morder. Por outro lado, em morcegos filostomídeos, a massa corporal está correlacionada com medidas de tamanho (cabeça e corpo) (Aguirre *et al.*, 2002), que são positivamente associadas à força de mordida (Herrel *et al.*, 2008). Estudos realizados com morcegos filostomídeos mostram uma consistente relação interespecífica entre massa corporal e força de mordida (Aguirre *et al.*, 2002; Freeman e Lemen, 2010), independente da especialização na dieta (Manhães *et al.*, 2017). Estes resultados sugerem que a relação entre massa corporal e força de mordida pode ter mais a ver com tamanho estrutural que com as reservas energéticas. Por outro lado, a ausência de associação entre massa e força de mordida nas fêmeas sugere um componente sexual relevante, em que diferenças de força não decorrem como consequência direta de diferenças de tamanho.

O presente estudo não detectou a influência do comprimento do antebraço na força de mordida, medida normalmente utilizada para representar o tamanho estrutural dos indivíduos. Apesar do comprimento do antebraço ser usualmente utilizado para indicar o tamanho dos morcegos em nível interespecífico (Kunz e Weise, 2009), dentro da mesma espécie é considerada uma medida pouco informativa sobre o tamanho corporal (McGuire *et al.*, 2018). O estudo de Senawi *et al.* (2015) avaliou a influência do tamanho da cabeça, comprimento do antebraço e massa corporal sobre a força de mordida de 35 espécies de morcegos insetívoros. O comprimento do antebraço não foi relevante na predição da força de mordida em nenhum nível de organização hierárquica. No nível da assembleia, o comprimento da cabeça foi o melhor preditor da força de mordida e no nível de família a massa corporal foi a variável que melhor explicou a variação

da força de mordida. Apesar de não encontrarmos estudos sobre variação intraespecífica da força de mordida em morcegos na literatura, a ausência de relação entre comprimento do antebraço e força de mordida (Senawi *et al.*, 2015), aliada à associação entre massa e força de mordida, reforça a ideia de que o comprimento do antebraço é uma medida ineficiente na predição do tamanho estrutural dos indivíduos, estando provavelmente mais associado ao tamanho da asa (Rising e Somers, 1989; McGuire *et al.*, 2018) (veja também discussão no capítulo sobre tamanho corporal). A dissociação entre condição nutricional e tamanho estrutural como preditores da força de mordida dependerá da confirmação de uma variável medida no corpo dos morcegos que possa ser utilizada como medida de tamanho corporal (não o tamanho da asa) para o cálculo do índice de condição física.

A relação positiva entre comprimento do testículo e força de mordida antes e durante os eventos reprodutivos, assim como a inversão dessa relação depois dos eventos reprodutivos podem estar relacionadas a uma solução de compromisso (Irschick *et al.*, 2006). Indivíduos com maiores testículos tendem a apresentar maior força de mordida antes e durante a estação reprodutiva, decrescendo significativamente no final. Indivíduos com testículos abaixo da média apresentaram uma tendência de aumentar a força de mordida ao longo da estação reprodutiva. O decréscimo de performance seria um custo associado ao comportamento territorial dos machos com maiores testículos, na disputa pelos haréns (Greiner *et al.*, 2011; Monteiro *et al.*, 2019). Nossos dados não permitem separar a variação dentro dos indivíduos da variação entre indivíduos, mas é provável que a mediação hormonal dos comportamentos tenha um papel relevante na performance (Moore, 1988; Sinervo *et al.*, 2000). Isto é esperado, pois além da influência morfológica no aspecto mecânico na produção da força de mordida, existe também a motivação de morder o sensor, associada à agressividade de cada indivíduo. O sistema de acasalamento em *C. perspicillata* é poligâmico, onde os machos que formam haréns, garantem a maioria dos acasalamentos (Williams, 1986; Fleming, 1988; Fasel *et al.*, 2016). Níveis mais altos de testosterona durante a estação reprodutiva em machos de harém (Greiner *et al.*, 2011) podem estar associados a uma maior agressividade (Book *et al.*, 2001), assim como contribuir para a disposição e resistência dos machos de harém (Sinervo *et al.*, 2000) na disputa e manutenção dos melhores territórios,

principalmente antes e durante os eventos reprodutivos. Os confrontos entre *C. perspicillata* machos seguem um ritual escalonado que pode culminar em troca de socos, mas não costuma envolver mordidas (Fernandez *et al.*, 2014). Neste contexto, a força de mordida estaria indicando uma medida de performance do “organismo inteiro” (Anderson *et al.*, 2008). Os confrontos podem durar vários minutos e ocorrer várias vezes por dia e apresentar uma demanda por grande resistência física, com os indivíduos parando para “descansar” entre episódios (L. R. Monteiro e M. R. Nogueira, observações pessoais). Depois do período reprodutivo, a necessidade de defender os territórios e produzir ejaculados passa a não ser mais tão relevante. O período após os eventos reprodutivos coincide com uma diminuição do tamanho do testículo dos machos (Monteiro *et al.*, 2019). Além da produção de testosterona, testículos maiores são associados a maior quantidade e qualidade dos ejaculados (densidade e mobilidade dos espermatozoides) (Stockley e Purvis, 1993), o que aumenta as chances de sucesso reprodutivo dos machos (Monteiro *et al.*, 2019).

Contrário às nossas expectativas, a assimetria do antebraço não influenciou a força de mordida. Resultado que segue o mesmo padrão de estudos realizados com répteis (Vervust *et al.*, 2008) e roedores (Ginot *et al.*, 2018), onde não foi detectada a influência da assimetria na força de mordida. No entanto, diferente da nossa hipótese sobre o efeito sistêmico da assimetria, o estudo de Ginot *et al.* (2018) avaliou a influência direta da assimetria da mandíbula na produção da força de mordida no rato-doméstico (*Mus musculus domesticus*). A ausência de relação entre assimetria do antebraço e força de mordida, não corrobora a hipótese do efeito sistêmico da ID causando uma diminuição generalizada de performance funcional.

Conclusão

O presente estudo mostrou uma associação da massa corporal e comprimento do testículo sobre a força de mordida no morcego frugívoro de cauda curta *Carollia perspicillata*. A relação entre massa corporal e força de mordida é bem estabelecida para morcegos filostomídeos. A massa corporal representa tanto uma medida das reservas energéticas, quanto de tamanho dos morcegos. No entanto, é mais provável que a associação com a força de mordida seja devido ao fato de que a massa é correlacionada com o tamanho dos

morcegos. A ausência de relação com o comprimento do antebraço, proposto como uma medida de tamanho, pode ser devido ao fato de que intraespecificamente o comprimento do antebraço não é um bom preditor do tamanho dos indivíduos. A influência positiva do comprimento do testículo na predição da força de mordida antes e durante os eventos reprodutivos deve estar associada a maiores níveis de testosterona. A relação inversamente proporcional da força com o CT ao final da reprodução pode estar associada a um custo reprodutivo. Possivelmente machos maiores, com maior CT e força de mordida possuem harém e se beneficiam da agressividade causada pela testosterona para manter seu território protegido de machos solteiros. Contrário as nossas expectativas, a assimetria do antebraço não apresentou nenhuma associação com a força de mordida. Os resultados não corroboram a hipótese do efeito sistêmico da ID sobre a performance funcional dos indivíduos.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a W. Costa-Jr (chefe da RBU) e a equipe do ICMBio pelo suporte e infraestrutura durante a realização do trabalho. Agradecem também a R. B. Lyra, K. Urbanowski, L. B. Mayer e J. M. Bubadué pelo auxílio no trabalho de campo, e S. Santana pelo empréstimo do equipamento para medição de força de mordida. Este trabalho recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Finance Code 001, e Universidade Estadual do Norte Fluminense

Referências Bibliográficas

- Aguirre, L.F., Herrel, A., van Damme, R., Matthysen, E. (2002). Ecomorphological analysis of trophic niche partitioning in a tropical savannah bat community. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 269:1271–1278.
- Aguirre, L.F., Herrel, A., van Damme, R., Matthysen, E. (2003). The implications of food hardness for diet in bats. *Funct. Ecol.* 17:201–212.

- Anderson, R.A., McBrayer, L.D., Herrel, A. (2008). Bite force in vertebrates: opportunities and caveats for use of a nonpareil whole-animal performance measure. *Biological Journal of the Linnean Society* 93:709–720.
- Bartoń, K. (2020). MuMIn: Multi-Model Inference. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>.
- Book, A.S., Starzyk, K.B., Quinsey, V.L. (2001). The relationship between testosterone and aggression: A meta-analysis. *Aggression and Violent Behavior* 6:579–599.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R. (2002). *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*. New York: Springer. 488 p.
- Fasel, N., Saladin, V., Richner, H. (2016). Alternative reproductive tactics and reproductive success in male *Carollia perspicillata* (Seba's short-tailed bat). *Journal of Evolutionary Biology* 29:177–201.
- Fernandez, A.A., Fasel, N., Knörnschild, M., Richner, H. (2014). When bats are boxing: aggressive behaviour and communication in male Seba's short-tailed fruit bat. *Animal behaviour* 98:149–156.
- Fleming, T. (1988). *The short-tailed fruit bat: a study in plant-animal interactions*. Chicago, USA: Chicago University Press. 365 p.
- Fleming, T.H. (1986). The structure of Neotropical bat communities: a preliminary analysis. *Revista Chilena de Historia Natural* 59:135-150.
- Fox, J., Weisberg, S. (2019). *An R companion to applied regression*. Thousand Oaks, California, USA: Sage. 802 p.
- Freeman, P.W., Lemen, C.A. (2008). Measuring bite force in small mammals with a piezo-resistive sensor. *Journal of Mammalogy* 89:513–517.
- Freeman, P.W., Lemen, C.A. (2010). Simple predictors of bite force in bats: the good, the better and the better still. *Journal of Zoology* 282:284–290.
- Ginot, S., Agret, S., Claude, J. (2018). Bite force performance, fluctuating asymmetry and antisymmetry in the mandible of inbred and outbred wild-derived strains of mice (*Mus musculus domesticus*). *Evolutionary Biology* 45:287–302.
- Graham, J.H., Raz, S., Hel-Or, H., Nevo, E. (2010). Fluctuating asymmetry: methods, theory, and applications. *Symmetry* 2:466-540.

- Greiner, S., Dehnhard, M., Voigt, C.C. (2011). Differences in plasma testosterone levels related to social status are more pronounced during mating than nonmating season in the tropical bat *Saccopteryx bilineata* (greater sac-winged bat). *Canadian Journal of Zoology* 89:1157–1163.
- Hendrickx, F., Maelfait, J.-P., Lens, L. (2003). Relationship between fluctuating asymmetry and fitness within and between stressed and unstressed populations of the wolf spider *Pirata piraticus*. *Journal of Evolutionary Biology* 16:1270–1279.
- Herrel, A., Smet, A.D., Aguirre, L.F., Aerts, P. (2008). Morphological and mechanical determinants of bite force in bats: do muscles matter?. *Journal of Experimental Biology* 211:86–91.
- Herrel, A., Spithoven, L., Damme, R.V., Vree, F.D. (1999). Sexual dimorphism of head size *Gallotia galloti*: testing the niche divergence hypothesis by functional analyses. *Functional Ecology* 13:289–297.
- Husak, J.F., Lappin, A.K., Van Den Bussche, R.A. (2009). The fitness advantage of a high-performance weapon. *Biological Journal of the Linnean Society* 96:840–845.
- Husak, J.F., Lappin, K., Fox, S.F., Lemos-Espinal, J.A. (2006). Bite-force performance predicts dominance in male venerable collared lizards (*Crotaphytus antiquus*). *Copeia* 2006:301–306.
- ICMBIO (2008). *Plano de manejo da Reserva Biológica União, Encarte 3: Análise da Unidade de Conservação*: Ministério do Meio Ambiente. 189 p.
- Irschick, D.J. (2003). Measuring performance in nature: implications for studies of fitness within populations. *Integrative and Comparative Biology* 43:396–407.
- Irschick, D.J., Higham, T.E. (2016). *Animal athletes: an ecological and evolutionary approach*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Irschick, D.J. et al. (2006). Are morphology-performance relationships invariant across different seasons? A test with the green anole lizard (*Anolis carolinensis*). *Oikos* 114:49–59.
- Juarez-Carreño, S., Morante, J., Dominguez, M. (2018). Systemic signalling and local effectors in developmental stability, body symmetry, and size. *Cell Stress* 2:340–361.

- Knörnschild, M., Feifel, M., Kalko, E.K. (2014). Male courtship displays and vocal communication in the polygynous bat *Carollia perspicillata*. *Behaviour* 151:781–798.
- Kunz, T.H., Weise, C.D. (2009). Methods for assessing size at birth and postnatal growth and development in bats. In: Thomas H Kunz; Parsons, S. (eds.) *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Washington, DC: The Johns Hopkins University Press. p. 273-314.
- Manhães, I.A., Nogueira, M.R., Monteiro, L.R. (2017). Bite force and evolutionary studies in phyllostomid bats: a meta-analysis and validation. *Journal of Zoology* 302:288–297.
- McGuire, L.P. et al. (2018). Common condition indices are no more effective than body mass for estimating fat stores in insectivorous bats. *Journal of Mammalogy* 99:1065–1071.
- Melbinger, A., Vergassola, M. (2015). The impact of environmental fluctuations on evolutionary fitness functions. *Scientific Reports* 5:1–11.
- Mellado, B., de Oliveira Carneiro, L., Nogueira, M.R., Monteiro, L.R. (2018). Diversity and seasonality of a phyllostomid assemblage from the Atlantic forest of southeastern Brazil. *Mastozoología Neotropical* 25:363–377.
- Mellado, B., de Oliveira Carneiro, L., Nogueira, M.R., Monteiro, L.R. (2022). The impacts of marking on bats: mark-recapture models for assessing injury rates and tag loss. *Journal of Mammalogy* 103:100–110.
- Mello, M.A.R., Schittini, G.M., Selig, P., Bergallo, H.G. (2004). A test of the effects of climate and fruiting of Piper species (Piperaceae) on reproductive patterns of the bat *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae). *Acta Chiropterologica* 6:309–318.
- Monteiro, L.R., Mellado, B., Nogueira, M.R., Morais-Jr, M.M. (2019). Individual asymmetry as a predictor of fitness in the bat *Carollia perspicillata*. *Journal of Evolutionary Biology* 32:1207–1229.
- Moore, M.C. (1988). Testosterone control of territorial behavior: Tonic-release implants fully restore seasonal and short-term aggressive responses in free-living castrated lizards. *General and Comparative Endocrinology* 70:450–459.
- Orr, H.A. (2009). Fitness and its role in evolutionary genetics. *Nature Reviews Genetics* 10:531–539.

- Palmer, A.R. (1996). Waltzing with asymmetry. *Bioscience* 46:518-532.
- Preston, B.T., Stevenson, I.R., Pemberton, J., Coltman, D., Wilson, K. (2003). Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270:633–640.
- Rising, J.D., Somers, K.M. (1989). The measurement of overall body size in birds. *The Auk* 106:666–674.
- Roff, D.A. (2001). *Life history evolution*. Oxford, UK: Oxford University Press. 527 p.
- Rouan, L., Gaillard, J.-M., Guédon, Y., Pradel, R. (2009). Estimation of lifetime reproductive success when reproductive status cannot always be assessed. In: Patil, G.P.; Gregoire, T.G.; Lawson, A.B.; Nussbaum, B.D. (eds.) *Modeling demographic processes in marked populations*. Berlin: Springer. p. 867–879.
- Senawi, J., Schmieder, D., Siemers, B., Kingston, T. (2015). Beyond size – morphological predictors of bite force in a diverse insectivorous bat assemblage from Malaysia. *Functional Ecology* 29:1411–1420.
- Sinervo, B., Miles, D.B., Frankino, W., Klukowski, M., DeNardo, D.F. (2000). Testosterone, endurance, and Darwinian fitness: natural and sexual selection on the physiological bases of alternative male behaviors in side-blotched lizards. *Hormones and Behavior* 38:222–233.
- Stockley, P., Purvis, A. (1993). Sperm competition in mammals: a comparative study of male roles and relative investment in sperm production. *Functional Ecology* 7:560–570.
- R Core Team (2021). R: A Language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Thomas, P., Pouydebat, E., Hardy, I., Aujard, F., Ross, C.F., Herrel, A. (2015). Sexual dimorphism in bite force in the grey mouse lemur. *Journal of Zoology* 296:133–138.
- Van Dongen, S. (2006). Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *Journal of Evolutionary Biology* 19:1727-1743.

- Vervust, B., Van Dongen, S., Grbac, I., Van Damme, R. (2008). Fluctuating asymmetry, physiological performance, and stress in island populations of the Italian Wall Lizard (*Podarcis sicula*). *Journal of Herpetology* 42:369–377.
- Williams, C.F. (1986). Social organization of the bat, *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Ethology* 71:265–282.

Capítulo 4: Medidas de tamanho corporal: dinâmica evolutiva e associações com valor adaptativo em morcegos de cauda curta (*Carollia perspicillata*)

Breno Mellado, Lucas de Oliveira Carneiro, Marcelo Rodrigues Nogueira, Leandro Rabello Monteiro

Laboratório de Ciências Ambientais, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. cep 28013-602.

