

LUCYENNE GISELLE POPP

**SAZONALIDADE DE EXCREÇÃO DE CORTICÓIDES UROFECALIS E SUA  
RELAÇÃO COM ASPECTOS REPRODUTIVOS E DE MANEJO EM  
PAPAGAIOA-DE-CARA-ROXA (AMAZONA BRASILIENSIS) EM CATIVEIRO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientadora:  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosana Nogueira Morais

CURITIBA  
2006



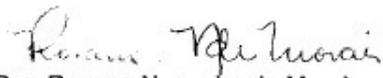
## PARECER

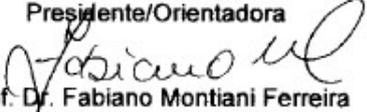
A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação da Mestranda **LUCYENNE GISELLE POPP BRASIL QUEIROZ**, Candidata ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária, após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

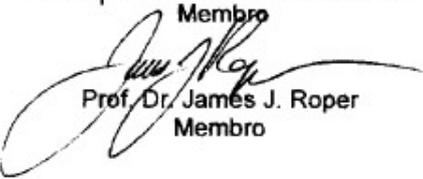
- 1) A Dissertação, intitulada **"SAZONALIDADE DA EXCREÇÃO DE CORTICÓIDES URO-FECAIS E SUA RELAÇÃO COM ASPECTOS REPRODUTIVOS E DE MANEJO EM PAPAGAIO-DE-CARA-ROXA (*Amazona brasiliensis*) EM CATIVEIRO"**, foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) A Candidata apresentou-se muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03 – CEPE considerou a candidata **APROVADA** concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária.

Curitiba, 27 de julho de 2006.

  
Profa. Dra. Rosana Nogueira de Moraes  
Presidente/Orientadora

  
Prof. Dr. Fabiano Montiani Ferreira  
Membro

  
Prof. Dr. James J. Roper  
Membro

**Deus**

**Que nos deu o dom da vida e a oportunidade de adquirir conhecimentos...**

**Eu agradeço!**

## DEDICATÓRIA

**Aos meus filhos Luciano e Julia deixo o meu amor e o exemplo,**

**Aos meus pais Lorival e Vitalina, agradeço o exemplo e o amor**

## AGRADECIMENTOS

Aos meus filhos Luciano e Julia, pelo carinho e amor que sempre me ofereceram,

Aos meus pais, pelo carinho e amparo das horas difíceis,

Ao Lincoln, pelos momentos inesquecíveis na Ilha do Superagüi,

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosana Nogueira Morais, minha orientadora, pelo compartilhamento do conhecimento, compreensão e amizade,

Aos meus familiares Fernando, Paulo, Rosane e Lourenço, pelas palavras de coragem e as mãos sempre estendidas,

Aos meus familiares Rosi, Roosevelt, D. Elza e Sr. Newton, pela firmeza e incentivo,

Ao amigo Pedro Scherer Neto, por ter me apresentado o papagaio-de-cara-roxa na Ilha do Superagüi em 1983,

Aos animais que o destino colocou em meu caminho, razão de escolha da minha profissão,

Ao Manoel Lucas Javorouski pela amizade me incentivado a aceitar este desafio, e colocando todos os recursos disponíveis a meu favor,

Ao Álvaro Campos Neto, tratador dos papagaios-de-cara-roxa, pela sua participação efetiva ajudando não só nas coletas, mas com idéias,

José Francisco de Jesus, “Tamandaré”, chefe de tratadores do Zoológico, por sua dedicação com o andamento do projeto,

À Patrícia Serafini, amiga e colaboradora incansável, mais do que participação na fase de coleta e de laboratório, uma pesquisadora nata,

Ao Prof. Dr. Ambires C. M. Riella, amigo e mestre pelas palavras de coragem,

A Tânia Maria Zotto, amiga de infância, por me presentear os seus com livros preciosos,

Aos amigos do Departamento de Zoológico Maria Lúcia Gomes, Oneida Lacerda, Marcelo Bonat, pelo carinho e por estarem sempre prontos à concretização do projeto,

A Jaqueline Schwab, Silvio Biscaia, Sandra Trevisan, Maurício G. da Silva, pela amizade e incansável ajuda nas listas de orçamentos e afins,

A amiga Tereza Christina Margarido, que me presenteou com valiosas correções e sugestões na elaboração deste estudo,

Ao Marcos Traad da Silva atual diretor do Departamento de Zoológico, e Ana Silvia Passerino, diretora do Departamento de Zoológico em 2001/4, pelo apoio ao empreendimento profissional de seus colaboradores,

A todos aqueles do Departamento de Zoológico que participaram do projeto,

A Elenise Angelotti Bastos Sipinski, a “Tise” pela confiança em nosso trabalho e por todos os conhecimentos contidos neste trabalho compartilhados com muito carinho,

A Maria de Lourdes e Osmar pelo exemplo de força de vontade e amor à natureza,

À Ângela Louise Reghelin, estagiária do Laboratório de Fisiologia da Reprodução, pelo trabalho preciso e cansativo, mas sempre sorrindo,

A Katherinne Sperciski, Luciana B. da R. Santos, e todos o pessoal do Laboratório de Fisiologia da Reprodução, pela colaboração de todas as horas para a efetivação dos ensaios,

Prof. Luis Cláudio Fernandes, por permitir a utilização de equipamentos de laboratório,

À Carmen Lúcia K. Rebelatto, Daniela Vandresen Pilonetto e Samira Miguel Fadel, do Setor de Imunogenética do Hospital de Clínicas, pelo apoio durante as leituras da eficiência da extração,

À Gislaine Custódio Piovezan, do Setor de Hormônios do Hospital de Clínicas, pela ajuda nas leituras de radio-imuno-ensaio,

A Maria José Botelho Maeda, da Coordenação de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, suas palavras de incentivo foram decisivas,

A Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental, pela parceria,

Ao SIMEPAR, pela objetividade de informações,

A Fundação Araucária, pelo apoio financeiro,

A Prefeitura Municipal de Curitiba – Secretaria Municipal de Meio Ambiente – por possibilitar a pesquisa,

**E a todos os que de alguma forma me ajudaram, muitas vezes sendo com um olhar, eu agradeço...**

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	x
Lista de Figuras – Capítulo 1 - .....	x
Lista de Figuras – Capítulo 2 - .....	x
LISTA DE TABELAS .....	xi
Lista de Tabelas – Capítulo 2 - .....	xi
CAPÍTULO 1 – PRÓLOGO - .....	01
1. Biodiversidade .....	02
2. Papagaios em cativeiro .....	04
3. Estresse .....	06
4. Referências .....	10
CAPÍTULO 2 – SAZONALIDADE DE EXCREÇÃO DE CORTICÓIDES UROFECALIS E SUA RELAÇÃO COM ASPECTOS REPRODUTIVOS E DE MANEJO EM PAPAGAIO-DE- CARA-ROXA ( <i>Amazona brasiliensis</i> ) EM CATIVEIRO	
1. Resumo .....	14
2. Abstract .....	15
3. Introdução .....	15
4. Material e Métodos .....	19
4.1 Animais e manejo .....	19
4.2 Coleta de amostras urofecais .....	20
4.3 Extração e dosagens de corticóides urofecais .....	21
4.4 Análise estatística .....	21
5. Resultados .....	22

5.1 Comportamento .....	22
5.2 Corticóides uofecais .....	22
6. Discussão .....	26
7. Conclusões .....	29
8. Referências .....	29
9. Anexos .....	36

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1

- Figura 1 – Papagaio-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*), animal mantido no acervo do Departamento de Zoológico de Curitiba – Prefeitura Municipal de Curitiba, exemplar macho, Curitiba, PR, 2003-2004 ..... 03
- Figura 2 – Mapa da Baía de Paranaguá (Paraná) onde se concentra a maior parte da população de papagaios-de-cara-roxa, evidenciando a Ilha Rasa, um dos principais locais de procriação da espécie em seu habitat natural, Fonte: SPVS 2006..... 03

### Capítulo 2

- Figura 1 – Corticóides urofecaís (ng/g; média  $\pm$  EPM) em machos e fêmeas de papagaio-de-cara-roxa, por estação do ano. Curitiba, PR, 2003-2004 ..... 35

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 2

- TABELA 1 – Corticóides urofecais em papagaios-de-cara-roxa (n=13) em cativeiro nas quatro estações anuais, com temperatura, umidade e luminosidade (médias  $\pm$  erro padrão). Curitiba, PR. 2003-2004 ..... 24
- TABELA 2 – Corticóides urofecais em papagaios-de-cara-roxa (n=13) em cativeiros (casal e individual), ocorrência de comportamento reprodutivo, postura e contenção, (médias  $\pm$  erro padrão). Curitiba, PR. 2003-2004 ..... 25

## **CAPÍTULO 1**

### **PRÓLOGO**

## 1. Biodiversidade

Os novos desafios impostos pelo século XXI incluem a definição e aplicação de estratégias conservacionistas, em caráter de urgência, de modo a conservar a biodiversidade, diminuindo os danos causados às espécies (flora e fauna) em decorrência das atividades humanas em áreas críticas (MURPHY,1997). Entre estas, estão as florestas úmidas que sofrem pressão antrópica intensa, o que no caso da Floresta Atlântica, culminou na perda de mais de 90% de seu território original (WILSON, 1997). Como consequência, algumas espécies foram extintas, sendo que algumas delas desapareceram antes mesmo de terem sido descritas.

