



Universidade de Brasília

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Ecologia

**ECOFISIOLOGIA DA MIGRAÇÃO E REPRODUÇÃO DE *Elaenia chiriquensis* (Aves,  
Tyrannidae) NO CERRADO**



Foto: Zélia da Paz Pereira

Zélia da Paz Pereira

Brasília – DF

2015

Universidade de Brasília  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia

**ECOFISIOLOGIA DA MIGRAÇÃO E REPRODUÇÃO DE *Elaenia chiriquensis* (Aves,  
Tyrannidae) NO CERRADO**

Zélia da Paz Pereira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ecologia.

**Orientador:** Miguel Ângelo Marini, Ph.D.

Brasília - DF

2015

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e minha família pelo apoio e força dados ao longo destes quatro anos de doutoramento, caminhada em que tive muita compreensão do meu pai Milton e da minha mãe Manoela e de meus irmãos Paulo, Ednaldo e Daniela, aos quais agradeço o carinho e suporte que ofereceram em diferentes momentos e pelo entendimento das minhas escolhas.

Agradeço à Elmagno Catarino Santos Silva, meu companheiro, pela parceria, companhia e estímulo para realização do doutorado, mas principalmente pelo carinho, paciência, generosidade, amor e zelo a mim dedicados. Estendo o agradecimento à sua família, também importantes na motivação para obter este título.

Agradeço ao meu orientador, Miguel Ângelo Marini, por ter ‘comprado’ minhas ideias de trabalhar com algo novo e inédito para o conhecimento de história de vida de aves do Brasil, sob o olhar ecofisiológico que quis dar desde o início do delineamento do projeto de tese. Ele me permitiu amadurecer, caminhar com as próprias pernas, superar situações inesperadas e buscar concretizar objetivos. Muito obrigada também aos meus colegas de laboratório, Alan, André, Arthur, Daniel, Denise, Gabriela, Luane, Luiza, Mariana, Mariângela, Matthew, Neander, Nelma, Nicole, Paulo, Priscila, Sandro, Sheila, Thiago, Yara e Yonara, pelo apoio e interação ao longo do tempo de convivência no Laboratório de Ecologia e Conservação de Aves.

Agradeço, com muito carinho, aos meus primeiros professores, Dona Célia, Gessi, Maria Auxiliadora, Luiz, Olga, Marcus, e tantos outros que ao longo destes 23 anos de estudos me inspiraram pelo seu exemplo de envolvimento e amor à profissão.

Agradeço à Profa. Dra. Celine de Melo, à Profa. Dra. Regina H. Macedo, à Profa. Dra. Giane Regina Paludo, ao Prof. Rafael V. Monteiro e ao Prof. Dr. Paulo César Motta, que aceitaram serem membros da banca examinadora desta tese de doutorado.

À coordenação e secretaria de Pós-Graduação em Ecologia pelo auxílio durante a realização do curso de doutorado. A CAPES, CAPES-REUNI e CNPq pela concessão de bolsa durante toda a vigência do curso, e ao CNPq e ao Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação (DPP/UnB) pelo apoio financeiro que permitiram a realização deste trabalho, divulgação e participação em eventos científicos. À administração da Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE) pela autorização para realização deste estudo na reserva. À Profa. Giane Regina Paludo por ceder seu laboratório de fisiologia e patologia clínica e à Profa. Ludmilla M. S. Aguiar por ceder seu laboratório de ecologia de mamíferos, nos quais foi possível a realização da preparação das amostras sanguíneas para ideal acondicionamento antes das análises. Ao laboratório Santé, em especial a Gláucia Dias, que possibilitou realizar pela primeira vez as análises de estresse para aves juntamente com o técnico da Roché, ao qual também sou grata por acompanhar e garantir a acurácia das análises.

A todos, finalmente, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO GERAL</b> .....	12
---------------------------	----

<b>ABSTRACT</b> .....	15
-----------------------	----

### APRESENTAÇÃO GERAL

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	18
-------------------------	----

<b>ÁREA DE ESTUDO</b> .....	19
-----------------------------	----

<b>ESPÉCIE DE ESTUDO</b> .....	20
--------------------------------	----

<b>REFERÊNCIAS</b> .....	21
--------------------------	----

### CAPÍTULO I Custos fisiológicos em migrar e reproduzir: relação entre massa e hematócrito de *Elaenia chiriquensis* no Cerrado

<b>RESUMO</b> .....	24
---------------------	----

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	25
-------------------------	----

<b>MÉTODOS</b> .....	29
----------------------	----

<i>Captura dos indivíduos e coletas sanguíneas</i> .....	29
--	----

<i>Análises estatísticas</i> .....	30
------------------------------------	----

<b>RESULTADOS</b> .....	31
-------------------------	----

<i>Hematócrito</i> .....	31
--------------------------	----

<i>Diferenças sexuais no hematócrito</i> .....	32
--	----

<i>Massa</i> .....	33
--------------------	----

<i>Hematócrito e massa</i> .....	33
----------------------------------	----

<i>Hematócrito, sexo e massa</i> .....	36
--	----

<b>DISCUSSÃO</b> .....	37
------------------------	----

<b>REFERÊNCIAS</b> .....	41
--------------------------	----

**CAPÍTULO II** Estresse e sucesso reprodutivo de *Elaenia chiriquensis* na fase de incubação de ovos no Cerrado

<b>RESUMO</b> .....	47
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	48
<b>MÉTODOS</b> .....	53
<i>Procura e monitoramento de ninhos</i> .....	53
<i>Captura, marcação e coleta de amostras de sangue de indivíduos em nidificação</i> .....	54
<i>Análises hormonais</i> .....	55
<i>Análises estatísticas</i> .....	56
<b>RESULTADOS</b> .....	57
<b>DISCUSSÃO</b> .....	59
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	64

**CAPÍTULO III** Estresse durante o cuidado parental: quanto mais velhos os ninhegos mais estressada a fêmea

<b>RESUMO</b> .....	71
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	72
<b>MÉTODOS</b> .....	75
<i>Procura e monitoramento de ninhos com ninhegos</i> .....	75
<i>Taxa de entrega de alimento</i> .....	75
<i>Captura, marcação e coleta de amostras de indivíduos em nidificação</i> .....	76
<i>Análises hormonais</i> .....	77
<i>Análises estatísticas</i> .....	78

<b>RESULTADOS</b> .....	78
<b>DISCUSSÃO</b> .....	81
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	84
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	89

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

Figura 1. Diferenças nos valores de hematócrito da migrante *Elaenia chiriquensis* no ano de 2012 ao longo das três fases (chegada, reprodução e partida) em que esta permanece no Cerrado. O símbolo \* indica significância e NS indica não significância .....32

Figura 2. Diferenças nos valores médios de hematócrito de fêmeas e machos de *Elaenia chiriquensis* durante o período em que permanecem no Cerrado, nas fases de chegada, reprodução e partida, para o ano de 2012 .....33

Figura 3. Relação entre massa e hematócrito de indivíduos de *Elaenia chiriquensis* no Cerrado para o ano de 2012. No quadrante superior esquerdo o gráfico representa o período total de permanência, à direita a chegada, no quadrante inferior esquerdo o gráfico do período de reprodução e à direita a fase de partida .....36

### CAPÍTULO II

Figura 1. Procedimento das análises de dosagem de corticosterona em plasma de *Elaenia chiriquensis* no equipamento Cobas pelo imunoensaio por eletroquimioluminescência (ECLIA) em 2013 no Laboratório Santé® .....56

Figura 2. Massa (g) e níveis de corticosterona (ng/mL) das fêmeas de *Elaenia chiriquensis* em incubação no ano de 2012, comparando aquelas que falharam com as que obtiveram sucesso reprodutivo da fase de incubação para a fase eclosão de ovos em área reprodutiva da Estação Ecológica de Águas Emendadas, Brasília, DF .....57



Figura 3. Relação entre níveis de corticosterona (ng/mL) e massa corporal (g) das fêmeas de *Elaenia chiriquensis* em incubação na área de estudo em 2012. Fêmeas com sucesso da fase de incubação de ovos para fase de eclosão de ninhegos representadas pelos círculos fechados e fêmeas que falharam entre as mesmas fases representadas por círculos abertos .....59

### **CAPÍTULO III**

Figura 1. Relação entre TEA (taxa de entrega de alimento) (entregas/hora/ninho) e massa corporal (g) dos ninhegos de *Elaenia chiriquensis* no período inicial **A** e final **B** .....79