Contribuições dos autores

BM e LRM conceberam as ideias e delinearam a metodologia. Todos os autores participaram da coleta de dados, BM e LRM analisaram os dados. BM escreveu o manuscrito, com auxílio de LRM. Todos os autores contribuíram intelectualmente com discussões sobre os resultados. Esta versão final ainda não passou pelo crivo dos coautores MRN e LOC.

Resumo

O tamanho corporal é uma das características fenotípicas com maior relevância biológica, tendo em vista as consequências evolutivas, fisiológicas, funcionais e ecológicas da escala. A massa corporal é uma das medidas de tamanho mais amplamente utilizadas em diferentes grupos taxonômicos, mas combina o tamanho estrutural ou esquelético com o estado nutricional ou reprodutivo do organismo. Táxons específicos diferem quanto às medições de tamanho estrutural mais utilizadas. Em morcegos, o comprimento do antebraço é a variável de tamanho mais medida. Este estudo avaliou a associação entre diferentes variáveis indicadoras de tamanho (massa corporal e comprimento do antebraço) e componentes de valor adaptativo (sobrevivência e reprodução), assim como a dinâmica da sua variabilidade temporal em *Carollia perspicillata*. As relações observadas permitiram testar a hipótese de soluções de compromisso entre sobrevivência e reprodução, intermediadas pelo tamanho. Os resultados mostraram uma relação diretamente proporcional entre massa corporal, sobrevivência e reprodução. A hipótese de solução de compromisso entre sobrevivência e reprodução não foi corroborada pelos resultados, mas explicações alternativas são discutidas. Foi observada uma relação inversamente proporcional do comprimento do antebraço com sobrevivência e reprodução. Tendências temporais e sazonais são observadas nas duas variáveis de tamanho. A massa diminui na estação seca, mas também tende a aumentar ao longo dos anos apenas nos machos. O comprimento do antebraço tendeu a diminuir ao longo dos anos, mas apenas nos adultos. Em animais jovens houve uma tendência de aumento do comprimento do antebraço. Estes resultados sugerem que a massa corporal e o comprimento do antebraço apresentam dinâmicas evolutivas e mecanismos proximais próprios, possivelmente relacionados a restrições e demandas do voo, estando sujeitas a diferentes agentes de seleção.

Introdução

O tamanho corporal é uma das características mais aparentes dos organismos (Schmidt-Nielsen, 1984; LaBarbera, 1989). Diferenças de tamanho têm consequências notáveis nos padrões evolutivos e ecológicos (Jennings *et al.*, 2007; Cooper e Purvis, 2010), influenciando diferentes aspectos da biologia dos organismos (Bonner, 2006), como estratégias reprodutivas (Sibly e Brown, 2007), fisiologia (Withers *et al.*, 2016), função biomecânica (Biewener, 1990; Taylor e Thomas, 2014), diferenciais de seleção (Kingsolver e Pfennig, 2004; Kingsolver e Huey, 2008), e crescimento populacional (Savage *et al.*, 2004; Ozgul *et al.*, 2010). Apesar de ser intuitivo e de fácil percepção, no entanto, medir o tamanho de um organismo pode ser conceitualmente complicado, dependendo do contexto teórico, do nível de organização (interespecífico, intraespecífico), e do sistema modelo sendo estudado (Houle *et al.*, 2011).

As medições de “tamanho corporal” ou “tamanho geral” favorecidas na literatura dependem do tipo de organismo, conveniência e da questão biológica. Medidas de tamanho construídas a partir de combinações lineares de variáveis morfológicas, como componentes principais, são amplamente utilizadas em estudos morfométricos (Monteiro e Reis, 1999; Klingenberg, 2016), o que depende da possibilidade de realizar medições detalhadas em pequena escala e de uma correspondência biológica entre variáveis nos grupos a serem comparados. No entanto, estudos de campo, que exijam amostragens não destrutivas (Douhard *et al.*, 2017; Holand *et al.*, 2019; Jebb *et al.*, 2021), ou que necessitem comparar espécies com formas muito diferentes costumam utilizar variáveis simples, como a massa corporal, como indicador de tamanho (Sibly e Brown, 2007; Polly, 2012). É importante ressaltar que diferentes medidas de tamanho podem apresentar informações diferentes sobre os organismos (Rising e Somers, 1989), pois apresentarão dinâmicas ecológicas e evolutivas diferentes, assim como mecanismos proximais e significados biológicos diversos (Houle *et al.*, 2011), relacionando o tamanho com o ambiente ou estimativas de valor adaptativo (Hannebaum *et al.*, 2017).

A massa corporal é um dos índices de tamanho corporal mais utilizados em estudos biológicos, devido às suas relações alométricas (*scaling*) com diferentes variáveis fisiológicas, ecológicas e evolutivas (Jones e Purvis, 1997; Sibly e

Brown, 2007; Kingsolver e Huey, 2008; DeLong *et al.*, 2015; Withers *et al.*, 2016; Messerman e Leal, 2021). A massa mede o tamanho dos organismos, mas é sujeita a variação devido ao estado nutricional (condição física) e reprodutivo (gestação), além da massa dos componentes musculares e esqueléticos, o tamanho estrutural (Piersma e Davidson, 1991). Por causa das múltiplas fontes de variação na massa corporal, índices de condição corporal (Peig e Green, 2010; Clancey e Byers, 2014) são utilizados com o propósito de separar a variação da massa devido ao estado nutricional, da variação devido ao tamanho estrutural. Os índices de condição buscam estimar o estado nutricional a partir de razões ou resíduos de modelos de regressão (Labocha *et al.*, 2014), indicando se um determinado indivíduo possui mais ou menos massa que o esperado para o seu tamanho esquelético. Espera-se que os índices de condição sejam associados ao valor adaptativo (*fitness* - melhor estado físico e nutricional, mais sobrevivência e reprodução), mas sua aplicação é controversa (Jakob *et al.*, 1996; Marshall *et al.*, 1999; Green, 2001; Hayes e Shonkwiler, 2001; Clancey e Byers, 2014), em particular com relação ao seu significado biológico e sua validação. É necessário premissas sejam respeitadas para que os índices de condição física possam representar o estado nutricional dos organismos (Green, 2001). Estas premissas estão associadas a variável que representa o tamanho estrutural (comprimento linear) que é utilizada como denominador da razão ou variável independente na regressão (Peig e Green, 2010).

Comprimentos de elementos esqueléticos podem medir o tamanho estrutural do organismo, independente do estado nutricional ou reprodutivo, mas sua efetividade como medida de tamanho estrutural depende de suas correlações com outras dimensões corporais no espaço multivariado (Freeman e Jackson, 1990; Pincheira-Donoso *et al.*, 2011). Para alguns grupos de animais, existem variáveis de comprimento do corpo amplamente utilizadas e metodologicamente estabelecidas como dimensões de tamanho, como o comprimento padrão de peixes (Howe, 2002) ou comprimento rostro-anal em grupos de sauropsida (Meiri, 2010). Para outros grupos, como aves e morcegos, busca-se sintetizar o conceito de tamanho corporal a partir de medições univariadas de elementos esqueléticos dos membros (asas ou tarsos), mas existem controvérsias sobre a utilidade de medições de tamanho de membros como índices de tamanho corporal (Rising e Somers, 1989; Freeman e Jackson, 1990; McGuire *et al.*, 2018). Neste contexto, é

importante buscar a compreensão das dinâmicas evolutivas e relações com valor adaptativo de diferentes medidas de tamanho corporal, de modo a estabelecer o significado biológico destas medições e entender melhor os possíveis mecanismos proximais de variação.

Relações de variáveis individuais com sobrevivência e reprodução podem ser avaliadas a partir de modelos de marcação e recaptura multiestado (Lebreton *et al.*, 2009). Nestes modelos, em vez de estados binários na captura (0,1), os animais são identificados de acordo com seu estado na captura, que pode corresponder ao sítio (movimento) (Cam *et al.*, 2004) ou estado biológico (reprodutivo, massa ou condição corporal) (Lebreton *et al.*, 2009; Rotella, 2009). Os estados se modificam nos históricos de captura de acordo com cadeias de Markov, permitindo a estimativa de probabilidades de sobrevivência específicas para cada estado, assim como probabilidades de transição entre estados. Modelos baseados nas cadeias de Markov consideram que os estados no intervalo entre a amostra i e $i+1$ dependem apenas do estado do animal na amostra i (Lebreton *et al.*, 2009). Os modelos multiestado são amplamente utilizados para estimar proporções de animais reproduzindo e testar hipóteses de soluções de compromisso entre sobrevivência e reprodução (Nichols *et al.*, 1994; Lebreton *et al.*, 2009; Rotella, 2009). Os parâmetros dos modelos podem então ser associados a covariáveis preditivas, como medidas de tamanho corporal.

Morcegos são modelos importantes para estudos de ecologia e evolução, pela riqueza de espécies, facilidade de captura e manuseio, longevidade e especializações ecológicas (Medellin *et al.*, 2000; Wilkinson e South, 2002; Kunz e Parsons, 2009; Rasweiler *et al.*, 2009; Monteiro e Nogueira, 2010). Na região Neotropical, o morcego-de-cauda-curta *Carollia perspicillata* se destaca neste grupo como uma das espécies mais estudadas (Fleming, 1988), possivelmente devido à sua alta dominância, particularmente em ambientes em regeneração (Willig *et al.*, 2007; Mellado *et al.*, 2018), além das altas taxas de recaptura (Monteiro *et al.*, 2019; Mellado *et al.*, 2022) e facilidade de manejo e manutenção em experimentos (Cretkos *et al.*, 2005; Fasel *et al.*, 2016), sendo uma espécie modelo ideal para o monitoramento populacional de longo prazo. Os morcegos-de-cauda-curta se distribuem por grande parte da região Neotropical (Cloutier e Thomas, 1992), com grande variação de tamanho corporal (massa e comprimento do antebraço) (Barros *et al.*, 2014). A alimentação de *C. perspicillata* consiste

principalmente de frutos de arbustos pioneiros (Piperaceae e Solanaceae) (Mello *et al.*, 2004a), e costumam se abrigar em cavernas, ocos de árvore e construções humanas, com alta fidelidade aos abrigos (Fleming, 1988). O sistema de acasalamento de *C. perspicillata* é poligâmico, e os machos buscam monopolizar um grupo de fêmeas (harém), defendendo os sítios preferidos pelas fêmeas dentro do abrigo (Williams, 1986). Há competição entre os machos pelos sítios, mas estratégias alternativas são também observadas (Fasel *et al.*, 2016), com uma proporção de machos solteiros ou periféricos que procuram acasalar oportunisticamente.

Estudos anteriores mostraram a influência da condição corporal, comprimento e assimetria dos antebraços na sobrevivência e potencial reprodutivo de *C. perspicillata* (Monteiro *et al.*, 2019). A influência direta das variáveis de tamanho sugere que indivíduos maiores apresentam maior valor adaptativo, mas não evidencia a presença de um padrão de seleção estabilizadora. Diferentes populações de *C. perspicillata* apresentam ampla variação nas médias das variáveis de tamanho (Fleming, 1988; Barros *et al.*, 2014). Dessa forma, é esperado que estejam em ótimos adaptativos e algum limite superior à variabilidade (menor valor adaptativo em indivíduos grandes) seja encontrado (Bonnet *et al.*, 2017), seja por uma relação quadrática ou por solução de compromisso entre sobrevivência e outro componente de valor adaptativo (Roff, 2002; Kingsolver e Diamond, 2011). Este fenômeno é conhecido como paradoxo do equilíbrio (*paradox of stasis*) (Merilä *et al.*, 2001; Gotanda *et al.*, 2015). Os modelos multiestado permitem uma estimativa simultânea de parâmetros de sobrevivência e reprodução, facilitando a identificação de soluções de compromisso e suas associações com variáveis fenotípicas (Lebreton *et al.*, 2009). O objetivo primário deste estudo é avaliar as relações entre diferentes variáveis indicadoras de tamanho (massa corporal e comprimento do antebraço) e probabilidades de sobrevivência e reprodução, assim como a dinâmica da sua variabilidade temporal. A partir destas associações, pretendemos testar a hipótese de que existem soluções de compromisso entre sobrevivência e reprodução, intermediadas pelo tamanho, limitando a evolução fenotípica em *Carollia perspicillata*.

Materiais e Métodos

Área de estudo e procedimentos de campo

Monitoramos duas colônias do morcego *Carollia perspicillata*, localizadas na Reserva Biológica União (RBU – Município de Rio das Ostras, RJ, coordenadas 22°25'40"S, 42°02'06"W), entre janeiro de 2013 e junho de 2021 (Monteiro *et al.*, 2019). A Unidade de Conservação protege 7756 ha de Floresta Atlântica, sendo os tipos de vegetação mais comuns, a floresta ombrófila densa de baixada e submontana. O clima na região é tropical úmido, com precipitação média anual entre 1100 e 2400 mm (ICMBIO, 2008). O período entre os meses de maio a setembro é reconhecido como seco. O período de setembro a abril é considerado chuvoso, concentrando 80% da precipitação anual (ICMBIO, 2008). As temperaturas médias são observadas dentro do intervalo de 18 a 24°C. Áreas abertas em regeneração na RBU apresentam dominância de espécies pioneiras, como as do gênero *Piper* (Prieto *et al.*, 2014), cuja fenologia de frutificação determina em parte o período reprodutivo de *C. perspicillata* (Mello *et al.*, 2004b). A dominância de *C. perspicillata* na RBU chega a 70% da abundância relativa, sendo possivelmente relacionada à grande abundância de recursos alimentares. (Mellado *et al.*, 2018).

A primeira colônia de *C. perspicillata* (chamada Colônia 1 daqui em diante) foi monitorada regularmente entre janeiro de 2013 e abril de 2015. O abrigo consiste de uma manilha de drenagem (dimensões de 1m de diâmetro por 25 m de comprimento) sob a rodovia BR-101, que corta a RBU em sua porção sul. Nos períodos reprodutivos, a Colônia 1 abrigava em média 112 indivíduos. Devido aos planos existentes para duplicação da rodovia (ainda não realizados), e de modo a não descontinuar o projeto, uma segunda colônia (chamada Colônia 2 daqui em diante) passou a ser monitorada em abril de 2015. Os animais da Colônia 2 se abrigam em um depósito abandonado, próximo à sede principal da RBU, às margens de uma área em regeneração com o tipo vegetacional floresta de baixada. A Colônia 2 segue sendo monitorada atualmente, sendo que os dados utilizados neste estudo correspondem a capturas realizadas entre abril de 2015 e junho de 2021. O período entre outubro de 2019 e setembro de 2020 não foi

monitorado devido à pandemia de SARS-Cov 2. A Colônia 2 abrigava em média 190 indivíduos nos períodos reprodutivos.

Os morcegos foram capturados dentro dos abrigos em sessões bimestrais (37 ocasiões de captura no total). Os animais eram capturados de manhã cedo com um puçá entomológico e colocados em um samburá de tela com 120 cm de comprimento e 60 cm de diâmetro. Evitamos realizar capturas nos picos reprodutivos, com grande quantidade de fêmeas grávidas ou filhotes muito pequenos. Fêmeas grávidas em estado avançado ou carregando filhotes eram sempre colocadas em sacos de pano, separadamente para ter prioridade na triagem e evitar a separação entre mãe e filhote pela aglomeração no samburá. Os animais eram sempre liberados no mesmo abrigo ainda no mesmo dia, antes do pôr do sol ou no início da noite. Capturas adicionais eram também realizadas na mesma semana, utilizando redes de neblina em estradas ou trilhas próximas aos abrigos. Os animais capturados não eram marcados nas capturas em rede, mas indivíduos marcados eram contabilizados no histórico de capturas como vivos na ocasião (Monteiro *et al.*, 2019; Mellado *et al.*, 2022). Todos os procedimentos seguiram as recomendações da American Society of Mammalogists para o uso de animais selvagens em pesquisa (Sikes *et al.* 2016) e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UENF (projeto 569030, protocolo 498). O trabalho de campo dentro da RBU foi aprovado pelo ICMBio na Autorização 53628-6.

Marcação, medição e avaliação dos morcegos

Após a captura, os animais eram levados ao laboratório de campo, dentro da RBU para medição, avaliação e marcação (Monteiro *et al.*, 2019; Mellado *et al.*, 2022). O procedimento de triagem envolvia a sexagem, determinação de categoria etária (jovem, subadulto ou adulto), condição reprodutiva, medição do comprimento do antebraço e massa corporal. A determinação da categoria etária foi realizada pela observação da ossificação das epífises nas falanges das asas (Brunet-Rossinni e Wilkinson, 2009). Indivíduos jovens apresentam discos epifisários com tom mais claro (pouco ossificados), além de uma pelagem de cor acinzentada e mais esparsa. Os indivíduos classificados como subadultos apresentavam epífises ossificadas, mas ainda sexualmente imaturos (mamas e

testículos impalpáveis). A categoria de adultos considera animais reprodutivos e não-reprodutivos, mas todos os indivíduos apresentam alguma evidência de ter reproduzido anteriormente. Entre as fêmeas adultas, a condição reprodutiva foi avaliada por apalpação abdominal e evidência de lactação, sendo classificadas como aparentemente inativas, grávida (Incipiente, Mediana ou Avançada), lactante, grávida/lactante e pós-lactante. A reprodução dos machos foi avaliada pelo comprimento dos testículos, medidos com paquímetro (Mitutoyo, precisão de 0,01 mm). Segundo Fleming (1988), testículos com mais de 6 mm apresentam evidência de espermatogênese, sendo considerados reprodutivamente ativos. Após a avaliação inicial, os animais eram pesados (Balança BEL Engineering, precisão de 0,01 g) e tinham o comprimento do antebraço direito medido com paquímetro (Mitutoyo, precisão de 0,01 mm) (Monteiro *et al.*, 2019).

