

FACULDADE DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

CORTICOSTERONA E PARÂMETROS METABÓLICOS DE *Tryngites subruficollis* (AVES, CHARADRIIFORMES, SCOLOPACIDAE) DURANTE SUA PERMANÊNCIA EM SÍTIO DE INVERNADA, NO PARQUE NACIONAL DA LAGOA DO PEIXE, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Aline de Fraga Pinto

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
Av. Ipiranga 6681 – Caixa Postal 1429
Fone: (051) 3320-3500 – Fax: (051) 3339-1564
CEP 90619-900 Porto Alegre – RS
Brasil

2009

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

CORTICOSTERONA E PARÂMETROS METABÓLICOS DE *Tryngites subruficollis* (AVES, CHARADRIIFORMES, SCOLOPACIDAE) DURANTE SUA PERMANÊNCIA EM SÍTIO DE INVERNADA, NO PARQUE NACIONAL DA LAGOA DO PEIXE, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Aline de Fraga Pinto

Orientador: Dr^a. Guendalina Turcato Oliveira

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PORTO ALEGRE – RS – BRASIL

2009

SUMÁRIO

| | |
|---|-----|
| Sumário..... | III |
| Agradecimentos..... | IV |
| Dedicatória..... | V |
| Resumo..... | VI |
| Abstract..... | VII |
| 1. Introdução..... | 1 |
| 1.1. Objetivos Gerais..... | 10 |
| 1.1.1. Objetivos Específicos..... | 10 |
| 2. Materiais e Métodos..... | 11 |
| 2.1. Descrição da Área de Trabalho..... | 13 |
| 2.2. Captura, Coleta de Sangue, Anilhamento e Dados Morfométricos de <i>Tryngites subruficollis</i> | 15 |
| 2.3. Análises Bioquímicas..... | 20 |
| 2.4. Determinação dos Níveis de Corticosterona..... | 22 |
| 2.5. Sexagem..... | 22 |
| 2.6. Análise Estatística..... | 23 |
| 3. Resultados..... | 24 |
| 4. Discussão..... | 40 |
| 5. Referências Bibliográficas..... | 49 |
| Apêndices..... | 63 |
| Tabela 2: Relação dos indivíduos analisados, comparação das diferentes técnicas de sexagem e relação dos dados morfométricos dos animais..... | 64 |
| Laudos da Sexagem Molecular..... | 66 |

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar aos meus pais pelo incentivo e pelo apoio incondicional.

Agradeço a minha orientadora e amiga Guendalina Turcato Oliveira pelos ensinamentos, orientação e pelo acompanhamento do trabalho.

À Carla Suertegaray Fontana pela valiosa colaboração ao longo do trabalho.

À Bibiana Kaiser Dutra pela colaboração na construção e desenvolvimento do trabalho.

Ao Felipe Amorim Fernandes pela colaboração e compreensão.

Ao Professor Dr. Luis Kucharski pela atenção e apoio durante o percurso.

Ao Professor Dr. Jarbas Oliveira pela colaboração no desenvolvimento do trabalho.

À Dona Eulália e Seu Abel por acolherem a mim e a toda minha equipe de campo com tanto carinho.

À Dona Inácia e sua família por me permitirem trabalhar em suas terras.

Agradeço a toda equipe de campo: Anike Liedtke Lauffer, Daniela Failace, Jonas Rosa, Jonas Rosoni e Ruben Antônio Pöerschke. Em especial, agradeço a Fernando Pöerschke, sem o qual o trabalho de campo não seria possível.

Agradeço em especial a Filipe Pöerschke pela participação em todas as etapas deste trabalho, sua dedicação foi fundamental para o desenvolvimento deste estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela bolsa de Mestrado.

Dedicatória

*Aos meus pais, Gilberto e Berenice,
por partilharem deste sonho comigo
e por me guiarem por este caminho.*

Resumo:

Tryngites subruficollis estão na categoria vulnerável do Livro Vermelho do Estado do Rio Grande do Sul e, em 1999, foi proposta sua inclusão no apêndice 1 do Convention on the Conservation of Migratory Species of Wild Animals-United Nations Environmental Program (1999); fazendo parte do *ranking* de maior preocupação nos planos de conservação das aves limícolas dos Estados Unidos e do Canadá. Esta espécie é originária do extremo norte da América do Norte (sítio reprodutivo) migrando em torno de treze mil quilômetros para chegar aos sítios de invernada na América do Sul.

Migração de longa distância é o deslocamento de aves, em grupos ou não, em direção aos sítios de reprodução e de invernada, respeitando os ciclos de anabolismo e catabolismo de substratos energéticos e suas variações. A corticosterona provavelmente está envolvida na regulação de alterações nas proporções de utilização dos tipos de reservas energéticas durante o vôo, onde seus níveis encontram-se elevados quando as aves necessitam fazer ajustes metabólicos ou comportamentais, como por exemplo, comportamento de forrageio e de dispersão dos animais no ambiente natural.

O objetivo do presente estudo foi analisar as mudanças dos níveis plasmáticos de corticosterona e de metabólitos durante a permanência desta espécie em sítio de invernada. Os animais foram capturados de outubro de 2007 a março de 2008 e de outubro de 2008 até janeiro de 2009 no Parque Nacional da Lagoa do Peixe, o sangue foi amostrado e dados de muda foram analisados. Todos os metabólitos foram determinados no plasma utilizando-se testes padrões modificados para pequenos volumes de amostras (2 a 10µl): corticosterona (MP Biomedicals Kit); lipídios totais (Frings & Dunn, 1970); creatina quinase, glicose, colesterol, HDL, LDL, VLDL, triglicérides, creatinina, ácido úrico (Labtest Kit) e proteínas totais (Lowry *et al.*, 1951). Os resultados mostraram uma diferença significativa entre os níveis de corticosterona nas amostras de sangue coletadas dos animais em até 4 e em até 8 minutos, com os níveis de corticosterona sendo aproximadamente o dobro quando coletados em 8 minutos quando comparados aos coletados aos 4 minutos. A análise do processo de muda revelou que as penas de vôo iniciam a muda em novembro e concluem este processo em março, com um pico em janeiro. As aves mostram um aumento de massa corporal no mês de novembro e um subsequente aumento de corticosterona em dezembro, estes aumentos do hormônio podem estar relacionados com os ajustes da muda incluindo alterações no comportamento alimentar. Os níveis de lipídios totais e de creatinina foram maiores em outubro, enquanto a creatina quinase foi maior em dezembro. Já as concentrações de triglicérides, de colesterol HDL e de ácido úrico foram maiores em janeiro. Uma diminuição nos níveis de creatina quinase e de ácido úrico no final do período de invernada pode indicar a recuperação da estrutura e das reservas no músculo. Glicose, colesterol total, colesterol VLDL e proteínas totais plasmáticas não mostraram variações significativas. Um aumento dos níveis de LDL observado em março pode estar relacionado com a síntese de corticosterona, pois o pico hormonal também verificado neste período deve determinar a ativação do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA), necessário para desencadear ajustes da demanda energética e do comportamento de dispersão, possibilitando desta maneira, condições para o retorno ao sítio reprodutivo (migração).

Abstract: Corticosterone and Metabolic Parameters of *Tryngites Subruficollis* (Aves, Charadriiformes, Scolopacidae) During its Permanence in the Wintering Site at Lagoa do Peixe National Park, Rio Grande do Sul, Brazil

Tryngites subruficollis are found in category vulnerable in the Red List of the State of Rio Grande do Sul and, in 1999, were proposed the inclusion of this specie in the appendix 1 of the Convention on the Conservation of Migratory Species of Wild Animals-United Nations Environmental Program (1999). This specie is in the ranking of the major preoccupation in the conservation plans of the shorebirds of the United States and in Canada. *Tryngites subruficollis* is originary from the North America and migrate about 8.125 miles to South America. Long distance migration is the seasonal dislocation of the birds, in groups or not, in direction of its breeding or wintering grounds, respecting its anabolic and catabolic cycles of the energetic substrates and their variation. The corticosterone probably are involved in the regulation of the changes in the utilization of the three types of reserve during the flight and its levels founding elevated when the birds need make metabolic and behavioral adjusts, and with the increase of the foraging behavior, as well as the dispersion of the animals in the field. The aim of the present study was analyze the plasmatic changes in corticosterone levels and metabolites during stay in wintering site. Animals were captured from october of 2007 until march of 2008 and from october of 2008 until january of 2009 at Lagoa do Peixe National Park, blood was sampled and after data of moulting was analyzed. All metabolites were determined in the plasma using standard test combinations modified for small amounts of plasma (2 to 10 μ l): corticosterone (MP Biomedicals Kit); total lipids (Frings & Dunn, 1970); creatine kinase, glucose, cholesterol, HDL, LDL, VLDL, triglycerides, creatinine and uric acid (Labtest Kit); total protein (Lowry *et al.*, 1951). Our results showed a significative difference between the levels of corticosterone in the blood samples collected from the animals until 4 and 8 minutes. The levels of corticosterone were approximately two times-fold when collected in 8 minutes, when compared with the samples collected in 4 minutes. Moulting process revealed that flight feathers begin moulting probably in November and it is concluding in march, with a peak in January. These data can explain why the birds showed a body mass peak in November, as well as, they need fatten for support the energetic demand for moult, and showed a peak of the corticosterone in december, this increase can be related with the adjustment for moult including feeding behaviour. Total lipids and creatinine were higher in october, while Creatine kinase were higher in december. Triglycerids, cholesterol HDL, uric acid were higher in January. Decrease of the creatine kinase and uric acid levels in the final period can be indicate regeneration of the reserves in muscle. Glucose, total cholesterol, cholesterol VLDL and total plasma proteins showed no significative variations, because an increase of LDL levels in march can be related with corticosterone synthesis. In march, the hormone peak can determine the activation of the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal (HPA) necessary to start in energetic demand, structure recovery and with the behaviour of dispersion possibility in this manner the conditions for the return to the breeding site (migration).

1. Introdução:

O Brasil serve como sítio de invernada para diversas espécies de aves migratórias, entre estas, podemos citar o maçarico-acanelado *Tryngites subruficollis* Vieillot, 1819 alvo deste estudo, que tem como peculiaridade ser a única espécie do gênero. Esta espécie pertence à ordem Charadriiformes, sendo da família Scolopacidae (Belton 1994; Sick 1984b). Entende-se por sítios de invernada as localidades escolhidas pelas aves migratórias para a alimentação, a muda e a troca de plumagem (Azevedo & Larrazabal 1999). Segundo Castro & Myers (1987) as aves migratórias adultas são fiéis aos locais de invernada durante sua movimentação sazonal e segundo Oring (1964) e Abbott (1982) os maçaricos-acanelados retornam aos mesmos sítios de invernada ano após ano.

Tryngites subruficollis é uma ave limícola neártica com tamanho corporal entre 18 e 20 cm, pesando em torno de 57 a 78g para machos e 46 a 66g para fêmeas. O dimorfismo sexual aparece, em geral, no tamanho das aves, sendo os machos maiores que as fêmeas (Connors 1983). Possuem a face, o peito e o ventre fortemente rufo em todas as plumagens; as pernas são amarelo-ocre e o bico é pequeno e escuro. Em vôo, a porção superior das asas é acanelada, enquanto que a porção inferior (axilar) é branca contrastando com os flancos rufos e com o ventre, apresentando uma barra escura nas penas primárias e coberteiras. Ambos os sexos possuem plumagem similar, mas os machos são levemente maiores, o que dificulta a diferenciação do sexo em campo (Sick 1984b).

Os maçaricos-acanelados reproduzem esporadicamente ao longo da Costa do Ártico até a Ilha Devon, Canadá (Lanctot & Laredo 1994). O maçarico-acanelado é a única espécie limícola Norte-americana que possui um sistema de acasalamento em leque. Os machos defendem um território relativamente pequeno, como um micro-habitat, que não provê recursos para as fêmeas que são simplesmente atraídas pelo *display* (exibição de corte). As fêmeas selecionam o macho, constroem o ninho, após a incubação e o nascimento dos filhotes deixam os ninhos, criando os filhotes em outro lugar. Esta espécie nidifica no ártico, mais especificamente na tundra, em pequenas depressões do solo e constroem os ninhos com pequenos pedaços de líquens (Myers & Myers 1979; Connors 1983). Esta espécie já foi abundante, contudo nos últimos anos decresceu substancialmente em número provavelmente devido à caça comercial e a perda de habitat ao longo de sua rota migratória no centro dos Estados Unidos da América e em sítios de invernada na América do Sul (Lanctot & Laredo 1994).

Tryngites subruficollis vive e migra associado à *Phlvialis dominica* (Sick 1984b) que, embora não esteja oficialmente ameaçada, sua população vem decaindo devido à caça ilegal, comum no sítio reprodutivo, pela falta de proteção destas espécies nas suas rotas migratórias e devido à pressão humana nos sítios de invernada (McIlhenny 1943; Myers 1980; Canevari & Blanco 1994; Frasier *et al.* 1999; Brown *et al.* 2001; Morrison *et al.* 2001).

Tryngites subruficollis é originária do extremo norte da América do Norte e migra em torno de treze mil quilômetros para chegar aos sítios de invernada na América do Sul (Connors 1993; Akesson & Hedenström 2007). São visitantes da primavera e do verão austral (Myers & Myers 1979; Isacch *et al.* 2005), comum no litoral, em áreas úmidas com gramíneas e campos alagados, onde freqüentemente estão na companhia de batuiruçus (Belton 1994; Blanco *et al.* 1993; Lanctot & Laredo 1994), tendo como sítio de invernada pequenas regiões da Argentina, do Uruguai e do Brasil, restritos a áreas costeiras que provém um santuário para esta espécie devido à umidade e a salinidade do solo, desenvolvimento agrícola limitado e vasto campo de pastoreio de gado (Soriano 1991; Isacch 2001). Segundo Lanctot (2002) e Lanctot *et al.* (2002) o Brasil seguido pelo Uruguai e Argentina possui a maior densidade populacional de maçaricos-acanelados, sendo os maiores grupos já registrados em sítios de invernada, detectados na Ilha da Torotama (Pelotas, RS) e no Parque Nacional da Lagoa do Peixe (Mostardas, RS). A migração é feita sobre o continente, porém ao chegar ao norte do Brasil, as aves começam a se deslocar para o litoral sul (Wallace 1974; Lyra-Neves *et al.* 2004), sendo abundantes no Brasil central até o final de fevereiro (Sick 1984b), podendo estender-se até Argentina, Uruguai e Chile (American Ornithologist's Union 1957). Os dados disponíveis indicam que estas aves exibem alta fidelidade aos seus sítios de invernada, fazendo destes sítios áreas especialmente críticas para proteção e conservação desta espécie.