Uma das espécies endêmicas da Floresta Atlântica é o papagaio-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*; Fig.1), cuja área de ocorrência é o complexo estuarino-lagunar litorâneo, numa faixa territorial contínua de 3.075 km<sup>2</sup>, desde o sul do Estado de São Paulo até o norte de Santa Catarina (SCHERER-NETO 1989; MARTUSCELLI, 1995; CAVALHEIRO, 1999; SIPINSKI, 2003). Parte da área norte da Baía de Paranaguá, no Estado do Paraná, onde se concentra 70% da população de papagaio-de-cara-roxa, tem aproximadamente 4900 indivíduos (SIPINSKI, comunicação pessoal, 2006), foi considerado pela UNESCO como Reserva da Biosfera em 1991 (SIPINSKI, 2003; Fig 2) e este fato deve ter contribuído para que a espécie, que se encontrava na categoria de extinção crítica em 1995, passasse para a categoria de espécie vulnerável, no ano de 2004 (MIKICH e BÉRNOS, 2004).



Figura 1 – Exemplar macho de Papagaio-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) mantido no acervo do Departamento de Zoológico de Curitiba – Prefeitura Municipal de Curitiba. Curitiba, PR 2003 – 2004. Foto: Alessandra Martins.



Figura 2 – Mapa da Baía de Paranaguá (Paraná) onde se concentra a maior parte da população de papagaio-de-cara-roxa, evidenciando a Ilha Rasa, um dos principais locais de procriação da espécie em seu habitat natural – Fonte: SPVS – Curitiba, PR, 2006.

## 2. Papagaios em cativeiro

Psitacídeos são mantidos em cativeiro por vários motivos, tais como a obtenção de aves de companhia ou pela raridade de algumas espécies para os colecionadores. Estes dois motivos fomentam o mercado ilegal de animais silvestres, responsáveis pela predação de ninhos de papagaios (WRIGHT *et al.*, 2001), o que se constitui numa das principais ameaças de extinção, juntamente com a perda de habitat.

Alguns programas de reprodução de aves em cativeiro têm o objetivo de recuperação de espécies ameaçadas de extinção e na América Central a recuperação da população do papagaio-de-porto-rico (*Amazona vittata*) é um exemplo da procriação em cativeiro com a finalidade de soltura em habitat original (WHITE JR. *et al.*, 2005). VILELLA<sup>1</sup> (comunicação pessoal) relatou que se utilizaram técnicas de enriquecimento ambiental, incluindo a confecção de caixas-ninho simulando a situação encontrada no habitat original, além de câmeras de monitoramento com a finalidade de acompanhar o desenvolvimento dos animais, diminuindo o estresse causado pela presença humana durante a fase de incubação e cuidados com os filhotes, e evitando a dependência dos humanos. Tais pesquisadores conseguiram reprodução em cativeiro e um grupo de animais pode ser reintroduzido em seu habitat natural. Porém, antes que este grupo de papagaios nascidos em cativeiro retornasse à vida livre, foi necessário que aprendessem a reagir com o ambiente natural, sendo um dos treinamentos mais drásticos, o de aprender a fugir do predador (no caso um gavião), em que se criou a simulação do ataque do predador, causando um momento estressante muito forte, mas fundamental para a sobrevivência.

---

<sup>1</sup> Palestra proferida no Museu de História Natural do Capão da Imbuia, Departamento de Zoológico: “**Plano de Recuperação do Papagaio de Porto Rico**”, Prof. Dr. Francisco J. Vilella, junho de 2005, Curitiba, Pr.

O Programa de Conservação do Papagaio-de-cara-roxa tem o apoio da Fundação Nacional de Meio - Ambiente para a conservação desta ave em seu território natural, que é conduzido pela Sociedade de Proteção da Vida Selvagem e Educação Ambiental, e o plantel que se encontra alojado no Zoológico de Curitiba, que é o objetivo deste estudo, destina-se a pesquisa na área de biologia, medicina veterinária e reprodução. Se houver necessidade de reposição populacional, este estudo será um dos embasamentos científicos para que tal programa possa ser efetivado.

A manutenção de psitacídeos seja para fins de exposição, coleção ou mesmo como aves de companhia, implica no controle do estado sanitário e do bem - estar do animal dentro de parâmetros adequados para a espécie (RUPLEY, 1999). Entretanto, apesar do estado sanitário ser de monitoramento relativamente fácil, o bem-estar animal, ao contrário, é difícil de ser mensurado. Por exemplo, não existe uma definição precisa para o termo bem-estar animal, o que gera ainda muita polêmica entre especialistas da área. O tema central associado ao conceito de bem-estar envolve principalmente a qualidade de sensações subjetivas por parte do animal. Deste modo para se prover bem-estar, o ambiente de cativeiro deve atender ao máximo possível às necessidades imediatas e futuras do animal, de modo que ele se sinta bem. O monitoramento do bem-estar animal baseia-se na avaliação de indicadores comportamentais, fisiológicos, clínicos ou patológicos. Comportamentos associados à dor, medo, auto-mutilação, agressividade e apatia, por exemplo, bem como sinais claros de doença, são classicamente indicadores de que o bem-estar animal não está sendo atingido. Por outro, o sucesso reprodutivo, em todas suas etapas, normalmente só é atingido quando os indivíduos estão em um ambiente favorável, sendo sugestivo de bem-estar (VON HOLST, 1998). Para animais mantidos em zoológicos existe uma série de recomendações e protocolos padronizados para que o bem-estar animal seja alcançado, bem como a definição de

parâmetros para a sua monitorização, o que pode aumentar a chance de sucesso dos programas de reprodução em cativeiro (SMITH, 2004).

Para o papagaio-de-cara-roxa não existem relatos científicos de reprodução em cativeiro, entretanto, já foram registrados nascimentos em alguns zoológicos e criadouros europeus e brasileiros (LOW, 2006). Algumas características da espécie como a ausência de dimorfismo sexual, a sazonalidade reprodutiva, a maturidade sexual relativamente tardia e a monogamia duradoura, entre outras, podem ser consideradas dificuldades para se conseguir manejar com sucesso e de modo estável a reprodução de grupos em cativeiro. Soma-se a isso a dificuldade de adequar o ambiente de cativeiro frente a escassez de dados acurados sobre as necessidades nutricionais da espécie bem como diagnóstico sanitário (GUEDES *et al.*, 2001).

### **3. Estresse**

Um indivíduo em total condição de saúde e bem-estar possui a capacidade de reagir e interagir com todos os estímulos percebidos, tanto os de origem sócio - ambiental quanto os de origem interna, como acontece com o ciclo reprodutivo, saciedade, fadiga entre outros. A cada resposta gerada pelos estímulos uma pequena oscilação na homeostasia também é gerada e o organismo contrabalança retornando ao estado inicial, ou seja, o de equilíbrio (FOWLER, 1986). Dependendo da intensidade e/ou duração do estímulo, o desequilíbrio pode ser persistente, acarretando o envolvimento de respostas mediadas pelo Sistema Nervoso Autônomo e sistema endócrino para o retorno do estado de homeostasia. Se o indivíduo consegue adaptar-se ao estímulo por meio destas respostas, não há comprometimento da saúde como um todo. Entretanto, a estimulação continuada deste conjunto de reações neuro-endócrinas, pode prejudicar as funções orgânicas, levando à estados variáveis de

comprometimento do bem-estar animal, sendo nesta condição, classicamente chamado de estresse.

Em qualquer ambiente em que uma espécie viva, seja em vida livre ou em cativeiro, os indivíduos estarão expostos a situações de estresse, o que é um aspecto normal e extremamente importante da vida, já que a resposta efetiva a estes desafios ambientais é soberana para a eficiência biológica. Entretanto, o estresse crônico, caracterizado pela presença prolongada de um estressor, ou o estresse agudo, mais extremo, como aqueles associados com uma situação nova e extremamente aversiva ou amedrontadora, é de muita preocupação, podendo levar a imuno-supressão, perda de peso, depressão, apatia e mudanças comportamentais de longa duração. Indicadores fisiológicos de estresse são normalmente utilizados em estudos de bem-estar animal, sendo que o desenvolvimento de técnicas não invasivas de monitoramento aumentou a possibilidade de seu uso mais difundido para monitorar animais em cativeiro, principalmente para espécies selvagens. Existe um consenso de que a percepção por parte do animal da natureza da situação estressora é o maior determinante da intensidade de sua resposta. Por exemplo, onde o animal tiver algum controle sobre o seu ambiente e puder prever a ocorrência do estressor, a resposta ao estresse será menor. Entretanto se um animal de vida livre por algum motivo (resgate de inundações, vítima de tráfico ou outras causas) passa a ser mantido em cativeiro, este pode ser considerado um dos maiores estressores, já que o animal encontra-se em um local com poucos recursos estratégicos de fuga, além de estar em um ambiente imprevisível, podendo levá-lo a sofrer de estresse crônico. Ao contrário, um animal nascido e/ou criado em cativeiro (como ocorre com psitacídeos retirados de ninhos ainda filhotes), este se torna dependente dos cuidados humanos, e o cativeiro é o seu ambiente seguro e previsível. Mesmo quando ocorre a mudança de recinto, alguns poucos dias são necessários para a sua adaptação e o estresse crônico não ocorre, salvo em situações adversas, como por exemplo interferências de

visitantes (zoológicos), localização inadequada de recinto com exposição excessiva de calor, vento ou frio, mudanças abruptas de alimentação. A função da resposta de estresse é manter a homeostasia orgânica, de modo que respostas comportamentais e fisiológicas ocorram e permitam ao animal reagir de modo satisfatório ou adaptar-se à situação estressante. Quando esta adaptação não ocorre de modo completo ou satisfatório, o bem-estar animal pode ser comprometido e, aí sim, passa a prejudicar a saúde do animal (VON HOLST, 1998, SMITH, 2004).