Os animais foram marcados com anilhas de alumínio anodizado com abas (3 mm) no antebraço (Anilhas Capri) ou colares de esferas de aço cirúrgico, onde era passada uma anilha fechada de alumínio anodizado (Fleming, 1988; Kunz e Weise, 2009; Mellado *et al.*, 2022). As anilhas receberam uma numeração individualizada, e cada morcego era reconhecido a partir de um código combinando a cor e a numeração da anilha. Os colares eram formados por 14 esferas de 2.5 mm (o comprimento total do colar com o fecho era de 54 mm). Este comprimento permitia a remoção do colar pela cabeça, evitando lesões nos animais (Kunz e Weise, 2009; Mellado *et al.*, 2022). No período entre 2013 e 2016, todos os morcegos foram marcados com anilhas. A partir de 2016, os animais adultos passaram a receber colares. Os animais jovens, muito pequenos para receber um colar, foram marcados com anilhas, sendo também marcados com colares quando recapturados como adultos. Anilhas causando lesão grave eram sempre removidas.

Variação na massa corporal e comprimento do antebraço

No período do estudo foram capturados 1962 indivíduos (1112 F, 850 M), sendo que o número de capturas do mesmo indivíduo variou entre 1 e 19, totalizando 4138 observações. A variação de massa corporal (MC) foi analisada a partir de um modelo de efeito misto (Galecki e Burzykowski, 2013), utilizando a massa como variável resposta. Medições de fêmeas grávidas avançadas foram

removidas do conjunto de dados. Como as medições de MC foram realizadas durante o dia, variações de massa devido ao conteúdo estomacal foram minimizadas, já que o tempo de trânsito para *C. perspicillata* é relativamente rápido (5-30 min) (Laska, 1990; Charles-Dominique, 1991).

A variável Ano utilizada considerou que o “ano do morcego” não corresponde ao calendário humano. Consideramos cada período de um ano como sendo o que decorre do início da estação reprodutiva até o início da próxima. Como a estratégia reprodutiva de *C. perspicillata* é baseada na obtenção de recursos durante o período reprodutivo (*income breeder*) (Fleming, 1988), o ganho de massa, a sobrevivência, e a reprodução dos animais deve ser em grande parte determinada por eventos ocorrendo dentro deste período (Varpe, 2017; Culina *et al.*, 2019), levando a um agrupamento natural das estimativas. Deste modo, cada ano incorporou um período chuvoso (produtivo) e um período seco (improdutivo) subsequente. Por exemplo, o ano 13-14 corresponde ao período entre setembro de 2013 e setembro de 2014.

O comprimento do antebraço (CAnt), categoria etária (CatEt - Jovem, Subadulto ou Adulto), sexo, ano (como variável numérica) e mês (como um termo sinusoidal) foram incluídos como efeitos fixos, além de interações do sexo com CatEt, ano e mês. Ano e mês foram utilizados nos modelos tanto como variáveis numéricas de efeito fixo (tendências anuais ou sazonais), quanto como variáveis categóricas de efeito aleatório, com o propósito de ajustar as estimativas para a variabilidade anual e sazonal, e corrigir dependências temporais para observações dentro do mesmo ano (Crawley, 2013). A identificação do indivíduo também foi incluída como efeito aleatório para identificar as medidas repetidas. O termo sinusoidal do modelo foi definido como $\sin(\omega\text{Mês}) + \cos(\omega\text{Mês})$, onde $\omega\text{Mês} = (\pi/6) * (\text{Mês})$ transforma cada mês (1:12) na décima segunda parte de um círculo representando um ano (em radianos) (Pewsey *et al.*, 2013). Modelos mistos foram também ajustados para o CAnt como variável resposta, sexo, CatEt, ano (numérico) como efeitos fixos, indivíduos e ano (categórico) como efeitos aleatórios. A variância explicada pelos modelos foi calculada pelos coeficientes de determinação para modelos mistos generalizados propostos por Nakagawa *et al.* (2017). O ajuste dos modelos foi realizado no ambiente R (R Core Team, 2021), utilizando o pacote “lme4” (Bates *et al.*, 2015). Uma seleção de modelos a partir do critério de informação de Akaike foi realizada para determinar a combinação de

efeitos fixos e aleatórios com o melhor ajuste (Burnham e Anderson, 2002). A tabela de seleção de modelos foi montada com o pacote MuMIn (Bartoń, 2020). Os resultados foram visualizados e validados com os pacotes “effects” (Fox e Weisberg, 2018) e “car” (Fox e Weisberg, 2019).

Modelos de marcação e recaptura multiestado

A marcação e recaptura dos morcegos permitiu a construção de um histórico de capturas para cada indivíduo, em que a presença do indivíduo em uma determinada ocasião de captura era registrada como um estado, sendo não reprodutivo (N) ou reprodutivo (R). A ausência do indivíduo na ocasião era registrada como zero (0). Como a Colônia 1 foi monitorada apenas até abril de 2015, após esta data os animais foram registrados como pontos (.) no histórico, sinalizando ao modelo a falta de informação. No histórico das fêmeas, todas que apresentavam evidência de gestação ou lactação eram consideradas reprodutivas, sendo as demais (aparentemente inativas ou juvenis inativas) consideradas não reprodutivas (Nichols *et al.*, 1994). No histórico dos machos, todos com testículos grandes (acima de 6 mm de comprimento) foram considerados reprodutivos (Fleming, 1988). Como os estados reprodutivos possuem interpretações e dinâmicas diferentes para machos e fêmeas, os modelos foram ajustados separadamente para cada sexo.

Nas análises de marcação e recaptura, foram utilizados um total de 1077 fêmeas e 746 machos, capturados em 37 sessões. Todos os morcegos capturados dentro da mesma semana, no abrigo e nas redes em trilhas, eram registrados como vivos naquela ocasião. O período total de monitoramento correspondeu a nove anos (2013-2021), mas o monitoramento de cada colônia ocorreu por menos tempo (três anos para a Colônia 1 e seis anos para a Colônia 2). Os modelos incorporam covariáveis individuais: Idade, massa corporal (MC), comprimento do antebraço (CAnt), estado reprodutivo, tipo de marcação (Tag – anilha, colar ou ambos), e covariáveis de delineamento (*design covariates*), onde a unidade amostral é a ocasião de captura (Estação, Ano). Apesar da massa corporal dos indivíduos variar ao longo do ano, a covariável MC foi calculada baseada em uma média das medições individuais, excluindo valores obtidos na fase juvenil (quando possível) ou de fêmeas grávidas avançadas. Médias também

foram utilizadas na estimativa do comprimento do antebraço, excluindo medidas realizadas na fase juvenil sempre que possível. A idade dos indivíduos capturados como adultos não pôde ser estimada. Para incorporar possíveis diferenças de sobrevivência e reprodução em relação ao primeiro ano de vida, foi criada uma variável de idade onde os indivíduos capturados como juvenis ou subadultos foram agrupados em uma categoria “0” (menos de um ano). Os animais adultos foram agrupados na categoria “1+” (mais de um ano). Um intervalo de tempo equivalente a 12 meses foi utilizado para a mudança de categoria (0 para 1+) no histórico de capturas. A estação foi definida como seca (S – abril a agosto) ou chuvosa (C – setembro a maio) de acordo com o mês da ocasião de captura ou os meses entre capturas, dependendo do parâmetro estimado (ver abaixo).

Modelos de marcação e recaptura multiestado foram ajustados aos históricos de captura (Lebreton *et al.*, 2009; McCrea e Morgan, 2015), de modo a estimar simultaneamente as probabilidades de sobrevivência aparente (S – mensal, entre ocasiões de captura), recaptura (p – em cada ocasião de captura) e de transição (entre estados reprodutivos – Ψ – mensal, entre ocasiões de captura). O parâmetro S é chamado de sobrevivência aparente, pois neste modelo de populações abertas, é impossível discernir emigração de morte. Assumimos que a proporção de emigrantes é relativamente pequena em relação ao número de indivíduos na colônia (Fleming, 1988). As transições relevantes para nossos objetivos são: N-R (passar de não reprodutivo a reprodutivo) e R-R (permanecer como reprodutivo). A importância destas transições deriva do ciclo reprodutivo da espécie, onde as fêmeas podem apresentar duas gestações por ano dentro da mesma estação reprodutiva (Fleming, 1988; Monteiro *et al.*, 2019), com um pico de gestações no início da estação chuvosa, com filhotes nascendo em dezembro/janeiro. Um segundo pico de gestações pode ser observado no meio da estação chuvosa, devido a algumas fêmeas apresentarem cio pós-parto, com filhotes nascendo em abril/maio (Monteiro *et al.*, 2019). É esperado que as fêmeas que se reproduzem uma única vez por temporada, sofram a transição N-R, mas retornem ao estado não reprodutivo ainda na mesma temporada (R-N), ao passo que as fêmeas que se reproduzem duas vezes sejam observadas em estado reprodutivo por toda a temporada (R-R). Os machos adultos apresentam picos de frequência de indivíduos com testículos acima de 6mm, similares aos picos reprodutivos de fêmeas, mas a proporção de machos reprodutivos tende a

diminuir rapidamente logo após o início da segunda gestação das fêmeas (Monteiro *et al.*, 2019). É possível observar nos históricos de capturas, que os testículos dos indivíduos podem diminuir de tamanho, abaixo de 6mm. Desta maneira, todas as transições (N-R, N-N, R-N, R-R) são possíveis, tanto para machos quanto para fêmeas.

Para verificar a possibilidade de sobredispersão nas estimativas dos parâmetros foram realizados testes de ajuste (*goodness of fit* – GOF), agrupando os históricos de captura de acordo com a Colônia, sexo e tipo de marcação (anilha, colar ou ambos) (Seber e Schofield, 2019; Mellado *et al.*, 2022). Testes de qui-quadrado foram realizados para cada combinação de agrupamentos, verificando as premissas de que a captura em uma determinada ocasião não influencia as probabilidades de captura futuras (efeito da armadilha, chamado Teste 2 na literatura), e a premissa de que o histórico passado não tenha efeito nas futuras capturas (efeito de transitoriedade de indivíduos - Teste 3) (McCrea e Morgan, 2015). O teste qui-quadrado geral é a soma das estatísticas e graus de liberdade dos testes 2 e 3.

Os modelos completos foram ajustados com as seguintes covariáveis por parâmetro: $S(MC + CAnt + Idade + Ano(categórico) + Estação + estado\ reprodutivo)$, $p(Estação + Tag)$ $\Psi(MC + CAnt + Idade + Estação)$. A avaliação da estrutura de covariáveis do modelo foi realizada a partir da comparação dos critérios de informação de Akaike corrigidos para pequenos tamanhos amostrais. Como a avaliação de todas as combinações possíveis seria muito custosa do ponto de vista computacional, foi utilizada uma estratégia (*p-first*, combinações plausíveis) em que as covariáveis foram recombinações separadamente por parâmetro, de modo a incluir apenas os modelos com combinações de covariáveis com melhor ajuste, de acordo com o critério de informação e a função desvio (deviance) (Doherty *et al.*, 2012; Bromaghin *et al.*, 2013). Iniciando com o modelo completo para S e Ψ , foram ajustados modelos com diferentes combinações das covariáveis de p . O conjunto de covariáveis com melhor ajuste em p e o conjunto completo de Ψ foi usado para diferentes combinações das covariáveis de S . O conjunto de covariáveis selecionado em S e p foi usado finalmente para ajustar diferentes combinações das covariáveis de Ψ . O conjunto mais plausível de covariáveis foi também avaliado de acordo com intervalos de confiança para as estimativas dos seus efeitos sobre os parâmetros (betas). As

covariáveis previamente determinadas como relevantes para as estimativas de sobrevivência (Ano, Estação) e recaptura (Estação, Tag) (Monteiro *et al.*, 2019; Mellado *et al.*, 2022) foram mantidas em todos os modelos. No caso de sobredispersão (resultados significativos dos testes de ajuste), foi calculado um fator de inflação de variância baseado nas estatísticas qui-quadrado e graus de liberdade somados entre testes 2 e 3 ($\hat{c} = \chi^2/df$) (Lebreton *et al.*, 1992). Este fator de inflação permite o ajuste do da verossimilhança, função desvio e critério de informação dos modelos, de modo a levar em consideração a maior incerteza nas estimativas dos parâmetros (Seber e Schofield, 2019). Neste caso, a verossimilhança passa a ser uma quasi-verossimilhança, e as estatísticas derivadas também recebem o prefixo quasi- para indicar que são aproximações. Os modelos de marcação e recaptura multiestado foram implementados com o pacote RMark (White e Burnham, 1999; White *et al.*, 2006; Laake, 2013). Os testes de ajuste foram calculados com o pacote R2Ucare (Gimenez *et al.*, 2018).

Resultados

Variação da massa corporal e comprimento do antebraço

A massa corporal média de *C. perspicillata* adultos na Reserva Biológica União foi estimada em 15,33 g ($s = 1,01$ g, $n = 934$) para fêmeas e 15,64 g ($s = 0,86$ g, $n = 611$) para machos. O comprimento do antebraço médio foi estimado em 40,14 ($s = 0,20$ mm, $n = 934$) para fêmeas e 39,94 mm ($s = 0,20$ mm, $n = 611$) para machos. A seleção de modelos predizendo a variação de massa corporal indicou um conjunto consistente de variáveis independentes entre os modelos estatisticamente equivalentes, com $\Delta AICc < 2$ (Tabela 1). O modelo com melhor ajuste incluiu como efeitos fixos o comprimento do antebraço, a categoria etária, o sexo, o termo sinusoidal (mês), o ano e as interações sexo:mês, e sexo:ano. Os efeitos aleatórios são utilizados de modo a controlar a dependência temporal (mês e ano) e de medições repetidas (indivíduos), e foram mantidas constantes em todos os modelos. Os coeficientes de determinação (R^2) dos modelos mistos podem ser divididos em dois tipos: marginal, representando a variância explicada pelo efeitos fixos, e condicional, representando a variância total explicada pelo modelo. O modelo com melhor ajuste apresentou R^2 marginal = 0,32 e um R^2

condicional = 0,60. Desta maneira, os efeitos fixos são responsáveis por 53% da variação de massa corporal explicada pelo modelo. Dentre os efeitos aleatórios, as diferenças entre indivíduos foram responsáveis pela maior parte da variação de massa, seguido por anos e meses (Tabela 2). Este resultado confirma que o uso das médias de massa nos modelos de marcação e recaptura é válido e representativo de uma característica individual. Os fatores de inflação de variância generalizados observados foram próximos de 1, sugerindo a ausência de colinearidade, e os resíduos do modelo não evidenciaram quebra notável de premissas (resultados não mostrados).

Os efeitos fixos mostram uma tendência de aumento da massa em relação ao comprimento do antebraço (Figura 1, Tabela 2). A curva de ajuste não paramétrico dos resíduos (linha de cor magenta no gráfico) indica uma leve tendência não linear, em que são observados mais resíduos negativos para comprimentos de antebraço pequenos e grandes. Observa-se também, um aumento da média de massa entre os jovens e as demais categorias etárias (~2 g entre JV e SUB, ~3 g entre JV e AD), assim como padrões de variação anual e sazonal com dimorfismo sexual (Figura 1, Tabela 2). A variação anual mostra uma tendência de aumento, apenas para os machos. Em ambos os sexos, há um desalinhamento entre a linha de tendência e o ajuste dos resíduos, com forte decréscimo da massa no período entre 2014 e 2016. A variação sazonal determinada pelo termo sinusoidal assume uma forma de interação com o sexo, com um claro decréscimo na massa corporal de fêmeas nos meses do período seco (5-9), o que não é observado no caso dos machos (Figura 1). Devido às interações, é difícil dissociar o efeito do sexo da variação anual e sazonalidade. O efeito de tendência anual é mais notável nos machos, ao passo que os efeitos sazonais e a variabilidade interanual são mais pronunciados nas fêmeas. Uma vez que estes efeitos são estatisticamente controlados nos modelos, o efeito do sexo corresponde a uma média de massa menor nos machos (Tabela 2).