Figura 2. Valores médios com erro padrão de estresse das fêmeas de *Elaenia chiriquensis* em duas fases: inicial: quando os ninhegos tinham entre 1 e 2 dias e final: quando os ninhegos tinham entre 10 e 11 dias .....81

## ÍNDICE DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1. Resultados do modelo Ancova para valores de hematócrito de *Elaenia chiriquensis* em relação às fases (chegada, reprodução e partida), à massa e interação entre fases temporais e massa. O símbolo \* representa interação entre as variáveis .....34

Tabela 2. Estimativas do modelo Ancova para valores de hematócrito em relação à massa em diferentes fases (chegada, reprodução e partida) de *Elaenia chiriquensis* no Cerrado, para o ano de 2012. O símbolo \* representa interações entre as variáveis .....35

Tabela 3. Tabela 3. Estimativas do modelo Ancova para valores de hematócrito em relação a sexo e massa em diferentes fases (chegada, reprodução e partida) de *Elaenia chiriquensis* no Cerrado, para o ano de 2012. O símbolo \* representa interações entre as variáveis .....37

### CAPÍTULO II

Tabela 1. Valores estatísticos de regressão da relação entre massa e corticosterona de *Elaenia chiriquensis* em reprodução na Estação Ecológica de Águas Emendadas, Brasília, DF .....58

### CAPÍTULO III

Tabela 1. Resultados dos modelos lineares generalizados (GLMs) para explicar os níveis de liberação do hormônio corticosterona em fêmeas de *Elaenia chiriquensis* no Cerrado, na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF, no ano de 2012. Os modelos foram testados em relação à fase de cria dos ninhegos (inicial, com 1 a 2 dias de idade e final, com 10 a 11 dias de idade), taxa de entrega de alimento e massa dos ninhegos nas respectivas fases .....80

*“Eu que reclamava que não tinha sapatos,  
encontrei um homem que não tinha pés.”*

Provérbio Chinês

## RESUMO GERAL

Recentemente tem aumentado o número de estudos investigando aspectos ecológicos de história de vida das aves por meio de parâmetros fisiológicos. A migração e a reprodução, como fases física e comportamentalmente custosas, podem ser investigadas com análises fisiológicas, utilizando variáveis sanguíneas como hematócrito e níveis de estresse. Assim, a espécie *Elaenia chiriquensis* foi escolhida como modelo de estudo de ecofisiologia da migração e reprodução. Esta espécie é uma das que apresentam menor período de ocorrência enquanto está na área reprodutiva no Cerrado. Assim, há um curto período de tempo após a chegada da migração para se recuperar desta atividade, se preparar para reproduzir, realizar a reprodução e se preparar para migrar de volta. A coleta de dados foi realizada no ano de 2012, em uma área de 100 ha de Cerrado na Estação Ecológica de Águas Emendadas, Distrito Federal. *Elaenia chiriquensis* é uma espécie com ampla distribuição neotropical que migra da região amazônica do Brasil para o Cerrado do Brasil Central para realizar a reprodução, a qual ocorre entre meados de setembro e fim de dezembro. Foram acompanhados os períodos de chegada, reprodução e partida da espécie por meio de captura em redes de neblina, colheita de sangue e monitoramento de ninhos. No capítulo I, foi determinado o hematócrito da população nas três fases acompanhadas. Nos capítulos II e III as amostras sanguíneas foram utilizadas para análises de níveis de estresse (corticosterona por meio de eletroquimioluminescência). No capítulo III, além das análises de estresse, o período de ninhos foi dividido em duas fases, inicial (1 a 2 dias de vida) e final (10 a 11 dias de vida), nas quais foram medidas as massas dos ninhos e taxa de entrega de alimento pelos pais. No capítulo I, verificamos a existência de mudanças temporais na relação entre hematócrito e massa em indivíduos de *E. chiriquensis*, demonstrando que há diferenças fisiológicas relativas à perda ou ganho de massa e nos níveis de hematócrito sanguíneo. *Elaenia chiriquensis* tem massa média e hematócrito na fase de chegada muito similar à média populacional apresentada ao longo do período de permanência no

Cerrado, porém sem relação significativa ( $F_{2,27} = 0,27$ ,  $r = 0,03$ ,  $p > 0,05$ ). Na reprodução não houve uma relação significativa destes parâmetros ( $F_{2,45} = 5,03$ ,  $r = 0,003$ ,  $p > 0,05$ ). Por outro lado, há uma relação forte e significativa na fase em que os indivíduos migram de volta ( $F_{2,24} = -47,98$ ,  $r = 0,51$ ,  $p < 0,05$ ) com aumento significativo de massa e hematócrito. A relação que estudamos indica que o aumento da massa e hematócrito estão fortemente conectados em pelo menos uma das fases do ciclo de vida desta espécie, demonstrando que a maioria dos indivíduos de *E. chiriquensis* que se preparam para partir para as áreas de invernada, o fazem em boas condições fisiológicas. No capítulo II descrevemos a variação natural na corticosterona (hormônio indicador de estresse) e mostramos que seus níveis indicam o compromisso dos pais com a incubação de ovos e futuro sucesso de eclosão dos mesmos. De forma geral, as fêmeas amostradas durante o período reprodutivo apresentaram média de massa de 15,78 g, sendo que as fêmeas que falharam eram mais pesadas com 17,81 g em média ( $t = 6,48$ , g.l. = 48,  $P < 0,05$ ) do que aquelas que obtiveram sucesso de eclosão. As fêmeas que não obtiveram sucesso na incubação apresentaram menores níveis de corticosterona ( $7,59 \pm 2,55$  ng/mL;  $N = 22$ ), enquanto as fêmeas que obtiveram sucesso tiveram maiores níveis ( $16,26 \pm 3,24$  ng/mL;  $N = 27$ ), com diferença significativa entre os dois grupos ( $t = 16,75$ ; g.l. = 48,  $P < 0,05$ ). Mostramos que há diferenças na secreção do hormônio de estresse entre os indivíduos com e sem êxito reprodutivo na eclosão de ovos, sendo que fêmeas com níveis elevados de corticosterona foram as mais bem sucedidas. No capítulo III, avaliamos como a liberação de corticosterona, indicadora de estresse no ciclo de cria dos ninhegos, pode ser associada a custos nessa fase para as fêmeas. Assim, avaliamos o padrão de liberação da corticosterona de fêmeas de *Elaenia chiriquensis* durante o período de cria de ninhegos no ninho comparando duas fases, inicial (com 1-2 dias de idade) e final (com 10-11 dias de idade), considerando também o investimento da mãe na taxa de entrega de alimento aos ninhegos e as massas dos ninhegos. Comparando-se os dois períodos analisados, na fase inicial de cria dos ninhegos a taxa de entrega de alimento foi em média de  $7,7 \pm 1,18$  entregas/hora/ninho, com massa média dos ninhegos de 2,2

$\pm 0,78$  g. Nessa fase, as fêmeas apresentaram níveis de corticosterona baixos de  $65,3 \pm 27,41$  ng/mL (N = 24). Já na fase final de cuidado com os ninhegos, a taxa de entrega de alimento apresentou maior média com  $17,5 \pm 1,63$  entregas/hora/ninho, sendo que os ninhegos pesaram em média  $12,3 \pm 0,70$  g. As fêmeas estavam com níveis de estresse maiores que no início da fase, apresentando média de  $156,4 \pm 26,44$  ng/mL (N = 24). Tanto os níveis de estresse parental ( $t = 13,67$ ; g.l. = 23;  $p < 0,05$ ), a taxa de entrega de alimento ( $t = 22,04$ ; g.l. = 23;  $p < 0,05$ ) e a massa dos ninhegos ( $t = 52,27$ ; g.l. = 23;  $p < 0,05$ ) foram significativamente maiores na fase final da cria dos ninhegos. O GLM mostrou que a variação na liberação de corticosterona é devido às fases em si do que ao esforço materno, aqui medido pela taxa de entrega de alimento e a massa ganha pelos ninhegos. Nosso estudo mostrou que à medida que o cuidado com os ninhegos no ninho avança no tempo, *E. chiriquensis* eleva seu nível de estresse conforme o aumento da idade dos ninhegos. Assim, considerando a condição corporal média apresentada pela espécie ao longo do período estudado, avaliamos que a espécie consegue chegar bem ao local de reprodução, mostra alguma alteração ao longo da reprodução e migra de volta também em boas condições. Tanto as fêmeas em incubação quanto as avaliadas em cuidado parental com os ninhegos apresentam ter sucesso em cada fase associado aos elevados níveis de corticosterona. O estado de estresse nestas fases está relacionado com as demandas metabólicas de cada fase em particular e com o compromisso com a reprodução atual. Se pensarmos que a espécie tem um período curto de tempo para realizar suas atividades, o estado de estresse, aqui medido pela corticosterona, pode ajudá-la a cumprir seus custosos compromissos e ainda iniciar em boas condições o retorno para a área de invernada.