A resposta ao estresse envolve a ativação do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal, estimulando o tecido adreno-cortical a sintetizar e secretar glicocorticóides em maior quantidade (OGLESBEE *et al.*, 1997; BENTLEY, 1998; GOYMANN *et al.*, 2002; DENHARD *et al.*, 2003), sendo que nas aves, o principal glicocorticóide secretado é a corticosterona. A quantificação desta resposta adrenal é utilizada como parâmetro endócrino de estresse, e pode ser feita tanto pela determinação da concentração do hormônio plasmático bem como dos seus metabólitos excretados na urina ou fezes. Esta última, denominada método de monitoramento não invasivo, pode ser aplicada para todos os hormônios esteróides, podendo mensurar a atividade adrenocortical e gonadal, nas diferentes fases reprodutivas, bem como verificar as interações entre atividade adrenal e reprodução.

O monitoramento de esteróides urofecaís em aves de vida livre ou em cativeiro é facilitado pelo método não invasivo, visto que permite a coleta das amostras seqüenciais e com menores intervalos, ao contrário de amostras plasmáticas. Também o fato de não se conter o animal evita a descarga adrenocortical, o qual pode mascarar os reais níveis de esteróides circulantes. Entretanto, para a obtenção de dados confiáveis é recomendado padronizar as amostras de fezes: colher as amostras no mesmo horário, observar fatores ambientais, homogeneidade da amostra, armazenamento (MILLSPAUGH e WASHBURN 2004). Validações para a quantificação de corticóides fecais em aves foram efetuadas tanto

para ensaios radio-marcados como enzimáticos (WASSER *et al.*, 2000; GOYMANN *et al.*, 2002; DENHARD *et al.* 2003; RETTENBACHER *et al.*, 2004).

Utilizando-se do monitoramento não invasivo em gansos, constatou-se que existe uma relação entre corticóides fecais, comportamentos reprodutivos e sazonalidade (KOTRSCHAL *et al.* 1998, 2000; HIRSCHENHAUSER *et al.* 2000). A baixa temperatura é um fator ambiental também estressante nas aves, encontrando-se relação negativa entre a temperatura mínima na noite anterior e os níveis de corticóides fecais, sugerindo que a corticosterona está envolvida nos processos de termorregulação das aves (FRIGERIO *et al.* 2004). As interações sociais são particularmente importantes para aves monogâmicas e para aves formadoras de bandos, representando momentos particulares de ativação adrenal, como detectado por HIRSCHENHAUSER *et al.* (2000). Ocorre uma maior agressividade por parte dos machos durante o período reprodutivo, o que também é observado em psitacídeos, a qual pode ou não estar associada aos níveis circulantes de testosterona (MILLAM, 1999). Essa situação, tanto para o agressor quanto para o agredido, representa uma situação de desafio, levando à acionamento adreno-cortical.

#### 4. Referências

- BENTLEY, P.J. **Comparative vertebrate endocrinology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1998.
- CAVALHEIRO, M.L. **Qualidade do ambiente e características fisiológicas do papagaio-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) na Ilha Comprida – São Paulo**. 105 p. Dissertação (Mestrado em Conservação da Natureza) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 1999.
- DENHARD, M.; SCHREER, A.; KRONE, O.; JEWGENOW, K.; KRAUSE, M.; GROSSMANN, R. Measurement of plasma corticosterone and faecal glucocorticoid metabolites in a chicken (*Gallus domesticus*), the great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), and the goshawk (*Accipiter gentilis*). **General and Comparative Endocrinology**. n.3 p.345 – 352, 2003.
- FRIGERIO, D.; DITTAMI, J.; MÖSTL, E.; KOTRSCHAL, K. Excreted corticosterone metabolites co-vary with ambient temperature and air pressure in male Graylag geese. **General and Comparative Endocrinology**. v.15, n.137, p.29 – 36, 2004.
- GUEDES, N. M.R.; SCHERER-NETO, P.; CARCIOFI, A. C.; WERTHER, K.; BIASIA, I.; GIOVANARDI, A.; CAVALHEIRO, M.L. Order Psittaciformes (Parrots, Macaws, Conures) In: *Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals*. 1th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 2001.
- GOYMANN, W., MÖSTL, E.; GWINNER, E. Corticosterone Metabolites can be Measured Noninvasively in Excreta of European Stonechats (*Saxicola torquata rubicola*). **The Auk**. v.119, n. 4, p. 1167 – 1173, 2002.
- HIRSCHENHAUSER, K.; MÖSTL, E.; WALLNER, B.; DITTAMI, J.; KOTRSCHAL, K. Endocrine and Behavioural Responses of Male Greylag Geese (*Anser anser*) to

Pairbond Challenges during the Reproductive Season. **Ethology**, Berlin, n. 106, p. 63 – 77, 2000.

KOTRSCHAL K.; HIRSCHENHAUSER, K; MÖSTL, E. The relationship between social stress and dominance is seasonal graylag geese. **Animal Behaviour**, n.55, p. 171-176, 1998.

KOTRSCHAL K.; DITTAMI, J.; HIRSCHENHAUSER, K; MÖSTL,E. ; PECZELY P. Effects of physiological and social challenges in different seasons on faecal testosterone and corticosterone in male domestic geese (*Anser anser*). **Acta Ethologica**, n 2, p. 115-122, 2000.

LOW, R. Breeding *Brasiliensis* in Brasil. **The Parrot Society UK**.

Disponível em:

<http://www.theparrotsocietyuk.org/conarticle2.shtml>

Acesso em: 10 julho 2006.

MARTUSCELLI, P. Ecology and conservation of the Red-tailed Amazon, *Amazona brasiliensis* in southeartern Brazil. **Bird Conservation International**. n.5, p. 225 – 240, 1995.

MIKICH, S.B; BÉRNOS, R.S. (Organizadores) **Livro vermelho da fauna ameaçada no Estado do Paraná**. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná, 2004.

MILLAM, J. R. Reproductive management of captive parrots. **North American Veterinary Clinic and Practices of Exotic Animal**. n. 2 (1) p 93 – 110. 1999.

Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt>>

Acesso em: 26 janeiro 2005.

- MILLSPAUGH, J.J.; WASHBURN, B.E. Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. *General Comparative Endocrinology*, n.138, p.189 – 199, 2004.
- MURPHY, D. D. Desafios à diversidade biológica em áreas urbanas. In: Biodiversidade. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 1997. p. 89 – 97.
- RETTENBACHER, S; MÓSTL, E.; HACKL, K.; GHAREEB, K.; PALME, R. Measurement of corticosterone metabolites in chicken droppings. *British Poultry Science*, v.45, n. 5, n. 704 – 711, 2004.
- RUPLEY, A. E. **Manual de clínica aviária**. São Paulo: Editora Roca, 1999.
- SCHERER-NETO, P. **Contribuição à biologia do papagaio-de-cara-roxa *amazona brasiliensis* (LINNAEUS, 1758) (Psittacidae, aves)**. 170p. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1989.
- SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 2001.
- SIPINSKI, E. A.B. **O papagaio-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) na Ilha Rasa, Pr – Aspectos ecológicos e reprodutivos e relação com o ambiente**. 74p. Dissertação (Mestrado em Conservação da Natureza) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 2003.
- SMITH, T. **Zoo research guidelines: Monitoring stress in zoo animals**. The British and Irish Association of Zoos and Aquariums (BIAZA), 1ª publicação. Londres, 2004. (disponível em : [http://www.zoofederation.org.uk/uploads/Zoo\\_Research\\_Guidelines-Monitoring\\_Stress\\_in\\_Zoo\\_Animals.pdf](http://www.zoofederation.org.uk/uploads/Zoo_Research_Guidelines-Monitoring_Stress_in_Zoo_Animals.pdf))
- TOUMA, C.; PALME, R. Measuring Fecal Glucocorticoid Metabolites in Mammals and Birds: The Importance of Validation. *Annals New York Academy of Science*. n.1046, p.54 – 68, 2005.