Os modelos ajustados com o comprimento do antebraço como variável resposta indicaram um conjunto consistente de preditores, com a categoria etária, sexo, ano (numérico) e a interação entre categoria etária e ano (Tabela 3). O modelo com melhor ajuste apresentou R^2 marginal = 0,024 e um R^2 condicional = 0,91. Os efeitos fixos são responsáveis por apenas ~3% da variação do CAnt explicada pelo modelo. Dentre os efeitos aleatórios, as diferenças entre indivíduos

foram responsáveis por quase toda a variabilidade do CAnt (Tabela 4). A diferença entre categorias etárias (JV-SUB e JV-AD) corresponde a quase 1 mm, indicando que grande parte dos animais medidos, mesmo jovens, já se encontram próximos do final do crescimento do antebraço. Machos apresentaram antebraços menores que fêmeas (Tabela 4). Há uma pequena tendência anual com interação entre categorias etárias. Para os indivíduos jovens, há uma pequena tendência de aumento do comprimento do antebraço ao longo dos anos, ao passo que entre subadultos e adultos, essa tendência se inverte, passando a inversamente proporcional (Figura 2, Tabela 4). Os fatores de inflação de variância generalizados observados foram próximos de 1, sugerindo ausência de colinearidade, e os resíduos do modelo não evidenciaram quebra notável de premissas (resultados não mostrados).

Modelos de marcação e recaptura multiestado

Os testes de ajuste do modelo geral multiestado (variação temporal, históricos agrupados por sexo, colônia e tipo de marcação) sugerem uma sobredispersão moderada, particularmente nos machos (Fêmeas $\chi^2 = 143,536$, gl = 101, $P = 0,0035$, fator de inflação da variância $\hat{c} = 1,42$), (Machos $\chi^2 = 221,507$, gl = 127, $P < 0,0001$, fator de inflação da variância $\hat{c} = 1,74$). Os valores de \hat{c} foram usados para ajustar os critérios de informação e intervalos de confiança das estimativas dos parâmetros.

A seleção de modelos multiestado indicou diferentes conjuntos de covariáveis para cada sexo, nos parâmetros S e Ψ (Tabela 5). Em ambos sexos, as covariáveis comuns à sobrevivência aparente foram MC, CAnt, Estação e Ano. No caso das fêmeas, o estado reprodutivo também foi selecionado. Idade aparece como covariável de S em dois dos três modelos com melhor ajuste para machos, mas o intervalo de confiança do seu beta é amplo demais (resultado não mostrado) e não corrobora a inclusão da idade. Além disso, a inclusão ou não da idade como covariável não teve efeito sobre os betas estimados para os demais parâmetros dos modelos. A estação e o tipo de marcação (tag) foram selecionadas como covariáveis da probabilidade de recaptura em ambos sexos. Para as probabilidades de transição entre estados reprodutivos (Ψ), os modelos com melhor ajuste e mais parcimoniosos incluíram MC, idade e estação. No caso

particular das fêmeas, o CAnt aparece em dois dos modelos com melhor ajuste (Tabela 5). Como a avaliação do intervalo de confiança do beta para CAnt neste caso sugere uma direção negativa consistente para o efeito, onde o limite de confiança superior é marginalmente maior que 0 (Tabela 6), decidimos manter a covariável CAnt para Ψ no modelo final.

As covariáveis individuais MC e CAnt apresentaram efeitos diferentes sobre a probabilidade de sobrevivência (Figura 3, Tabelas 6 e 7). Enquanto indivíduos com maior massa corporal (controlando estatisticamente o CAnt) apresentam maior sobrevivência, aqueles com maior CAnt (controlando estatisticamente a MC) apresentaram menor probabilidade de sobrevivência. A variação temporal na sobrevivência ao longo do período de estudo é evidenciada pelos betas e predições das covariáveis ano e estação (Figura 4, Tabelas 6 e 7). O efeito de sazonalidade (diferença entre estações chuvosa e seca) é bem mais pronunciado nos machos (Tabelas 6 e 7). Em ambos os sexos, a sobrevivência nos meses chuvosos tende a ser maior que na seca, mas o efeito nos machos (beta = 0,39, IC95% 0,093 – 0,686) é quatro vezes maior que nas fêmeas, cujo intervalo de confiança inclui o 0 (beta = 0,104, IC95% -0,215 – 0,422). O efeito anual também é diferente entre os sexos. As fêmeas apresentam uma redução notável da sobrevivência no ano 16.17 (Figura 4, Tabela 6), recuperando gradativamente até um novo pico em 19.20, após o qual começa um novo declínio. Os machos apresentam um declínio menos acentuado em 16.17, mas com uma tendência de aumento posterior mais acentuada que nas fêmeas (Figura 4). Apenas para fêmeas, indivíduos no estado não reprodutivo (N) apresentaram em média maior probabilidade de sobrevivência mensal ($S_N = 0,88$, IC95% 0,82-0,92) que os indivíduos no estado reprodutivo ($S_R = 0,95$, IC95% 0,92-0,97) (Tabela 6). As probabilidades de recaptura para ambos sexos foram maiores na estação chuvosa (Tabelas 6 e 7). Observou-se também uma tendência dos indivíduos duplamente marcados apresentarem maior probabilidade de recaptura.

As probabilidades de transição entre estados reprodutivos apresentaram efeitos similares entre sexos, para as covariáveis MC, idade e estação (Figura 5, Tabelas 6 e 7). Indivíduos com maior massa corporal apresentaram maior probabilidade de transição N-R (não reprodutivo para reprodutivo), assim como maior probabilidade de permanecer em estado reprodutivo (transição R-R)

(Figuras 5B e C, Tabelas 6 e 7). Apenas para fêmeas, o comprimento do antebraço se mostrou relevante, onde indivíduos com maior antebraço (controlando estatisticamente a massa corporal e a idade) apresentaram menor probabilidade de transição N-R e R-R (Figura 5A, Tabela 6). A probabilidade de transição N-R aumenta na estação chuvosa, com o efeito nas fêmeas (beta = 2,08, IC95% 1,59 – 2,56) cinco vezes maior que nos machos (beta = 0,40, IC95% 0,2 – 0,79) (Figura 5D). A probabilidade de transição N-R também aumenta consideravelmente após o primeiro ano de vida, com efeito similar em ambos os sexos (Figura 5D, Tabelas 6 e 7). Durante a estação chuvosa, as fêmeas passam de uma probabilidade de transição N-R igual a 0,27 (IC95% 0,19 – 0,36) no primeiro ano de vida para uma probabilidade de 0,72 (IC95% 0,63 – 0,79) a partir do segundo ano. Machos passam de uma probabilidade de transição N-R igual a 0,17 (IC95% 0,12 – 0,22) dentro do primeiro ano de vida para uma probabilidade de 0,48 (IC95% 0,39 – 0,56) a partir do segundo ano (Figura 5D).

Discussão

Os resultados do presente estudo corroboram algumas relações previamente conhecidas entre o tamanho corporal e indicadores de valor adaptativo dentro de populações (Kingsolver e Huey, 2008), como a relação positiva entre massa corporal, sobrevivência e reprodução. A hipótese de solução de compromisso entre sobrevivência e reprodução não foi corroborada pelos resultados, mas explicações alternativas são discutidas adiante. Observamos também uma relação inversamente proporcional do CAnt com sobrevivência e reprodução. Isto sugere que precisamos tomar cuidado com a interpretação de variáveis que buscam medir o “tamanho geral”, pois diferentes indicadores podem medir aspectos diferentes do tamanho, além de apresentar dinâmicas evolutivas e ecológicas particulares.

O estudo de Monteiro *et al.* (2019) relatou associações positivas entre um índice de condição física (SMI - *scaled mass index*) e CAnt com a sobrevivência. Por outro lado, nossos resultados mostram uma relação inversamente proporcional entre CAnt e a sobrevivência. Há uma discrepância entre os resultados do presente estudo e os resultados obtidos por Monteiro *et al.* (2019) que precisa ser discutida. Em primeiro lugar, as associações relatadas com a

sobrevivência são parciais, estatisticamente independentes das demais covariáveis no modelo. Como as demais covariáveis individuais são diferentes, massa corporal no presente estudo e condição física em Monteiro *et al.* (2019), é possível entender as associações parciais a partir das diferenças entre as variáveis. O índice de condição física utilizado é baseado em uma regressão no eixo maior reduzido (modelo II) entre o logaritmo da massa corporal e o logaritmo do CAnt (Peig e Green, 2009). O SMI assume que a transformação logarítmica lineariza a relação entre massa e CAnt, o que não acontece, pois a relação entre as duas variáveis não é exponencial positiva [ver McGuire *et al.* (2018) e a Figura 1 do presente estudo]. O resultado dessa quebra de premissa é que há uma tendência no resíduo da regressão entre massa e CAnt que gera uma correlação negativa entre SMI e CAnt. Animais com grande CAnt tendem a apresentar SMI pequeno, pois o aumento de massa não acompanha o crescimento do antebraço, talvez por restrições devido aos requerimentos funcionais do voo. Esta quebra de premissa não é um problema com relação ao significado do SMI, pois este apresenta grande associação com a massa corporal e ainda indica a condição corporal de acordo com as reservas energéticas (McGuire *et al.*, 2018). No entanto, a relação parcial positiva do CAnt com a sobrevivência acaba alterada devido à correlação negativa com o SMI. A contribuição parcial do CAnt como covariável da sobrevivência passa a ser inversamente proporcional quando a massa corporal é utilizada no lugar do SMI como covariável no modelo. Nenhum outro resultado é alterado ao substituir o SMI pela massa corporal (resultados não mostrados), o que reforça a interpretação que a informação sobre condição física dos indivíduos está presente nas duas variáveis (McGuire *et al.*, 2018), sendo que a massa combina informação sobre o tamanho estrutural e a condição nutricional do organismo.

A ausência de uma solução de compromisso entre sobrevivência e reprodução intermediada pelo tamanho ou condição corporal é evidenciada por dois resultados principais: a associação positiva da massa corporal com as probabilidades de sobrevivência e de transição para estado reprodutivo em ambos sexos, e a maior probabilidade de sobrevivência para fêmeas em estado reprodutivo (ausência de custo da reprodução) (Rotella, 2009). É importante ressaltar primeiramente que a categorização dos indivíduos como reprodutores não significa necessariamente sucesso reprodutivo. Nosso monitoramento não

permitiu avaliar a sobrevivência dos filhotes ou a paternidade, ou mesmo determinar a ordem dos eventos reprodutivos de cada indivíduo (Gimenez e Gaillard, 2018). Desta maneira, é possível que exista uma solução de compromisso entre sobrevivência e um componente do valor adaptativo reprodutivo não mensurado, fazendo com que sucesso reprodutivo total (ao longo da vida) apresente um custo para a sobrevivência (Culina *et al.*, 2019).

A ausência da solução de compromisso pode ser explicada também pelo modelo de partição de recursos (van Noordwijk e de Jong, 1986; Roff, 2002), segundo o qual, uma correlação positiva é esperada entre investimento somático (ou sobrevivência) e reprodução, se a variabilidade na aquisição de recursos entre indivíduos for maior que a variabilidade na alocação dos recursos (Glazier, 2000). Quando os indivíduos diferem muito na capacidade de adquirir recursos, os que conseguem mais recursos reproduzem e sobrevivem mais que os que conseguem menos recursos, independente de diferenças na alocação do orçamento energético entre sobrevivência (somático) e reprodução, o que provavelmente é o caso na população estudada. Pode ser o caso também que, em vez de um efeito geral da reprodução atual sobre a sobrevivência ou reproduções futuras, o custo seja tamponado pela condição corporal (Griesser *et al.*, 2017; Bright Ross *et al.*, 2021), ou evidente apenas em períodos com ambiente mais desafiador, como eventos climáticos extremos (Tavecchia *et al.*, 2005) ou epidemias (Garnier *et al.*, 2016). Assim como nossos resultados evidenciam uma maior probabilidade de transição para o estado reprodutivo na estação chuvosa, existem evidências na literatura da influência de variáveis meteorológicas e disponibilidade de alimentos sobre parâmetros reprodutivos de morcegos (Mello *et al.*, 2004b; Linton e Macdonald, 2018). No entanto, para animais cuja reprodução depende de recursos disponíveis dentro do período reprodutivo (*income breeders*), não há evidência da relação de variáveis meteorológicas com soluções de compromisso (Descamps *et al.*, 2009; Culina *et al.*, 2019). Será importante avaliar em estudos futuros, a interação entre estado reprodutivo e o ano (ou a inclusão de variáveis meteorológicas) como covariáveis do parâmetro de sobrevivência.

Soluções de compromisso entre diferentes componentes do valor adaptativo são raramente reportadas em populações naturais (Glazier, 2000) ou como causa de seleção estabilizadora no tamanho corporal (Kingsolver e

Diamond, 2011). O tamanho corporal em geral apresenta uma relação positiva linear com o valor adaptativo em escala populacional (Kingsolver e Pfennig, 2004; Kingsolver e Huey, 2008), no entanto, estes coeficientes de seleção normalmente não se traduzem em modificações evolutivas com tendências direcionais, fenômeno conhecido como paradoxo do equilíbrio (Merilä *et al.*, 2001; Gotanda *et al.*, 2015; Kruuk, 2017). A seleção de caracteres fenotípicos correlacionados, pode limitar a seleção do tamanho corporal, gerando um padrão estabilizador, hipótese suportada na análise de coeficientes de seleção apresentada em Kingsolver e Diamond (2011). Diferenças de tamanho (massa e CAnt) entre populações de *C. perspicillata* (Barros *et al.*, 2014) sugerem que devem existir tamanhos ótimos associados a diferentes ambientes, talvez com padrões locais de seleção estabilizadora. Nossos resultados, indicam tendências direcionais de modificação da massa (apenas nos machos) e CAnt ao longo do período de monitoramento (com direções invertidas entre categorias etárias). Existe a possibilidade da relação entre massa corporal, CAnt e valor adaptativo variar de acordo com a idade, com diferentes classes etárias apresentando padrões de seleção estabilizadora ou direcional, de acordo com diferentes demandas funcionais (Bonnet *et al.*, 2017; Jebb *et al.*, 2021). Neste caso, padrões de desenvolvimento com maiores ou menores taxas de crescimento de acordo com a disponibilidade de recursos explicariam diferenças de tamanho entre populações ocupando diferentes ambientes (Kruuk, 2017; Long *et al.*, 2019).

Padrões de seleção “flutuante”, quando a direção dos coeficientes de seleção se modificam aleatoriamente ao longo do tempo, podem também explicar algumas situações de equilíbrio aparente (Bell, 2010; Grant e Grant, 2014). Como o padrão de aumento anual da massa é observado apenas entre os machos, uma explicação possível seria seleção dependente de frequência entre as diferentes estratégias reprodutivas (Sinervo e Lively, 1996). Neste caso, o aumento da massa média dos machos estaria relacionado a uma fração do ciclo em que a frequência de machos harém (que têm maior massa) (Monteiro *et al.*, 2019) estaria aumentando, em detrimento dos machos periféricos. Neste caso, as tendências anuais observadas na massa e no CAnt dentro do período de monitoramento seriam apenas temporárias, e a relação destas variáveis com a sobrevivência e reprodução podem se modificar ao longo de períodos maiores.

Os padrões de flutuação temporal na massa diferem entre os sexos. Machos apresentaram maior variação entre anos, ao passo que fêmeas apresentaram maior sazonalidade. Por outro lado, machos apresentaram maior sazonalidade na probabilidade de sobrevivência. O declínio da média de massa corporal entre os anos de 2014 e 2016 é replicado no padrão de sobrevivência das fêmeas, particularmente no período 2016-2017. Um fenômeno extremo de seca foi observado dentro deste período, chovendo muito pouco nos verões de 2013/14 e 2014/15 (Coelho *et al.*, 2016). O decréscimo da média de massa precedeu o declínio da sobrevivência, o qual pode ter sido precipitado por uma “superprodução” de filhotes quando os padrões de precipitação voltaram ao normal (Monteiro *et al.*, 2019). Isto não explica, no entanto, o decréscimo mais acentuado da sobrevivência das fêmeas. A maior sensibilidade das fêmeas aos padrões sazonais e extremos pode estar relacionada ao elevado custo energético da reprodução, sendo menos tolerantes a perturbações (Mellado *et al.*, 2022), principalmente após o período reprodutivo. As respostas dos parâmetros populacionais às variações normais e extremas de fenômenos climáticos são importantes para prever o comportamento das populações frente a mudanças climáticas e perturbações ambientais (O'Shea *et al.*, 2004; Schorcht *et al.*, 2009; Lentini *et al.*, 2015). Análises mais detalhadas deste padrão, incluindo variáveis meteorológicas como covariáveis nos modelos de marcação e recaptura permitirão uma melhor compreensão deste padrões.