## ABSTRACT

The number of studies investigating ecological aspects of bird life histories through physiological parameters has increased recently. The migration and reproduction, as physical and behaviorally costly phases, can be investigated with physiological analyses, using variables such as blood hematocrit and stress levels. Thus, we chose *Elaenia chiriquensis* as a study model of migration and reproductive ecophysiology. This species is one with the shortest period of occurrence in the reproductive area. So, there is a short time to arrive from migration, recover from this activity, prepare to reproduce, reproduce, and get ready to migrate back. Data collection was carried out in 2012, in an area of 100 ha of Cerrado in Estação Ecológica de Águas Emendadas, in the Federal District. *Elaenia chiriquensis* is a species with wide distribution in the Neotropics and migrate from the Amazon region of Brazil to the Central Brazil savannah to reproduce, which occurs between mid-September through late December. Periods of arrival, reproduction and departure were studied. We performed captures with mist nets, blood collection and monitored nests. In Chapter I, we determined the hematocrit of the population in the three phases. In Chapters II and III blood samples were used for stress level analyses (corticosterone by electrochemiluminescence). In Chapter II we compared the stress during incubation between females that failed or successful nesting attempts. In Chapter III, in addition to the stress analysis, the nestling period was divided in two phases, initial (1 to 2 days) and final (10 to 11 days of life) in which parents' masses and food delivery rate were measured. In Chapter I, we verified the existence of temporal changes in the relationship between hematocrit and mass of *E. chiriquensis*, demonstrating that there are physiological differences relating to loss or gain of weight and blood hematocrit levels. In the arrival phase *E. chiriquensis* has average mass and hematocrit levels very similar to the average displayed by the population along the length of stay in the Cerrado, but with no significant relationship ( $F_{2,27} = 0.27$ ,  $r = 0.03$ ,  $p > 0.05$ ). In the reproduction phase there was no significant

relationship between these parameters ( $F_{2,45} = 5.03$ ,  $r = 0.003$ ,  $p > 0.05$ ). Moreover, there is a highly significant positive relationship at the stage where individuals migrate back ( $F_{2,24} = -47.98$ ,  $r = 0.51$ ,  $p < 0.05$ ) and a significant increase in weight and hematocrit. The relationship indicates that the increase in weight and hematocrit are strongly connected in at least one of the phases of this species life cycle, indicating that the majority of *E. chiriquensis* individuals who are preparing to leave to wintering areas are in good physiological conditions. In Chapter II we describe the natural variation in corticosterone (a hormone indicator of stress) and show that its levels indicate the commitment of parents with current and future reproduction. Overall, females sampled during the incubation period showed average mass of 15.78 g, whereas females that failed were heavier than those with hatching success ( $t = 6.48$ , d.f. = 48,  $P < 0.05$ ). Females who had failed incubation showed lower levels of corticosterone ( $7.59 \pm 2.55$  ng/ml,  $N = 22$ ), while females who were successful had higher levels ( $16.26 \pm 3.24$  ng/mL;  $N = 27$ ), with a significant difference between the two groups ( $t = 16.75$ , d.f. = 48,  $P < 0.05$ ). We show that there are differences in the secretion of stress hormone between individuals which failed or succeeded in hatching eggs, and females with high levels of corticosterone were the most successful. In Chapter III, we evaluate how the release of corticosterone, a stress indicator in the nestlings' cycle, can be associated with costs for females in parental care. We evaluated the pattern of *Elaenia chiriquensis* female corticosterone release during two parental care periods, early (1-2 days old) and final (with 10-11 days of age), and the female's investment in food delivery rate to nestlings and the nestlings masses. Comparing the two periods analyzed, in the initial phase of nestlings the food delivery rate averaged  $7.7 \pm 1.18$  deliveries/hour/nest, with an average weight of nestlings of  $2.2 \pm 0.78$  g. At this stage, females showed low levels of corticosterone ( $65.3 \pm 27.41$  ng/mL;  $N = 24$ ). In the end stage of parental care, food delivery rate had higher average ( $17.5 \pm 1.63$  deliveries/hour/nest), and the nestlings weighed on average  $12.3 \pm 0.70$  g. Females in the early phase had higher levels of corticosterone, with an average of  $156.4 \pm 26.44$  ng/mL ( $n = 24$ ). Parental stress levels ( $t = 13.67$ , d.f. = 23,  $p < 0.05$ ), food



delivery rate ( $t = 22.04$ , d.f. = 23,  $p < 0.05$ ), and the nestlings mass ( $t = 52.27$ , d.f. = 23,  $p < 0.05$ ) were significantly higher in the final phase of nestlings. The GLM showed that variation in corticosterone release is due to the phase itself than to maternal investment, here measured by food delivery rate and the mass gained by nestlings. Our study showed that as the care of nestlings in the nest advances in time, *E. chiriquensis* raises its stress level with increasing age of the nestlings. Considering the average body condition presented by this species during the study period, we conclude that the species arrive in good condition at the breeding site, shows a change during reproduction and also start migration back in good condition. Females in both the incubation and the parental care phases bred successfully with high levels of corticosterone. The state of stress in these phases is related to the metabolic demands of each particular phase and with the commitment to the current reproduction. If we think that the species has a short period of time to carry out its activities, the state of stress, here measured by corticosterone, can help it face the costs and still start migration back for the wintering area in good physiological condition.

## APRESENTAÇÃO GERAL

### INTRODUÇÃO

O custo envolvido em diferentes aspectos de história de vida sempre intrigou pesquisadores de diversas áreas das ciências animais, especialmente na ornitologia uma das mais estudadas. As aves são os principais exemplos de ajustes adaptativos, a nível orgânico, relativos principalmente à atividade de voo. São conhecidas também por seu metabolismo elevado e por ocuparem os mais diferentes ambientes no planeta. Entre as atividades de seu ciclo de vida anual estão incluídas a muda de penas, a reprodução e a migração em algumas espécies. A depender do contexto ambiental muitas aves possuem janelas temporais curtas para realizar estas atividades, que necessitam de boas condições climáticas e de razoável disponibilidade de alimento.

As perguntas sobre custos das atividades geralmente envolvem condições ambientais, mas há quase cinco décadas tem incluído cada vez mais as variáveis internas das aves, relativas à condição corporal, fisiológica e de saúde dos organismos. Estudos com este enfoque têm contribuído muito para a compreensão de aspectos da história de vida de aves em diferentes ambientes e levantado indagações sobre os modelos de estudo tais como de aves migratórias. Migrar é uma atividade custosa e a reprodução também tem suas demandas energéticas, o que torna justificado investigar os custos envolvidos nas duas situações, principalmente considerando o lapso temporal entre a chegada da migração, investimento em reprodução e preparação para migrar de volta.

Nesse sentido, este estudo utilizou *Elaenia chiriquensis* como modelo de estudo ligada ao custo de migrar e reproduzir no Cerrado, avaliando sua condição corporal e diferenças ao longo das fases de chegada da migração, reprodução e partida para a área de invernada. No Capítulo I examinamos resultados referentes à condição corporal e o hematócrito de *E. chiriquensis* nos

períodos de chegada, reprodução e partida. Os objetivos foram: (1) registrar as mudanças fisiológicas (massa e hematócrito) ocorridas nesta espécie depois da chegada da migração, durante a reprodução e antes de partirem para migração de volta; (2) verificar se machos e fêmeas apresentaram diferenças nestes parâmetros; e (3) determinar a relação entre hematócrito e massa, testando a hipótese de existência de uma relação entre hematócrito e massa em diferentes fases.