- VON HOLST, D. The concept of stress and its relevance for animal behavior. In: *Advances in the study of behavior*, vol.27, 131p. Academic Press, 1998.
- WASSER, S.K.; HUNT,K.E.; BROWN,J.L.; COOPER,K.; CROCKETT,C.M.; BECHERT,U.; MILLSPAUGH,J.J.; LARSON,S.; MONFORT,S. A Generalized Fecal Glucocorticoid Assay for Use in a Diverse Array of Nondomestic Mammalian and Avian Species. **General and Comparative Endocrinology**. n.120, p.260 – 275, 2000.
- WHITE JR. T. H.; COLLAZO, J.A.; VILELLA,F.J. Survival of captive-reared puerto-rican parrots released in the Caribbean National Forest. *The Condor*. n.107, p. 424 – 432,2005.
- WILSON, E. O. A situação da diversidade biológica. In: *Biodiversidade Rio de Janeiro*: Editora Nova Fronteira, 1997. p 3 – 23.
- WRIGHT, T.F.; TOFT,C.A.; ENKERLIN-HOEFLICH,E.; GONZALEZ-ELIZONDO,J.; ALBORNOZ, M.; RODRIGUES-FERRARO, A.; ROJAS-SUAREZ,F.; .SANZ, V.; TRUJILLO, A.; BEISSINGER, S.; BEROVIDES, V.; GÁLVEZ, X.A.; BRICE, A.T.; JOYNER, K.; EBERHARD, J.; MARTUSCELLI, P.; GILARDI, J.; KOENING, S.E.; STOLESON, S.; MEYERS, M.; RENTON, K.; RODRIGUEZ, A. A.; SOSA-ASANZA, A.; VILELLA, F.J., WILEY, J.W. Nest Poaching in Neotropical Parrots. **Conservation Biology**. v.15, n.3, p.710 – 720, 2001.

SAZONALIDADE DA EXCREÇÃO DE CORTICÓIDES UROFECALIS E SUA  
 RELAÇÃO COM ASPECTOS REPRODUTIVOS E DE MANEJO EM PAPAGAIO-  
 DE-CARA-ROXA (*Amazona brasiliensis*) EM CATIVEIRO.

(*Seasonal changes of fecal corticoid excretion in captive red-tailed Amazon -Amazona  
 brasiliensis- and relationship with reproduction and management*)

LUCYENNE GISELLE POPP<sup>a</sup>, PATRÍCIA PEREIRA SERAFINI<sup>b</sup>, ÂNGELA  
 LOUISE REGHELIN<sup>c</sup>, KATHERINNE SPERKOSKI<sup>d</sup>, JAMES JOSEPH ROPER<sup>e</sup>  
 ROSANA NOGUEIRA DE MORAIS<sup>f</sup>

a) M.V. – PMC-SMMA - Departamento de Zoológico de Curitiba.

b) M.V. MSc - Sociedade de Proteção da Vida Selvagem e Educação Ambiental – SPVS.

c) Acadêmica de Medicina Veterinária - Universidade Federal do Paraná

d) M.V., Mestranda, Universidade Federal do Paraná – Setor de Ciências Biológicas

e) MSc., PhD- Universidade Federal do Paraná – Setor de Ciências Biológicas

f) DVM, MSc., PhD- Universidade Federal do Paraná – Setor de Ciências Biológicas -

Correspondência: moraisrn@ufpr.br - Universidade Federal do Paraná, PR.

Tel: 041- 3361 1719

## 1. RESUMO

A excreção sazonal de corticóides urofecais foi mensurada em papagaios-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) adultos cativos, distribuídos em recintos individuais (seis pares e um macho solitário). A média global foi  $12,60 \pm 0,32$  ng/g (n=585 amostras fecais entre treze indivíduos) em quinze meses, sendo menor no outono e equiparando-se nas outras estações. Observou-se menor excreção de corticóides em três casais “pareados” – afinidade de comportamento reprodutivo (2003/2004), do que em casais “não-pareados”. No inverno três fêmeas e três machos foram contidos em gaiolas (coleta individual de fezes, duas noites/semana) elevando a excreção de corticóides. Aparentemente, os papagaios apresentaram um padrão dual de secreção de corticóides: um basal e outro global associado aos ajustes da estação reprodutiva, sendo alto na primavera e verão. Conclui-se que a

quantificação de corticóides urofecais em psitacídeos pode monitorar a atividade adrenocortical de animais em cativeiro, refletindo respostas aos estressores no cativeiro, auxiliando o manejo reprodutivo.

Palavras-chave: papagaio-de-cara-roxa; corticóides fecais; sazonalidade; reprodução; cativeiro.

## 2. ABSTRACT

Seasonal patterns of fecal corticoid excretion were analyzed in adult Red-tailed Parrots (*Amazona brasiliensis*) in captivity (six pairs and one male). Global mean corticoid excretion rate during the experiment (15 months) was  $12.60 \pm 0.32$  ng/g (n=585) and the lowest levels were found in the Fall. Although breeding failed for the two breeding seasons, in the three pairs that exhibited reproductive behaviors, corticoid excretion was lower than for the unpaired birds. Three males and three females were kept in cages and their corticoid excretion increased, suggesting stress. Parrots apparently have two patterns of fecal corticoid excretion: basal, associated with physiological adaptations to environmental conditions, and reproductive, with greater excretion during spring and summer. In conclusion: fecal corticoid measurement is efficient for examining adrenocortical function in psitaciformes. Also, these measurements may inform researchers about physiological adaptation to imposed stress in captivity, and also may be used as an auxiliary tool to help pair-bond selection for captive breeding.

Keywords: red-tailed-amazon; fecal corticoids; seasonality; reproduction; captivity.

## 3. INTRODUÇÃO

Os papagaios, principalmente os neotropicais, estão entre as aves mais ameaçadas do planeta, com cerca de 31% das espécies em risco de extinção global (WRIGHT *et al.*, 2001).

O papagaio-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) é uma espécie endêmica da Floresta

Atlântica, encontrado na região litorânea sul-sudeste do Brasil (SCHERER-NETO, 1989; CAVALHEIRO, 1999; SICK, 2001; SIPINSKI, 2003). Classificada como em perigo de extinção até 1995, atualmente, graças às medidas conservacionistas, encontra-se como espécie vulnerável (MIKICH e BÉRNIO, 2004). A destruição do habitat e o tráfico de filhotes, normalmente retirados diretamente dos ninhos, são as principais ameaças para a espécie (WRIGHT *et al.*, 2001).

O gênero *Amazona* apresenta como característica marcante a policromia com predominância da cor verde, tendo o papagaio-de-cara-roxa os lados da cabeça em azul, garganta e vértice arroxeados, e nas retrizes observa-se uma faixa subterminal vermelha e pontas amarelo-esverdeadas. Esta espécie tem ciclo reprodutivo sazonal no período de Setembro a Março, alcançando a maturidade sexual entre três e quatro anos de idade com a formação de casais monogâmicos. Ocorre uma única postura de dois a três ovos no ano, com período de incubação de 27 a 28 dias, sendo o cuidado dos filhotes compartilhado pelo casal. Os grupos estáveis interagem e geralmente ocupam as copas de árvores onde um indivíduo exerce a função de sentinela. Alimentam-se durante as primeiras horas da manhã e durante o resto de dia menos ativamente. Despendem a maior parte do dia em interações sociais e repouso, alimentando-se novamente no final da tarde, antes de se recolherem para os locais de dormitório (SCHERER-NETO, 1989; CAVALHEIRO, 1999; RUPLEY, 1999; SIPINSKI, 2003).

Um indivíduo necessita de aptidão para viver em seu ambiente, seja ele em vida-livre ou em cativeiro, sendo a homeostase a condição básica para o organismo exercer as suas funções; entretanto o ambiente, as relações sociais e até mesmo o próprio organismo geram inúmeros estímulos, sendo que alguns destes podem quebrar o equilíbrio homeostático, determinando o estado de estresse. A resposta de um indivíduo a estímulos estressores envolve a ativação do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal, com aumento da secreção de

glicocorticóides. Nas aves, o principal glicocorticóide é a corticosterona (OGLESBEE et al., 1997; BENTLEY, 1998), com secreção em resposta ao estresse, qualquer que seja o fator estressante. Assim como em mamíferos, estes esteróides são metabolizados no fígado e excretados na urina e fezes (BACILA, 2003; TOUMA e PALME, 2005), podendo ser quantificados para monitorização da função gonadal e adrenal, permitindo colheitas múltiplas, sem o estresse adicional provocado pela contenção do animal e manipulação durante a venipunção, gerando dados mais acurados do estado endócrino do animal em comparação com a dosagem sanguínea (TOUMA e PALME, 2005).

Os psitacídeos enfrentam diferentes desafios no ambiente de vida livre, dependendo da época do ano, tais como alterações na temperatura, luminosidade e disponibilidade de alimentos. Entretanto, durante a estação reprodutiva o número de fatores estressantes aumenta, em decorrência das interações sociais para formação de casais, da maior necessidade de alimento e da defesa de territórios e ninhos contra predadores. Nestes momentos, as oscilações climáticas muitas vezes se sobrepõem às necessidades fisiológicas nas repostas orgânicas ao estresse (BREUNER e ORCHINIK, 2000). No ambiente de cativeiro algumas destas variáveis podem ser controladas e mantidas constantes ao longo do ano como, por exemplo, a oferta de alimentos, a luminosidade ou mesmo a temperatura ambiente, o que poderia representar uma redução das condições de estresse e ganho no bem-estar animal e, como consequência, maior possibilidade de sucesso reprodutivo. Entretanto, por outro lado, o cativeiro pode limitar o repertório comportamental das aves e introduzir novos fatores de estresse como, por exemplo, a imposição da presença humana, ou a co-habitação forçada entre indivíduos que não se “simpatizam” entre si (WAUGH e ROMERO, 2000). Portanto, considerando todos os fatores que podem interferir no relacionamento entre os animais, enfatizando a importância das causas comportamentais, pode – se também considerar que a

reprodução de papagaios em cativeiro seja considerada um desafio para os especialistas da área e, especificamente no caso do *A. brasiliensis*, são raros os relatos de sucesso.