Ao longo da costa brasileira, desde o Amapá até o Rio Grande do Sul, são encontrados vários sítios de parada e de invernada, sendo esses de extrema importância para a conservação e manutenção das espécies (Telino-Júnior *et al.* 2003). Locais como a Ilha de Campechá e os Lençóis Maranhenses (Maranhão), a Coroa do Avião (Pernambuco), o Parque Nacional da Lagoa do Peixe (Rio Grande do Sul) e a Área de Proteção Ambiental de Piaçabuçu (Alagoas) (Cabral *et al.* 2006) são exemplos desses sítios.

Maçaricos-acanelados se beneficiam do pastoreio de gado por causa de sua dependência de campos com pastagens baixas como hábitat de inverno (Lanctot *et al.* 2002). Tais campos, com baixa vegetação são provavelmente preferidos por aves limícolas porque permitem a mais fácil detecção de predadores e a localização de alimento (Colwell & Dodd 1995).

Krebs & Davies (1993) indicam que a cooperação interespecífica reduz as taxas de predação se comparados a bandos monoespecíficos. Os principais predadores desta espécie são: o chimango (*Milvago chimango*) e o caracará (*Caracara plancus*) (Rodriguez-Estrella & Rivera-Rodriguez 1997; Yáñez *et al.* 1982), embora haja informação de predação por falcão-peregrino (*Falco peregrinus*) (Filipe Pöerschke *observação pessoal*). Quando indivíduos de *Tryngites subruficollis* estão se alimentando nos campos podem formar bandos soltos de 200 ou mais indivíduos, geralmente bem espalhados, com uma distância de cinco ou seis metros entre cada espécime. Em vôo, no entanto, eles se comportam como um bando unido, voando em formação relativamente compactada (Belton 1994). Todas as aves limícolas alimentam-se de espécies animais e vegetais, mas principalmente de invertebrados (Evans & Dugan 1984; Morrison 1984; Colwell & Landrum 1993). Besouros representam o item dominante na alimentação, encontrando-se também, folhas e raízes de plantas, sendo estas últimas, não prioritárias devido ao baixo valor calórico (Karasov 1990). Segundo Rowan (1927) *Tryngites subruficollis* inclui aranhas em sua dieta, enquanto que Frasier (1999) e Isacch (2005) afirmam que formigas e aranhas são evitadas pela espécie provavelmente devido aos fluídos nocivos encontrados nestes organismos.

As aves de praia são um dos mais importantes grupos de aves migratórias do hemisfério norte. As mesmas são muito mais freqüentes na América do Sul do que as próprias residentes – tanto em diversidade de espécies como, naturalmente, em número. Enquanto que são domiciliadas no Brasil apenas cinco espécies de maçaricos e narcejas, durante a migração chegam nada menos que 23 espécies do hemisfério norte e, além disso, mais duas espécies do hemisfério sul durante o inverno austral.

Migração de longa distância é o deslocamento de aves, em grupos ou não, em direção aos sítios de reprodução e de invernada, respeitando-se os ciclos de anabolismo e de catabolismo de substratos energéticos. É um processo complexo que envolve adaptações específicas da fisiologia e da morfologia para uma acumulação eficiente de energia, incluindo também adaptações da locomoção e do comportamento para melhor uso dos fatores externos (ventos, correntes, orientação e rotas). Juntas, estas adaptações

definem a síndrome de migração (Akesson & Hedenström 2007). Aves migratórias diferem em seu ciclo de vida, em tamanho, em características aerodinâmicas e em comportamento, bem como, têm diferentes padrões de atividade de vôo. Entretanto, a duração e o mecanismo desencadeador da partida dos vôos migratórios são ainda pouco entendidos (Alerstam 1990; Berthold 2001).

Segundo Weindler *et al.* (1996), o centro de rotação das estrelas no céu e os campos geomagnéticos naturais são cruciais para as aves migratórias encontrarem suas áreas de invernada. Teoricamente, migrantes podem determinar a latitude geográfica do centro de rotação da terra, acima do horizonte e da inclinação magnética ou intensidade total do campo geomagnético (Able 1980; Gould 1998). Entretanto, a identificação longitudinal é um problema para as aves (Mouriteen 2003; Akesson *et al.* 2005).

A migração é um processo que torna as aves susceptíveis a diferentes formas de estresse: a longa viagem não os isenta do desgaste físico, os escassos recursos durante o percurso e, principalmente o gasto energético para sustentar as migrações de longas distâncias, são os principais inimigos das espécies (Sutherland & Goss-Custard 1991; Skagen & Knopf 1994; White & Mitchel 1990).

A muda das penas das aves dá-se devido ao desgaste proporcionado pelas diversas atividades das aves e compreende o processo completo de substituição da plumagem, incluindo a perda das penas velhas e o crescimento das novas (Piratelli *et al.* 2000). Sick (1997) define duas mudas anuais: a pré-nupcial quando são substituídas as penas do corpo (no sítio reprodutivo para aves migratórias), e a muda pós-nupcial ou muda de descanso, quando todas as penas são trocadas (no sítio de invernada). Tal como a migração e a reprodução, o processo de muda das penas requer grande demanda energética (Merila 1997). Este processo consome muita energia, tanto pela síntese de novas penas como pela depreciação na capacidade de vôo, higrofobia e execução de repertórios comportamentais (Klaassen 1995). Para beija-flores, por exemplo, os gastos energéticos durante a muda podem representar até 40% do metabolismo basal (Chai 1997). Se a energia e/ou o alimento são fatores limitantes durante esta fase, então é de se esperar que haja uma separação temporal entre os eventos de muda, de migração e de reprodução, ou seja, as aves não devem reproduzir ou migrar enquanto estão trocando as penas e vice-versa (Ginn & Melville 1983).

Diversos fatores influenciam na escolha do hábitat, como a temperatura, a umidade, a adaptação alimentar, a abundância de alimento, a competição intra e inter-específica e a presença de predadores (Dann 1987; Myers *et al.* 1987; Skagen & Oman

1996). Estes são fatores limitantes, sendo necessário um ambiente que ofereça os recursos mínimos para a sobrevivência e para a recuperação dos indivíduos (Rappole 1995), considerando que os animais necessitam suprir suas necessidades fisiológicas e comportamentais para sobreviverem em um ambiente que está em constante transformação. A capacidade para interagir e responder a essas alterações é o que possibilita a adaptação e a sobrevivência dos indivíduos. As alterações ocorridas no ambiente e no organismo animal provocam uma quebra do equilíbrio orgânico, em outras palavras, da homeostasia e a capacidade adaptativa sobre essas alterações é chamada de fisiologia do estresse (Norris 2007).

Nos últimos anos têm crescido o interesse sobre a análise quantitativa da perda de peso por unidade de tempo e sobre o metabolismo intermediário de aves migratórias. Para vôos migratórios de longas distâncias a maioria das espécies, como *Sylvia borin*, acumulam grande quantidade de lipídio subcutâneo para serem utilizados como fonte energética durante o período de migração (Blem 1980; Bairlein 1987). Durante o período pré-migratório as aves aumentam o tamanho de determinados músculos, principalmente o peitoral maior, chamado de músculo do vôo, acumulando reservas energéticas (Piersma 1990; Piersma & Jukema 1990; Lindström & Piersma 1993; Butler e Bishop 2000; Bauchinger & Biebach 2001).

Pesquisas confirmam a importância dos lipídios estocados como reserva energética em aves durante o vôo, com uma contribuição variável das reservas de proteínas. Estudos onde foi analisada a composição do corpo mostram que aves migratórias mantêm as reservas de lipídios elevadas, chegando a 50% da massa total do corpo e que esta reserva pode ser severamente depletada pelo vôo migratório, sendo que as proteínas corporais são utilizadas pelos músculos e órgãos digestórios (Piersma & Jukema 1990; Ramenofsky 1990; Lindström & Piersma 1993; Battley *et al.* 2000, 2001; Bauchinger & Biebach 2001; McWilliams & Karasov 2001; McWilliams *et al.* 2004). Apesar da importância óbvia dos locais de parada ao longo da rota migratória para a recuperação da energia perdida, a ecologia e a fisiologia das aves nos locais de parada são pouco estudadas e compreendidas (Lindström 1995; Moore & Aborn 2000).

A importância dos lipídios como metabólito preferencial de armazenamento em espécies de aves migratórias já estudadas evidencia uma importância para a relação peso-economia, que é o índice de energia por unidade de massa úmida, considerando que os lipídios contêm de oito a dez vezes mais energia do que os tipos alternativos de reservas metabólicas. Dois fatores contribuem para o índice elevado de energia úmida

dos lipídeos: primeiramente, os ácidos graxos são quimicamente mais reduzidos do que os carboidratos ou as proteínas (aminoácidos), rendendo aproximadamente duas vezes mais energia por unidade de massa seca quando oxidado; em segundo lugar, no tecido vivo, os ácidos graxos são armazenados em um estado quase anidro (5% de água) como o triacilglicerol, enquanto que os carboidratos (glicogênio do fígado e do músculo) e as reservas protéicas apresentam um índice de água elevado (70-80%).

As reservas de glicogênio são quantitativamente sem importância para os vôos de resistência, mas podem ser requeridas inicialmente quando os mecanismos para utilização dos ácidos graxos ainda não foram ativados (Rothe *et al.* 1987; Schwilch *et al.* 1996; Jenni-Eiermann *et al.* 2001) e para manter as concentrações de glicose sanguínea estáveis até que a via gliconeogênica esteja inteiramente ativada (Weber 1988).

Já as proteínas são armazenadas em grandes quantidades como estrutura do corpo, onde seu uso envolve a perda da capacidade funcional. Não obstante, algumas proteínas são catabolizadas durante o vôo para manter a renovação endógena de proteínas, para fornecer precursores para gliconeogênese hepática e para neutralizar a depleção de intermediários do ciclo de Krebs (fluxo anaplerótico) durante o metabolismo oxidativo dos ácidos graxos (Jenni & Jenni-Eiermann 1998; Klaassen *et al.* 2000). As proteínas poderiam ser mobilizadas também, para fornecer água sob circunstâncias de desidratação (Klaassen 1996) ou como uma redução adaptativa do tamanho do músculo em resposta ao declínio da massa corporal durante o vôo (Jenni & Jenni-Eiermann 1998; Pennycuick 1998).

Durante o período pré-migratório, juntamente com a deposição de gordura, iniciam-se mudanças metabólicas pré-adaptativas (Marsh 1981; Lundgren & Kiessling 1985, 1986; Ramenofsky 1990), que incluem a hiperlipidemia plasmática (DeGraw *et al.* 1979; Singh *et al.* 1993; Totzke 1996) e a hiperglicemia (Bairlein 1983; Totzke 1996), bem como a preferência alimentar (Bairlein & Simons 1995) e a eficiência na utilização de suas reservas energéticas (Bairlein 1985; Hume & Biebach 1996). Marsh (1981) e Lundgren & Kiessling (1985, 1986) mostraram que estas mudanças pré-adaptativas têm como objetivo tornar o processo de oxidação lipídica mais eficiente.

Na espécie *Sylvia borin* a deposição de lipídios coincide com um aumento nos níveis plasmáticos deste metabólito e de glicose (Bairlein 1983; Totzke 1996). Nestas aves migratórias foi constatado, em seus locais de parada (como no Sahara), níveis

plasmáticos mais elevados de glicose no plasma e de gordura corporal quando comparadas àqueles em seus habitats naturais ou de origem (Bairlein & Totzke 1992).

Totzken *et al.* (1996) verificaram que a deposição de lipídios no período pré-migratório parece ser o fator desencadeador do catabolismo periférico para a oxidação dos lipídios, tendo por resultado uma diminuição na utilização da glicose. Isto pode influenciar a preferência alimentar, o que favorece a escolha de alimentos ricos em gordura (Bairlein 1987, 1990). Além disso, este processo pode ser importante para as aves que se reabastecem em locais de parada, especialmente com vistas ao jejum verificado durante vôos migratórios muito longos (Segal *et al.* 1991).

As mudanças sazonais nos níveis teciduais de lipídios, nos níveis de glicogênio hepático e nos níveis glicêmicos de aves migratórias foram estudadas por Dolnik & Blyumental (1967), John & George (1965) e Bairlein (1983), que observaram níveis mais elevados destes metabólitos durante o período que antecede a migração (pré-migratório) do que durante as demais estações do ano. Outra mudança durante este período pré-migratório verificada foi a hipertrofia do músculo do vôo (peitoral maior) (Fry *et al.* 1972; Marsh 1981). O consumo de energia durante a migração é estimado como sendo de 4 até 10 vezes maior do que o metabolismo em repouso (Odum *et al.* 1961; Pennycuick 1975).

Durante os vôos de resistência, as aves migratórias apresentam a seguinte situação fisiológica: jejum por diversos dias ao cruzar oceanos ou desertos, exercitando-se intensamente e, conseqüentemente, tendo um gasto energético muito elevado (Butter & Weakes 1990). Após uma fase inicial de transição, *fase um* de adaptação, a qual é caracterizada pela rápida diminuição da massa corporal e pela mobilização das reservas de carboidratos, as aves submetidos a longos períodos de jejum entram em uma fase estacionária, a *fase dois*, durante a qual, para suprir a demanda energética, o animal utiliza grande parte das suas reservas lipídicas e uma porção mínima das reservas protéicas (Cahill 1970; Saudek & Felig 1976; Satori *et al.* 1995). A duração da fase dois depende da quantidade inicial das reservas lipídicas e não ocorre nos animais magros (Cherel *et al.* 1999). A *fase dois* termina espontaneamente quando os lipídios armazenados chegam a um determinado nível conhecido como ponto inicial de adiposidade (Robin *et al.* 1998). A *fase três* é caracterizada por um deslocamento metabólico e endócrino, resultando em um aumento exarcebado do catabolismo de proteínas, em um aumento nos glicocorticosteróides, entre estes a corticosterona, e em uma mudança no comportamento (Cherel *et al.* 1988a e b; Belkhou *et al.* 1991; Cherel

et al. 1992; Robin *et al.* 1998); em seus sítios de parada os animais que chegam em jejum geralmente reiniciam a atividade de forrageamento (Groscolas 1990; Olsson 1997; Robin *et al.* 1998). Este comportamento assemelha-se ao observado nas aves que mostram que eventos imprevisíveis de estresse ativam o eixo Hipotálamo-Adenohipófise-Adrenal (HPA) resultando na liberação dos glicocorticosteróides e na disruptura da atividade normal. As aves entram então, em um estado transitório de emergência para lidar com a situação (Wingfield *et al.* 1997, 1998).