O Capítulo II objetivou definir o padrão de liberação do hormônio corticosterona em *Elaenia chiriquensis* no sítio reprodutivo, buscando verificar se existem relações entre os níveis de estresse e a aptidão reprodutiva. A aptidão foi medida por duas vias, pelo sucesso reprodutivo entre as fases de incubação e eclosão de ovos e pela massa da fêmea. Espera-se que as fêmeas que obtêm sucesso reprodutivo da fase de incubação de ovos para a fase de ninhegos possuam altos níveis de corticosterona e com relação positiva com suas massas, enquanto fêmeas que não obtêm sucesso possuem níveis ou muito elevados (crônicos) ou muito baixos durante a fase de incubação, porém também relacionados com a massa destas fêmeas.

No Capítulo III objetivamos mostrar o esforço parental e a relação com os níveis de estresse das fêmeas, apresentando dados observacionais e fisiológicos de *Elaenia chiriquensis* no período de cria de ninhegos. Foi realizada uma comparação com as taxas de entrega de alimento entre as fases inicial (1 a 2 dias de idade) e final (10 a 11 dias) de cria dos ninhegos, como medida de esforço da fêmea em cada período e foi também medido o estresse fisiológico (níveis de corticosterona) das fêmeas relacionadas a estes ninhos. Espera-se que as fêmeas estejam mais estressadas na fase final de ninhegos e que haja também efeito das entregas de alimento sobre a massa adquirida pelos ninhegos.

## **ÁREA DE ESTUDO**

Os dados foram coletados em um grid de 100 ha, na Estação Ecológica de Águas

Emendadas (ESECAE) no Distrito Federal (15°29' a 15°36'S, 47°31' a 47°41'W; 1.040 m de altitude), durante os meses de agosto a dezembro de 2012. A ESECAE é uma das mais importantes áreas protegidas do Brasil Central e em seu entorno encontram-se pequenas manchas de vegetação natural, áreas de agricultura, chácaras e moradias (Marinho-Filho et al. 1998). A vegetação característica local é o cerrado aberto e cerrado denso, bem como manchas de áreas florestais e campos. O clima da região é sazonal, com estação chuvosa de setembro a abril, e seca nos demais meses (Nimer 1979). Mais detalhes sobre a região e a ESECAE são descritos em Silva & Felfili (1996), Marinho-Filho et al. (1998), Borges & Marini (2010) e Duca & Marini (2011).

## **ESPÉCIE DE ESTUDO**

A espécie de estudo, conhecida como chibum (*Elaenia chiriquensis*), é um passeriforme pertencente à família Tyrannidae, com 11 cm de comprimento, padrão discreto de coloração e pouco dimorfismo sexual (Ridgely & Tudor 1994). É uma espécie que se distribui desde a Costa Rica até a Argentina (Ridgely & Tudor 1994). Até pouco tempo acreditava-se que esta espécie vivia em algumas áreas da região amazônica do Brasil (Marini & Cavalcanti 1990) e depois migrava para o Brasil Central para reproduzir (Negret et al. 1984, Marini & Cavalcanti 1990). No entanto, há registros de uma possível migração no sentido longitudinal realizada por esta espécie (Guaraldo, A. C., comunicação pessoal).

A reprodução desta espécie é bem conhecida: constrói ninhos em forma de taça, coloca, geralmente, dois ovos de cor branco gelo, com pequenas manchas ferrugíneas no polo obtuso (Medeiros & Marini 2007). A reprodução ocorre entre meados de setembro e fim de dezembro, com sucesso reprodutivo em torno de 30% (Medeiros & Marini 2007, Paiva & Marini 2013). O período de incubação dura 14 dias e somente a fêmea realiza a atividade, enquanto o macho realiza vigília do ninho; o período de cria dos ninhegos dura 15 dias com participação da fêmea e do macho

(Medeiros & Marini 2007, Sousa & Marini 2013).

Sua captura em rede de neblina é aumentada entre os meses de agosto a dezembro, sendo que tem pico em outubro com forte diminuição em dezembro no Distrito Federal. Paiva & Marini (2013) caracterizam a segunda metade do mês de agosto como o período de chegada da espécie à área reprodutiva e a segunda metade do mês de dezembro como o período em que finda a permanência desta espécie no Distrito Federal. Numa comparação, feita pelos autores, entre os anos de 2005, 2006 e 2007, não há diferença na data média de chegada da espécie ao local de estudo. Além disso, a proporção de indivíduos ao longo dos 15 dias após a detecção dos primeiros indivíduos é semelhante entre os anos (Paiva & Marini 2013). A data de saída da área de estudo para a área de invernada diferiu em apenas três dias entre anos, com os indivíduos abandonando a área em média após 113 dias de sua chegada (Paiva & Marini 2013).

## REFERÊNCIAS

- Borges, F.J.A., Marini, M.Â. 2010. Birds nesting survival in disturbed and protected Neotropical savannas. *Biodiversity and Conservation* 19:223-236.
- Duca, C., Marini, M.Â. 2011. Variation in breeding of the Shrike-like Tanager in Central Brazil. *The Wilson Journal of Ornithology* 123:259-265.
- Marinho-Filho, J., Rodrigues, F., Guimarães, M. 1998. Vertebrados da Estação Ecológica de Águas Emendadas. História natural e ecologia em um fragmento de cerrado do Brasil Central. SEMATEC, IEMA, IBAMA, Brasília.
- Marini, M.Â., Cavalcanti, R.B. 1990. Migrações de *Elaenia albiceps chilensis* e *Elaenia chiriquensis albivertex* (Aves: Tyrannidae). *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Zoologia* 6:59-67.

- Medeiros, R.C.S., Marini, M.Â. 2007. Biologia reprodutiva de *Elaenia chiriquensis* (Lawrence) (Aves, Tyrannidae) em Cerrado do Brasil Central. *Revista Brasileira de Zoologia* 24:12-20.
- Negret, A., Taylor, J., Soares, R.C., Cavalcanti, R.B., Johnson, C. 1984. Check-list das aves da região geopolítica do Distrito Federal. SEMA, Brasília, Brazil.
- Nimer, E. 1979. Climatologia do Brasil: recursos naturais e meio ambiente. IBGE, Brasília, Brazil.
- Paiva, L.V., Marini, M.Â. 2013. Timing of migration and breeding of the Lesser Elaenia (*Elaenia chiriquensis*) in a Neotropical Savanna. *The Wilson Journal of Ornithology* 125:116-120.
- Ridgely, R.S., Tudor, G. 1994. The birds of South America, v. 3. The suboscine passerines. Austin: University of Texas Press.
- Sousa, N. O. M., Marini, M. Â. 2013. A negative trade-off between current reproductive effort and reproductive success: an experiment with clutch-size in a tropical bird. *EMU* 113:8-18.
- Silva, Jr.M.C., Felfili, J.M. 1996. A vegetação da Estação Ecológica de Águas Emendadas. SEMATEC, IEMA, IBAMA, Brasília.

## **CAPÍTULO I**

# **CUSTOS FISIOLÓGICOS EM MIGRAR E REPRODUZIR: RELAÇÃO ENTRE MASSA E HEMATÓCRITO DE *Elaenia chiriquensis* NO CERRADO**

## RESUMO

Migração e reprodução são processos energeticamente caros que espécies animais migratórias devem enfrentar durante o ciclo de vida. A relação entre o hematócrito e massa de aves mostra a capacidade de investir energia em atividades como a reprodução e a migração e os custos associados às fases relacionadas. Testamos três hipóteses para avaliar a relação entre hematócrito e massa para um migrante neotropical, *Elaenia chiriquensis*. Primeiramente, na fase de chegada, haverá o registrado de uma diminuição na massa acompanhada por uma diminuição do hematócrito numa relação linear negativa; em segundo lugar, durante a fase de reprodução, haverá fraca ou nenhuma relação e uma diminuição na massa e hematócrito, devido à complexidade desta fase; e, finalmente, na fase de saída, será registrado um aumento da massa complementado por um aumento no hematócrito em uma relação linear positiva. Descobrimos que *E. chiriquensis* na fase de chegada tem massa e hematócrito similares aos valores médios apresentado pela população ao longo do período, mas não mostram a relação esperada destes parâmetros ( $F_{2,27} = 0,27$ ,  $r = 0,03$ ,  $p > 0,05$ ). Por outro lado, na reprodução, como esperado, não houve uma relação significativa ( $F_{2,45} = 5,03$ ,  $r = 0,003$ ,  $p > 0,05$ ), mas há uma relação fortemente significativa na fase de saída ( $F_{2,24} = -47,98$ ,  $r = 0,51$ ,  $p < 0,05$ ). *Elaenia chiriquensis* chega em boas condições fisiológicas, diminui bastante a sua condição durante o período de reprodução, mas rapidamente é capaz de melhorar seus parâmetros fisiológicos ao iniciar a migração para a área de invernada.