A quantificação em aves de corticóides urofecais vem sendo utilizada para estudar o efeito do estresse agudo ou crônico, sazonalidade, estado reprodutivo, idade, atividade migratória, organização social, gênero, entre outros, sobre a função adrenal (WASSER *et al.*, 1997, 2000; KOTRSCHAL *et al.*, 1998, 2000; HIRSCHENHAUSER *et al.*, 2000,2005; CARERE *et al.*, 2003; DEHNHARD *et al.*, 2003; HARTUP *et al.*, 2004, MILLSPAUGH e WASHBURN, 2004; SCHEIBER *et al.*, 2005 TOUMA e PALME, 2005). Para algumas espécies do gênero *Amazona* existem dados disponíveis de corticosterona sérica após desafio com corticotrofina (ZENOBLE *et al.*1985; LOTHROP *et al.*, 1985; WALSH *et al.*, 1985), e ainda dois estudos com esteróides sexuais em fezes de psitacídeos (LEE *et al.*, 1999; DIAS, 2003). Entretanto, não existem dados publicados para corticóides urofecais em psitacídeos sendo este, provavelmente, um trabalho pioneiro para o gênero.

Deste modo, a quantificação longitudinal da excreção de corticóides urofecais em papagaios-de-cara-roxa mantidos em cativeiro foi utilizada no presente estudo para testar a hipótese de que a taxa de excreção de corticóides pode ser utilizada como um indicador do bem-estar animal frente a desafios climáticos, reprodutivos e de manejo. Nossos objetivos específicos foram: 1) testar se existe variação sazonal da atividade adrenocortical em papagaios-de-cara-roxa mantidos em cativeiro e a existência de sua correlação com a temperatura e fotoperíodo; 2) testar se existe uma relação entre excreção de corticóides e aspectos reprodutivos; 3) testar se a excreção de corticóides está associada com variáveis do manejo de cativeiro (rotina diária, manutenção da instalação física e manejos e contenção em gaiola).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Animais e manejo

Treze adultos (sete machos, seis fêmeas) de papagaios de cara-roxa foram estudados, todos originários de apreensão pelo IBAMA – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, portanto animais ilegalmente mantidos em situação de cativeiro e habituados ao contato humano. Eles foram destinados ao Zoológico de Curitiba-PR (25,4 S: 49,3 W) onde são mantidos no setor de manutenção e reprodução do sem acesso do público. Foram mantidos em um único recinto coletivo até três meses antes do início do estudo, quando foram transferidos para recintos menores contendo um solário (2,5x4,10x2,6m) e um abrigo (2,5x1,2x2,6m), no qual estava disponível uma caixa ninho. Neste momento, foram pareados pelas preferências aparentes que eles demonstraram. A via de passagem entre solário e abrigo foi mantida aberta o tempo todo, na maior parte do experimento, de modo que os indivíduos de cada casal tinham acesso livre a todo o ambiente. Modificações nesse manejo tiveram que ser feitas para permitir a colheita individual de fezes, como será explicitado posteriormente. Finalmente, um dos machos foi mantido sozinho em um recinto maior (2,5x5,3x2,6m). O manejo de rotina diário consistiu-se em limpeza e alimentação dos animais, com dieta composta de frutas, castanhas, grãos e suprimento de ração comercial para cães (*PROPLAN*<sup>®</sup> - Purina) e água *ad libitum*. Controle parasitário profilático foi feito semestralmente.

Após a fase piloto do experimento, constatou-se que para a colheita individual de amostras de fezes os indivíduos de cada casal deveriam ser separados durante um período do dia. Deste modo, as fêmeas foram mantidas dentro do abrigo, duas vezes por semana, durante a noite anterior ao dia de coleta de fezes (~17:00 as 9:30), enquanto os machos, foram restritos ao solário. Entretanto, durante o inverno, devido às baixas temperaturas, houve nova modificação deste manejo já que por recomendação dos curadores das aves, machos e fêmeas

tiveram que ser recolhidos no abrigo diariamente para pernoitar. Sendo assim, duas vezes por semana, no dia anterior ao de coleta, três machos e três fêmeas, eram separados em gaiolas metálicas para aves de companhia (0,40x 0,40 m e 0,50 m), enquanto os seus respectivos pares pernoitaram no abrigo.

Observações diárias do comportamento foram feitas pelo tratador e pesquisadores envolvidos na coleta de fezes, utilizando-se o método de “vistoria” de rotina, passando diariamente pelos recintos e observando os animais detalhadamente. Uma vez por semana em cada recinto foram verificados os equipamentos e instalações. Os registros foram qualitativos, para ocorrência ou não de comportamentos de interação social harmônica, isto é, foi observado se os indivíduos mantinham – se calmos, faziam limpeza das próprias penas, alimentavam-se com calma e limpavam o bico no poleiro. Na estação reprodutiva, a ocorrência de cômte (interpretada como real formação do casal) foi constatada pelo aumento de comportamentos sociais, dentre eles a limpeza social (limpeza mútua das penas, debicagem das penas do parceiro, principalmente na região da cabeça), oferta de alimento do macho para a fêmea, compartilhamento dos poleiros, bem próximos um do outro, brincadeiras entre si (GUEDES e SCHERER-NETO, 2001). Também se observou a ocorrência ou não de cópula e postura, sendo que esta última era verificada diariamente pelo tratador, por meio da inspeção do ninho no momento da alimentação. E finalmente, o registro da ocorrência da muda ou troca das penas, fenômeno de característica gradual, mas com perda maior de penugens e penas sendo observada em determinado período, normalmente sinalizando o final do período reprodutivo.

#### **4.2. Coleta de amostras urofecais**

Duas amostras de fezes semanais de cada indivíduo foram coletadas entre outubro de 2003 e dezembro de 2004. O piso dos recintos foi recoberto com filme plástico ao final do dia

e, na manhã seguinte, entre 8:30 e 9:30, todo o material fecal foi recolhido, embalado, identificado e mantido a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o processamento e análise.

#### **4.3. Extração e dosagem dos corticóides urofecais**

A extração dos esteróides foi feita segundo SCHWARZENBERGER *et al.*(2001) e JAVOROUSKI (2003), e foi utilizado o material uro-fecal total. Em resumo, as amostras foram homogeneizadas e uma alíquota de  $\sim 0,5\text{g}$  foi transferida para tubo contendo 5,0 ml de etanol 90% (v:v em salina-fosfatada -PBS). Para monitorar a eficiência da extração, 100  $\mu\text{l}$  de  $^3\text{H}$ - Estradiol foi adicionado a cada tubo ( $\sim 10.000$  cpm), sendo os tubos, a seguir, agitados por inversão rotatória durante 12 horas. Após centrifugação ( $1500 \times g/15$  min), o extrato foi diluído 1:1 em PBS e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . O total de radiação recuperado por extrato foi determinado após contagem em cintilador.

Os corticóides foram quantificados por radio-imuno-ensaio de duplo anticorpo (Corticosterone ICN Biomedicals, USA), previamente validado para o uso em aves (WASSER *et al.*, 2000). Os resultados, corrigidos para a eficiência da extração, foram expressos em ng/g de material uro-fecal.

As temperaturas diárias foram obtidas do Sistema de Meteorologia do Paraná (SIMEPAR), para a região e período experimentais, assim como o fotoperíodo (Tab. 1). Outra variável como umidade relativa do ar foi verificada, mas as suas correlações ainda carecem de maiores esclarecimentos quanto ao seu efeito, tais como termos comparativos em ambientes controlados para esta variável.

#### **4.4. Análise Estatística**

Corticóides urofecais foram comparados entre casais, sexo, manejo (mantido ou não em gaiola) por ANOVA e teste de Duncan. Sazonalidade foi testado por ANOVA de medidas

repetidas durante as quatro estações. Foi calculada a média ( $\pm$  EPM) global para todas as amostras e as médias por indivíduo, por casal, por gênero, por manejo (contido ou não contido em gaiolas), e por estação do ano. Também foram determinadas as médias basais e de picos, sendo considerados basais os valores remanescentes após a exclusão sucessiva dos valores acima da média  $\pm 2$  desvios padrão (picos).

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Comportamento**

Durante o período experimental o manejo adotado para a coleta de amostras não causou alterações de gravidade na saúde ou comportamentais nos animais estudados, com exceção de uma fêmea contida em gaiola durante o inverno, a qual exibiu perda de penas na região do peito (provável arrancamento); fato este relacionado com anomalias de comportamento (BAUCK, 1977), o que não exclui a possibilidade de ser uma resposta ao estresse de contenção. Em termos reprodutivos, o comportamento de cômte foi observado apenas em três casais, nas duas estações reprodutivas (primavera), quando também se observou maior agressividade dos machos nestes casais, porém sem observação de cópula, visto que as observações se limitavam às vistorias como se procede na rotina do Zoológico. Uma única fêmea, nas duas estações reprodutivas, fez postura de ovos não fertilizados, confirmados através da ovoscopia, no piso do recinto. Finalmente, a fase de muda foi registrada em todos os animais, com duração aproximada de uma semana, ocorrendo no início do verão, nos dois anos.