A proporção de lipídios e de proteínas catabolizadas durante a migração é de grande importância para o sucesso dos vôos longos sem paradas (Jenni & Jenni-Elermann 1998). Entretanto, não é claro se aves migratórias apresentam um aumento no uso das reservas de proteínas antes que as reservas de lipídios estejam esgotadas.

A secreção de corticosterona do tecido adrenocortical é controlada pelo eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenocortical (Harvey *et al.* 1984; Greenberg & Wingfield 1987). O eixo HPA é sensível a uma variedade de informações sensoriais endógenas e exógenas, e acredita-se que uma resposta adrenocortical rápida ajude a manter a homeostase (Selye 1971; Holmes & Phillips 1976; Harvey *et al.* 1984; Munck *et al.* 1984). Os eventos naturais imprevisíveis (como as tempestades) causam freqüentemente um aumento de curta duração na concentração de corticosterona no plasma e mantém as necessidades imediatas para a manutenção da vida, estando isto associado também com o aumento da procura pelo alimento e conseqüente hiperfagia (Wingfield *et al.* 1983; Wingfield 1988; Gray *et al.* 1990; Astheimer *et al.* 1992, Smith *et al.* 1994).

Em aves migratórias tropicais capturadas após vôos longos verificaram-se baixos níveis de corticosterona (Schwabl *et al.* 1991; Gwinner *et al.* 1992); já em pombos domésticos foram verificados níveis moderados de corticosterona (Haase *et al.* 1991). Isto pode ocorrer porque a corticosterona, o principal glicocorticóide das aves, tem efeitos diferentes dependendo do nível secretado e das condições fisiológicas do animal (Wingfield *et al.* 1996, 1997).

Os níveis basais de corticosterona em aves normalmente são baixos (<10ng/ml) e suas variações podem estar associadas entre outras coisas, com a regulação do metabolismo sendo influenciado por mudanças ambientais (Priesma *et al.* 2000). Valores que ultrapassam consideravelmente os níveis basais de corticosterona (>30ng/ml) podem estar associados com eventos de estresse transitório e podem provocar um estado de emergência (Wingfield *et al.* 1997, 1998; Priesma *et al.* 2000). Níveis elevados de corticosterona promovem a gliconeogênese e, se forem mantidos

elevados por longos períodos como durante o estado de jejum prolongado, resultam na quebra de proteínas musculares (Kettelhut *et al.* 1988; Wingfield *et al.* 1998). A corticosterona provavelmente está envolvida na regulação das alterações nas proporções de utilização dos tipos de reservas energéticas durante o vôo como na transição da fase dois para a três, onde seus níveis encontram-se elevados e as aves necessitam fazer ajustes metabólicos e comportamentais (Gwinner *et al.* 1992).

De acordo com Wingfield *et al.* (1995), existem diferenças entre as espécies de aves e a intensidade de suas respostas adrenocorticais após a captura, existem espécies que não apresentam variações significativas nas concentrações plasmáticas de corticosterona e outras respondem expressivamente a este tipo de estresse. Os mesmos autores relatam que há, inclusive, espécies que apresentam diferenças entre os sexos, com machos demonstrando maior sensibilidade ao estresse agudo. Não houve detecção de correlação entre peso corporal ou longevidade da espécie com a concentração máxima de corticosterona plasmática em protocolos de estresse em série, descartando-se as hipóteses de influência do tamanho das aves ou sua idade na secreção hormonal (Norris 2007). Porém, é sabido que, ao chegarem aos sítios reprodutivos espécies de aves migratórias já estudadas apresentam altos níveis de corticosterona, tendo uma rápida diminuição ao iniciar o processo de reprodução. Isso acontece provavelmente porque a corticosterona age como inibidor do comportamento reprodutivo e parental em adultos, então existe uma menor resposta do eixo HPA aos eventos ambientais estressores durante essa fase (Reneerkens *et al.* 2002). Já em filhotes, sabe-se que este hormônio estimula um aumento dos níveis de atividade e de forrageamento, sendo esse comportamento comum em aves que nidificam em ambientes extremos e/ou que apresentam curto período reprodutivo (Astheimer *et al.* 1992; Reneerkens *et al.* 2002).

Estudos relacionados à fisiologia e principalmente, ao estresse de aves migratórias, são relativamente recentes no mundo e inéditos no Brasil. Os poucos relatos existentes foram realizados na América do Norte, durante o período reprodutivo destas aves. Não se têm estudos de cunho ecofisiológico em aves migratórias durante a chegada e a estadia das mesmas nos sítios de invernada e, especificamente sobre *Tryngites subruficollis* não foram encontrados registros de padronização de parâmetros endócrinos e metabólicos, nem mesmo nos sítios reprodutivos. Apesar destes dados serem de extrema importância para a preservação das espécies, nada se sabe sobre os níveis de corticosterona e de metabólitos de quaisquer espécies de aves migratórias nos sítios de invernada; sendo assim o estudo aqui proposto torna-se pioneiro.

Tryngites subruficollis encontra-se na categoria vulnerável do Livro Vermelho da Fauna Ameaçada de Extinção no Rio Grande do Sul (Fontana *et al.* 2003) e, em 1999, foi proposta a inclusão desta no apêndice 1 do *Convention on the Conservation of Migratory Species of Wild Animals-United Nations Environmental Program* (1999). Cabe ressaltar que esta espécie está no *ranking* de maior preocupação nos planos de conservação de aves limícolas dos Estados Unidos (Brown *et al.* 2001) e do Canadá (Donaldson *et al.* 2000).

Dados disponíveis na literatura evidenciam que a população de *Tryngites subruficollis* continua em declínio (Dabenne 1972; Lanctot *et al.* 2002). Como exemplo, temos o estudo desenvolvido na Estância Medaland (Argentina) por Myers (1980) que estimou que aproximadamente 2.000 aves usaram esta área durante o verão austral de 1973 e de 1974, já nos anos de 1996 e de 2000 não mais de 200 indivíduos fizeram uso desta área (Isacch & Martinez 1999). Estes dados são alarmantes sendo por isto, de fundamental importância o estudo da fisiologia e ecologia desta espécie para fornecer subsídios para sua conservação.

1.1. Objetivo geral

Verificar no plasma os níveis de corticosterona e de parâmetros metabólicos, bem como analisar as variações na massa corporal, no processo de muda das penas de vôo e a proporção de machos e de fêmeas para a avaliação e entendimento da fisiologia e ecologia de *Tryngites subruficollis* durante sua permanência em sítio de invernada.

1.1.1. Objetivos Específicos:

a. Avaliar os níveis de corticosterona e de diferentes metabólitos plasmáticos (glicose, lipídios totais, triglicerídios e colesterol total, LDL, HDL, VLDL, proteínas totais, creatinina, creatina quinase e ácido úrico) na chegada, na permanência e na saída do sítio de invernada de indivíduos de *Tryngites subruficollis* no Parque Nacional da Lagoa do Peixe;

b. Padronizar marcadores morfológicos (massa corporal e muda das penas de vôo) de indivíduos desta espécie;

c. Determinar o sexo e a proporção sexual de *Tryngites subruficollis* durante sua permanência em sítio de invernada;

d. Relacionar os parâmetros fisiológicos (endócrinos e metabólicos) com aspectos morfológicos, ecológicos e biológicos, visando o estabelecimento de

marcadores morfofuncionais relacionados as diferentes fases de *Tryngites subruficollis* em sítio de invernada.

2. Materiais e Métodos

O trabalho foi realizado sob licença do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA (n°12093-2), autorização de anilhamento sob licença do Centro Nacional de Pesquisa para Conservação das Aves Silvestres – CEMAVE (n°2949/3) e também, foi autorizado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Animais (n°07/03992) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

As capturas de *Tryngites subruficollis* foram realizadas durante dois anos consecutivos, no período em que as aves se encontram na América do Sul (de outubro de 2007 até março de 2008 e de outubro de 2008 até janeiro de 2009), totalizando dez meses de coleta. Como não existiu diferença significativa ($p > 0.05$) entre os dois anos de coleta, os dados foram agrupados. As coletas foram realizadas ao longo de uma semana por mês, sendo os animais capturados sempre à noite, entre 22h e 5h, no período de lua nova. Foram capturados diferentes números de indivíduos a cada mês, totalizando uma amostra total de 63 animais. As amostras coletadas dos animais capturados em outubro de 2007 foram utilizadas para padronização das técnicas.

Foram coletados sangue e dados morfométricos de *Tryngites subruficollis*, não sendo necessário o sacrifício dos animais. Amostras de sangue são requeridas em vários estudos ornitológicos e, embora sendo uma técnica invasiva que pode aderir estresse, em aves adultas este processo é relativamente fácil, com poucos efeitos danosos, sendo o sangue retirado rapidamente substituído, não prejudicando o processo de recuperação da migração e, com as precauções apropriadas, não causa danos temporários, tão pouco permanentes (Figura 1) (Jones & Johansen 1972; Hale 1980; Oring *et al.* 1988; Hoysak & Weatherhead 1991; Lanctot 1994).

As aves foram capturadas no Parque Nacional da Lagoa do Peixe, mais especificamente em duas fazendas de criação de gado, que se situam dentro do Parque: uma localiza-se a aproximadamente 20km da cidade de Mostardas, na estrada do Talhamar (31°15'30,5"S/51°10'07"O) (Figura 2) e a segunda área localiza-se na Fazenda Manduca, situada a aproximadamente 40km da cidade (31°26'52,86"S/51°10'16,08"O) (Figura 3).



Figura 1: *Tryngites subruficollis* minutos após a coleta de sangue, dos dados morfológicos e do anilhamento. Foto: Filipe Pöerschke.



Figura 2: Área de trabalho na Fazenda Talha-mar. Em meio ao gado, três indivíduos de *Tryngites subruficollis* forrageando. Foto: Filipe Pöerschke.



Figura 3: Área de trabalho na Fazenda Manduca. Um indivíduo de *Tryngites subruficollis*. Foto: Filipe Pöerschke.

2.1. Descrição da área de trabalho

O litoral do Rio Grande do Sul estende-se desde a barra do Chuí, ao sul, até a desembocadura do rio Mampituba, ao norte. Com 620km de comprimento, oferece um aspecto de linha inarticulada, pouco sinuosa, formando em seu conjunto uma grande curva de convexidade voltada para o sudeste e, com exceção da cidade de Torres, não apresenta nenhuma elevação além dos cômoros de areia (Rambo 2000). Todo o litoral Riograndense é de origem geológica recente, quaternária, oriundo da destruição de rochas ricas em quartzo, como o granito da Serra do Mar, o granito de maior influência na parte sul e o basalto da Serra Geral, de influência litorânea na sua parte mais ao norte, entre Tramandaí e Torres (Rambo 2000).

Tais processos geológicos ocorridos nas formações pioneiras de influência marinha ou de restinga, resultaram em um ambiente inóspito sob o ponto de vista antrópico, com restrições de uso e de acesso. Esses fatores, associados ao rigor climático típico da latitude local, contribuíram significativamente para o atual estágio cultural e sócio-econômico, principalmente na região que está inserida no segmento mediano da planície costeira do Rio Grande do Sul, entre a Lagoa dos Patos e o Oceano Atlântico. Apenas o norte e o centro da América do Sul encontram-se na zona das isotermas de 20-30°C e o sul da América do Sul se situa abaixo da isoterma dos 20°C, portanto em um clima semelhante ao da área principal dos Estados Unidos da América,

que é conhecida pela forte emigração de aves. A ponta sulina da América do Sul se situa abaixo da isoterma de 10°C, correspondendo, assim, às regiões ao norte da América do Norte (Canadá e Alasca) (Sick 1984a).

Na região do Parque Nacional da Lagoa do Peixe, migram diversas espécies de aves chamadas limícolas, que têm esse nome oriundo da terra limosa, que é descendente de terras inundadas, tanto em córregos como em brejos. A vegetação desta terra limosa periodicamente inundada, pelo menos na região litoral, compõe-se de elementos pequenos e fracos, que formam um tapete pouco espesso e denso, com transição direta para campos de areia movediça e falta completa de vegetais rígidos nas camadas vegetais que formam a cobertura dos campos (Lindman 1974). No Parque Nacional da Lagoa do Peixe e em ambientes de estuário, o maçarico-acanelado utiliza principalmente campos úmidos com vegetação rasteira halófila (tolerante à salinidade), como *Cotula coronopifolia* (Asteraceae), *Salicornia gaudichaudiana* (Chenopodiaceae) (Figura 4), *Paspalum* spp. e *Spartina* spp. (Poaceae), ao passo que em regiões palustres está associado a pastagens baixas nas margens de banhados (Resende & Leeuwenberg 1987; Lanctot *et al.* 2002).



Figura 4: *Salicornia gaudichaudiana* na Fazenda Manduca.
Foto: Filipe Pöerschke.