Palavras-chave: condição física, hematócrito, migração, reprodução.



## INTRODUÇÃO

Migração e reprodução são os dois processos mais exigentes em termos energéticos que as espécies migratórias têm que enfrentar ao longo do seu ciclo de vida anual (Arizmendi-Mejía et al. 2013). Estes processos impõem mudanças drásticas nas demandas energéticas, as quais exigem uma série de ajustes fisiológicos (Niizuma et al. 2002). Antes da migração, algumas aves aumentam a sua massa corporal, principalmente por deposição de gordura para usá-la como combustível durante o vôo de resistência (Arizmendi-Mejía et al. 2013). No entanto, outras aves migratórias aumentam sua massa magra enquanto a gordura e tecido adiposo são reduzidos. O incremento de massa magra ocorre como consequência da hipertrofia de diferentes músculos envolvidos no vôo de resistência (por exemplo, os músculos do coração e peitorais), fornecendo combustível de origem não gordurosa e força muscular durante o exercício (Whittow 2000, Arizmendi-Mejía et al. 2013). Aves marinhas, por exemplo, realizam sua migração fazendo um ou dois vôos muito longos e pausas para reestruturar seus componentes corporais (Piersma 1998, Guglielmo & Williams 2002). Além disso, as espécies que migram ao longo de grandes distâncias sem parar confiam nos seus recursos endógenos para o fornecimento de energia ao longo da migração (Bauchinger et al. 2005). Portanto, o conjunto de nutrientes e reservas de energia estão fortemente esgotados quando chegam ao local de nidificação (Battley et al. 2001).

A ecofisiologia do período pré-migratório e migração tem sido bem estudada (ver Eiermann & Jenni 1991, Bairlein & Gwinner 1994, Gwinner 2011), enquanto a ecofisiologia de migrantes durante o período de pré-reprodução e reprodução (ou seja, a partir da chegada até a postura dos ovos) tem recebido menos atenção (Arizmendi-Mejía et al. 2013). Após a chegada aos sítios de reprodução, as aves migratórias precisam recuperar a sua condição e se preparar para a reprodução, incluindo as atividades como defesa de território, procura de parceiros, cópula, construção do ninho e cuidado com ninhegos e filhotes, que implicam em gasto de energia adicional para aves

geralmente exaustas (Arizmendi-Mejía et al. 2013). Além disso, as fêmeas necessitam de uma quantidade substancial de lipídios e proteínas para a formação dos ovos (Navarro et al. 2007, Mallory & Forbes 2008, Eichhorn et al. 2010). Compreender os processos fisiológicos subjacentes necessários para atingir o estado nutricional adequado antes da reprodução é essencial, pois podem ter consequências importantes para a aptidão (*fitness*) e sucesso reprodutivo futuro. Fêmeas em melhor condição, geralmente indicado por nível de massa corporal elevado, produzem mais filhotes, enquanto machos mais pesados têm taxas de sobrevivência individual mais elevadas do que os indivíduos mais leves (Chastel et al. 1995). Além disso, não só a condição de aves migratórias durante o período anterior à reprodução, como também durante a reprodução e antes das aves migrarem de volta, é fator crítico que influencia decisões reprodutivas e o sucesso reprodutivo futuro (Chastel et al. 1995). Estas decisões são particularmente importantes para as aves porque os indivíduos que não possuem boas condições corporais restringem-se em investir em uma tentativa de reprodução atual, a fim de moderar o impacto sobre eventos futuros (Stearns 1992, Giudici et al. 2010, Crossin et al. 2012). Por exemplo, *Thalassarche melanophris* fêmeas que adiam a reprodução são indivíduos com piores condições corporais e menores níveis de hormônios esteróides e precursores de gema (Crossin et al. 2012). No entanto, as pesquisas sobre a condição de aves durante as fases de chegada, reprodução e partida tem sido focadas principalmente em alguns passeriformes e aves aquáticas de regiões temperadas, ao passo que as aves tropicais têm recebido pouca atenção (Ricklefs & Wikelski 2002).

A condição corporal das aves pode ser estimada por meio da medição bioquímica de metabólitos no plasma e parâmetros hematológicos (Vanderkist et al. 2000, Jenni-Eiermann et al. 2002). Um dos parâmetros hematológicos mais utilizados relaciona-se ao hematócrito, bom indicador de atividade metabólica, estado nutricional e capacidade de transporte de oxigênio no sangue (Whittow 2000, Gwinner 2011). O hematócrito é a medida do volume relativo de células vermelhas no sangue, comparado com seu volume total (Bearhop et al. 1999). Em mamíferos que,

diferente das aves, possuem eritrócitos não nucleados, o processo de produção de células vermelhas é mais rápido, com reposição de cerca de 1% ao dia (Whittow 2000). A duração de cada célula é de até quatro meses, com dois milhões de novas células por segundo em circulação (Hill et al. 2008). Como o principal local de eritropoiese em vertebrados é a medula óssea, é possível que as aves também tenham alta capacidade de reposição devido aos ossos pneumatizados e à liberação do mesmo hormônio responsável pelo controle endócrino da eritropoiese, a eritropoietina (Hill et al. 2008). Apesar de ainda desconhecermos o processo para este grupo, sabemos que essa variação é altamente influenciada por fatores internos, como os níveis de desidratação e condição nutricional (Hill et al. 2008). Fêmeas de aves, por exemplo, apresentam as menores médias de hematócrito no período de ovulação, possivelmente porque os hormônios estrogênicos contribuem para diminuir os níveis de hematócrito (Whittow 2000).

A relação entre massa corporal e o volume sanguíneo é bem conhecida para seres humanos saudáveis e largamente utilizada em cálculos hematológicos no tratamento de doenças (Bell et al. 2014). Cerca de 7 a 8,5% do massa corporal dos animais corresponde ao seu volume sanguíneo (Prosser & Weinstein 1950), sendo que para animais de pequeno porte o hematócrito é correlacionado com tamanho corporal e geralmente apresenta valores altos, devido ao maior trabalho cardiorrespiratório e menor superfície corpórea (Sealander 1964). Quando consideramos a proporção biomassa/superfície corpórea, esta é maior em animais menores, o que interfere no metabolismo e provoca mudanças também no hematócrito. Variações entre valores de espécies diferentes de aves também se devem ao tamanho corporal, pois espécies grandes e com grande volume sanguíneo apresentam metabolismo mais baixo implicando em variações no hematócrito (Hatch & Smith 2010).

Idade, sexo, reprodução, elevação geográfica, parasitismo e estado nutricional têm sido apontados como fatores que interferem nos valores de hematócrito em aves silvestres (Fair et al. 2007). Como o hematócrito indica atividade aeróbica e metabólica intensa (Navarro et al. 2007)

existe relação direta com o ganho ou perda de massa do organismo, já que valores baixos (anemia) são indicativos de infecções bacterianas, presença de parasitas, poucos recursos alimentares e escassez de micronutrientes como ferro, cobre e vitamina B12 (Coles 1997). Valores altos são devidos principalmente ao aumento de exercício físico intenso ou respiração (Hörak et al. 1998). Assim são sugeridas hipóteses para as diferentes fases relacionadas à migração e reprodução, entre condição corporal (na maioria dos estudos indicada pela massa) e níveis de hematócrito das aves. Acredita-se que mesmo para espécies não migratórias, os valores de hematócrito antes da reprodução sejam altos (Hatch & Smith 2010). Trabalhos realizados principalmente na década de 1990 começaram a mostrar que os valores de hematócrito de espécies migratórias são maiores assim que chegam ao local de reprodução, mudam significativamente durante a estação reprodutiva e aumentam antes de partirem para o local de invernada (Morton 1994, Jenni-Eiermann & Jenni 1994). Na fase de chegada da migração Morton (1994) mostrou para *Zonotrichia leucophrys oriantha* valores de hematócrito relativamente altos até o fim da fase de construção de ninho. Jenni-Eiermann & Jenni (1994) mostraram que mudanças na massa podem ser utilizadas como bons preditores de alterações no hematócrito de migrantes.