### **5.2. Corticóides urofecais**

Foram analisadas 585 amostras urofecais, com uma eficiência média de extração dos esteróides de 92% e coeficientes de variação intra e inter-ensaio (n=7) menores que 10%. A

excreção de corticóides durante todo o período experimental foi similar entre os sexos e teve amplitude de 2,93 a 96,13 ng/g (média de  $12,59 \pm 0,32$  ng/g erro padrão). A maioria das amostras foi classificada como valor de excreção basal ( $9,87 \pm 0,20$  ng/g; n=465), mas 20% das amostras foram consideradas taxas de excreção de picos ( $23,14 \pm 1,02$  ng/g; n=120). Variação sazonal na taxa de excreção de corticóides foi observada tanto em machos como em fêmeas (Fig.1), com diferenças nas médias globais e basais, por estação do ano (Tab. 1).

Diferenças individuais foram observadas, com médias globais variando desde  $7,92 \pm 0,81$  ng/g, no macho sozinho no recinto, até  $17,35 \pm 2,37$  ng/g, em macho pareado, mas sem comportamento reprodutivo (Tab. 2). A análise por casal evidenciou diferenças entre casais e entre indivíduos de cada casal (Tab. 2). Detectou-se ainda uma menor ( $P < 0,05$ ) excreção média de corticóides nos casa que apresentaram comportamento reprodutivo ( $11,69 \pm 0,41$  ng/g, n=271) do que naqueles com ausência de comportamento reprodutivo ( $14,05 \pm 0,52$  ng/g, n=279). Durante o período de muda, o valor médio encontrado foi de 20,20 ng/g, diferindo ( $P < 0,05$ ) do valor médio global para a estação reprodutiva ( $13,32 \pm 0,56$  ng/g) e do verão ( $13,01 \pm 0,89$  ng/g).

O manejo de rotina aplicado aos animais aparentemente não causou variação na excreção dos corticóides urofecais durante as estações da primavera, verão e outono; já a contenção das fêmeas em gaiolas durante o inverno, cuja média global no período ( $15,27 \pm 0,92$  ng/g) foi maior ( $P < 0,05$ ) que a dos machos contidos em gaiolas ( $13,26 \pm 1,27$  ng/g) ou dos indivíduos contidos apenas no abrigo ( $11,52 \pm 0,55$  ng/g).

Tabela 1. Corticóides urofecais em papagaios-de-cara-roxa (n= 13) em cativeiro nas quatro estações anuais, com temperatura, umidade e luminosidade (médias  $\pm$  erro padrão). Curitiba, PR. 2003 – 2004.

	Primavera (Set-Nov)	Verão (Dez-Fev)	Outono (Mar-Mai)	Inverno (Jun-Ago)
Corticóides (ng/g)	Globais $13,32 \pm 0,56^a$ (n=196)	$13,01 \pm 0,89^a$ (n=147)	$9,65 \pm 0,44^b$ (n=100)	$13,21 \pm 0,43^a$ (n=143)
	Basais $9,92 \pm 0,22^a$ (n=171)	$9,85 \pm 0,30^a$ (n=98)	$8,44 \pm 0,29^b$ (n=89)	$10,98 \pm 0,24^c$ (n=107)
Temperatura (C°)	$17,20 \pm 0,19^a$	$20,19 \pm 0,14^b$	$17,20 \pm 0,53^a$	$14,70 \pm 0,21^c$
Umidade (%)	$77,22 \pm 0,53^a$	$79,26 \pm 0,38^b$	$81,31 \pm 0,42^b$	$79,96 \pm 0,58^b$
Fotoperíodo (h)	$12,68 \pm 0,24^a$	$13,47 \pm 0,16^b$	$11,44 \pm 0,31^c$	$10,77 \pm 0,11^d$

\*Letras diferentes indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) entre as estações.

Tabela 2. Corticóides uofecais em papagaios de cara-roxa (n=13) em cativeiro (casal e individual), ocorrência de comportamento reprodutivo, postura e contenção, (médias + erro padrão) Curitiba, PR. 2003 – 2004.

	Casal 1	Casal 2	Casal 3	Casal 4	Casal 5	Casal 6	Isolado
<b>CASAL</b>							
Média corticóides uofecais (ng/g)	13,88 ± 0,65 <sup>a,b</sup>	11,61 ± 0,86 <sup>b</sup>	12,06 ± 0,58 <sup>b</sup>	11,44 ± 0,57 <sup>b</sup>	12,76 ± 0,60 <sup>b</sup>	15,37 ± 1,25 <sup>a</sup>	
FÊMEAS						13,39 ± 0,72 <sup>A</sup>	
Média corticóides uofecais (ng/g)	15,87 ± 0,94 <sup>A</sup>	9,59 ± 1,25 <sup>A</sup>	9,80 ± 0,45 <sup>A</sup>	10,36 ± 0,54 <sup>A</sup>	12,70 ± 0,57 <sup>A</sup>	-	-
Côrte	-	+	+	+	-	+	
Postura	-	+	-	-	-		
Contenção em gaiola	-	-	-	+	+	17,35 ± 2,37 <sup>B</sup>	7,92 ± 0,81 <sup>c</sup>
<b>MACHOS</b>							
Média de corticóides uofecais (ng/g)	11,29 ± 0,70 <sup>B</sup>	13,33 ± 1,15 <sup>B</sup>	14,77 ± 0,99 <sup>B</sup>	12,28 ± 0,90 <sup>B</sup>	12,83 ± 1,08 <sup>A</sup>	-	-
Côrte	-	+	+	+	-		
Contenção em gaiola	+	+	+	-	-		

a/b : letras minúsculas indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) para as médias de corticóides uofecais dos casais

A/B: letras maiúsculas indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) para as médias de corticóides uofecais individuais

+/- : indicam efeito/ ausência de comportamento e/ou manejo.

## 6. DISCUSSÃO

A possibilidade de analisar o perfil sazonal da atividade adrenocortical diante de dois estímulos diferentes: aspectos reprodutivos (fator endócrino) e manejo (interferência humana) permitem que se avaliem importantes eventos deste grupo de papagaios, evidenciando algumas diferenças interessantes entre os dois sexos bem como reconsiderando o estresse.

As comparações entre as estações do ano evidenciaram uma menor excreção de corticóides durante o outono ( $P < 0,05$ ), com níveis igualmente elevados nas demais estações para machos e fêmeas. Entretanto, considerando-se apenas a excreção basal média, o outono continuou representado a estação com menor atividade adrenocortical, que pode estar relacionado, para este grupo estudado, com atividade reprodutiva inativa nesta época do ano, logo a atividade hormonal dos corticóides para a complementação das atividades impostas pelo ciclo reprodutivo nesta época do ano são minimizadas, voltando a ter maior efetividade no preparo da próxima estação de acasalamento. (KOTRSCHAL *et al.*, 1998). A média do inverno obteve um aumento em relação ao outono, se equiparando a primavera e verão, sendo maior para as fêmeas. Apesar dos dados aqui obtidos serem preliminares, e considerando-se a possibilidade de modulações sazonais na ação dos corticóides, por alterações na concentração plasmática de proteínas transportadoras e no número ou afinidade de receptores (BREUNER e ORCHINIK, 2000), aparentemente existiu um padrão dual para a atividade adrenocortical dos papagaios ao longo do ano (BENTLEY, 1997; BREUNER e ORCHINIK, 2000). O primeiro envolveria a atividade basal, talvez mais relacionada com os ajustes do metabolismo energético frente às mudanças nas condições ambientais, com maior secreção de glicocorticóides no inverno, quer seja para termorregulação (FRIGERIO *et al.*, 2004) ou para ajustes metabólicos antecipatórios para a estação reprodutiva, com início na primavera. O segundo envolveria, além da atividade basal, uma maior reatividade das adrenais frente a estressores, fortemente vinculada às necessidades metabólicas e comportamentais essenciais

para a reprodução. Obviamente, sobrepondo-se a este padrão, a ativação adrenal poderia ocorrer a qualquer momento, em resposta a desafios adicionais, imprevistos, seja em cativeiro ou em vida livre, como foi o manejo de contenção em gaiolas, provavelmente como fator adicional ao aumento de excreção dos corticóides nesta estação.

O padrão observado em gansos domésticos, sem variação sazonal na excreção basal, nem na resposta ao desafio com ACTH, porém com aumentos significativos nos corticóides fecais quando confrontados com indivíduos estranhos ao grupo, apenas durante a primavera (KOTRSCHAL *et al.*, 2000), reforçam esta hipótese. Os autores sugerem que, além dos fatores do ambiente, a reatividade adrenal acompanha variações no investimento em reprodução, aumentando a secreção total de corticóides na estação reprodutiva, refletindo maior atividade sexual, competição por parceiros e interações agonistas freqüentes. Em gansos, o padrão de excreção de corticóides fecais apresenta variações nas diferentes etapas do acasalamento, tendo a fase de pré-postura e postura com aumentos nos corticóides fecais dos machos, que declinam quando a fêmea inicia a incubação (HIRSCHENHAUSER *et al.*, 2000). Ainda, machos não pareados secretam mais corticóides do que os pareados e, durante a fase de cuidados com os filhotes, apenas os machos em grupos familiares não reduzem a excreção de corticóides (KOTRSCHAL *et al.*, 1998, 2000). Apesar de não ter havido sucesso reprodutivo no grupo aqui estudado, a alta taxa de excreção de corticóides na primavera e verão pode ser reflexo de interações reprodutivas, com diferenças entre os casais ditos “não pareados” e “pareados”, sendo que nestes últimos, a excreção média foi menor e os machos, possivelmente demonstrando um estado maior de alerta associado à reprodução, tiveram maior excreção de corticóides em relação às fêmeas. Fechando a estação reprodutiva, ocorreu a mudança de plumagem em todos os animais no início do verão, fazendo com que a média global para esta estação também fosse alta.