O comprimento do antebraço é uma medida amplamente utilizada como medição de tamanho estrutural na taxonomia e ecologia de morcegos (Kunz *et al.*, 2009), possivelmente pela facilidade com que é medido no campo. Apesar de ser amplamente difundido, existe pouca discussão sobre a propriedade de se utilizar uma medição associada ao comprimento da asa como índice de tamanho estrutural. Existem evidências em aves que medidas realizadas na asa não representam o tamanho estrutural, por apresentar baixa correlação com variáveis medidas no corpo (Rising e Somers, 1989; Freeman e Jackson, 1990). O padrão de crescimento do antebraço em *C. perspicillata* ocorre em uma taxa acelerada até chegar próximo de um valor assintótico entre 20-25 dias, enquanto a massa leva aproximadamente dois meses para se aproximar do valor dos adultos e tende a manter uma tendência de aumento ao longo de grande parte da vida dos morcegos (Fleming, 1988). Por outro lado, há uma tendência do CAnt médio

diminuir ao longo das classes etárias, o que levou Fleming (1988) a hipotetizar que haveria sobrevivência diferencial de indivíduos com antebraços mais curtos, levando a esta modificação com a idade. Nossos resultados corroboram a hipótese de Fleming. Desta maneira, é também possível que as tendências anuais observadas no fenótipo sejam resultado de mudanças na composição etária da população. O crescimento do antebraço está associado ao desenvolvimento do voo e mais correlacionado à área da asa ($r = 0,50$, CI95% 0,35-0,62, $n=116$) ou ao comprimento total da asa ($r = 0,58$, CI95% 0,45-0,69, $n = 116$) (L. R. Monteiro, dados não publicados) que à massa corporal ($r = 0,29$, CI95% 0,24-0,33, $n = 1545$) (dados do presente estudo).

O comprimento do antebraço apresentou tendências temporais diferentes entre categorias etárias, aumentando ao longo dos anos nos jovens e diminuindo em adultos e subadultos. É possível que estas tendências estejam relacionadas a modificações nas demandas funcionais entre categorias etárias (Jebb *et al.*, 2021). O CAnt apresentou relação inversamente proporcional com a sobrevivência e a transição para estado reprodutivo, mas parcial em relação à massa corporal. Isto significa que mantendo a massa constante na média, indivíduos com maior CAnt têm menor probabilidade de sobrevivência e reprodução. O efeito absoluto do antebraço (removendo a massa do modelo) não é estatisticamente diferente de zero (resultados não mostrados). Considerando a relação entre antebraço e área da asa, é possível que esta relação inversamente proporcional com a sobrevivência esteja refletindo diferenças em carga alar, e que indivíduos com maior carga alar apresentariam maior sobrevivência, representando uma direção de seleção para maior velocidade de voo (Norberg, 1990). A tendência temporal de aumento nos jovens, por outro lado poderia indicar uma seleção para maior manobrabilidade, mas esta hipótese ainda terá que ser confirmada a partir da interação entre idade e CAnt como covariável da probabilidade de sobrevivência.

Discrepâncias entre medidas de massa corporal e medidas de comprimento de membros foram observadas também no roedor *Peromyscus leucopus*, em que a massa apresentou relação positiva com a sobrevivência, enquanto o comprimento do pé apresentou relação inversamente proporcional com a sobrevivência, mas positiva com a probabilidade de dispersão (Hannebaum *et al.*, 2017). Isto sugere uma desconexão entre os processos responsáveis pela

evolução do tamanho corporal e dos comprimentos relativos dos membros. No nível intraespecífico, o CAnt não é uma medida apropriada do tamanho corporal estrutural (McGuire *et al.*, 2018), e não deve ser usado como medida de comprimento linear no cálculo de índices de condição física, pela tendência não linear nos resíduos. Pesquisadores devem tomar cuidado ao se referir ao CAnt como medida de tamanho corporal (Salinas-Ramos *et al.*, 2020; Munding *et al.*, 2021), principalmente quando mecanismos fisiológicos são invocados como explicação para padrões de variação.

Os resultados deste estudo mostraram que a massa corporal e o comprimento do antebraço apresentam dinâmicas evolutivas e mecanismos proximais próprios, estando sujeitas a diferentes agentes de seleção. É possível que no nível interespecífico, a extensa variabilidade de tamanho faça com que ambas variáveis apresentem respostas e significados biológicos similares (Houle *et al.*, 2011). No entanto, no nível intraespecífico, massa e CAnt devem apresentar respostas e significados diferentes. A massa corporal combina variação de tamanho estrutural com uma sazonalidade do estado nutricional e reprodutivo, mas nossos resultados mostraram uma consistência das medições repetidas dos mesmos indivíduos, em comparação aos padrões sazonais e tendências anuais. O CAnt é uma medida relacionada ao comprimento da asa, sujeita a restrições impostas pelo voo, que não deve ser interpretada como indicador de tamanho. Medidas multivariadas de tamanho estrutural podem ser uma alternativa relevante (Rising e Somers, 1989), mas certamente difíceis de ser implementadas em estudos de campo. Estudos futuros devem estar cientes destas limitações e procurar ajustar suas medições ao contexto teórico da questão biológica. Este ajuste possibilita que a variabilidade fenotípica seja um elemento importante para a compreensão da dinâmica populacional evolutiva e a predição das respostas das espécies a mudanças ambientais.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a W. Costa-Jr (chefe da RBU) e a equipe do ICMBio pelo suporte e infraestrutura durante a realização do trabalho. Agradecem também a R. B. Lyra, K. Urbanowski, L. B. Mayer e J. M. Bubadué pelo auxílio no trabalho de campo. Este trabalho recebeu suporte financeiro do Conselho

Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Finance Code 001, e Universidade Estadual do Norte Fluminense

Referências Bibliográficas

- Barros, L.A.V., da Rocha Fortes, R., Lorini, M.L. (2014). The application of Bergmann's rule to *Carollia perspicillata* Linnaeus 1758 (Mammalia, Chiroptera). *Chiroptera Neotropical* 20:1243–1251.
- Bartoń, K. (2020). MuMIn: Multi-Model Inference. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67:1–48.
- Bell, G. (2010). Fluctuating selection: the perpetual renewal of adaptation in variable environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365:87–97.
- Biewener, A.A. (1990). Biomechanics of mammalian terrestrial locomotion. *Science* 250:1097–1103.
- Bonner, J.T. (2006). *Why size matters: from bacteria to blue whales*. Princeton, NJ: Princeton University Press. 161.
- Bonnet, T., Wandeler, P., Camenisch, G., Postma, E. (2017). Bigger Is fitter? quantitative genetic decomposition of selection reveals an adaptive evolutionary decline of body mass in a wild rodent population. *PLOS Biology* 15:e1002592.
- Bright Ross, J.G., Newman, C., Buesching, C.D., Connolly, E., Nakagawa, S., Macdonald, D.W. (2021). A fat chance of survival: body condition provides life-history dependent buffering of environmental change in a wild mammal population. *Climate Change Ecology* 2:100022.
- Bromaghin, J.F., McDonald, T.L., Amstrup, S.C. (2013). Plausible combinations: An improved method to evaluate the covariate structure of Cormack-Jolly-Seber mark-recapture models. *Open Journal of Ecology* 03:11–22.
- Brunet-Rossinni, A.K., Wilkinson, G.S. (2009). Methods for age estimation and the study of senescence in bats. In: Kunz, T.H.; Parsons, S. (eds.) *Ecological*

- and behavioral methods for the study of bats*. Baltimore, USA: The Johns Hopkins University Press. p. 315-325.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R. (2002). *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*. New York: Springer-Verlag. 488.
- Cam, E., Oro, D., Pradel, R., Jimenez, J. (2004). Assessment of hypotheses about dispersal in a long-lived seabird using multistate capture-recapture models. *Journal of Animal Ecology* 73:723–736.
- Charles-Dominique, P. (1991). Feeding strategy and activity budget of the frugivorous bat *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) in French Guiana. *Journal of Tropical Ecology* 7:243–256.
- Clancey, E., Byers, J.A. (2014). The definition and measurement of individual condition in evolutionary studies. *Ethology* 120:845–854.
- Cloutier, D., Thomas, D.W. (1992). *Carollia perspicillata*. *Mammalian Species* 417:1-9.
- Coelho, C.A., Cardoso, D.H., Firpo, M.A. (2016). A seca de 2013 a 2015 na região sudeste do Brasil. *Climanálise Edição Especial 30 anos*:55–61.
- Cooper, N., Purvis, A. (2010). Body size evolution in mammals: complexity in tempo and mode. *The American Naturalist* 175:727–738.
- Crawley, M.J. (2013). *The R book*. New York: Wiley. 1051.
- Cretekos, C.J. et al. (2005). Embryonic staging system for the short-tailed fruit bat, *Carollia perspicillata*, a model organism for the mammalian order Chiroptera, based upon timed pregnancies in captive-bred animals. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists* 233:721–738.
- Culina, A., Linton, D.M., Pradel, R., Bouwhuis, S., Macdonald, D.W. (2019). Live fast, don't die young: Survival–reproduction trade-offs in long-lived income breeders. *Journal of Animal Ecology* 88:746–756.
- DeLong, J.P. et al. (2015). The body size dependence of trophic cascades. *The American Naturalist* 185:354–366.
- Descamps, S., Boutin, S., McAdam, A.G., Berteaux, D., Gaillard, J.-M. (2009). Survival costs of reproduction vary with age in North American red squirrels. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276:1129–1135.

- Doherty, P.F., White, G.C., Burnham, K.P. (2012). Comparison of model building and selection strategies. *Journal of Ornithology* 152:317–323.
- Douhard, F., Gaillard, J.-M., Pellerin, M., Jacob, L., Lematre, J.-F. (2017). The cost of growing large: costs of post-weaning growth on body mass senescence in a wild mammal. *Oikos* 126:1329–1338.
- Fasel, N., Saladin, V., Richner, H. (2016). Alternative reproductive tactics and reproductive success in male *Carollia perspicillata* (Seba's short-tailed bat). *Journal of Evolutionary Biology* 29:2242–2255.
- Fleming, T.H. (1988). *The short-tailed fruit bat: a study in plant-animal interactions*. Chicago, USA: Chicago University Press. 365.
- Fox, J., Weisberg, S. (2018). Visualizing fit and lack of fit in complex regression models with predictor effect plots and partial residuals. *Journal of Statistical Software* 87:1–27.
- Fox, J., Weisberg, S. (2019). *An R companion to applied regression*. Thousand Oaks, California, USA: Sage. 802.
- Freeman, S., Jackson, W.M. (1990). Univariate metrics are not adequate to measure avian body size. *The Auk* 107:69–74.
- Garnier, A., Gaillard, J.-M., Gauthier, D., Besnard, A. (2016). What shapes fitness costs of reproduction in long-lived iteroparous species? A case study on the Alpine ibex. *Ecology* 97:205–214.
- Gałecki, A., Burzykowski, T. (2013). *Linear mixed-effects models using R*. New York: Springer. .
- Gimenez, O., Gaillard, J.-M. (2018). Estimating individual fitness in the wild using capture–recapture data. *Population Ecology* 60:101–109.
- Gimenez, O., Lebreton, J.-D., Choquet, R., Pradel, R. (2018). R2ucare: An r package to perform goodness-of-fit tests for capture–recapture models. *Methods in Ecology and Evolution* 9:1749–1754.
- Glazier, D.S. (2000). Trade-offs between reproductive and somatic (storage) investments in animals: a comparative test of the Van Noordwijk and De Jong model. *Evolutionary Ecology* 13:539–555.
- Gotanda, K.M., Correa, C., Turcotte, M.M., Rolshausen, G., Hendry, A.P. (2015). Linking macrotrends and microrates: Re-evaluating microevolutionary support for Cope's rule. *Evolution* 69:1345–1354.

- Grant, P.R., Grant, B.R. (2014). *Forty years of evolution : Darwin's Finches on Daphne Major Island*. Princeton, NJ : Princeton University Press. 432.
- Green, A.J. (2001). Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results. *Ecology* 82:1473–1483.
- Griesser, M., Wagner, G.F., Drobniak, S.M., Ekman, J. (2017). Reproductive trade-offs in a long-lived bird species: condition-dependent reproductive allocation maintains female survival and offspring quality. *Journal of Evolutionary Biology* 30:782–795.
- Hannebaum, S.L., Brown, C.R., Booth, W. (2017). Ecological and phenotypic effects on survival and habitat transitions of white-footed mice. *Journal of Mammalogy* 98:1356–1366.
- Hayes, J.P., Shonkwiler, J.S. (2001). Morphological indicators of body condition: useful or wishful thinking?. In: Speakman, J.R. (eds.) *Body composition analysis of animals: a handbook of non-destructive methods*. Cambridge, UK : Cambridge University Press. p. 8–38.
- Holand, H., Kvalnes, T., Røed, K.H., Holand, Ø., Sæther, B.-E., Kumpula, J. (2019). Stabilizing selection and adaptive evolution in a combination of two traits in an arctic ungulate. *Evolution* 74:103–115.
- Houle, D., Pélabon, C., Wagner, G.P., Hansen, T.F. (2011). Measurement and meaning in biology. *The Quarterly Review of Biology* 86:3–34.
- Howe, J.C. (2002). Standard length: not quite so standard. *Fisheries Research* 56:1–7.
- ICMBIO (2008). *Plano de manejo da Reserva Biológica União, Encarte 3: Análise da Unidade de Conservação*: Ministério do Meio Ambiente. 189.
- Jakob, E.M., Marshall, S.D., Uetz, G.W. (1996). Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos* 77:61–67.
- Jebb, A.H.M., Blumstein, D.T., Bize, P., Martin, J.G.A. (2021). Bigger is not always better: viability selection on body mass varies across life stages in a hibernating mammal. *Ecology and Evolution* 11:3435–3445.
- Jennings, S., de Oliveira, J.A.A., Warr, K.J. (2007). Measurement of body size and abundance in tests of macroecological and food web theory. *Journal of Animal Ecology* 76:72–82.
- Jones, K.E., Purvis, A. (1997). An optimum body size for mammals? Comparative evidence from bats. *Functional Ecology* 11:751–756.

- Kingsolver, J.G., Diamond, S.E. (2011). Phenotypic selection in natural populations: what limits directional selection?. *The American Naturalist* 177:346–357.
- Kingsolver, J.G., Huey, R.B. (2008). Size, temperature, and fitness: three rules. *Evolutionary Ecology Research* 10:251–268.
- Kingsolver, J.G., Pfennig, D.W. (2004). Individual-level selection as a cause of Cope's rule of phyletic size increase. *Evolution* 58:1608–1612.
- Klingenberg, C.P. (2016). Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution* 226:113–137.
- Kruuk, L.E.B. (2017). A new explanation for unexpected evolution in body size. *PLOS Biology* 15:e2001832.
- Kunz, T.H., Adams, R.A., Hood, W.R. (2009). Methods for assessing size at birth and postnatal growth and development in bats. In: Kunz, T.H.; Parsons, S. (eds.) *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Baltimore, MD: The Johns Hopkins University Press. p. 273–314.
- Kunz, T.H., Parsons, S. (2009). *Ecological and behavioral methods for the study of Bats*: The Johns Hopkins University Press. 901 p.
- Kunz, T.H., Weise, C.D. (2009). Methods and devices for marking bats. In: thomas H Kunz; Parsons, S. (eds.) *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Washington, DC: The Johns Hopkins University Press. p. 36-56.
- Laake, J.L. (2013). RMark: An R Interface for Analysis of Capture-Recapture Data with MARK. . Seattle, WA. <http://www.afsc.noaa.gov/Publications/ProcRpt/PR2013-01.pdf>.
- LaBarbera, M. (1989). Analyzing body size as a factor in ecology and evolution. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20:97–117.
- Labocha, M.K., Schutz, H., Hayes, J.P. (2014). Which body condition index is best?. *Oikos* 123:111–119.
- Laska, M. (1990). Food transit times and carbohydrate use in three Phyllostomid bat species. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 55:49–54.
- Lebreton, J.D., Burnham, K.P., Clobert, J., Anderson, D.R. (1992). Modeling survival and testing biological hypotheses using marked animals. A unified approach with case studies. *Ecological Monographs* 62:67-118.