2.2. Captura, coleta de sangue, anilhamento e dados morfométricos de *Tryngites subruficollis*

a. Captura: segundo método descrito por Bub (1991) a melhor forma de captura desta espécie de ave é com puçá, que tem as seguintes medidas: 60cm de diâmetro e cabo com 2,5m de comprimento. Como as coletas foram feitas à noite, fez-se necessário o uso de lanternas cefálicas para a localização dos animais e um holofote para auxílio na captura e coleta das amostras.

b. Coleta de sangue: após a captura as aves foram rapidamente libertadas do puçá para a coleta de aproximadamente 200 µl de sangue da veia ulnar, que é visível na parte inferior da asa e de fácil acesso entre as penas (Ritchie 1994) (Figuras 5 e 6). Duas coletas de sangue foram feitas em cada animal; a primeira coleta foi feita nos primeiros 4 minutos após a captura e a segunda coleta foi feita entre 4 e 8 minutos após a captura. O sangue retirado representa menos de 10% do volume circulante com base no peso corporal (Coles 1985). Amostras de sangue foram coletadas com agulhas de insulina e seringas heparinizadas, sendo transferidas para ependorfes. O sangue de cada animal foi imediatamente resfriado e acondicionado em banho de gelo até ser centrifugado, sendo o plasma separado em duas amostras, congelado e transportado até o Laboratório de Fisiologia da Conservação da PUC/RS, onde ficou armazenado a 80 graus negativos (-80°C) até a análise dos parâmetros metabólicos e hormonal.

c. Anilhamento: os animais foram anilhados utilizando-se duas anilhas: uma anilha de alumínio, tamanho G (3,2mm) fornecida pelo Centro de Pesquisa para a Conservação das Aves Silvestres - CEMAVE, com numeração única para identificação dos indivíduos, colocada na tíbia direita e uma anilha anodizada rosa colocada no tarso esquerdo para que seja possível a identificação dos animais a olho nú, respeitando o tamanho conforme a anilha metálica. O anilhamento garantiu a independência dos dados coletados.

d. Morfometria e muda: foram utilizados paquímetro, régua, sacolas de algodão descartáveis e individuais e pesola para coletar informações morfométricas dos animais: comprimento do tarso (Figura 7), do cúlmen, da cabeça (Figura 8), da cauda (Figura 9), da asa esquerda (Figura 10) e a massa corporal. Os indivíduos capturados foram cuidadosamente examinados quanto ao estado de muda de cada uma das dez penas rêmiges primárias e das dez penas rêmiges secundárias da asa esquerda, bem como as doze penas retrizes. As penas rêmiges primárias, rêmiges secundárias e retrizes foram observadas e tiveram seu tamanho estimado por meio de uma divisão arbitrária em 6

estágios (Figura 11), como empregado por diversos autores (Miller 1961; Ashmole 1962; Newton 1966; Ginn 1975; Mallet-Rodrigues *et al.* 1995):

- Estágio 1 - Pena Velha: pena utilizada tanto no vôo migratório rumo ao sítio reprodutivo quanto na volta ao sítio de invernada, já que estas aves sofrem muda das penas de vôo anualmente, apenas no sítio de invernada;
- Estágio 2 – Pena recém caída: a pena velha que cai deixa como vestígio um orifício por onde surgirá a nova pena;
- Estágio 3 - Canhão: uma bainha que envolve a pena que está em desenvolvimento; local por onde sairá a nova pena.
- Estágio 4 - até 1/3: pena que está em crescimento e com tamanho aproximado de 1/3 do comprimento total da pena (Figura 12).
- Estágio 5 - até 2/3: pena que está em crescimento e com tamanho aproximado de 2/3 do comprimento total da pena.
- Estágio 6 - Pena nova: pena com crescimento completo, ou seja, totalmente desenvolvida.



Figura 5: Punção para coleta de sangue da asa direita de um indivíduo de *Tryngites subruficollis*. Foto: Fernando Pöerschke.



Figura 6: Punção para coleta de sangue da asa direita de um indivíduo de *Tryngites subruficollis*. Foto: Fernando Pöerschke.



Figura 7: Medida do tarso com auxílio de paquímetro em um indivíduo de *Tryngites subruficollis*. Foto: Filipe Pöerschke.



Figura 8: Medida da cabeça com auxílio de paquímetro em um indivíduo de *Tryngites subruficollis*. Foto: Filipe Pöerschke.



Figura 9: Medida cauda com auxílio de régua em um indivíduo de *Tryngites subruficollis*. Foto: Filipe Pöerschke.



Figura 10: Medida da asa esquerda com auxílio de régua em um indivíduo de *Tryngites subruficollis*. Foto: Filipe Pöerschke.



Figura 11: Fases de muda da décima pena primária (estágio 1/3) e da nona pena primária (estágio 2/3) da asa esquerda de um indivíduo de *Tryngites subruficollis* macho, depositado na coleção do Museu de Ciências e Tecnologia da PUC/RS, sob o número MCP: 01538. Foto: Filipe Pöerschke.



Figura 12: Décima pena primária em muda, na asa esquerda de um indivíduo de *Tryngites subruficollis*. Foto: Filipe Pöerschke.

2.3. Análises Bioquímicas

Os parâmetros metabólicos das amostras de plasma foram analisados para cada animal e foram determinados em duplicata utilizando-se métodos espectrofotométricos:

- a. Os níveis glicêmicos foram medidos pela reação de oxidação da glicose pela glicose oxidase (kit da Biodiagnóstica). O peróxido de hidrogênio formado reage com o 4-aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento formando uma antipirilquinonimina vermelha cuja intensidade da cor é proporcional a concentração de glicose na amostra. Os resultados foram expressos em mg/dl.
- b. Os lipídios totais foram medidos pelo método da sulfofosfovanilina (Frings & Dunn 1970), este método consiste na oxidação dos lipídios celulares a fragmentos pequenos após a digestão química com ácido sulfúrico concentrado quente. Após a adição da solução de vanilina e ácido fosfórico, um complexo vermelho é formado, e a intensidade da cor vermelha formada é proporcional a concentração de lipídios na amostra. Os resultados foram expressos em mg/dl.
- c. Os triglicerídeos foram medidos através de uma série de reações enzimáticas iniciando com a lipase da lipoproteína promovendo a hidrólise dos triglicerídeos liberando o glicerol, que é convertido, pela ação da glicerolquinase, em glicerol-

- 3-fosfato. Este é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença de glicerolfosfato oxidase. Em seguida, ocorre uma reação de acoplamento entre peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e 4-clorofenol, catalisada pela peroxidase, produzindo uma quinoneimina (kits da Biodiagnóstica - GPO-ANA). A intensidade da cor vermelha formada é proporcional a concentração de triglicerídeos na amostra. Os resultados foram expressos em mg/dl.
- d. Os níveis de colesterol total foram medidos pela reatividade da colesterol esterase, da colesterol oxidase e de enzimas peroxidase (Labtest Kit/Liquiform) e foram expressos em mg/dl.
 - e. Os níveis de colesterol HDL foram medidos quantitativamente através das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) precipitadas e, após centrifugação, o colesterol ligado às lipoproteínas de alta densidade (colesterol HDL) foi determinado no sobrenadante (kits da Biodiagnóstica). Os resultados foram expressos em mg/dl.
 - f. Os níveis de ácido úrico foram medidos pela oxidação do ácido úrico pela uricase à alantoina e peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio, na presença de peroxidase, reage com o DHBS e a 4-aminoantipirina formando o cromogênio antipirilquinonimina. A intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à quantidade de ácido úrico na amostra (kits da Biodiagnóstica). Os resultados foram expressos em mg/dl.
 - g. Os níveis de creatinina foram medidos pela reação do soro com a solução de picrato em meio alcalino formando um complexo de cor vermelha que é medido fotometricamente. A adição de um acidificante diminui o pH para 5,0, promovendo a decomposição do picrato de creatinina, permanecendo inalterada à cor derivada dos cromogênios, que também é medida fotometricamente. A diferença entre as duas leituras fornece o valor da creatinina verdadeira (kit da Biodiagnóstica). Os resultados foram expressos em mg/dl.
 - h. A atividade da creatina quinase total foi determinada através da seguinte seqüência de reações: a creatina quinase catalisa a desfosforilação da creatina fosfato para produzir adenosina trifosfato (ATP), a qual reage com a glicose na presença de hexoquinase formando glicose-6-fosfato. A glicose-6-fosfato na presença de glicose-6-fosfato desidrogenase, é oxidada a 6-fosfogluconato e reduz a NAD a NADH. A velocidade de incremento na absorbância em 340nm é

proporcional à atividade da creatina quinase. Os resultados foram expressos em U/L.

- i. As proteínas totais foram quantificadas no meio de extração do glicogênio utilizando-se o método descrito por Lowry *et al.* (1951) tendo a albumina bovina como padrão. Os resultados foram expressos em mg/ml.
- j. Os colesterol LDL e VLDL foram determinados por relação matemática a partir dos resultados de colesterol total e colesterol HDL.

2.4. Determinação dos níveis de corticosterona

Os níveis de corticosterona foram medidos por radioimunoensaios através da concentração de moléculas do antígeno usando a radioatividade dos antígenos ligados ao anticorpo (MP Biomedicals Kit). O teste é limitado pela quantidade de anticorpo específico que reage com o correspondente hormônio marcado com radioisótopo. Conforme aumenta a quantidade de hormônio, uma fração correspondente de hormônio marcado adicionada é ligada ao anticorpo. Após a separação da ligação do hormônio marcado livre, a quantidade de radioatividade de um ou ambas as frações é avaliada e é construída uma curva padrão contra a qual as amostras desconhecidas são medidas. Os resultados foram expressos em ng/ml.

2.5. Sexagem

A sexagem foi feita por duas formas: através da observação do padrão de pintas pretas nas Penas Rêmiges Primárias de todos os indivíduos, onde (1) jovens apresentam várias pintas pequenas e espalhadas pelas penas, (2) fêmeas adultas apresentam mais pintas, menos espalhadas e mais escuras que os jovens (Figura 13) e (3) os machos adultos apresentam poucas pintas grandes e bem espaçadas (Lanctot *et al.* 1998); e através da análise molecular realizada pelo Laboratório Citocel da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.



Figura 13: Padrão de pintas na décima pena primária da asa de uma fêmea de *Tryngites subruficollis*. Foto: Filipe Pöerschke.

2.6. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com o Programa *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS-11.5) for Windows*. Os valores de corticosterona foram logaritmizados após o cálculo a partir de uma curva padrão e utilizados para análise estatística.

Todos os parâmetros metabólicos e hormonais foram avaliados pelo teste de Levene de Homogeneidade e pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a distribuição normal dos dados. Para a análise estatística dos metabólitos e dos níveis de corticosterona foi utilizado análise de variância de uma via (ANOVA one-way) seguido do teste complementar de Tukey. Para a comparação entre os dois tempos de coleta de amostras dos níveis de corticosterona foi utilizado teste T para amostras dependentes. O nível de significância adotado foi de 5%.

3. Resultados:

Segundo a sexagem molecular a proporção entre os sexos foi de 2.27 fêmeas para cada macho, e esta proporção se manteve ao longo do período de estudo. Apesar desta diferença na proporção entre os sexos não existe diferença significativa ($p > 0.05$) entre machos e fêmeas nem para os níveis hormonais nem para os metabólitos e por isto os dados foram agrupados.

A figura 14 mostra os níveis de corticosterona em até 4 minutos e entre 4 e 8 minutos de captura do animal. Os resultados mostram que os níveis de corticosterona apresentam-se cerca de duas vezes mais elevados aos 8 minutos quando comparados às amostras em até 4 minutos; portanto as amostras coletadas em até 4 minutos foram consideradas como os níveis basais deste hormônio. Os mesmos resultados foram verificados por Wingfield *et al.* (1982) em *Zonotrichia leucophrys gambelli*, com a corticosterona aumentando após 5 minutos de manipulação.

Na coleta de até 4 minutos os níveis de corticosterona apresentam-se mais elevados no mês de outubro em relação a todos os outros meses de coleta, diminuindo aproximadamente 7 vezes ($p < 0.05$) no mês de novembro e voltando a aumentar ($p < 0.05$) no mês de dezembro, onde este hormônio apresenta-se 1.16 vezes mais elevado que no mês anterior. Já em fevereiro os níveis deste hormônio diminuem cerca de 2.7 vezes em relação a dezembro, tornando a elevar-se na mesma intensidade em março ($p < 0.05$). Os níveis hormonais verificados aos 8 minutos de coleta seguem um padrão de resposta semelhante ao verificado para o primeiro tempo de coleta (4 minutos). Cabe ressaltar, que estes níveis (8 minutos) foram em todos os pontos de coleta mais elevados que aqueles verificados aos 4 minutos.

Corticosterona total

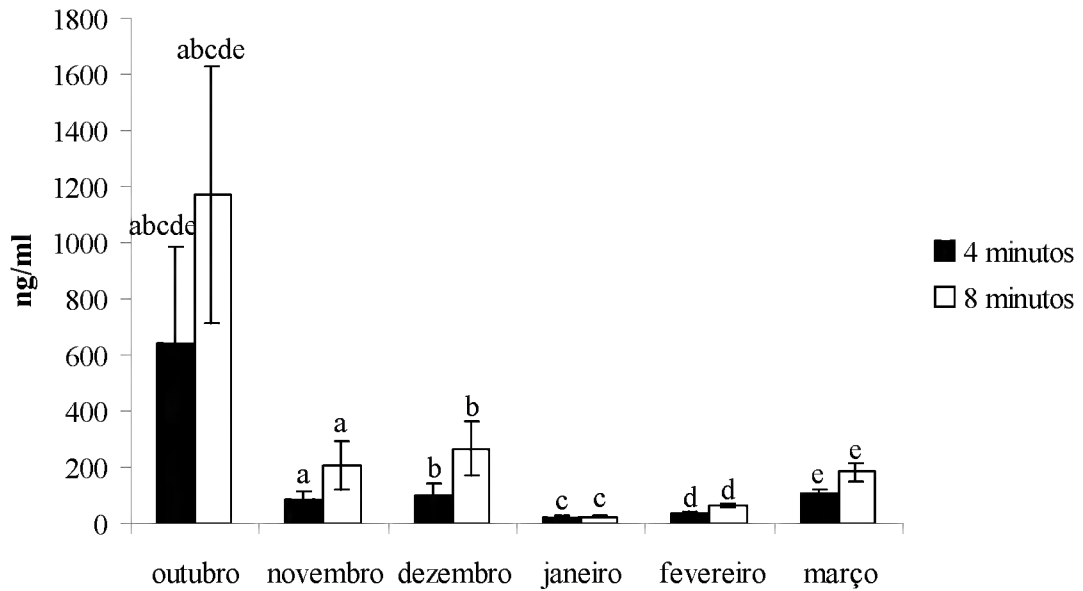


Figura 14: Níveis de corticosterona coletada em até 4 minutos (barras pretas) e entre 4 e 8 minutos (barras brancas) após a captura de *Tryngites subruficollis* durante o período de internada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em ng/ml. Letras iguais representam diferenças significativas entre os meses. # diferença significativa entre os tempos de coleta.

Os níveis plasmáticos de glicose não apresentam diferenças significativas ao longo do período de invernada (Figura 15).