Analisando os valores médios individuais de corticóides urofecais, confirmou-se uma esperada variação na resposta de cada indivíduo aos diversos fatores de estresse (CARERE *et al.*, 2003). Somando-se a isto, a alta variabilidade entre os indivíduos estudados pode significar que as condições experimentais, aparentemente homogêneas, impuseram fatores de estresse diferentes para cada animal, enfatizando que a menor média individual encontrada foi para o indivíduo solitário, que pode tanto refletir um padrão individual como a ausência de fatores estressores que poderia originar-se da presença de uma fêmea compartilhando o recinto. Em aves com estrutura social como a dos papagaios, onde os parceiros se escolhem livremente, formando pares monogâmicos (SCHERER-NETO, 1989; SIPINSKI, 2003), a presença imposta de um indivíduo do sexo oposto (devido ao pareamento inicial), por exemplo, pode representar um estresse adicional. Isto pode ter implicado na maior excreção de corticóides nos casais não “pareados”, principalmente na primavera, concordando com KOTRSCHAL *et al.* (2000), sendo que o grau de ativação adrenal varia conforme a estratégia adotada frente ao confronto. Em passeriformes, por exemplo, ocorre aumento maior e mais consistente na excreção de corticóides fecais nos animais que adotam a estratégia re-ativa, com longa latência de ataque e alta ativação parassimpática, do que nos de estratégia pró-ativa, com baixa latência de ataque e alta atividade simpática (CARERE *et al.*, 2003).

Finalmente, outros aspectos do manejo utilizado no presente estudo podem ter implicado na alta variação entre os indivíduos, tal como a separação das fêmeas durante a noite, ao longo de todo o experimento, e a contenção dos animais em gaiolas, durante as noites de inverno, que provocou aumento significativo nos corticóides fecais das fêmeas. Entretanto, devido ao reduzido número de indivíduos estudados e a sobreposição de variáveis, os dados não são conclusivos. Apesar disso, a dosagem de esteróides sexuais que já vem sendo realizada para estes mesmos indivíduos, bem como a continuidade do monitoramento

do grupo em estações reprodutivas sucessivas, poderão esclarecer os vários pontos aqui discutidos.

## 7. CONCLUSÕES

Nas condições experimentais aqui descritas e dados obtidos pode-se concluir que a quantificação de corticóides urofecais em psitacídeos é um método eficiente para monitorar a atividade adrenocortical de animais em cativeiro, refletindo os ajustes fisiológicos frente aos diversos estressores. As variações sazonais refletem a sobreposição de fatores ambientais como temperatura e fotoperíodo com fatores comportamentais associados ao estado reprodutivo sendo, tanto para valores globais como basais, o outono a estação de menor atividade adrenocortical. Finalmente, a quantificação de corticóides fecais, pode ser utilizada como ferramenta auxiliar na formação de casais para reprodução em cativeiro, com base no perfil sazonal de excreção de corticóides, prevendo manejos e alterações com o plantel em época de menor atividade adrenocortical (outono).

## 8. REFERÊNCIAS

- BACILA, M. Bioquímica Veterinária. 2º ed. São Paulo: Robe Editorial, 2003.
- BAUCK, L. Avian Dermatology. In: Avian Medicine and Surgery. Philadelphia: .B.Saunders Company, 1997.548 – 562.
- BENTLEY, P.J. **Comparative vertebrate endocrinology**. Cambridge :Cambridge University Press,1998.
- BREUNER C.W.; ORCHINIK,M. Downstream from corticosterone: seasonality of binding globulins, receptor and behavior in the Avian stress response. **Avian Endocrinology**, p.1 –11, 2000.

- CARERE, C.; GROOTHUIS, T.G.G.; MÖSTL, E.; KOOLHAAS, J.M. Fecal corticosteroids in a territorial bird selected for different personalities: daily rhythm and the response to social stress. **Hormones and Behaviour**. n.43, p.540-548, 2003.
- CAVALHEIRO, M.L. **Qualidade do ambiente e características fisiológicas do papagaio-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) na Ilha Comprida – São Paulo**. 105 p. Dissertação (Mestrado em Conservação da Natureza) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 1999.
- DIAS, E.A., **Determinação de sexo de psitacídeos por radioimunoensaio (RIE) de esteróides sexuais e por reação em cadeia de polimerase (PCR) a partir de excretas cloacais**. 114p. Dissertação de Mestrado (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo). 2003
- DENHARD, M.; SCHREER, A.; KRONE, O.; JEWGENOW, K.; KRAUSE, M.; GROSSMANN, R. Measurement of plasma corticosterone and faecal glucocorticoid metabolites in a chicken (*Gallus domesticus*), the great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), and the goshawk (*Accipiter gentilis*). **General and Comparative Endocrinology**. N.3 p.345 – 352, 2003.
- FOWLER, M. E. Stress. In: Zoo and Wild Animal Medicine. Murray E .Fowler. Philadelphia W.D.Saunders Company. 1986 . p .34 – 35.
- FRIGERIO, D.; DITTAMI, J.; MÖSTL, E.; KOTRSCHAL, K. Excreted corticosterone metabolites co-vary with ambient temperature and air pressure in male Graylag geese. **General and Comparative Endocrinology**. V.15, n.137, p.29 – 36, 2004.

- GOYMANN,W., MÖSTLE.; GWINNER,E. Corticosterone Metabolites can be Measured Noninvasively in Excreta of European Stonechats (*Saxicola torquata rubicola*). **The Auk**. v.119, n. 4, p. 1167 – 1173, 2002.
- HARTUP,B.; OLSEN,G.H.; CZEKALA,N.M.; PAUL-MURPHY,J; LANGENBERG,J.A. Levels of fecal corticosterone in sand hill cranes during a human-led migration. **Journal of Wildlife Diseases**, v.40, n.2, p.267 – 272.
- HIRSCHENHAUSER,K.; MÖSTL,E.; WALLNER B.; DITTAMI,J.; KOTRSCHAL,K. Endocrine and Behavioural Responses of Male Greylag Geese (*Anser anser*) to Pairbond Challenges during the Reproductive Season. **Ethology**, Berlin, n. 106, p. 63 – 77, 2000.
- HIRSCHENHAUSER,K.; MÖSTL,E.; KOTRSCHAL,K. Synthesis Measuring Steroid Metabolites in Goose Feces. **Annals New York Academy of Sciences**, n. 1046, p.1 – 16, 2005.
- KOTRSCHAL K.;HIRSCHENHAUSER, K;MÖSTL,E. The relationship between social stress and dominance is seasonal graylag geese. **Animal Behaviour**, n.55, p. 171-176, 1998.
- KOTRSCHAL K.; DITTAMI, J.; HIRSCHENHAUSER, K; MÖSTL,E. ; PECZELY P. Effects of physiological and social challenges in different seasons on faecal testosterone and corticosterone in male domestic geese (*Anser anser*). **Acta Ethologica**, n 2, p. 115-122, 2000.
- JAVOROUSKI, M. L. **Comparação da resposta adrenocortical em fêmeas de felídeos submetidas a anestesia, laparoscopia e manipulação genital**. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

- LEE, J.; TELL, L.; LASLEY, B. A comparison of sex steroid hormone excretion and metabolism by psittacine species. **Wiley Inter Science: Journal**
- Disponível em:  
<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/abstract/67000121>
- Acesso em: 24 fevereiro 2006.
- LOTHROP, Jr. C.D.; OLSEN, J.H.; LOOMIS, M.R.; JENSEN, J.M.; LENHARD, A. Evaluation of adrenal function in psittacine birds, using the ACTH stimulation test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. V.187, n.11, p.1113 – 1115, 1985 .
- MILLAM, J. Reproductive Physiology. In: Avian Medicine and Surgery. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1997. p.12 – 26.
- MILLSPAUGH, J.J.; WASHBURN, B.E. Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. **General Comparative Endocrinology**, n.138, p.189 – 199, 2004.
- MORAIS, R.N.; MOREIRA, N.; MORAES, W.; MUCCILOLO, R.G.; LACERDA, O.; GOMES, M. L. F.; SWANSON, W.F.; GRHAN, L.H.; BROWN, J.L. Testicular and ovarian function in South American felids assessed by fecal steroids. **Proc. American association Zoo Veterinarians**. p. 561 – 565, 1996.
- OGLESBEE, B.L.; OROSZ S.; DORRESTEIN, G. The endocrine system. In: Avian Medicine and Surgery. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1997. p. 475-488.
- RETTENBACHER, S.; MÓSTL, E.; HACKL, K.; GHAREEB, K.; PALME, R. Measurement of corticosterone metabolites in chicken droppings. **British Poultry Science**, v.45, n. 5, n. 704 – 711, 2004.
- RUPLEY, A. E. **Manual de clínica aviária**. São Paulo: Editora Roca, 1999.