- Lebreton, J.D., Nichols, J.D., Barker, R.J., Pradel, R., Spendelov, J.A. (2009). Modeling individual animal histories with multistate capture–recapture models. *In: Caswell, H. (eds.) Advances in Ecological Research*. London, UK: Academic Press. p. 88-159.
- Lentini, P.E., Bird, T.J., Griffiths, S.R., Godinho, L.N., Wintle, B.A. (2015). A global synthesis of survival estimates for microbats. *Biology letters* 11:20150371.
- Linton, D.M., Macdonald, D.W. (2018). Spring weather conditions influence breeding phenology and reproductive success in sympatric bat populations. *Journal of Animal Ecology* 87:1080–1090.
- Long, E.S., Courtney, K.L., Lippert, J.C., Wall-Scheffler, C.M. (2019). Reduced body size of insular black-tailed deer is caused by slowed development. *Oecologia* 189:675–685.
- Marshall, S.D., Jakob, E.M., Uetz, G.W. (1999). Re-estimating fitness: can scaling issues confound condition indices?. *Oikos* 87:401–402.
- McCrea, R.S., Morgan, B.J.T. (2015). *Analysis of capture-recapture data*. Boca Raton, FL : CRC Press.302 p.
- McGuire, L.P. et al. (2018). Common condition indices are no more effective than body mass for estimating fat stores in insectivorous bats. *Journal of Mammalogy* 99:1065–1071.
- Medellin, R.A., Equihua, M., Amin, M.A. (2000). Bat diversity and abundance as indicators of disturbance in Neotropical rainforests. *Conservation Biology* 14:1666-1675.
- Meiri, S. (2010). Length–weight allometries in lizards. *Journal of Zoology* 281:218–226.
- Mellado, B., de Oliveira Carneiro, L., Nogueira, M.R., Monteiro, L.R. (2022). The impacts of marking on bats: mark-recapture models for assessing injury rates and tag loss. *Journal of Mammalogy* 103:100–110.
- Mellado, B.R., Carneiro, L.O., Nogueira, M.R., Monteiro, L.R. (2018). Diversity and seasonality of a Phyllostomid assemblage from the Atlantic Forest of southeastern Brazil. *Mastozoologia Neotropical* 25:363–377.
- Mello, M.A.R., Schittini, G.M., Selig, P., Bergallo, H.G. (2004a). Seasonal variation in the diet of the bat *Carollia perspicillata* (Chiroptera:

- Phyllostomidae) in an Atlantic Forest area in southeastern Brazil. *Mammalia* 68:49–55.
- Mello, M.A.R., Schittini, G.M., Selig, P., Bergallo, H.G. (2004b). A test of the effects of climate and fruiting of *Piper* species (Piperaceae) on reproductive patterns of the bat *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae). *Acta Chiropterologica* 6:309–318.
- Merilä, J., Sheldon, B., Kruuk, L. (2001). Explaining stasis: microevolutionary studies in natural populations. *Genetica* 112/113:199–222.
- Messerman, A.F., Leal, M. (2021). The contributions of individual traits to survival among terrestrial juvenile pond-breeding salamanders. *Functional Ecology*: doi: 10.1111/1365-2435.13973.
- Monteiro, L.R., Mellado, B., Nogueira, M.R., Morais-Jr, M.M. (2019). Individual asymmetry as a predictor of fitness in the bat *Carollia perspicillata*. *Journal of Evolutionary Biology* 32:1207–1229.
- Monteiro, L.R., Nogueira, M.R. (2010). Adaptive radiations, ecological specialization, and the evolutionary integration of complex morphological structures. *Evolution* 64:724–744.
- Monteiro, L.R., Reis, S.F.d. (1999). *Princípios de morfometria geométrica*. Ribeirão Preto : Holos. 198 p.
- Munding, C., Scheuerlein, A., Kerth, G. (2021). Long-term study shows that increasing body size in response to warmer summers is associated with a higher mortality risk in a long-lived bat species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 288:20210508.
- Nakagawa, S., Johnson, P.C.D., Schielzeth, H. (2017). The coefficient of determination R^2 and intra-class correlation coefficient from generalized linear mixed-effects models revisited and expanded. *Journal of The Royal Society Interface* 14:20170213.
- Nichols, J.D., Hines, J.E., Pollock, K.H., Hinz, R.L., Link, W.A. (1994). Estimating breeding proportions and testing hypotheses about costs of reproduction with capture-recapture data. *Ecology* 75:2052–2065.
- van Noordwijk, A.J., de Jong, G. (1986). Acquisition and allocation of resources: their influence on variation in life history tactics. *The American Naturalist* 128:137–142.

- Norberg, U.M.L. (1990). *Vertebrate flight: mechanics, physiology, morphology, ecology and evolution*. New York : Springer-Verlag. 209 p.
- O'Shea, T.J., Ellison, L.E., Stanley, T. (2004). Survival estimation in bats: historical overview, critical appraisal, and suggestions for new approaches. *In*: Thompson, W.L. (eds.) *Sampling rare or elusive species: concepts, designs, and techniques for estimating population parameters*. Washington, DC: Island Press. p. 297–336.
- Ozgul, A. et al. (2010). Coupled dynamics of body mass and population growth in response to environmental change. *Nature* 466:482–485.
- Peig, J., Green, A.J. (2009). New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos* 118:1883–1891.
- Peig, J., Green, A.J. (2010). The paradigm of body condition: a critical reappraisal of current methods based on mass and length. *Functional Ecology* 24:1323–1332.
- Pewsey, A., Neuhauser, M., Ruxton, G.D. (2013). *Circular statistics in R*. Oxford, UK : Oxford University Press.183 p.
- Piersma, T., Davidson, N.C. (1991). Confusions of mass and size. *The Auk* 108:441–443.
- Pincheira-Donoso, D. et al. (2011). Body size dimensions in lizard ecological and evolutionary research: exploring the predictive power of mass estimation equations in two Liolaemidae radiations. *The Herpetological Journal* 21:34–42.
- Polly, P.D. (2012). Measuring the evolution of body size in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109:4027–4028.
- Prieto, P.V., Sansevero, J.B.B., Garbin, M.L., Braga, J.M.A., Rodrigues, P.J.F.P. (2014). Edge effects of linear canopy openings on understory communities in a lowland Atlantic tropical forest. *Applied Vegetation Science* 17:121–128.
- Rasweiler, J.J., Cretokos, C.J., Behringer, R.R. (2009). The short-tailed fruit bat *Carollia perspicillata*: A model for studies in reproduction and development. *Cold Spring Harbor Protocols* 2009:pdb–emo118.
- Rising, J.D., Somers, K.M. (1989). The measurement of overall body size in birds. *The Auk* 106:666–674.
- Roff, D.A. (2002). *Life history evolution*. Sunderland MA : Sinauer. 527.

- Rotella, J. (2009). Estimating reproductive costs with multi-state mark-recapture models, multiple observable states, and temporary emigration. *In*: Thomson, D.L.; Cooch, E.G.; Conroy, M.J. (eds.) *Modeling demographic processes in marked populations*. New York: Springer. p. 157–172.
- Salinas-Ramos, V.B., Agnelli, P., Bosso, L., Ancillotto, L., Sánchez-Cordero, V., Russo, D. (2020). Body size variation in Italian lesser horseshoe bats *Rhinolophus hipposideros* over 147 years: exploring the effects of climate change, urbanization and geography. *Biology* 10:16.
- Savage, V.M., Gilgooly, J.F., Brown, J.H., West, G.B., Charnov, E.L. (2004). Effects of body size and temperature on population growth. *The American Naturalist* 163:429–441.
- Schmidt-Nielsen, K. (1984). *Scaling: why is animal size so important?*. Cambridge, UK : Cambridge University Press. 241.
- Schorcht, W., Bontadina, F., Schaub, M. (2009). Variation of adult survival drives population dynamics in a migrating forest bat. *Journal of Animal Ecology* 78:1182–1190.
- Seber, G.A.F., Schofield, M.R. (2019). *Capture-recapture: parameter estimation for open animal populations*. Switzerland : Springer International Publishing. 669 p.
- Sibly, R.M., Brown, J.H. (2007). Effects of body size and lifestyle on evolution of mammal life histories. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104:17707–17712.
- Sikes, R.S., The Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists (2016). 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *Journal of Mammalogy* 97:663–688.
- Sinervo, B., Lively, C.M. (1996). The rock–paper–scissors game and the evolution of alternative male strategies. *Nature* 380:240–243.
- Tavecchia, G. et al. (2005). Predictors of reproductive cost in female Soay sheep. *Journal of Animal Ecology* 74:201–213.
- Taylor, G.K., Thomas, A.L.R. (2014). *Evolutionary biomechanics: selection, phylogeny, and constraint*. Oxford, UK : Oxford University Press. 151 p.

- R Core Team (2021). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Varpe, Ø. (2017). Life history adaptations to seasonality. *Integrative and Comparative Biology* 57:943–960.
- White, G.C., Burnham, K.P. (1999). Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study* 46:S120–S139.
- White, G.C., Kendall, W.L., Barker, R.J. (2006). Multistate survival models and their extensions in program MARK. *The Journal of Wildlife Management* 70:1521–1529.
- Wilkinson, G.S., South, J.M. (2002). Life history, ecology and longevity in bats. *Aging cell* 1:124–131.
- Williams, C.F. (1986). Social organization of the bat, *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Ethology* 71:265–282.
- Willig, M.R. et al. (2007). Phyllostomid bats of lowland Amazonia: effects of habitat alteration on abundance. *Biotropica* 39:737–746.
- Withers, P.C., Cooper, C.E., Maloney, S.K., Bozinovic, F., Cruz-Neto, A.P. (2016). *Ecological and environmental physiology of mammals*. Oxford, UK: Oxford University Press. 560.

Figuras

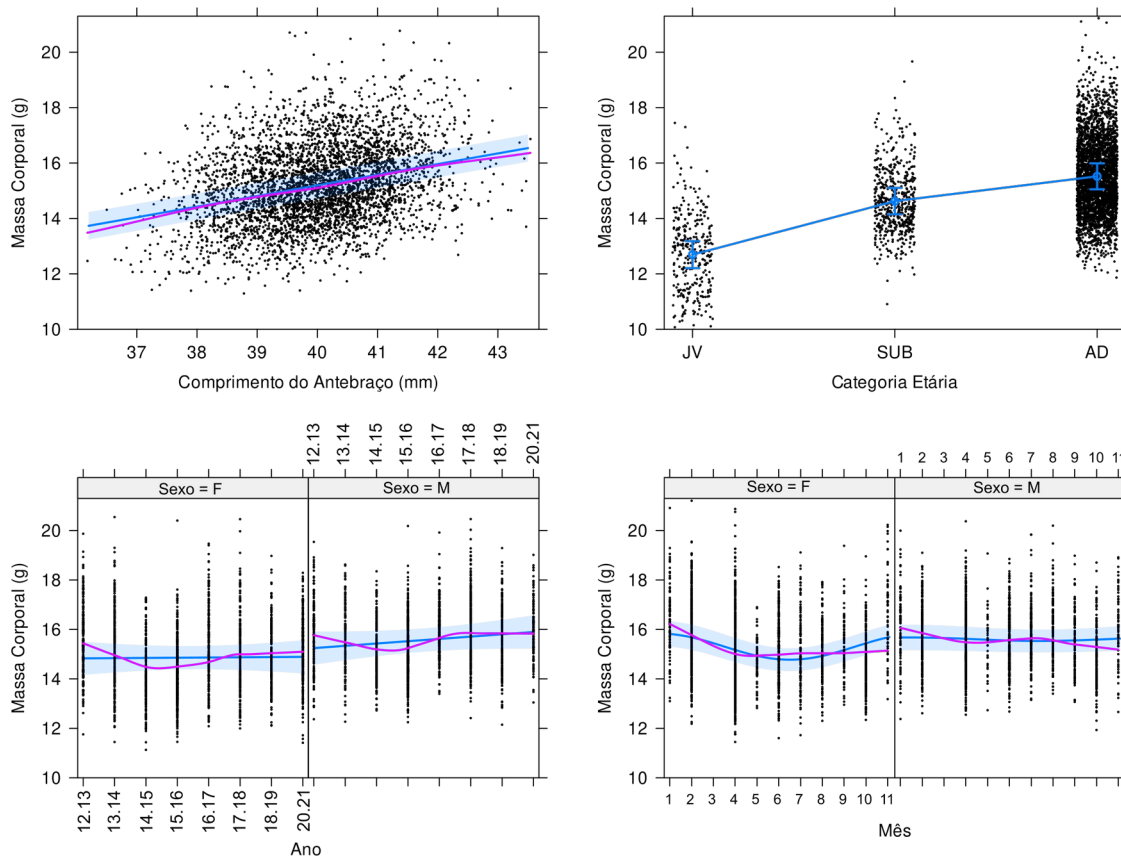


Figura 1. Gráficos dos efeitos do modelo misto predizendo a variação de massa corporal. Os pontos indicam resíduos parciais em relação ao preditor de cada gráfico. Resíduos parciais em relação a um preditor são obtidos adicionando os betas do preditor aos resíduos totais, de modo que a distribuição dos pontos mostra o efeito junto com a variabilidade residual independente dos demais termos do modelo. Os resíduos parciais dos efeitos categóricos são mostrados com um deslocamento lateral aleatório (jitter) para diminuir a sobreposição dos pontos. Os efeitos dos preditores numéricos são mostrados como regressões e bandas de confiança de 95%, ao passo que os efeitos categóricos são mostrados como barras de erro (95%). As linhas magenta são ajustes não lineares (regressão não paramétrica LOESS) aos resíduos parciais.

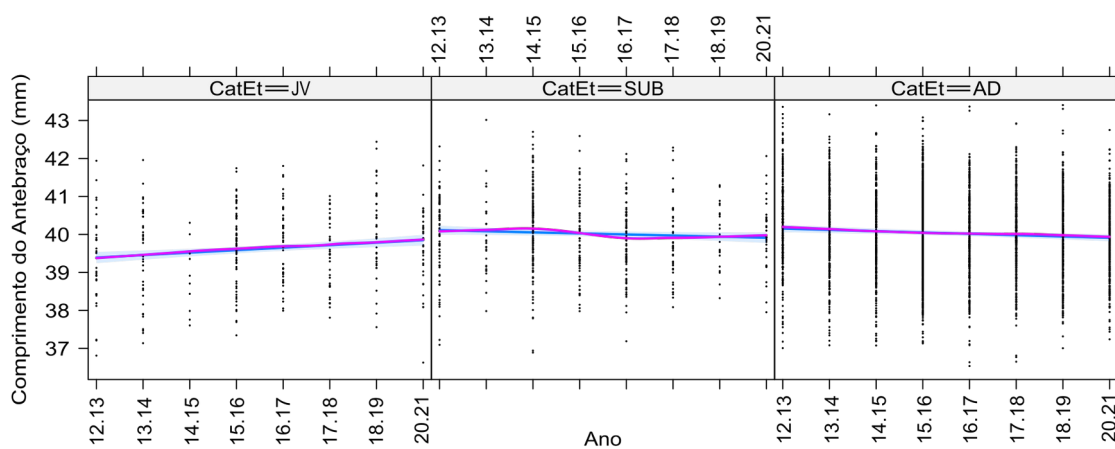


Figura 2. Gráficos dos efeitos do modelo misto predizendo a variação de comprimento do antebraço para a interação entre categoria etária e ano. Os pontos indicam resíduos parciais em relação ao preditor de cada gráfico. Os efeitos são mostrados como regressões e bandas de confiança de 95%. As linhas magenta são ajustes não lineares (regressão não paramétrica LOESS) aos resíduos parciais.

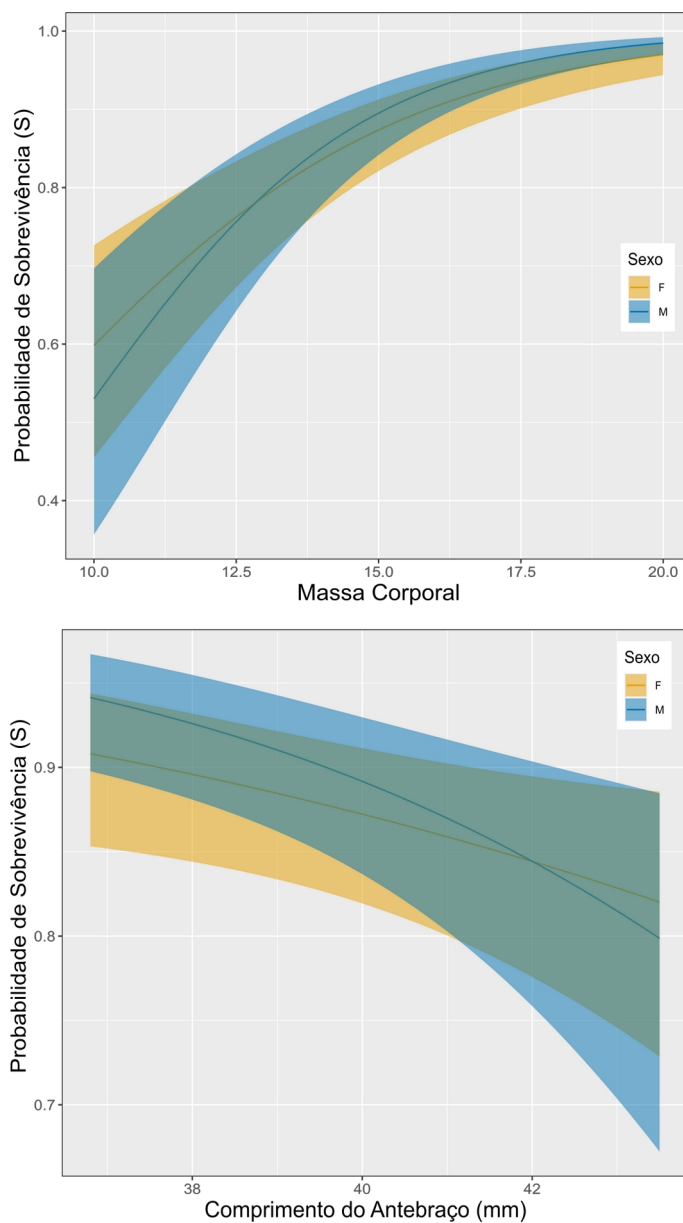


Figura 3. Predições da probabilidade de sobrevivência aparente (S) para valores das covariáveis massa corporal e comprimento do antebraço, nos modelos de machos e fêmeas. Intervalos de confiança de 95% das predições são mostrados como faixas sobre as linhas de predição. Os valores são obtidos para a amplitude de variação observada da covariável de interesse, enquanto os valores das demais covariáveis são mantidos fixos na média. Desta maneira, os efeitos mostrados para cada covariável são parciais em relação às demais.