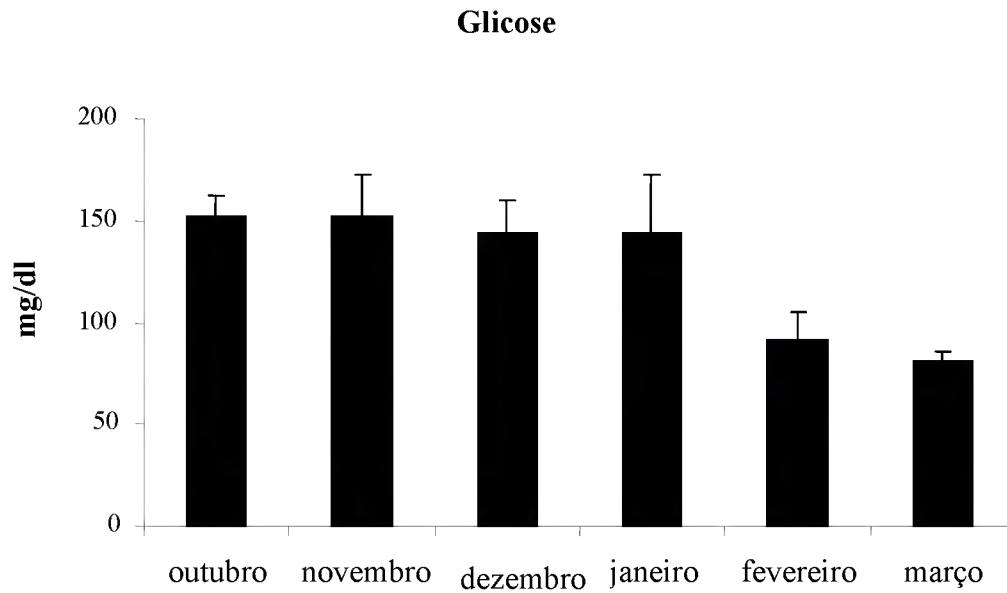


Figura 15: Níveis de glicose no plasma de *Tryngites subruficollis* durante o período de invernada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em mg/dl.

Os níveis plasmáticos de lipídios totais apresentam-se elevados no período compreendido entre outubro e novembro ($p < 0.05$), tais níveis começam a diminuir a partir de dezembro atingindo valores 7 vezes menores que o inicial no mês de março ($p < 0.05$) (Figura 16).

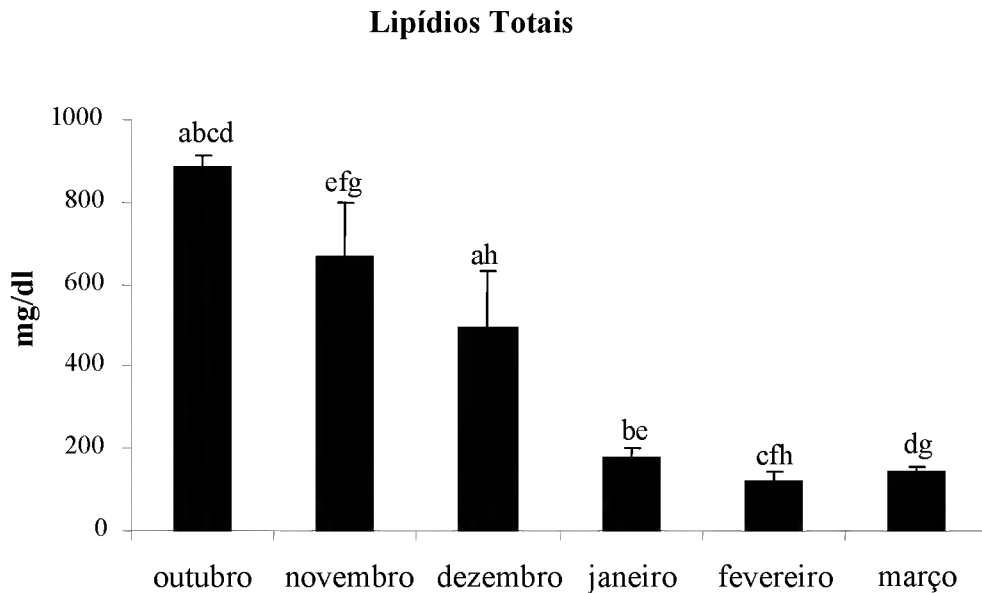


Figura 16: Níveis plasmáticos de lipídios totais em *Tryngites subruficollis* durante o período de invernada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em mg/dl. Letras iguais representam diferenças significativas entre os meses.

Ao longo da permanência de *Tryngites subruficollis* em sítio de invernada verificamos que os níveis plasmáticos de triglicerídios apresentam um pico em janeiro ($p < 0.05$), sendo que em fevereiro os níveis retornam a valores semelhantes ao do início da curva (Figura 17).

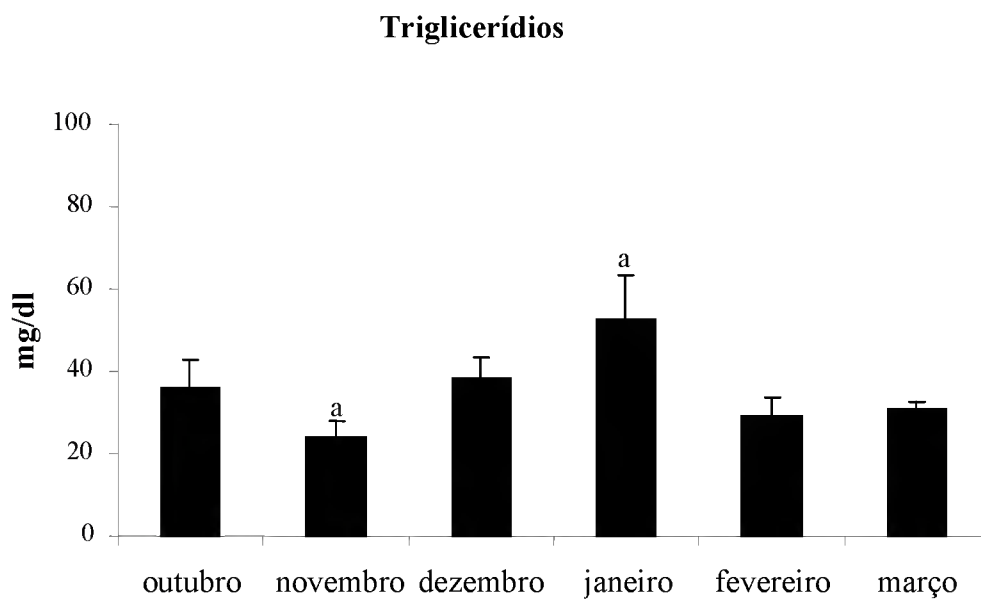


Figura 17: Níveis plasmáticos de triglicerídios em *Tryngites subruficollis* durante o período de invernada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em mg/dl. Letras iguais representam diferenças significativas entre os meses.

Os níveis plasmáticos de colesterol total não apresentam diferenças significativas ao longo dos meses de captura no período de invernada (Figura 18).

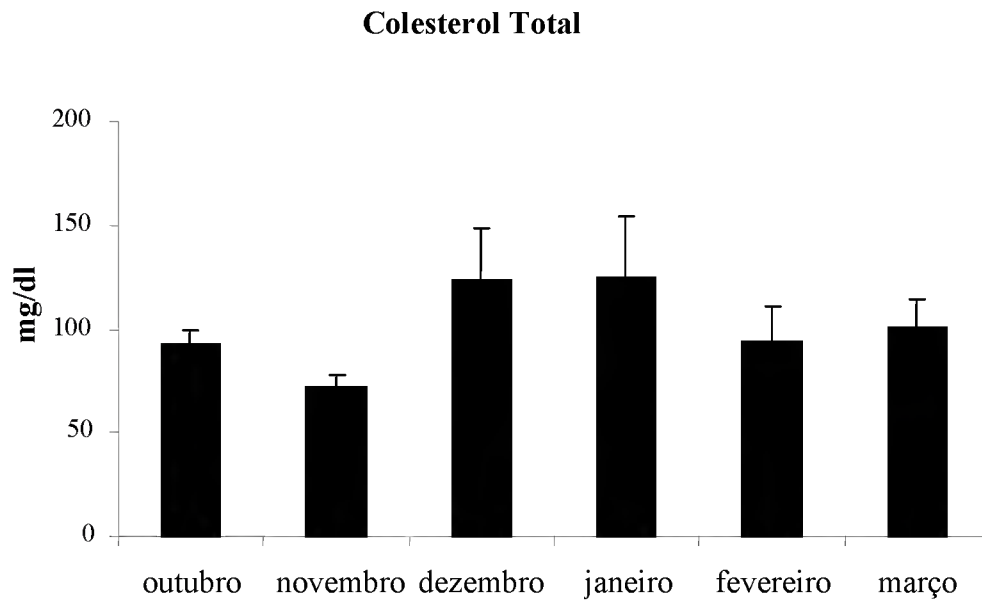


Figura 18: Níveis plasmáticos de colesterol total em *Tryngites subruficollis* durante o período de invernada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em mg/dl.

Na figura 19 observa-se que a concentração plasmática de colesterol HDL apresenta um aumento no mês de janeiro ($p < 0.05$) em relação a todos os meses de coleta, com a concentração de colesterol HDL diminuindo acentuadamente a partir de fevereiro até atingir valores 14.5 vezes menores em março ($p < 0.05$).

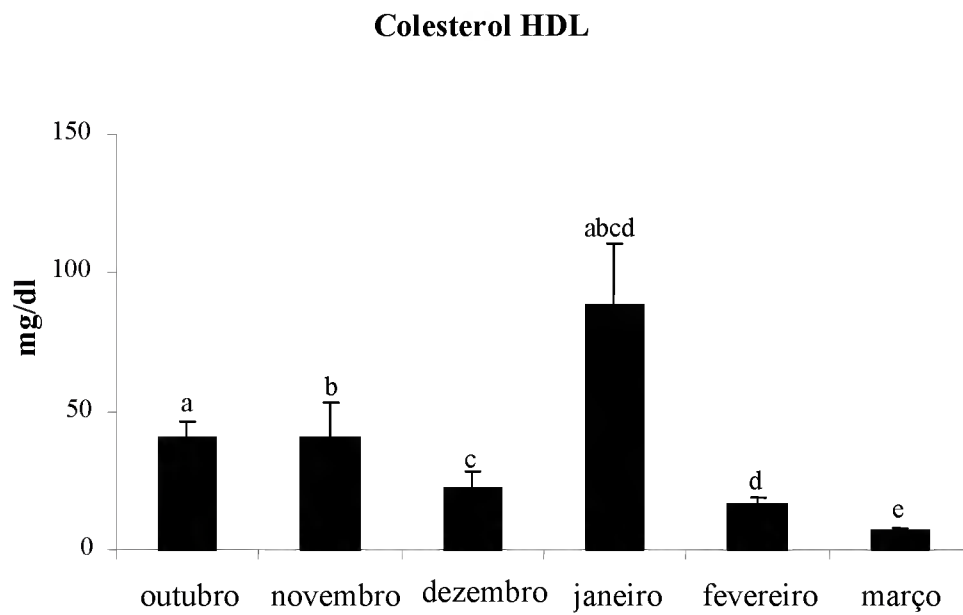


Figura 19: Níveis plasmáticos de colesterol HDL em *Tryngites subruficollis* durante o período de invernada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em mg/dl. Letras iguais representam diferenças significativas entre os meses.

Os níveis plasmáticos de colesterol LDL e VLDL não apresentam diferenças significativas ao longo do período de estudo (Figuras 20 e 21).

Colesterol LDL

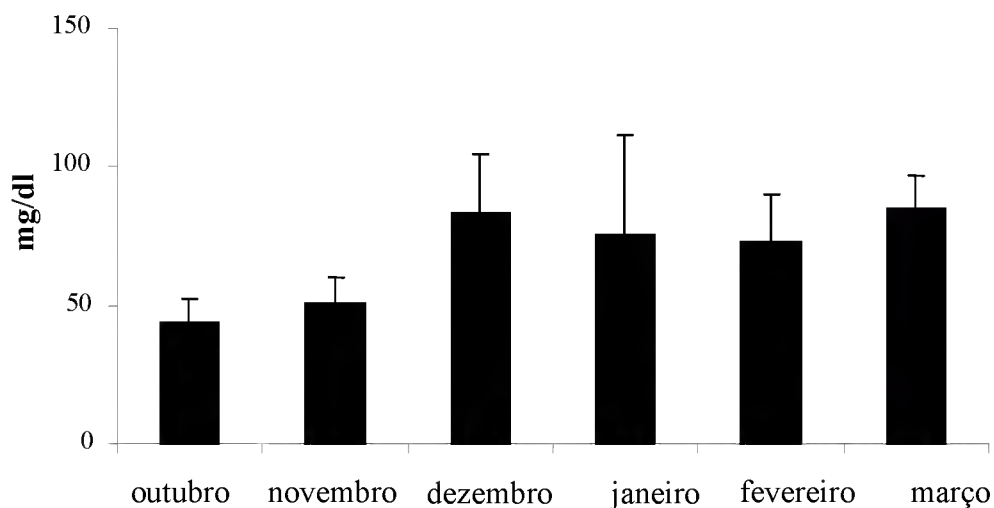


Figura 20: Variações dos níveis plasmáticos de colesterol LDL em *Tryngites subruficollis* durante o período de internada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em mg/dl.

Colesterol VLDL

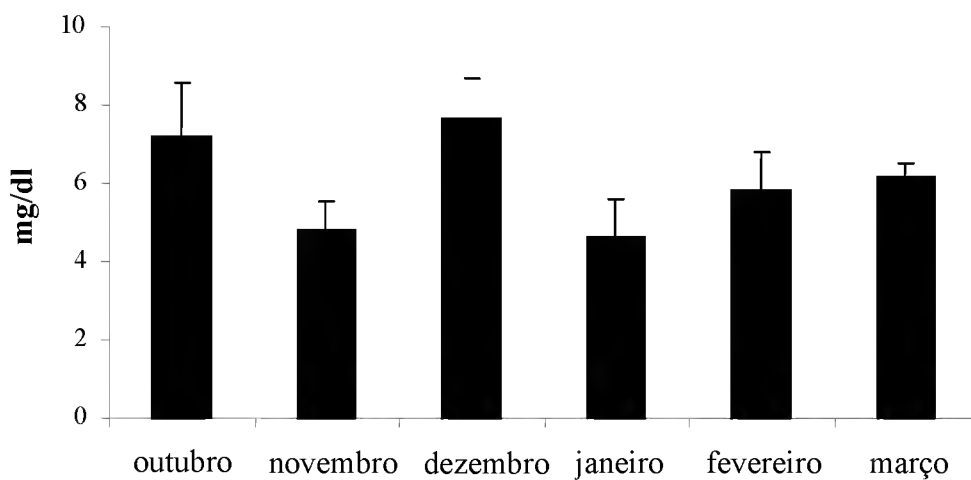


Figura 21: Níveis plasmáticos de colesterol VLDL em *Tryngites subruficollis* durante o período de internada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em mg/dl.