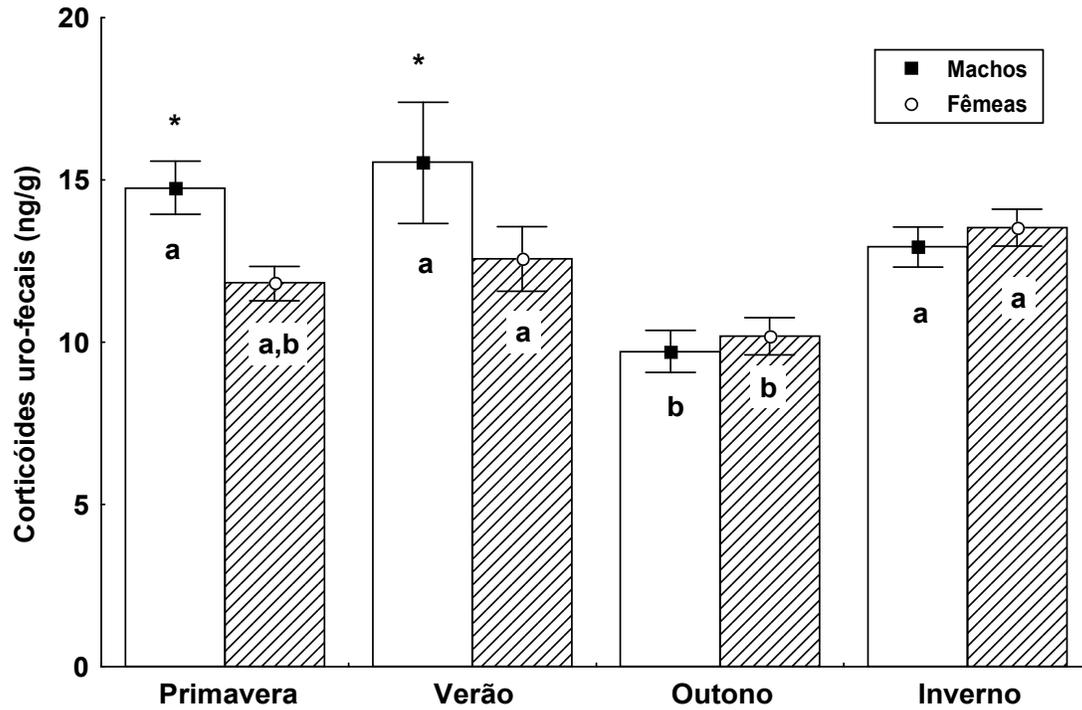
- SCHEIBER I.B.; KRAJL, S.; KOTRSCHAL, K. Sampling effort/frequency necessary to infer individual acute stress responses from fecal analysis in Greylag geese (*Anser anser*). **Annals New York Academy of Science**. n 1046, p154 – 167. 2005.
- SCHERER-NETO,P. **Contribuição à biologia do papagaio-de-cara-roxa *amazona brasiliensis* (LINNAEUS,1758) (Psittacidae, aves)**. 170p.Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1989.
- SCHWARZENBERGER,F.; MÖSTL,E.; BAMBERG,E.; PAMMER,J.; SCHMEHLIK,O. Concentration of progestágenos and oestrogensin the faeces of pregnant Lipizzan, Trotter and Trough-bred mares. **Journal of Reproduction and Fertility.Suppement**. n.44,p.489-499.Cambridge. 1991.
- SICK, H.**Ornitologia brasileira. Rio de Janeiro**: Editora Nova Fronteira, 2001.
- SIPINSKI, E. A.B. **O papagaio-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) na Ilha Rasa,Pr – Aspectos ecológicos e reprodutivos e relação com o ambiente**. 74p. Dissertação (Mestrado em Conservação da Natureza) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 2003.
- TOUMA, C.; PALME, R. Measuring Fecal Glucocorticoid Metabolites in Mammals and Birds: The Importance of Validation. **Annals New York Academy of Science**. n.1046, p.54 – 68, 2005.
- WALSH,M.T.; BELDEGREEN, R.A.; CLUBB,S.L.;CHEN,C.L. Effect of exogenous ACTH on serum corticosterona and cortisol concentration in the Moluccan cockatoo (*Cacatua moluccensis*). **American Journal Research**. n.46,(7), 1584-1588. 1985.
- WASSER,S.K.; HUNT,K.E.; BROWN,J.L.; COOPER,K.; CROCKETT,C.M.; UGH,J.J.; LARBECHERT,U.; MILLSPASON,S.; MONFORT,S. A Genereralized Fecal Glucocorticoid Assay for Use in a Diverse Array of Nondomestic Mammalian and

Avian Species. **General and Comparative Endocrinology**. n.120, p.260 – 275, 2000.

WAUGH, D. R.; ROMERO, G. S. Behaviour of red-tailed amazons *Amazona brasiliensis* during free mate choice in a communal aviary at Loro Park Fundación, Puerto de la Cruz. **International Zoo Year book**. V.37, p 206 – 213, 2000.

WRIGHT, T.F.; TOFT, C.A.; ENKERLIN-HOEFLICH, E.; GONZALEZ-ELIZONDO, J.; ALBORNOZ, M.; RODRIGUES-FERRARO, A.; ROJAS-SUAREZ, F.; SANZ, V.; TRUJILLO, A.; BEISSINGER, S.; BEROVIDES, V.; GÁLVEZ, X.A.; BRICE, A.T.; JOYNER, K.; EBERHARD, J.; MARTUSCELLI, P.; GILARDI, J.; KOENING, S.E.; STOLESON, S.; MEYERS, M.; RENTON, K.; RODRIGUEZ, A.A.; SOSA-ASANZA, A.; VILELLA, F.J.; WILEY, J.W. Nest Poaching in Neotropical Parrots. **Conservation Biology**. v.15, n.3, p.710 – 720, 2001.

ZENOBLE, R.D.; KEMPPAINEN, R.J.; YOUNG, D.W.; CLUBB, S.L. Endocrine responses of healthy parrots to ACTH and thyroid stimulating hormone. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.187, n.11, 1116 – 1118, 1985.



- Letras diferentes indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) entre estações, dentro do sexo, e o asterisco diferenças ( $P < 0,05$ ) entre sexos, na estação.

Figura 1. Corticóides urofecaís (ng/g; média  $\pm$  EPM) em machos e fêmeas de papagaios-de-cara-roxa, por estação do ano. Curitiba, PR. 2003-2004.

## 9. ANEXOS

### Normas para a publicação de artigos na revista da UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ (Paraná).

1. *Acta Scientiarum*: Ciências Humanas e Sociais, ISSN 1679-7361; Ciências Biológicas, ISSN 1679-9283; Ciências da Saúde, INSS 1679-9291; Agronomia, INSS 1679-9275; Zootecnia, INSS 1806-2636; Tecnologias, INSS 1806-2563, são publicadas semestralmente pela Universidade Estadual de Maringá.
2. A revista publica artigos originais. Os autores se obrigam a declarar que seu manuscrito, relatando um trabalho originaril, não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outra revista.
3. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa.
4. Os artigos são publicados em português e em inglês. Devem ser concisos e consistentes no estilo. As idéias e os conceitos emitidos representam unicamente as opiniões do(s) autor(es).
5. Os artigos serão avaliados por três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiros, de comprovada produção científica. A decisão final sobre aceitação, mudanças ou rejeição ficará a cargo do Conselho Editorial
6. Os artigos deverão ser submetidos, preferencialmente, com os seguintes subtítulos: Resumo em português e Abstract em inglês, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências.
7. O título, com no máximo vinte palavras, em português e inglês, deverá ser preciso. Também deverá ser fornecido um título resumido com o máximo de seis palavras.
8. Deverão ser indicados os nomes completos dos autores, seus endereços e o autor para correspondência.
9. O resumo (bem como o abstract), não excedendo 150 palavras, deverá conter informações sobre o objetivo da pesquisa, os materiais experimentais, os métodos acrescentadas no final tanto do resumo como do abstract.
10. Os artigos não deverão exceder a 15 paginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas. Deverão ser escritos em espaço 1 e ter suas páginas numeradas.
11. Para serem submetidos aos consultores, os artigos deverão ser enviados em quatro cópias, três delas sem a identificação de autoria, incluindo figuras, tabelas e gráficos, acompanhados de disquete (3 ½ polegadas) com edição em Word for Windows.
12. Tabelas deverão estar inseridas nos seu respectivos locais dentro do texto.
13. Figuras e gráficos deverão ser remetidos em arquivos com formato JPG, BMP, CDR ou XLS e nunca inseridas no texto. Ilustrações em cores não serão aceitas para publicação.
14. vinte copias (separadas) gratuitas do artigo serão fornecidas ao autor indicado para correspondência.
15. As referências bibliográficas deverão ser organizadas, em ordem alfabética, conforme os exemplos seguintes (ABNT). Citação no texto, usar o sobrenome e ano: Lopes (1980) ou (Lopes, 1980). Para dois autores, utilizar e (Lopes e Silva, 1990); para mais de dois autores, utilizar *et AL*.