Assim, examinamos a condição corporal e o hematócrito de *Elaenia chiriquensis*, uma espécie neotropical, nos períodos de chegada, reprodução e partida para migração. Nossos principais objetivos foram: (1) registrar as mudanças fisiológicas (massa e hematócrito) ocorridas nesta espécie depois da chegada da migração, durante a reprodução e antes de partirem para migração de volta; (2) verificar se machos e fêmeas apresentaram diferenças nestes parâmetros e; (3) determinar a relação entre massa e hematócrito. Testamos a hipótese de que a condição corporal de uma ave migratória também irá mudar nas três fases analisadas, com as seguintes predições: (1) na chegada os indivíduos apresentarão elevada massa, elevado hematócrito, com relação positiva entre os mesmos; (2) na fase de reprodução os indivíduos apresentarão baixa massa, baixo hematócrito e sem relação significativa e; (3) na fase de partida, os indivíduos apresentarão elevada

massa e elevado hematócrito, com relação positiva entre os mesmos.

## **MÉTODOS**

*Área de estudo (Vide Apresentação Geral, página 9)*

*Espécie de estudo (Vide Apresentação Geral, página 10)*

*Captura dos indivíduos e coletas sanguíneas*

Foram realizadas expedições semanais a campo com cinco redes expostas por três horas em cada dia pela manhã (entre 7:00 e 10:00 hs), ao longo dos meses de agosto a dezembro de 2012. Como neste ano os primeiros indivíduos de *Elaenia chiriquensis* chegaram ao local por volta do dia 10 de agosto, consideramos os primeiros 15 dias após a chegada como o período correspondente à etapa chamada de chegada da migração. Além disso, a partir de 03 de setembro foi registrado o primeiro indivíduo com placa de incubação, sendo que consideramos o período reprodutivo como o período de aumento de registros de indivíduos com placa de incubação, o que ocorreu entre a segunda metade do mês de setembro e a primeira metade de novembro. Como conhecido, a partir da segunda metade do mês de dezembro, a espécie começa a migrar, e foi este período que chamamos de etapa de partida para migração. Além disso, nestes 15 dias anteriores à migração de volta para a área de invernada poucos indivíduos foram registrados com placa de incubação, indicando finalização da atividade reprodutiva na maioria dos indivíduos.

Os indivíduos capturados tiveram amostras de sangue coletadas e foram anilhados com anilhas metálicas para identificação individual. Foram registrados ainda medidas de massa e dados sobre presença de placa de incubação. As amostras sanguíneas foram tomadas por meio de perfuração na veia braquial alar direita de cada indivíduo e o sangue coletado por meio de capilares

heparinizados. Conforme indicação ética de manipulação de animais silvestres, o volume de sangue retirado não ultrapassou 1% da massa de cada indivíduo (Thrall 2004, Cubas et al. 2007). Após a coleta, os capilares foram fechados em apenas uma de suas extremidades (a não heparinizada), com auxílio de maçarico portátil. Ainda em campo, os capilares coletados foram depositados em posição vertical em gelo, com a extremidade fechada do capilar para baixo. Durante o transporte do campo para o laboratório (em média 40 minutos) as amostras também foram mantidas em gelo, e subsequentemente centrifugadas, em laboratório, por 10 minutos em centrífuga de micro-hematócrito a uma rotação de 12.000 rpm. O tempo entre a coleta e a centrifugação foi de aproximadamente quatro horas ( $253 \pm 15$  min). Os valores de hematócrito foram lidos imediatamente após a centrifugação das amostras utilizando a tabela de micro-hematócrito. O valor de hematócrito reportado neste estudo é um valor médio de dois ou três tubos capilares para cada indivíduo.

Para a determinação do sexo dos indivíduos foram coletadas pequenas amostras sanguíneas (1 a 2 gotas) em papel filtro e submetidos a análise molecular por PCR (reação em cadeia da polimerase) no Laboratório Santé®.

### *Análises estatísticas*

Na análise de relação entre massa e hematócrito de *Elaenia chiriquensis*, a variável dependente foi o hematócrito e a independente foi a massa, sendo incluído as fases de chegada, reprodução e partida para análise temporal da relação. Incluiu-se sexo na análise para verificação de seu efeito no modelo. Foi testada a normalidade do conjunto de valores da chegada, reprodução e partida para hematócrito e massa por meio da análise de normalidade de resíduos com o teste de Shapiro-Wilk. Utilizamos os valores de massa propriamente dita, pois estes são capazes de mostrar a energia associada a reservas para realização das atividades de migração e reprodução, aqui investigadas, que são independentes do tamanho corporal dos indivíduos (Green 2001). Analisamos

por meio do modelo ANCOVA a variação do hematócrito em relação ao período, massa e interação entre ambos, e posteriormente com sexo. Todas as análises foram procedidas no Programa R (2013), considerando o nível de significância de 0,05 ( $\alpha$ ).

## RESULTADOS

### *Hematócrito*

O hematócrito apresentou variação ao longo dos meses em que *Elaenia chiriquensis* esteve presente no local de reprodução, sendo que em média a espécie apresentou  $54,4 \pm 3,4\%$  (N = 99) de volume de células vermelhas sanguíneas em seu sangue. Quando se analisa de acordo com as diferentes fases de atividade no local, também se observa que ao longo do período de reprodução o hematócrito sofreu decréscimo ( $52,9 \pm 2,3\%$ , N = 46) comparado com a chegada ( $54,4 \pm 2,1\%$ , N = 28) e a partida ( $57,2 \pm 4,3\%$ , N = 25). No entanto, nesta última fase houve registro de indivíduos apresentando até 62% de eritrócitos em seu volume sanguíneo, valor não registrado nos demais períodos e considerado bastante elevado, já que menos de 40% do sangue está representado na parte correspondente ao plasma. Assim, comparando as fases temporais de atividade da espécie no local, os valores de hematócrito na fase de preparação para partida da área reprodutiva são significativamente maiores do que nas demais fases ( $F = 60,5$ ;  $p < 0,05$ ) (Figura 1).

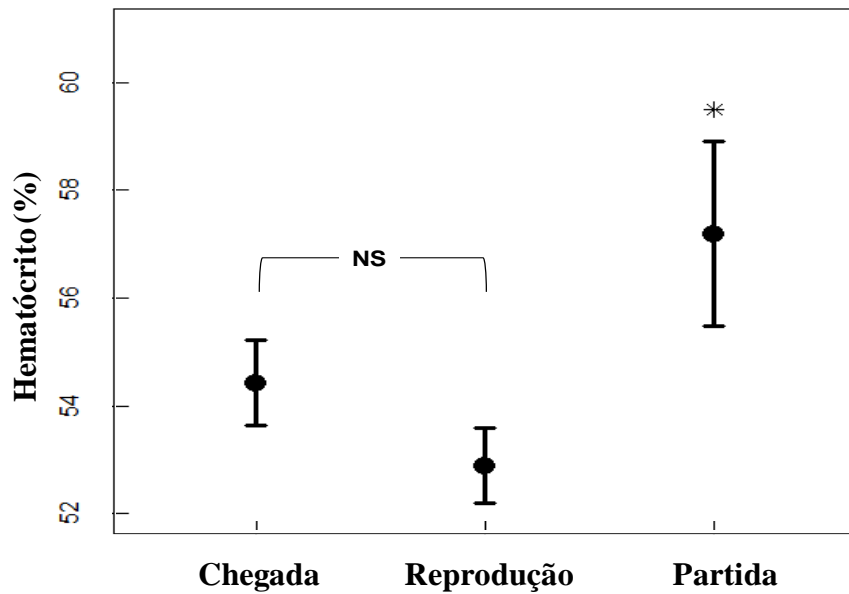


Figura 1. Diferenças nos valores de hematócrito da migrante *Elaenia chiriquensis* no ano de 2012 ao longo das três fases (chegada, reprodução e partida) em que esta permanece no Cerrado. O símbolo \* indica significância e NS indica não significância.

#### *Diferenças sexuais no hematócrito*

Os valores de hematócrito de fêmeas e machos são semelhantes ( $t = 0,01$ ;  $p > 0,05$ ; Fêmeas:  $54,4 \pm 3,3\%$ ,  $N = 50$ ; Machos:  $54,4 \pm 3,4\%$ ,  $N = 49$ ). Entre fêmeas, só existem diferenças nos valores de hematócrito para fêmeas em reprodução e fêmeas que se preparam para a partida, sendo observado um aumento nos valores entre estas duas fases ( $F = 3,51$ ;  $p < 0,05$ ). Além disso, o valor de hematócrito de fêmeas antes de partir do local de reprodução é semelhante ao valor médio apresentado quando as fêmeas chegam ao mesmo local ( $F = 1,26$ ;  $p > 0,05$ ). Entre machos também há diferenças significativas entre os valores de hematócrito que aumentaram na etapa de partida comparados aos de reprodução ( $F = 5,22$ ;  $p < 0,05$ ). A diferença também é significativa entre valores na fase em que chegaram comparadas a fase de partida ( $F = 4,21$ ;  $p < 0,05$ ). Nesse grupo de machos, houve registro de valores de hematócritos superiores a 60% (Figura 2). Ocorre um aumento nos valores de hematócrito, para ambos os sexos, após a atividade reprodutiva e no período que *E.*



*chiriquensis* tem para se preparar para a migração de volta ao local de invernada.