Os níveis plasmáticos de ácido úrico apresentam-se elevados ($p < 0.05$) no mês de outubro, começam a diminuir em novembro, apresentando um novo pico em janeiro ($p < 0.05$), tornando a diminuir em fevereiro atingindo valores aproximadamente 3 vezes menores no mês de março ($p < 0.05$) em relação ao início do período de estudo (Figura 22).

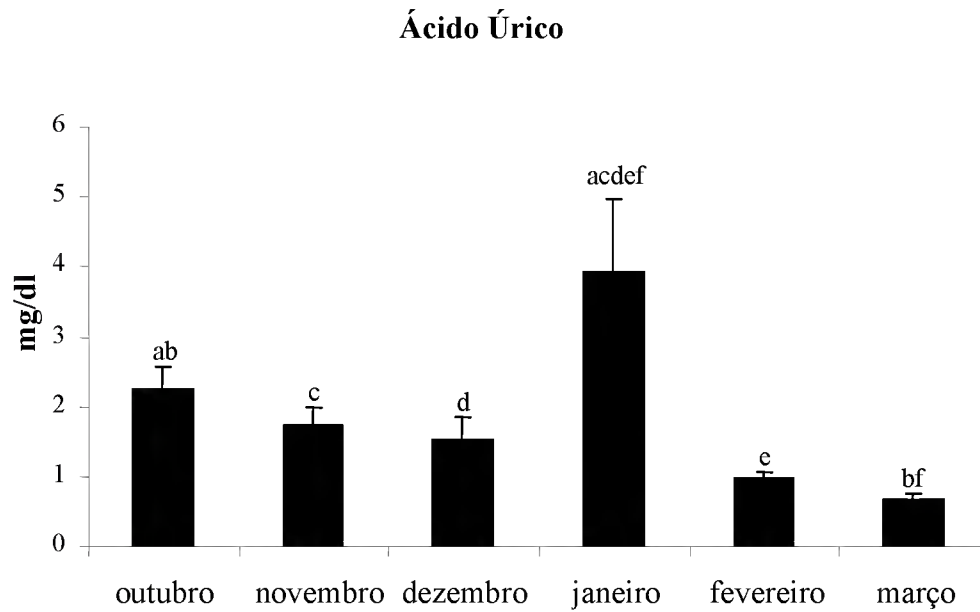


Figura 22: Níveis plasmáticos de ácido úrico em *Tryngites subruficollis* durante o período de invernada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em mg/dl. Letras iguais representam diferenças significativas entre os meses.

Os níveis de creatinina ao longo dos meses de estudo apresentam-se elevados no mês de outubro ($p < 0.05$), diminuindo aproximadamente 3.5 vezes em novembro ($p < 0.05$), aumentam em dezembro em relação ao mês anterior para voltarem a diminuir a partir de janeiro atingindo valores 80% menores que os iniciais em março ($p < 0.05$) (Figura 23).

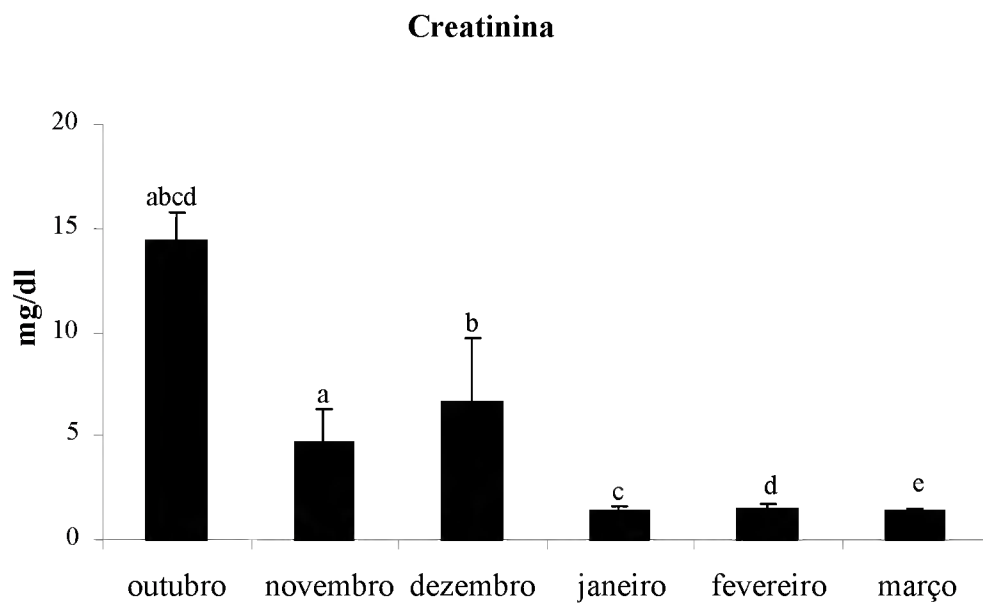


Figura 23: Níveis plasmáticos de creatinina em *Tryngites subruficollis* durante o período de invernada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em mg/dl. Letras iguais representam diferenças significativas entre os meses.

Os níveis de atividade da creatina quinase apresentam-se baixos em outubro, começam a aumentar em novembro, atingindo valores 40% maiores que o inicial em dezembro ($p < 0.05$), já em janeiro os níveis de atividade diminuem cerca de 42% permanecendo constantes até o final do período de estudo (Figura 24).

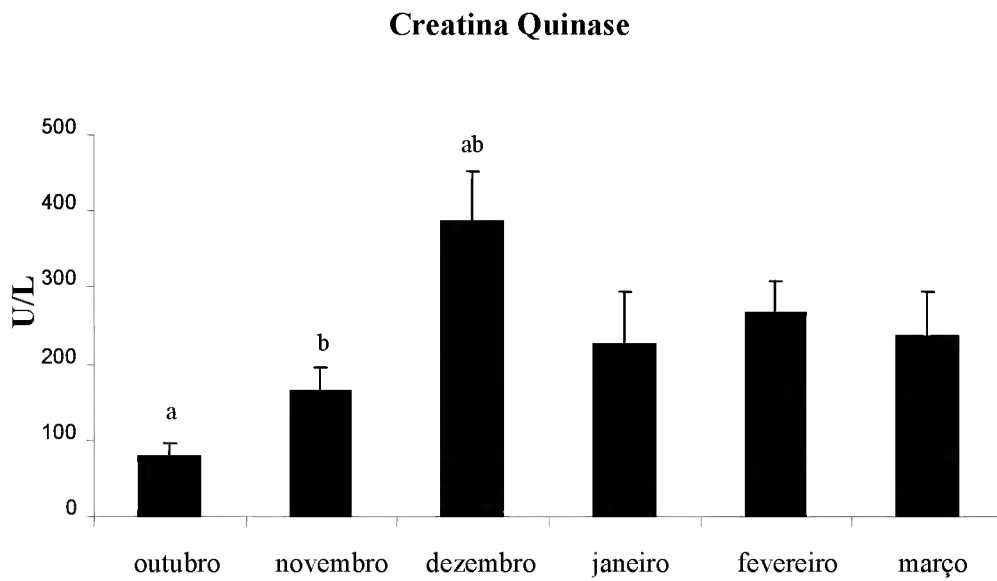


Figura 24: Níveis plasmáticos de creatina quinase em *Tryngites subruficollis* durante o período de invernada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em U/L. Letras iguais representam diferenças significativas entre os meses.

Na figura 25 observamos que os níveis plasmáticos de proteínas totais não apresentam diferenças significativas ao longo do período de estudo (outubro a março).

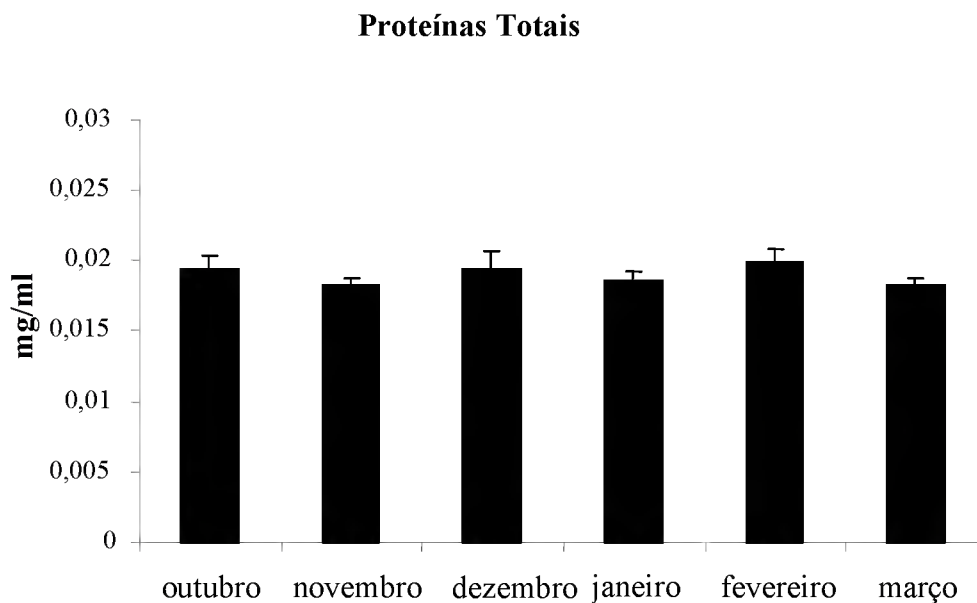


Figura 25: Níveis plasmáticos de proteínas totais em *Tryngites subruficollis* durante o período de invernada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras verticais representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em mg/ml.

Na tabela 1 podemos observar que a proporção de colesterol total variou de 10.43% a 78.82% do conteúdo de lipídios totais, ocorrendo um pico da proporção de colesterol total em fevereiro; já proporção de triglicerídios variou de 3.62% a 29.01% do conteúdo de lipídios totais, ocorrendo um pico da proporção de triglicerídios também em fevereiro.

A proporção de colesterol HDL variou de 6.93% a 70.59% do conteúdo de colesterol total, ocorrendo um pico da proporção de colesterol HDL em janeiro; já proporção de colesterol VLDL variou de 3.71% a 7.82% do conteúdo de colesterol total, ocorrendo um pico da proporção de colesterol VLDL em outubro, e por fim, a proporção de colesterol LDL variou de 47.47% a 84.14% do conteúdo de colesterol total, ocorrendo um pico da proporção de colesterol LDL em março.

Tabela 1: Porcentagens de Lipídios na forma de Colesterol, de Lipídios na forma de Triglicerídios, de Colesterol na forma de HDL, de Colesterol na forma de VLDL e de Colesterol na forma de LDL nos diferentes meses de captura no sítio de invernada.

| | Outubro | Novembro | Dezembro | Janeiro | Fevereiro | Março |
|---|----------------|-----------------|-----------------|----------------|------------------|--------------|
| % de Lipídios na forma de Colesterol | 10.4330 | 10.8445 | 24.8997 | 68.90162 | 78.8199 | 69.9323 |
| % de Lipídios na forma de Triglicerídeos | 4.0780 | 3.6278 | 7.7388 | 29.0182 | 24.4652 | 21.3236 |
| % de Colesterol na forma de HDL | 43.7278 | 55.7470 | 18.2576 | 70.5927 | 17.1375 | 6.9299 |
| % de Colesterol na forma de VLDL | 7.8175 | 6.6906 | 6.21601 | 3.7092 | 6.2079 | 6.0984 |
| % de Colesterol na forma de LDL | 47.4753 | 69.6383 | 67.3348 | 60.3587 | 77.4444 | 84.1459 |

Os animais apresentam um pico de massa corporal em novembro o qual cai gradativamente até atingir valores mínimos em fevereiro e março ($p < 0.05$) (Figura 26).

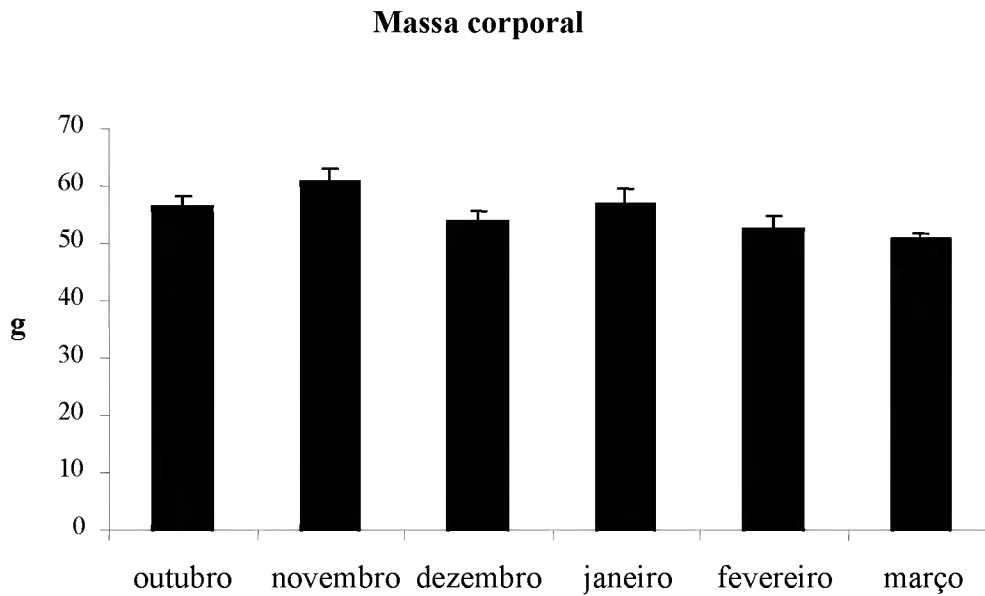


Figura 26: Valores de massa corporal de *Tryngites subruficollis* durante o período de invernada (outubro a março). As colunas representam a média, e as barras representam o erro padrão da média. Os resultados são expressos em g.

Nas figuras 27 e 28 observam-se os estágios de muda das penas rêmiges primárias e secundárias das aves capturadas. No mês de outubro todas as penas estão velhas, notando-se o início do processo de muda das rêmiges primárias apenas em novembro. Nos meses subseqüentes (dezembro e janeiro) encontramos a fase de maior intensidade e diversificação dos estágios da muda das penas. Já em fevereiro a intensidade da muda aumenta, mas a diversidade de estágios diminui aumentando drasticamente o percentual de penas novas. Em março observa-se um percentual de 100% de penas novas. Nas rêmiges secundárias verificamos que o processo de muda inicia em outubro, intensifica-se em dezembro e janeiro, estando este processo totalmente completo em março.