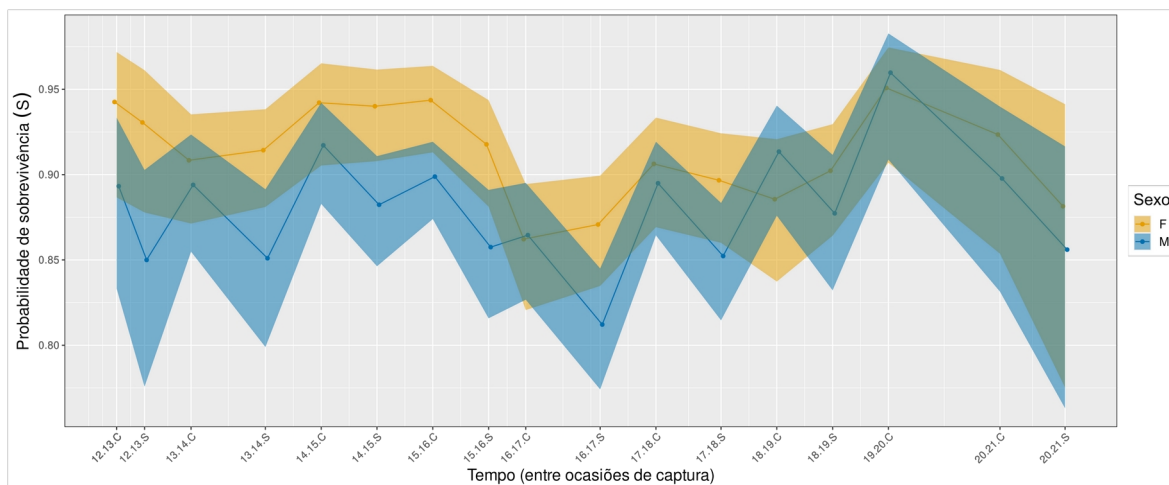


Figura 4. Predições da probabilidade de sobrevivência aparente (S) para valores das covariáveis estação e ano, nos modelos de machos e fêmeas. Intervalos de confiança de 95% das predições são mostrados como faixas sobre as linhas de predição. O eixo horizontal indica a passagem do tempo em meses, ressaltando apenas os períodos entre capturas, para os quais S é estimado. Os nomes das ocasiões no eixo horizontal indicam o ano e a estação (C – chuvosa, S – seca), em que apenas uma ocasião de cada combinação ano-estação é mostrada. As demais são omitidas por apresentarem parâmetros iguais. A lacuna de informação devido à pandemia de SARS-Cov2 fica evidente na ausência da estação seca de 19.20.

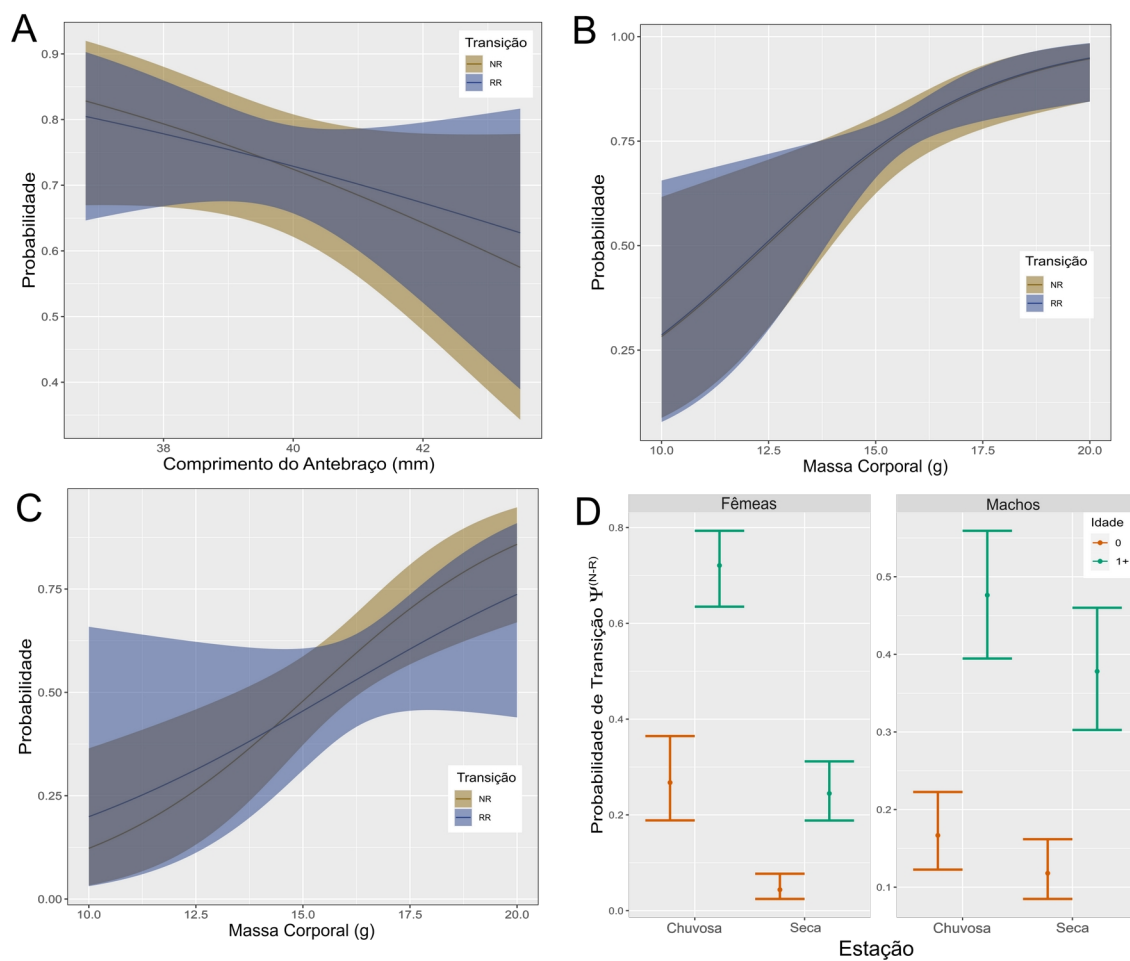


Figura 5. Predições das probabilidades de transição entre estados reprodutivos para as covariáveis comprimento do antebraço de fêmeas (A), massa corporal de fêmeas (B), massa corporal de machos (C), estação e idade para ambos os sexos (D). As predições são calculadas para a amplitude de variação observada da covariável de interesse, enquanto os valores das demais covariáveis são mantidos fixos na média. Desta maneira, os efeitos mostrados para cada covariável são parciais em relação às demais.

Tabelas

Tabela 1. Seleção de modelos lineares mistos predizendo massa corporal. Apenas os dez primeiros são mostrados. Abreviações dos preditores: Int. - intercepto, CAnt – comprimento do antebraço, CatEt – categoria etária. Colunas dos preditores mostram parâmetros numéricos estimados para variáveis numéricas e sinais positivos (+) indicando inclusão de variável categórica. Demais colunas mostram: gl – número de graus de liberdade, AICc – critério de informação de Akaike corrigido para amostras pequenas, Δ AICc – diferenças de AICc em relação ao modelo com melhor ajuste, wAICc – pesos de Akaike.

Int.	CAnt	Cat Et	cos(Mês)	Sexo	sen(Mês)	Ano	CatEt: Sexo	cos(Mês): Sexo	sen(Mês): Sexo	Ano:Sexo	gl	AICc	Δ AICc	wAICc
-2.628	0.385	+	0.505	+	-	0.009	-	+	-	+	13	13299.7	0.00	0.34
-2.599	0.384	+	0.508	+	0.139	0.008	-	+	+	+	15	13299.9	0.19	0.31
-2.614	0.385	+	0.506	+	0.096	0.009	-	+	-	+	14	13301.2	1.51	0.16
-2.557	0.385	+	0.500	+	-	0.010	+	+	-	+	15	13302.6	2.87	0.08
-2.551	0.384	+	0.504	+	0.136	0.008	+	+	+	+	17	13303.4	3.72	0.05
-2.543	0.384	+	0.501	+	0.096	0.009	+	+	-	+	16	13304.1	4.38	0.04
-2.627	0.386	+	0.489	+	-	-	-	+	-	-	11	13309.5	9.77	0.00
-2.603	0.385	+	0.491	+	0.134	-	-	+	+	-	13	13309.9	10.15	0.00
-2.615	0.386	+	0.489	+	0.092	-	-	+	-	-	12	13311.0	11.32	0.00
-2.821	0.386	+	0.488	+	-	0.042	-	+	-	-	12	13311.0	11.33	0.00

Tabela 2. Parâmetros estimados para os efeitos do modelo misto com melhor ajuste predizendo a variação de massa corporal de *Carollia perspicillata* na Reserva Biológica União. EP – erro padrão do estimado, LCI – limite de confiança inferior de 95%, LCS – limite de confiança superior de 95%. Efeitos marcados com * são aleatórios, cujos estimados são desvios padrão. Os demais são efeitos fixos e os estimados correspondem a betas: diferenças relativas entre os níveis dos fatores e o intercepto, ou coeficientes de regressão parciais para preditores numéricos.

Efeito	Estimado	EP	LCI	LCS
Indivíduo*	0.673	-	0.619	0.724
Mês(categórico)*	0.334	-	0.187	0.495
Ano(categórico)*	0.438	-	0.249	0.701
Residual*	1.045	-	1.017	1.075
Intercept	-2.602	0.951	-4.435	-0.764
Comprimento do antebraço	0.384	0.022	0.341	0.427
Categoria etária - Subadulto	1.932	0.092	1.750	2.111
Categoria etária - Adulto	2.827	0.078	2.674	2.978
Sexo-Macho	-0.080	0.119	-0.313	0.153
Ano	0.008	0.069	-0.128	0.144
sen(Mês)	0.139	0.156	-0.155	0.432
cos(Mês)	0.509	0.158	0.213	0.806
Sexo-Macho:Ano	0.085	0.023	0.040	0.130
Sexo-Macho:sen(Mês)	-0.091	0.050	-0.188	0.007
Sexo-Macho:cos(Mês)	-0.457	0.060	-0.574	-0.340

Tabela 3. Seleção de modelos lineares mistos predizendo Comprimento do Antebraço. Apenas os dez primeiros são mostrados. Abreviações dos preditores: Interc. - intercepto, CatEt- – categoria etária. Colunas dos preditores mostram parâmetros numéricos estimados para variáveis numéricas e sinais positivos (+) indicando inclusão de variável categórica. Demais colunas mostram: gl – número de graus de liberdade, AICc – critério de informação de Akaike corrigido para amostras pequenas, Δ AICc – diferenças de AICc em relação ao modelo com melhor ajuste, wAICc – pesos de Akaike.

Interc.	CatEt	Sexo	Ano	CatEt:Sexo	CatEt:Ano	Sexo:Ano	CatEt:Sexo:Ano	gl	AICc	Δ AICc	wAICc
39.42	+	+	0.0653	-	+	-	-	11	7794.16	0.00	0.37
39.46	+	+	0.0661	+	+	-	-	13	7794.80	0.64	0.27
39.44	+	+	0.0600	-	+	+	-	12	7795.47	1.31	0.19
39.48	+	+	0.0624	+	+	+	-	14	7796.50	2.34	0.11
39.49	+	+	0.0587	+	+	+	+	16	7797.61	3.46	0.07
39.34	+	-	0.0637	-	+	-	-	10	7810.00	15.84	0.00
39.85	+	+	-0.0266	-	-	-	-	9	7833.91	39.75	0.00
39.88	+	+	-0.0326	-	-	+	-	10	7834.91	40.75	0.00
39.89	+	+	-0.0266	+	-	-	-	11	7835.05	40.89	0.00
39.91	+	+	-0.0312	+	-	+	-	12	7836.50	42.34	0.00

Tabela 4. Parâmetros estimados para os efeitos do modelo misto com melhor ajuste predizendo a variação de Comprimento do Antebraço de *Carollia perspicillata* na Reserva Biológica União. EP – erro padrão do estimado, LCI – limite de confiança inferior de 95%, LCS – limite de confiança superior de 95%. Efeitos marcados com * são aleatórios, cujos estimados são desvios padrão. Os demais são efeitos fixos e os estimados correspondem a betas: diferenças relativas entre os níveis dos fatores e o intercepto, ou coeficientes de regressão parciais para preditores numéricos.

Efeito	Estimado	EP	LCI	LCS
Indivíduo*	0.997	-	0.964	1.031
Mês*	0.038	-	0.019	0.072
Ano(categórico)*	0.043	-	0.015	0.084
Residual*	0.313	-	0.304	0.322
Intercepto	39.420	0.092	39.241	39.600
SexoM	-0.200	0.047	-0.293	-0.107
Categoria etária-Subadulto	0.814	0.088	0.642	0.989
Categoria etária-Adulto	0.863	0.079	0.707	1.018
Ano	0.065	0.017	0.032	0.099
Categoria etária-Subadulto:Ano	-0.094	0.017	-0.128	-0.060
Categoria etária-Adulto:Ano	-0.100	0.015	-0.130	-0.070

Tabela 5. Resultado da seleção de modelos multiestado ajustados aos dados de marcação e recaptura de *Carollia perspicillata* no sudeste do Brasil. Apenas os dez primeiros modelos são mostrados para cada sexo. As colunas mostram as covariáveis para cada parâmetro: S – probabilidade de sobrevivência aparente, p – probabilidade de recaptura, Ψ – probabilidade de transição entre estados (não reprodutivo – reprodutivo), K é o número de parâmetros no modelo, QAICc é o quasi-critério de informação de Akaike, Δ QAICc são as diferenças de QAICc em relação ao modelo com melhor ajuste, QDev são as quasi-funções desvio (*deviance*). Abreviações das covariáveis são MC – massa corporal, CAnt – comprimento do antebraço, Est – Estação (seca/chuvosa), ER – estado reprodutivo (N/R), Tag – tipo de marcação (anilha/colar/ambos). Os modelos em negrito indicam o modelo selecionado (explicação no texto).

Fêmeas						
S	p	Ψ	K	QAICc	Δ QAICc	QDev
~MC + CAnt + Idade + Est + Ano + ER	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	28	4658.62	0.00	4601.87
~MC + CAnt + Est + Ano + ER	~Est + Tag	MC + Idade + Est	25	4658.96	0.34	4608.36
~MC + CAnt + Est + Ano + ER	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	27	4659.22	0.61	4604.53
~MC + CAnt + Est + Ano	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	26	4679.29	20.68	4626.65
~MC + CAnt + Idade + Est + Ano	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	27	4681.32	22.71	4626.63
~MC + Idade + Est + Ano	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	26	4687.54	28.93	4634.90
~MC + Idade + Ano	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	25	4689.14	30.52	4638.54
~MC + CAnt + Est + Ano + ER	~Est + Tag	MC + CAnt + Est	25	4691.66	33.04	4641.06
~MC + CAnt + Est + Ano + ER	~Est + Tag	MC + Est	23	4693.30	34.68	4646.79
~MC + CAnt + Idade + Est + Ano + ER	~Est	MC + CAnt + Idade + Est	26	4698.77	40.15	4646.13
Machos						
S	p	Ψ	K	QAICc	Δ QAICc	QDev
~MC + CAnt + Idade + Est + Ano	~Est + Tag	MC + Idade + Est	25	2886.23	0.00	2835.47
~MC + CAnt + Est + Ano	~Est + Tag	MC + Idade + Est	24	2887.55	1.32	2838.85
~MC + CAnt + Idade + Est + Ano + ER	~Est + Tag	MC + Idade + Est	26	2888.13	1.90	2835.30
~MC + CAnt + Est + Ano + ER	~Est + Tag	MC + Idade + Est	25	2889.26	3.03	2838.49
~MC + CAnt + Idade + Est + Ano	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	27	2889.70	3.47	2834.81
~MC + CAnt + Idade + Est + Ano	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	27	2889.70	3.47	2834.81
~MC + CAnt + Est + Ano	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	26	2891.02	4.79	2838.19
~MC + CAnt + Est + Ano	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	26	2891.02	4.79	2838.19
~MC + CAnt + Idade + Est + Ano + ER	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	28	2891.61	5.37	2834.65
~MC + CAnt + Idade + Est + Ano + ER	~Est + Tag	MC + CAnt + Idade + Est	28	2891.61	5.37	2834.65

Tabela 6. Betas estimados para as covariáveis de cada parâmetro no modelo multiestado com melhor ajuste para marcação e recaptura de fêmeas de *Carollia perspicillata* na Reserva Biológica União. EP – erro padrão do estimado, LCI – limite de confiança inferior de 95%, LCS – limite de confiança superior de 95%. Parâmetros estimados: S – probabilidade de sobrevivência aparente, p – probabilidade de recaptura, Ψ – probabilidade de transição entre estados (não reprodutivo – N, reprodutivo – R).