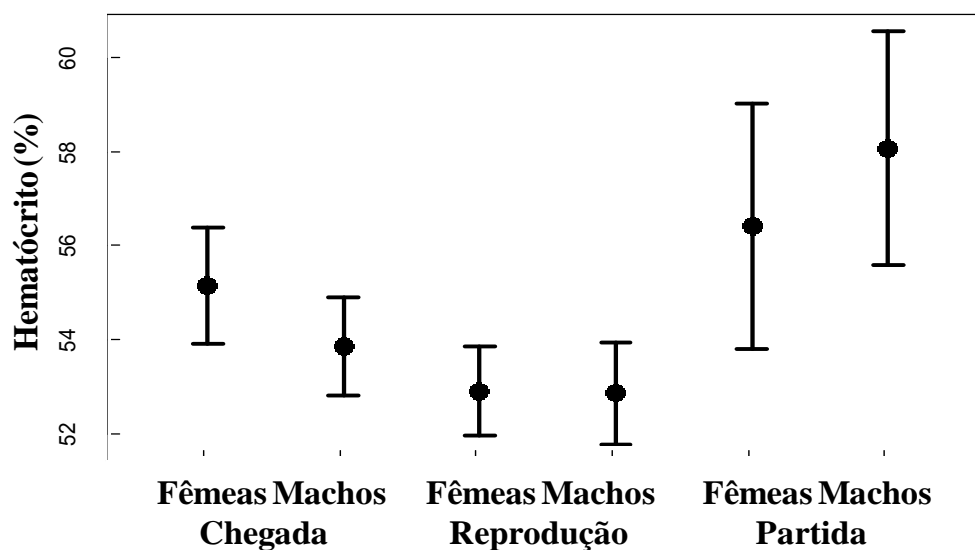


Figura 2. Diferenças nos valores médios de hematócrito de fêmeas e machos de *Elaenia chiriquensis* durante o período em que permanecem no Cerrado, nas fases de chegada, reprodução e partida, para o ano de 2012.

### Massa

A massa, ao longo do tempo em que *E. chiriquensis* permanece no Cerrado para reproduzir, apresentou valor médio de  $15,9 \pm 1,3$  g (N = 99), sendo que na chegada o valor médio foi de  $16,2 \pm 1,5$  g (N = 28), na reprodução de  $15,3 \pm 1,2$  g (N = 46) e antes da partida de  $16,4 \pm 0,9$  g (N = 25) (Figura 3). Neste último período houve indivíduos que apresentaram até 17,5 g de massa. Esta diferença entre períodos é significativa ( $F = 16,71$ ;  $p < 0,05$ ), sendo notável no período de partida. Foi verificado que existe diferença entre sexos ( $t = 5,46$ ;  $p < 0,05$ ) quanto aos valores de massa, sendo que os machos apresentaram menor média ( $15,2 \pm 1,4$  g) comparativamente às fêmeas ( $16,5 \pm 0,9$  g).

### Hematócrito e massa

Considerando os diferentes períodos de chegada, reprodução e partida de *E. chiriquensis*,

foram registradas diferenças no hematócrito em relação às fases temporais, à massa e também para a interação entre estes dois fatores (Tabela 1). Foi verificado, portanto, a relação entre fase e massa e sua significância nas alterações dos valores de hematócrito.

Tabela 1. Resultados do modelo Ancova para valores de hematócrito de *Elaenia chiriquensis* em relação às fases (chegada, reprodução e partida), à massa e interação entre fases temporais e massa.

O símbolo \* representa interação entre as variáveis.

Variável	G.I.	Soma dos quadrados	Média quadrática	F	P
Fase	2	295,2	147,58	27,08	< 0,05
Massa	1	44,7	44,69	8,2	< 0,05
Fase*Massa	2	255,1	127,57	23,41	< 0,05
Resíduos	93	506,8	5,45		

Embasado nestas relações, o modelo linear mostrou significância para a relação entre massa e hematócrito de *E. chiriquensis* na fase de partida, sendo que a relação entre hematócrito e a fase de partida em si também é fortemente significativa (Tabela 2). As variáveis massa e hematócrito de *E. chiriquensis* no período de partida são significativamente correlacionadas ( $F = 21,83$ ;  $r = 0,52$ ;  $p < 0,05$ ), contribuindo para subsidiar a hipótese de que condição corporal de aves migratórias melhora na fase que antecede a partida (Figura 3).

Tabela 2. Estimativas do modelo Ancova para valores de hematócrito em relação à massa em diferentes fases (chegada, reprodução e partida) de *Elaenia chiriquensis* no Cerrado, para o ano de 2012. O símbolo \* representa interações entre as variáveis.

<b>Coefficientes</b>	<b>Estimativas</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>T</b>	<b>p</b>
Chegada	50,069	4,950	10,114	< 0,05
Partida	-60,454	10,803	-5,874	< 0,05
Reprodução	4,490	6,730	0,667	0,506
Massa	0,269	0,305	0,884	0,379
Partida*Massa	3,999	0,655	6,102	< 0,05
Reprodução*Massa	-0,378	0,425	-0,889	0,376