Já na figura 29 podemos observar que o início da muda das retrizes ocorre em outubro, com um aumento em dezembro e janeiro, atingindo um pico em fevereiro tanto na intensidade como na diversidade até o processo estar completo em março.

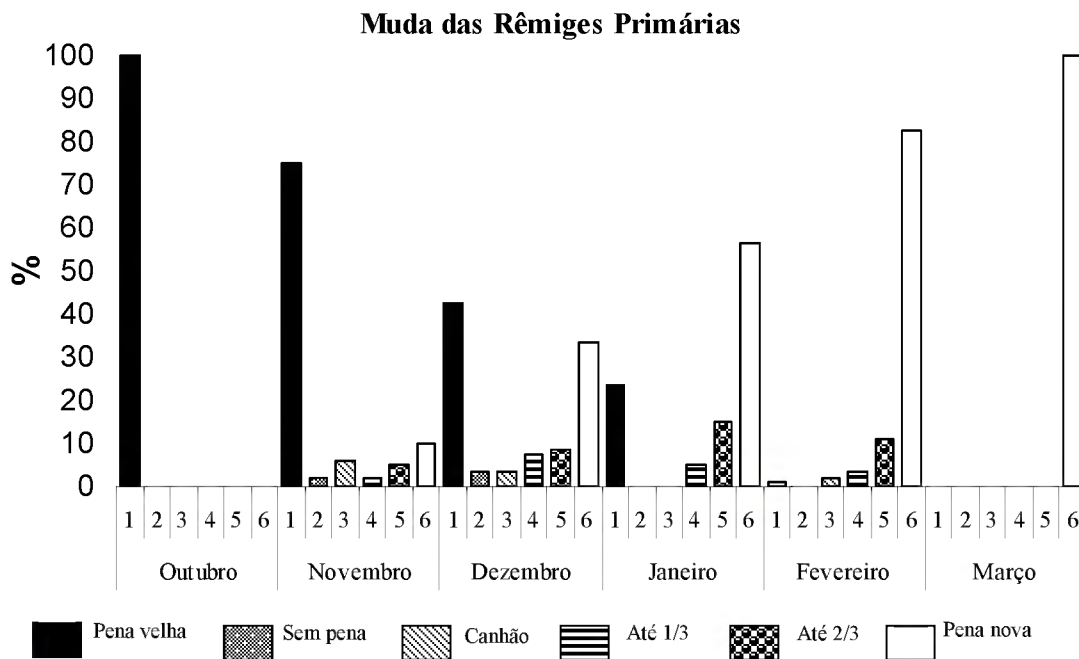


Figura 27: Diferentes estágios da muda das Penas Rêmiges Primárias de *Tryngites subruficollis* no sítio de invernada (outubro a março). As colunas representam os diferentes estágios nos diferentes meses de captura.

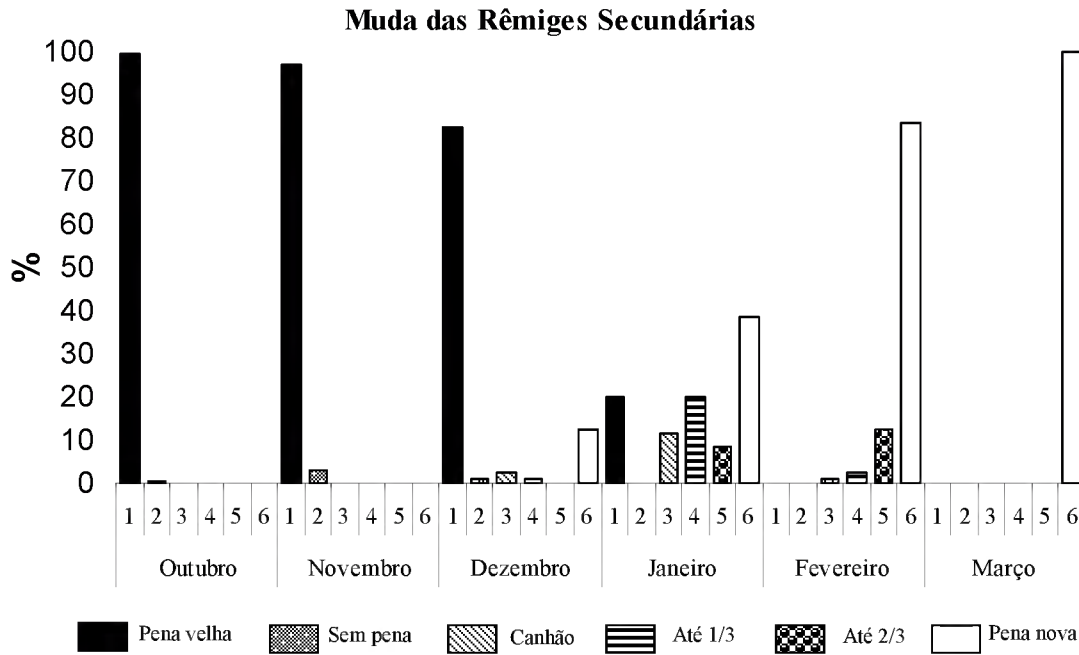


Figura 28: Diferentes estágios da muda das Penas Rêmiges Secundárias de *Tryngites subruficollis* no sítio de invernada (outubro a março). As colunas representam os diferentes estágios nos diferentes meses de captura.

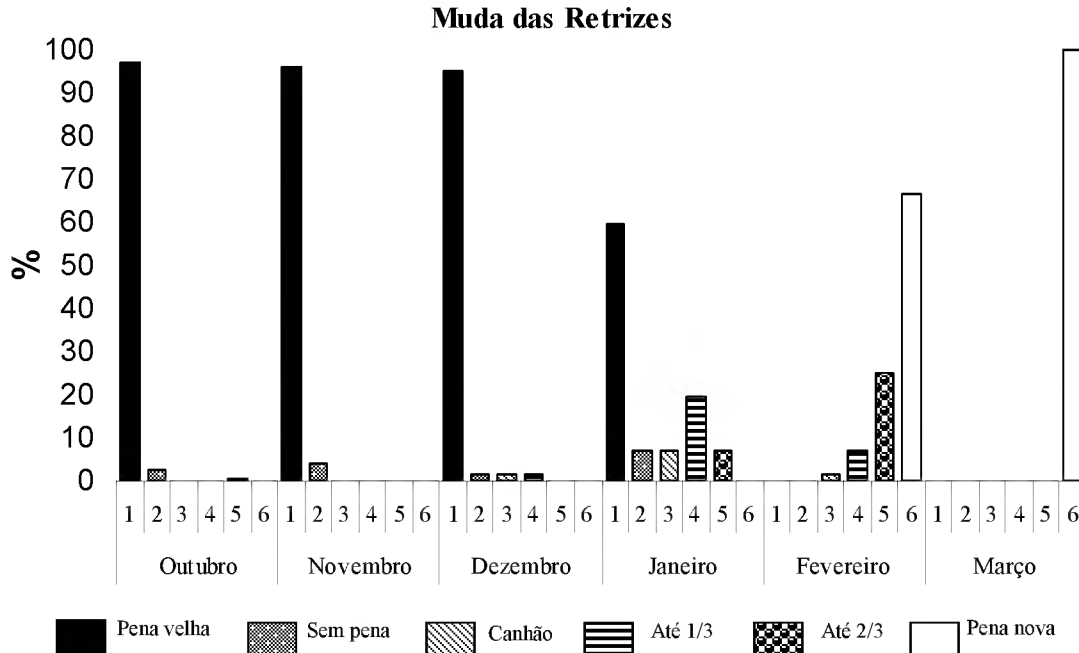


Figura 29: Diferentes estágios da muda das Penas Retrizes de *Tryngites subruficollis* no sítio de invernada (outubro a março). As colunas representam os diferentes estágios nos diferentes meses de captura.

Características da plumagem foram observadas em todos os indivíduos e utilizadas para a sexagem dos animais, porém dos 63 indivíduos anilhados, 11 tiveram classificação indeterminada por impossibilidade de determinar o sexo através das penas rêmiges primárias. Vinte e sete indivíduos foram identificados como machos adultos e dezenove foram identificados como fêmeas adultas e os 06 indivíduos restantes foram identificados como jovens. Trinta e seis indivíduos foram sexados pela análise molecular, sendo onze machos e vinte e cinco fêmeas. Os vinte e sete indivíduos restantes não puderam ter determinado seu sexo por falha de amostra (Tabela 2 em anexo).

Foram excluídos da comparação entre os métodos de sexagem os indivíduos classificados como jovens e indeterminados, pois a sexagem molecular determina somente o sexo, independente da maturidade do indivíduo.

Quando comparados os resultados das duas análises de sexagem, encontramos compatibilidade em 15 indivíduos, o que representa 41.67% da amostra, mas experimentos futuros devem ser realizados para que se possa estabelecer uma comparação conclusiva.

Dos dados morfométricos dos indivíduos capturados foi feita uma média para os machos e para as fêmeas: o comprimento médio do tarso determinado em machos foi de 30.46mm e em fêmeas foi de 29.41mm; para o comprimento do cúlmen foi encontrado tamanho médio de 22.38mm para os machos e de 19.94mm para as fêmeas; as médias para o comprimento da cabeça foram de 49.42mm para os machos e 43.86mm para as fêmeas; o comprimento médio da cauda para os machos foi de 6.09cm e 5.58cm para as fêmeas; o comprimento médio da asa esquerda foi de 13.53cm para os machos e 12.63cm para as fêmeas; por fim, a massa corporal para os machos variou entre 56 e 69g, enquanto que para as fêmeas variou entre 46 e 67g. Cabe ressaltar que foram considerados somente os indivíduos sexados pela análise molecular.

4. Discussão:

A preparação e a execução de vôos de longa distância para aves migratórias envolvem um grande número de mudanças fisiológicas (Ramenofsky 1990; Wingfield *et al.* 1990; Jenni & Jenni-Eiermann 1998; Piersma 1998). Espécies de aves limícolas têm elevações temporárias dos níveis de corticosterona durante a migração e imediatamente após a chegada (O'Reilly & Wingfield 1995; Ramenofsky *et al.* 1995; Tsipoura *et al.* 1999). Reneerkens *et al.* (2002) estudando *Calidris camutus islandica* verificaram que imediatamente a sua chegada ao sítio reprodutivo após uma migração de 3.000km as aves apresentavam níveis altos de corticosterona (58ng/ml) em comparação com os níveis encontrados durante sua estadia no sítio reprodutivo. Padrão de resposta semelhante foi verificado neste estudo para *Tryngites subruficollis* onde um pico nos níveis de corticosterona plasmática (640.38ng/ml) foi observado em outubro. Este resultado aliado à inspeção de campo nos meses de agosto e setembro sem que se encontrassem animais, confirmam o mês de outubro como o período de chegada das aves a este sítio de invernada.

A diminuição drástica da concentração de corticosterona plasmática em novembro seguida de um aumento nos níveis hormonais em dezembro parece estar relacionada com ajustes metabólicos antecipatórios e com a intensificação do comportamento de forrageio com intuito de sustentar a demanda metabólica relacionada ao processo de muda onde observamos a maior diversidade de rêmiges primárias e um pico na muda de rêmiges secundárias e retrizes em janeiro. Estudos futuros visando analisar especificamente o comportamento e padrão de forrageio devem ser realizados.

As penas são compostas 95% por proteínas (Murphy & King 1992) e representam aproximadamente 40% do peso úmido do animal (Ginn & Mellville 1983). A corticosterona é sazonalmente modulada em muitas aves, com as concentrações plasmáticas deste hormônio mais baixas durante o período de muda, quando todas as penas são substituídas, já que a corticosterona modula a intensidade de degradação das proteínas e inibe a síntese das mesmas. Se a corticosterona fosse liberada em altos níveis no plasma durante a muda, poderia retardar a deposição de proteínas durante o crescimento da pena e resultar em um maior período de degradação das penas de vôo, alterando o desempenho, o que traria um impacto negativo à sobrevivência das aves (Romero 2005). Estes dados corroboram com os resultados apresentados neste trabalho, onde os níveis basais de corticosterona são altíssimos na chegada de *Tryngites subruficollis* ao sítio de invernada em outubro (onde não há indício de muda), e mais

baixos em novembro (87.27 ng/ml), mês em que verificamos o início do processo de muda nesta espécie e em janeiro, mês onde ocorre a intensificação da muda das penas rêmiges primárias encontramos os níveis mais baixos de corticosterona (18.46ng/ml).

Muitas aves regulam a liberação de corticosterona, tanto basal quanto a induzida por estresse, durante o período de muda, pois este processo é vital para as aves, porém não são conhecidos os mecanismos pelo qual esta regulação ocorre (Romero 2005).

Nas espécies migratórias, o considerável desgaste das penas confere ao fenômeno da muda conotação especial, em função da demanda energética envolvida e da influência na capacidade de vôo, sendo necessários ajustes que levam a uma variedade de padrões entre elas (Nascimento 1998).

Azevedo & Larrazabal (1999) sugerem um cronograma da muda das penas rêmiges primárias para *Calidris pusilla* (um migrante neártico) com início em agosto/setembro, atingindo a metade da muda das rêmiges primárias em outubro/novembro e concluindo o processo de muda no final de janeiro, quando estão prontos para o regresso às suas áreas reprodutivas. Em *Tryngites subruficollis* foi observado o início do processo de muda em novembro, atingindo metade da muda das penas rêmiges primárias em janeiro e verificando-se a plumagem de inverno completa apenas em março, mês em que as aves partem para o sítio reprodutivo. Segundo Evans (1966), Newton (1966), Ginn (1975), Mallet-Rodrigues *et al.* (1995) e Mallet-Rodrigues & Noronha (2001), passeriformes em geral possuem um padrão básico conhecido de muda das penas, onde mantêm a substituição das penas rêmiges primárias durante todo o processo de muda, abrangendo todo o período de troca de penas de um indivíduo. O mesmo padrão foi verificado em *Tryngites subruficollis*, que possui um processo de muda das penas rêmiges primárias mais lento do que o verificado para as rêmiges secundárias e as retrizes, sendo este processo iniciado em novembro e completo apenas em março. Podemos sugerir que isto ocorre devido a uma maior demanda energética necessária para a troca das rêmiges primárias, relacionando-se possivelmente com a importância para o vôo.