Parâmetro:Covariável	Estimado	EP	LCI	LCS
S:(Intercepto)	3.413	1.664	0.152	6.673
S:Massa Corporal	0.307	0.039	0.230	0.383
S:Comprimento do Antebraço	-0.115	0.043	-0.200	-0.031
S:Ano_13.14	-0.511	0.432	-1.358	0.335
S:Ano_14.15	-0.008	0.417	-0.825	0.809
S:Ano_15.16	0.020	0.392	-0.749	0.789
S:Ano_16.17	-0.981	0.374	-1.714	-0.249
S:Ano_17.18	-0.537	0.385	-1.292	0.218
S:Ano_18.19	-0.764	0.394	-1.536	0.008
S:Ano_19.2	0.372	0.490	-0.588	1.331
S:Ano_20.21	-0.312	0.503	-1.297	0.674
S:Estação-Chuvosa	0.104	0.162	-0.215	0.422
S:stratum N	-1.051	0.207	-1.458	-0.645
p:(Intercepto)	-1.524	0.104	-1.728	-1.320
p:Estação-Chuvosa	0.885	0.086	0.716	1.054
p:Tag_AC	0.911	0.117	0.682	1.140
p:Tag_CC	0.619	0.141	0.343	0.894
Ψ :(N - R)	-1.172	3.571	-8.171	5.826
Ψ :(R - N)	2.086	3.981	-5.716	9.889
Ψ :(N - R):Massa Corporal	0.382	0.104	0.178	0.586
Ψ :(R - N):Massa Corporal	-0.383	0.117	-0.612	-0.155
Ψ :(N - R):Comprimento do Antebraço	-0.190	0.099	-0.385	0.005
Ψ :(R - N):Comprimento do Antebraço	0.134	0.106	-0.074	0.341
Ψ :(N - R):Idade1+	1.956	0.291	1.386	2.526
Ψ :(R - N):Idade1+	0.098	0.549	-0.978	1.175
Ψ :(N - R):Estação-Chuvosa	2.075	0.246	1.593	2.557
Ψ :(R - N):Estação-Chuvosa	-2.792	0.291	-3.362	-2.221

Tabela 7. Betas estimados para as covariáveis de cada parâmetro no modelo multiestado com melhor ajuste para marcação e recaptura de machos de *Carollia perspicillata* na Reserva Biológica União. EP – erro padrão do estimado, LCI – limite de confiança inferior de 95%, LCS – limite de confiança superior de 95%. Parâmetros estimados: S – probabilidade de sobrevivência aparente, p – probabilidade de recaptura, Ψ – probabilidade de transição entre estados (não reprodutivo – N, reprodutivo – R).

Parâmetro:Covariável	Estimado	EP	LCI	LCS
S:(Intercepto)	4.000	1.776	0.520	7.480
S:Massa Corporal	0.405	0.040	0.326	0.483
S:Comprimento do Antebraço	-0.209	0.048	-0.303	-0.114
S:Estação-Chuvosa	0.390	0.151	0.093	0.686
S:Ano_13.14	0.008	0.320	-0.620	0.636
S:Ano_14.15	0.280	0.282	-0.273	0.833
S:Ano_15.16	0.060	0.268	-0.466	0.586
S:Ano_16.17	-0.271	0.270	-0.801	0.259
S:Ano_17.18	0.018	0.273	-0.518	0.554
S:Ano_18.19	0.233	0.304	-0.364	0.829
S:Ano_19.2	1.047	0.517	0.035	2.060
S:Ano_20.21	0.048	0.385	-0.706	0.802
p:(Intercept)	-0.170	0.156	-0.476	0.136
p:Estação-Chuvosa	0.241	0.114	0.017	0.464
p:Tag_AC	0.877	0.173	0.537	1.217
p:Tag_CC	0.102	0.179	-0.249	0.453
Ψ :(N - R)	-7.653	1.409	-10.416	-4.891
Ψ :(R - N)	2.854	1.994	-1.054	6.762
Ψ :(N - R):Massa Corporal	0.377	0.092	0.197	0.557
Ψ :(R - N):Massa Corporal	-0.242	0.123	-0.484	-0.001
Ψ :(N - R):Idade1+	1.514	0.203	1.117	1.911
Ψ :(R - N):Idade1+	-0.081	0.444	-0.951	0.788
Ψ :(N - R):Estação-Chuvosa	0.403	0.198	0.014	0.791
Ψ :(R - N):Estação-Chuvosa	1.041	0.243	0.564	1.518

Conclusão Geral

O presente conjunto de estudos mostrou a inter-relação entre variáveis fenotípicas, performance e valor adaptativo do morcego *Carollia perspicillata*. Os principais marcadores fenotípicos associados aos componentes de valor adaptativo (sobrevivência e reprodução) através dos modelos de marcação-recaptura multiestado foram a massa corporal (e sua transformação em índice condição SMI), o comprimento e a assimetria do antebraço. O comprimento do testículo dos machos, considerado uma medida de investimento e potencial reprodutivo, foi associado à massa corporal e assimetria, mas também às variáveis de performance funcional força de mordida e resposta imunológica (Figura 1). Foi observado o dimorfismo sexual na solução de compromisso entre reprodução, performance da força de mordida e resposta imunológica, mas não foi detectado o mesmo padrão de solução de compromisso limitando a mudança evolutiva pela alocação de recursos entre sobrevivência e reprodução. No entanto, não descartamos a possibilidade da existência dessa relação em algum outro aspecto associado ao componente reprodutivo do valor adaptativo, já que critério utilizado neste estudo, categorizando os indivíduos como reprodutores, não significa necessariamente sucesso reprodutivo com a sobrevivência dos filhotes até a fase adulta.

Estudos prévios mostraram que a instabilidade do desenvolvimento, medida pela assimetria do antebraço, é associada à reprodução e sobrevivência de *C. perspicillata*. Do ponto de vista de mecanismos proximais, a resposta imunológica mostrou uma relação robusta e inversamente proporcional com a instabilidade do desenvolvimento (Figura 1). É provável que a sobrevivência diferencial entre os indivíduos esteja associada a uma maior eficiência na defesa contra patógenos (e de outros marcadores que não foram medidos). A força de mordida não se mostrou associada à ID e, portanto, não deve intermediar funcionalmente a relação entre ID e sobrevivência. Existe um dimorfismo sexual na associação entre ID e resposta imunológica, possivelmente associado à alta demandas energéticas no contexto reprodutivo das fêmeas. Alguns indivíduos (os mais simétricos) têm duas gestações e lactações por estação reprodutiva, ao passo que outros indivíduos (os menos simétricos) têm apenas uma gestação e lactação. O ruído gerado por estas diferenças reprodutivas deve confundir a associação entre assimetria e resposta imune. Existe também a influência da

testosterona na supressão do sistema imunológico dos machos, mas não é suficiente para confundir a relação entre ID e resposta imune neste grupo. A associação inversamente proporcional entre assimetria e resposta imunológica corrobora a ideia da influência sistêmica da instabilidade do desenvolvimento sobre genótipos de baixo valor adaptativo.

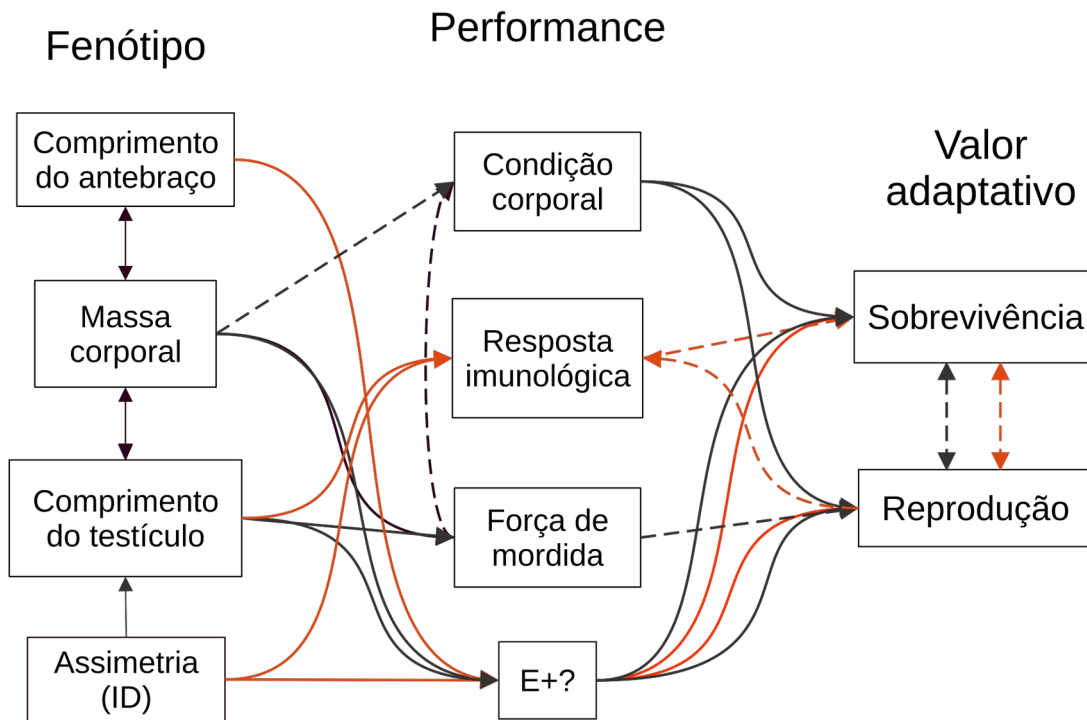


Figura 1. Fluxograma com as relações entre as variáveis fenotípicas, de performance, e componentes do valor adaptativo no sistema de estudo, de acordo com a estrutura conceitual de Arnold (1983) e Higham *et al.* (2021). Relações positivas e inversamente proporcionais são mostradas como setas pretas e vermelhas, respectivamente. As linhas tracejadas indicam relações postuladas, mas não observadas diretamente neste estudo. A caixa E+? representa componentes de performance desconhecidos, intermediando as relações estatísticas conhecidas entre fenótipo e valor adaptativo.

Estudos futuros com interesse em soluções de compromisso associadas à resposta imunológica em morcegos, devem levar em consideração a incorporação da classificação etária baseada na idade dos indivíduos, assim como diferentes estágios reprodutivos das fêmeas (grávida, lactante e pós lactante). Ambas variáveis podem auxiliar na compreensão de diferentes aspectos na alocação de recursos entre imunidade e reprodução. Além disso, seria interessante incorporar a informação sobre a quantidade de vezes que as fêmeas reproduziram ao longo de cada evento reprodutivo, ao selecionar animais para realizar os experimentos. Caso exista o interesse no manejo de populações de *C. perspicillata* no contexto ecoimunológico, especial atenção deve ser dada ao período após os eventos reprodutivos, momento que os animais estão mais vulneráveis a patógenos.

A força de mordida aparenta ter uma forte influência no contexto de seleção sexual dos machos de *C. perspicillata*. A associação positiva entre força de mordida, massa corporal e tamanho do testículo (Figura 1), e a inversão dessa relação após os eventos reprodutivos, aliada à ausência de associação de variáveis fenotípicas com a força de mordida nas fêmeas, sugere a existência de um importante componente sexual neste sistema. Níveis mais altos de testosterona (que podem ter contribuído na supressão do sistema imunológico) contribuem para aumentar a agressividade dos indivíduos e, conseqüentemente a força de mordida. Além dos requerimentos anatômicos para a produção da força de mordida, existe a motivação de morder o sensor, associada à agressividade dos indivíduos. Os machos precisam lidar com a supressão do sistema imunológico, que aumenta a vulnerabilidade à patógenos, pois testículos maiores são associados a um maior sucesso reprodutivo. Possivelmente machos com maior força de mordida, tamanho e comprimento do testículo são indivíduos que possuem harém e que defendem seus territórios e afugentam os machos solteiros oportunistas com a agressividade associada a níveis mais altos de testosterona. Além disso, a seleção de esperma deve ser um fator relevante na seleção sexual deste grupo, já que testículos maiores em geral estão associados a maior quantidade e qualidade do esperma. Em um contexto de conflitos “externos” e “internos” (competição entre espermatozoides de diferentes machos dentro das fêmeas) para garantir a paternidade do maior número de filhotes, postulamos que os indivíduos que possuem testículos maiores e maior força de mordida são beneficiados no processo de seleção sexual devido ao maior acesso às fêmeas e a maior quantidade de esperma produzido, influenciando positivamente o componente reprodutivo do valor adaptativo (Figura 1).

A massa corporal mostrou ser uma medida eficiente de tamanho estrutural de *C. perspicillata*. Apesar de ser influenciada também pelo estado nutricional e reprodutivo, a variabilidade de massa entre indivíduos se mostrou maior que os padrões sazonais, com o detalhe que nossas medições eram realizadas normalmente com estômago vazio durante o dia e excluindo estágios avançados de gravidez. O comprimento do antebraço não apresentou associação com os marcadores de performance (força de mordida e resposta imunológica) e teve menor influência (e com sinal oposto, negativo, entre adultos) do que a massa corporal na predição da sobrevivência e reprodução. Apesar de ser amplamente

utilizado na literatura como medida de tamanho corporal, o comprimento do antebraço possui uma forte associação com a área da asa dos morcegos, o que pode impor uma restrição no desenvolvimento devido à sua relação com o voo. No nível intraespecífico, o significado biológico do comprimento do antebraço como indicador de tamanho corporal não é corroborado e deve ser evitado. Jovens com maior comprimento de antebraço possuem carga alar reduzida, o que pode ser mais eficiente em voos de aprendizado dentro do abrigo que exigem maior manobrabilidade. Nos adultos, menor comprimento do antebraço aumenta a carga alar possibilitando um voo mais rápido. Isto pode ter consequências na eficiência do forrageio, assim como maior eficiência para escapar de predadores. Para avaliar essa relação de forma mais aprofundada, são necessários esforços para determinar mais precisamente a idade dos indivíduos, possibilitando incluir a idade e o comprimento do antebraço como covariáveis da probabilidade de sobrevivência nos modelos de marcação-recaptura multiestado. Estudos avaliando a relação entre eficiência no voo e comprimento do antebraço ao longo das classes etárias irão contribuir para maior entendimento sobre as restrições anatômicas e demandas associadas ao voo de acordo com a idade dos animais. As tendências temporais anuais de aumento da massa corporal em machos, e diminuição do comprimento do antebraço em adultos (ao longo de 10 anos aproximadamente), podem representar períodos de seleção direcional, que podem flutuar com periodicidade mais longa que o período de monitoramento deste estudo. Por outro lado, o dimorfismo do padrão na massa pode indicar um padrão de seleção dependente de frequência de diferentes estratégias reprodutivas. O aumento da massa estaria então associado a um aumento na frequência de machos territoriais. Diferenciar machos de harém dos machos solteiros, no entanto, não é simples, exigindo um acompanhamento de longo prazo, identificação individual e observações comportamentais mais detalhadas.

As discussões realizadas no capítulo do tamanho corporal corroboram que o índice de condição física "*scaled mass index - SMI*" não é uma variável apropriada para representar a condição física dos morcegos quando o comprimento do antebraço é utilizado como medida de tamanho linear. A relação entre comprimento do antebraço e massa não é exponencial positiva e, portanto, não é linearizada pela logaritmização. Isto gera tendências residuais de associação inversamente proporcional entre SMI e comprimento do antebraço,

complicando a interpretação deste último em modelos que incluam as duas variáveis. O SMI é muito relacionado à massa e portanto contém também informação sobre a condição física. Por outro lado, a massa corporal é uma medida associada tanto ao tamanho estrutural, quanto ao estado nutricional dos organismos. A dissociação entre tamanho e condição a partir de resíduos ou razões de massa precisaria ser realizada com base em uma variável de comprimento linear que realmente indicasse o tamanho corporal estrutural e apresentasse uma relação linearizável com a massa, sem tendências residuais. O grande desafio é, não apenas encontrar esta variável, mas que ela seja relativamente simples de medir em animais vivos. Os resultados sugerem cautela no uso de variáveis que medem o tamanho estrutural dos morcegos, já que diferentes indicadores possuem interpretações diferentes, além de apresentar dinâmicas evolutivas e demandas funcionais particulares. De acordo com a teoria da medição, é importante que as medidas mantenham conexão com o contexto teórico, a escala e a estrutura relacional empírica que pretendem representar. Isto permite a realização de inferências e a associação de significado biológico aos números medidos.

Por fim, os resultados obtidos através da marcação-recaptura dos animais permitiram estimar a influência de dois tipos de marcação, comumente utilizadas em morcegos, no SMI, perda de marcação, taxa de lesão e probabilidade de sobrevivência. Os resultados mostram que os colares são perdidos em maior frequência do que as anilhas, o que pode gerar a subestimação na estimativa dos parâmetros. As anilhas, por outro lado, causam mais lesão que os colares, o que pode ter um efeito de longo alcance na sobrevivência dos animais. A chance de desenvolver algum tipo de lesão foi diferente dependendo da categoria etária em que os animais foram marcados. Morcegos marcados como jovens tiveram menor probabilidade de desenvolver algum tipo de lesão. Os resultados mostraram que o planejamento de estudos envolvendo a marcação e recaptura devem levar em consideração o potencial de causar lesão aos animais e o viés nas estimativas dos parâmetros devido a perda da marcação. Alternativas de marcação menos prejudiciais como microchips (PIT tags), elastômeros ou marcas naturais devem ser avaliadas com relação à durabilidade, potencial de causar lesões e viabilidade para diferentes tipos de estudo. Sugerimos que estudos futuros envolvendo a marcação de morcegos sejam direcionados a espécies que tenham alta

probabilidade de recaptura fazendo uma ponderação entre o ganho de informação e o potencial dano aos animais.