As rêmiges primárias apresentam muda de forma seqüencial, no sentido proximal-distal. A queda da primeira rêmige primária representou o início do processo de muda no indivíduo e a substituição sucessiva das primárias ocorreu paralelamente à troca dos demais grupos de penas. Todos os indivíduos no meio do processo apresentaram mais de uma rêmige primária em muda em diferentes estágios, bem como observado em passeriformes por Mallet-Rodrigues *et al.* (1995).

Mallet-Rodrigues *et al.* (1995) e Mallet-Rodrigues & Noronha (2001) constataram um padrão de muda das penas rêmiges secundárias de passeriformes no qual as penas são substituídas seqüencialmente em sentido oposto ao das rêmiges primárias (das extremidades para o centro), tal qual verificado em *Tryngites subruficollis* no presente trabalho. O pico de diversidade de estágios e de intensidade de muda das rêmiges secundárias em passeriformes ocorre de janeiro a abril (Mallet-Rodrigues *et al.* 1995; Piratelli *et al.* 2000; Mallet-Rodrigues & Noronha 2001) enquanto que para *Charadrius semipalmatus* (Charadriiformes), Nascimento (1998) constatou intensa muda nas diferentes rêmiges secundárias em novembro. Já em *Tryngites subruficollis* ocorre uma maior intensidade na muda e diversidade de estágios em janeiro quando observamos os mais baixos níveis de corticosterona sugerindo que a corticosterona inibe o crescimento das penas, como sugerido por Romero *et al.* (2005) para outra espécie de ave migratória.

Segundo Nascimento (1998), em *Charadrius semipalmatus* as retrizes estão em maior intensidade de muda em novembro, enquanto que para os passeriformes ocorre o mesmo em janeiro e fevereiro, estendendo-se, porém até abril (Piratelli *et al.* 2000). Corroborando com os dados de Piratelli (2000) para passeriformes, a muda das retrizes de *Tryngites subruficollis* ocorre praticamente somente em janeiro e fevereiro. A muda inicia quando a rêmige primária 4-5 está sendo substituída, bem como verificado por Mallet-Rodrigues *et al.* (1995) para *Ramphocelus bresilius* (Passeriformes).

Estes dados mostram que as rêmiges secundárias, bem como as retrizes, são substituídas mais rapidamente do que as rêmiges primárias e que o processo de muda para as penas de vôo de *Tryngites subruficollis*, acompanha a diminuição dos níveis de corticosterona.

Em março, o pico de corticosterona pode determinar a ativação do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal necessário para sensibilização metabólica que terá importância na regulação da demanda energética para a migração, ativando também, o comportamento de dispersão e possibilitando assim, condições bioquímicas e fisiológicas para o retorno ao sítio reprodutivo. Segundo Piersma *et al.* (2000) estudando *Calidris camutus* estes animais apresentam um aumento da atividade locomotora, imediatamente antes da migração estando este associado ao aumento das reservas lipídicas e das concentrações plasmáticas de corticosterona.

Durante o período pré-migratório, juntamente com a deposição de gordura, iniciam-se mudanças metabólicas pré-adaptativas dentre as quais podemos citar a

hiperglicemia (Marsh 1981; Bairlein 1983; Lundgren & Kiessling 1985, 1986; Ramenofsky 1990; Totzke 1996). Padrão de resposta que não foi observado neste estudo para *Tryngites subruficollis* onde observa-se que as concentrações de glicose plasmática não apresentam diferenças significativas ao longo do período de internada; talvez este padrão possa ser explicado por dois mecanismos. O primeiro observado na chegada do animal ao sítio de internada, onde altos níveis de corticosterona (640.38ng/ml) estariam estimulando a gliconeogênese a partir de aminoácidos oriundos do catabolismo das proteínas musculares e assim mantendo glicemia constante. Tal hipótese é reforçada pelos altos níveis de ácido úrico verificados no momento de chegada dos animais em outubro. Romero *et al.* (2005) estudando *Sturnus vulgaris* relacionam a inibição da síntese de proteínas e a estimulação da gliconeogênese via proteínas como dois mecanismos de ação da corticosterona e sua relação com a manutenção do balanço energético. Sartori *et al.* (1996) também, relatam uma relação entre o aumento do catabolismo protéico e da gliconeogênese em codornas submetidas a jejum de longa duração. Estes estudos reforçam a hipótese anteriormente apresentada. O segundo mecanismo pode estar relacionado à atividade de forrageio que mostra-se muito intensa até o mês de novembro, diminuindo e mantendo-se até março; assim o aporte de alimento talvez possa ser suficiente para manter os níveis glicêmicos constantes até o final do período de estudo. Os níveis elevados de corticosterona encontrados em outubro e, em menor intensidade em novembro e dezembro, podem estar estimulando o aumento do comportamento de forrageio e conseqüente hiperfagia, como já verificado por Wingfield (1988), Gray *et al.* (1990) e Astheimer *et al.* (1992) para outras espécies.

Os elevados níveis plasmáticos de lipídios totais apresentados no início do período de internada (outubro) talvez possam ser explicados pelo padrão migratório destas espécies onde as aves alternam períodos de jejum com períodos de realimentação e de estocagem de reservas energéticas ao chegarem aos sítios de parada e após reiniciarem o vôo migratório; portanto, neste período para manterem suas reservas de lipídios, estes animais alteram a quantidade e a qualidade do alimento ingerido. Aves migratórias acumulam reservas lipídicas primariamente a partir da seleção de uma dieta baseada em alto conteúdo lipídico e de um comportamento hiperfágico como observado por Blem (1990), Bairlein & Gwinner (1994) e McWilliams *et al.* (2004) em diferentes espécies de aves migratórias.

A manutenção de níveis lipídicos elevados até o mês de dezembro deve relacionar-se ao padrão de comportamento alimentar das aves e ao fato de que em janeiro se intensifica o processo de muda das rêmiges primárias e secundárias e, este metabólito pode estar sendo utilizado como fonte energética para a realização deste processo que exige do animal um alto gasto metabólico. Bonier *et al.* (2007) estudando *Zonotrichia leucophrys gambelii* verificaram que, durante a muda, os animais alimentavam-se 17% mais e apresentavam níveis lipídicos significativamente menores do que os animais que não estavam em muda, sugerindo assim que os nutrientes durante a muda eram derivados da alimentação e das reservas lipídicas.

Ao longo da permanência de *Tryngites subruficollis* em sítio de invernada verificamos que os níveis plasmáticos de triglicerídios apresentam um pico em janeiro, fato este que pode estar relacionado ao aumento da procura do alimento e conseqüente hiperfagia, uma vez que estes estão passando por um período de alta demanda energética (muda) e necessitam de reservas energéticas para manutenção da homeostasia corporal. É bem conhecido que os níveis plasmáticos de triglicerídios aumentam com a alimentação, bem como, que os lipídios da dieta e os lipídios originários da conversão de carboidratos e proteínas em lipídios no fígado são transportados no sangue na forma de triglicerídios para o tecido adiposo ou para o consumo energético dos órgãos (Jenni & Schwilch 2001). Cabe salientar que, nos tecidos os ácidos graxos são estocados na forma de triglicerídios por ser esta molécula praticamente anidra (apenas 5% de água) contendo assim, de oito a dez vezes mais energia do que os tipos alternativos de reservas metabólicas (Robinson 1970).

Ao verificarmos a proporção de triglicerídios verifica-se que ela variou de 3.62% a 29.01% do conteúdo de lipídios totais, sendo os percentuais mais altos verificados no mês de janeiro, onde é observado o pico de muda das rêmiges secundárias e retrizes, com uma maior diversidade de rêmiges primárias. Padrão semelhante foi verificado para a relação de colesterol total, HDL e LDL, onde observa-se um aumento desta proporção em janeiro. O colesterol total variou de 10.43% a 78.82% do conteúdo de lipídios totais, sugerindo ser um importante metabólito para esta espécie.

Sarasola *et al.* (2004) estudando *Larus cachinnans* verificaram que as concentrações de colesterol total foram afetadas pela composição qualitativa da dieta (Yeh & Leveille 1972; Ferrer & Dobado-Berrios 1998), bem como, relacionaram as concentrações plasmáticas deste metabólito com o ganho de massa de machos e de

fêmeas. Contudo, no presente trabalho não foram observadas variações significativas nos níveis de colesterol total apenas de sua proporção em relação aos lipídios totais ao longo dos meses de captura no período de invernada, tampouco foi verificada uma relação com a massa corporal.

O HDL é uma lipoproteína cuja principal função é a de transportar reservas energéticas dos tecidos para a corrente sanguínea e daí ao fígado, talvez por isto, os níveis de colesterol HDL apresentem uma diminuição significativa ao final do período de invernada, uma vez que o animal está pronto para retornar ao sítio reprodutivo e necessita reservas energéticas teciduais disponíveis para enfrentar o processo migratório. Já o pico de HDL encontrado em janeiro pode estar relacionado a disponibilização desta lipoproteína para que ela transporte as reservas energéticas (triglicerídios) liberando-os na corrente sanguínea para utilização e para a manutenção da homeostase durante a muda.

Os níveis plasmáticos de colesterol LDL não apresentam diferenças significativas ao longo do período de invernada, contudo é possível observar uma tendência de aumento deste metabólito no mesmo período onde ocorre aumento da corticosterona plasmática (março), possivelmente este acréscimo esteja relacionado com a síntese de hormônios esteroidais como a corticosterona.

Entre as três formas de colesterol (HDL, VLDL e LDL) o colesterol LDL parece ser o mais importante para o animal, pois apresenta-se em maior proporção em relação ao colesterol total, principalmente no mês de março (84.14%); possivelmente isto ocorra por ser este o substrato para a síntese de corticosterona.

Altos níveis de ácido úrico (20.3 a 64.7 mg/dl) em muitas espécies de aves indicam privação de alimento, estando relacionado ao catabolismo de proteínas teciduais por causa do jejum (Okumura & Tasaki 1969; García-Rodríguez *et al.* 1987). Contudo, os valores médios encontrados no presente trabalho para o ácido úrico variam entre 0.7 e 3.95 mg/dl, os quais segundo a literatura são considerados baixos, indicando não haver uma mobilização intensa das reservas protéicas e dando evidência de boas condições fisiológicas, principalmente em termos de metabolismo protéico, para os sítios de parada e principalmente para o sítio de invernada (García-Rodríguez *et al.*, 1987).

De acordo com Schmueli *et al.* (2000) a privação de alimento resulta em um aumento dos níveis plasmáticos de triglicerídios e baixos níveis de creatinina. Neste estudo os níveis de creatinina variaram de 1.32mg/dl em janeiro a 14.41mg/dl em

outubro, estes níveis mostram uma mais ampla taxa de variação, quando comparados a outras espécies como garças e gansos (0.6–1.2 mg/dl) (Gee *et al.* 1981). A atividade da creatina quinase plasmática é bastante utilizada como indicador de dano no tecido muscular esquelético causado pelo exercício físico (Clarkson *et al.* 1992; Morton & Carter, 1992; Komulainen *et al.* 1995; Sorichter *et al.* 1997; Clarkson & Sayers 1999), e é adequado para utilização em aves segundo uma série de estudos (Franson *et al.* 1985; Bollinger *et al.* 1989; Dabbert & Powell 1993; George & John 1993; Knuth & Chaplin 1994; Totzke *et al.* 1999). Segundo a literatura grande parte das aves apresenta níveis elevados de creatina quinase ao chegarem ao sítio de invernada os quais diminuem gradativamente durante a sua permanência. Contudo, no presente trabalho, em outubro foram encontrados níveis mais baixos de creatina quinase (80mg/dl) do que durante os demais meses de permanência e um pico desta atividade no mês de dezembro (388.06mg/dl).

Segundo Guglielmo *et al.* (2001) encontrar níveis baixos de dano muscular em aves limícolas não é surpreendente. Primeiro, é possível que os indivíduos com alto nível de dano muscular não tenham sido capturados porque desapareceram rapidamente da população, morrem ou pararam de migrar. Segundo, a aptidão Darwiniana, o custo de um dano muscular severo pode ser muito alto, levando a uma forte seleção das aves restando apenas àquelas capazes de suportarem a distância do voo e que tenham condições para minimizar o dano. Terceiro, o músculo do voo pode ser adaptado a exercícios de alta intensidade, apresentando mecanismos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos capazes de prevenir o dano, como por exemplo, o sistema antioxidante. O que poderia explicar os resultados aqui apresentados.

Segundo a literatura durante a muda uma alta proporção de proteínas é repostas (Newton 1969, 1996; Murphy 1996), assim, o processo de muda pode afetar o metabolismo pelo aumento do requerimento energético e da síntese de proteínas (Lindström *et al.* 1993). Contudo, no presente trabalho observamos que os níveis plasmáticos de proteínas totais não apresentam diferenças significativas ao longo do período de invernada.

Os animais do presente estudo ao chegarem ao sítio de invernada apresentam a massa corporal média característica da espécie (56-67g) (Connor's 1983), esta aumenta em novembro (61g) possivelmente porque ao chegarem os espécimes iniciam uma intensa atividade de forrageio (*observação pessoal*), uma vez que necessitam recuperar suas reservas energéticas e para prepararem-se adequadamente para o período de muda

anual que lhes capacitará ao retorno ao seu sítio reprodutivo. Contudo, durante os demais meses de permanência a massa corporal diminui gradativamente até atingir valores mínimos em março (50.85g), possivelmente o peso ideal para retorno ao sítio reprodutivo. Os dados de massa encontrados em campo para *Tryngites subruficollis* assemelham-se aos determinados por Connor's (1983), inclusive quanto ao comportamento da massa corporal ao longo da permanência em sítio reprodutivo, onde o autor sugere a presença de uma massa ideal que facilitaria o processo de migração. A única exceção está relacionada a massa máxima para machos, visto que o autor determina 78g e neste trabalho o peso máximo encontrado foi de 69g.

A sexagem das aves através da morfologia das penas rêmiges primárias (Lanctot *et al.* 1998) não se mostrou eficaz nos dados coletados no sítio de invernada quando comparada à sexagem molecular, uma vez que a porcentagem de sobreposição dos dados não chegou a 50%. Estudos aumentando o número amostral são necessários para esclarecerem estes aspectos.

Os resultados sugerem que a corticosterona tem um importante papel na regulação do metabolismo intermediário e possivelmente de comportamentos como o forrageio e a dispersão, estando assim diretamente relacionados com os ajustes bioquímicos e fisiológicos que permitem a *Tryngites subruficollis* atingir condições para o retorno ao seu sítio reprodutivo.