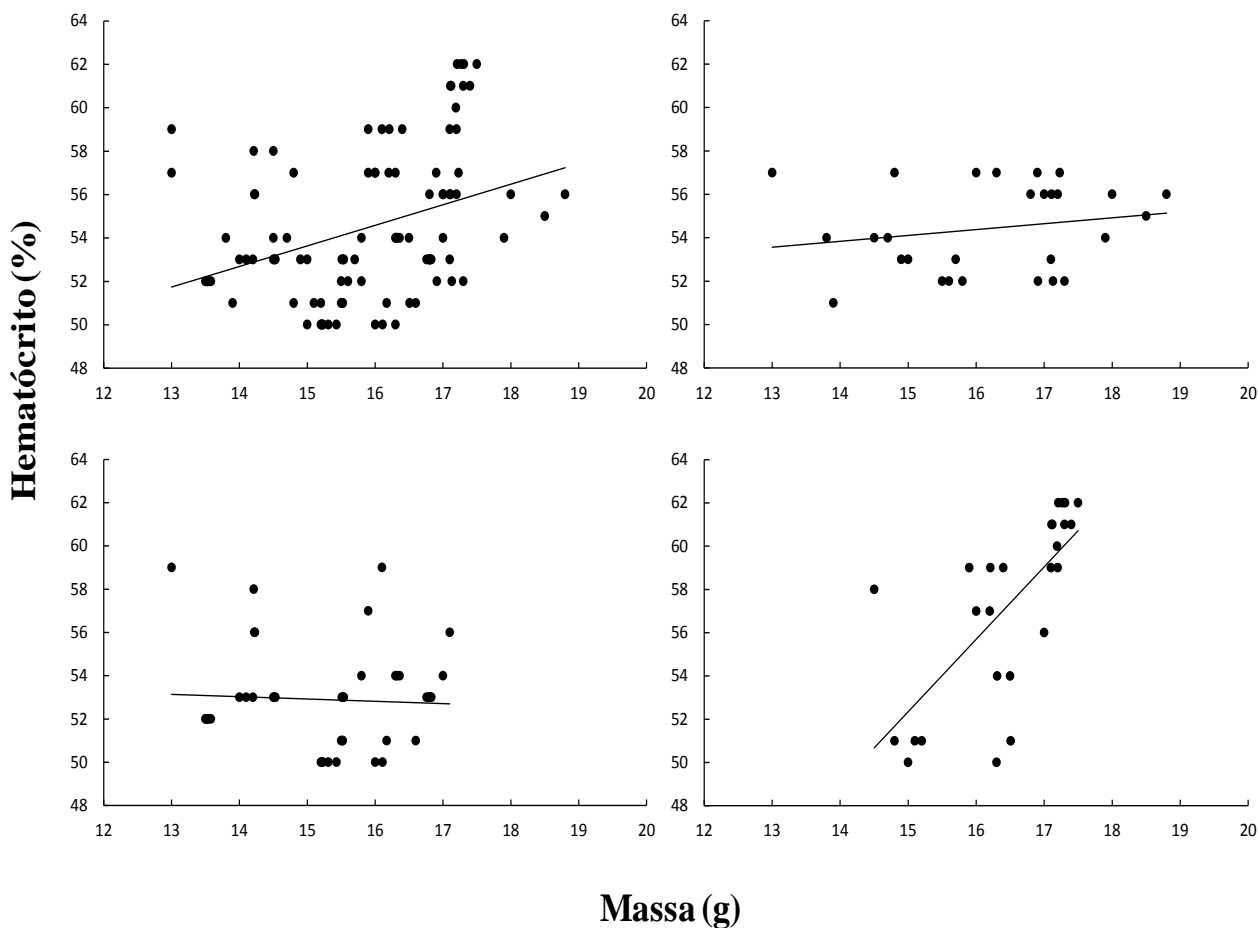


Figura 3. Relação entre massa e hematócrito de indivíduos de *Elaenia chiriquensis* no Cerrado para o ano de 2012. No quadrante superior esquerdo o gráfico representa o período total de permanência, à direita a chegada, no quadrante inferior esquerdo o gráfico do período de reprodução e à direita a fase de partida.

#### *Hematócrito, sexo e massa*

Apesar de não haver correlação entre hematócrito e sexo, existiram diferenças sexuais na variável massa. Estas diferenças podem influenciar a relação entre a mesma e o hematócrito. Desta forma, foi verificado pelo modelo ANCOVA que tanto a variável fase de partida como a interação entre as variáveis fase de partida e massa são significativas, porém sexo e massa separadamente não são (Tabela 3). Assim, sexo não contribui significativamente para a relação entre hematócrito e massa de *Elaenia chiriquensis*.

Tabela 3. Estimativas do modelo Ancova para valores de hematócrito em relação a sexo e massa em diferentes fases (chegada, reprodução e partida) de *Elaenia chiriquensis* no Cerrado, para o ano de 2012. O símbolo \* representa interações entre as variáveis.

<b>Coefficientes</b>	<b>Estimativas</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>T</b>	<b>P</b>
Chegada	46,444	10,439	4,449	< 0,05
Partida	-47,268	12,264	-3,854	< 0,05
Reprodução	6,417	11,418	0,562	0,575
Massa	0,509	0,607	0,837	0,404
Sexo	9,502	10,284	0,924	0,358
Partida*Massa	2,995	0,729	4,108	< 0,05
Reprodução*Massa	-0,501	0,684	-0,738	0,462
Partida*Sexo	1,972	1,538	1,290	0,200
Reprodução*Sexo	-0,355	1,891	-0,188	0,851

## DISCUSSÃO

A variação temporal no hematócrito em *Elaenia chiriquensis* respondeu a algumas alterações fisiológicas esperadas e geralmente exigidas pela migração e reprodução de aves. A relação entre o hematócrito e massa, embora positivamente significativa durante a fase de partida, foi fraca ou quase nula durante a chegada e a reprodução. Sintetizando, *E. chiriquensis* chega ao local de reprodução relativamente em boas condições, porém seus níveis de massa e hematócrito não apresentam relação positiva significativa; a massa e o hematócrito diminuem na fase reprodutiva; e subsidiando a hipótese testada, a espécie parte em boas condições para áreas de

invernada, com níveis altos de massa e hematócrito, positivamente relacionados.

Logo após a fase de chegada, os indivíduos têm boas condições, mas a reprodução demora cerca de quatro semanas para iniciar. Assim, possivelmente os indivíduos utilizam esse período para melhorar sua condição corporal (massa) e fisiológica (hematócrito) antes do início da reprodução. Esse comportamento pode explicar por que a massa não diminui como esperado durante a reprodução. É possível que este bom estado de saúde seja porque a espécie faça paradas durante a migração para se restabelecer fisicamente. Além disso, *E. chiriquensis* chega à região do Cerrado, em agosto, quando as condições climáticas são de tempo quente e muito seco (Nimer 1979), sendo também possível que fazer paradas antes da chegada seja uma estratégia para suportar os rigores do clima que vão encontrar no Cerrado. Algumas aves tem sua condição melhorada quando fazem paradas, como *Setophaga ruticulla*, por exemplo, que aumenta de 0,5-3,5% de sua massa, *Geothlypis trichas* que aumenta entre 4,4-7,2% e *Setophaga pensylvanica* que pode aumentar extraordinariamente 13,8-16,1% de sua massa antes de partir novamente (Winker et al. 1992). No caso de *Dumetella carolinensis*, alguns indivíduos chegam às áreas de reprodução com hematócrito elevado devido à desidratação e condição corporal abaixo da média (Hatch et al. 2010).

Mesmo que essas aves migratórias parem ao longo do percurso, o custo energético da migração é possivelmente grande dado a distância que devem voar. *Elaenia chiriquensis* parece migrar para e invernar na região amazônica (Marini & Cavalcanti 1990), de onde migram para o Cerrado a fim de se reproduzir (Medeiros & Marini 2007). Apesar de não ter medidas de níveis de hematócrito durante a estação não reprodutiva na área de invernada, podemos comparar os valores entre os indivíduos que se preparam para partir com os da chegada. O grupo de partida manteve os níveis de hematócrito em torno de 56% e até 62%, enquanto o grupo de chegada em torno de 54%. O oposto ocorreu em *Zonotrichia leucophrys oriantha*, uma espécie de porte aproximado ao de *E. chiriquensis*, que chega ao local de nidificação, nos Estados Unidos, com valores de hematócrito de 58-60% e partem para as áreas não reprodutivas, no México, com níveis de 54-55% (Morton 1994).

A relação entre massa e hematócrito na fase de chegada pode depender da distância percorrida, dos níveis de hidratação e da perda de massa durante a viagem. Estudos futuros que mostrem para onde exatamente *E. chiriquensis* migra poderão auxiliar nas inferências sobre a conexão da migração com a sua condição fisiológica. Por enquanto, com o que foi encontrado neste estudo, é possível que ocorram paradas durante a migração ou viagens curtas entre as áreas de invernada e o local de reprodução.

Os valores de hematócrito variam muito entre os grupos de aves. Hematócritos conhecidos são derivados principalmente a partir de estudos com aves domésticas, que fornecem valores de referência entre 35-55% (Whittow 2000, Fair et al. 2007). Comparativamente, os valores registrados neste estudo são altos, especialmente considerando que *E. chiriquensis* é um pequeno tiranídeo, mas que mostrou níveis de hematócrito de até 62% durante a fase de partida. Já *Ficedula hipoleuca*, que tal qual *E. chiriquensis* é um tiranídeo insetívoro, apresenta em seu hematócrito influências anuais e de sexo, sendo que os machos exibem altos níveis durante a fase de cuidado com os ninhos (Boross et al. 2012). Outras espécies de tamanho e massa similar mostraram níveis de hematócrito entre 51 a 53,5%, como *Carduelis spinus* com 51%, *Carduelis tristis*, com 53,5%, *Carduelis carduelis* com 51%, *Dendroica coronata* com 51,1%, e *Troglodytes troglodytes* com 53 a 54% (Viscor & Fuster 1987, Morton 1994).

*Elaenia chiriquensis* sofre perda sutil de massa quando comparada a grande parte das aves migratórias que chegam a perder 26% de massa (Butler et al. 1998, Whittow 2000). Neste trabalho, nós mostramos que a massa de *E. chiriquensis* diminui em 5,6% durante o período reprodutivo, após a chegada, mas aumenta novamente em 6,7% antes da partida para os locais de invernada. *Empidonax minimus*, um tiranídeo de mesmo porte de *E. chiriquensis*, perde 0,30 g por dia depois de chegar de migração, e ao longo do tempo pode ganhar de 6-8% (0,05 g) de sua massa por dia, enquanto permanece nos locais de parada durante a migração (Winker et al. 1992). Antes da partida e durante a migração, os indivíduos exigem músculos mais fortes associados com o voo e

mecanismos fisiológicos que apoiem as atividades aeróbicas despendidas para a migração de volta (Whittow 2000). Os custos energéticos da reprodução em aves são enormes, porque estas precisam reunir nutrientes suficientes e reservas de energia antes da formação dos ovos, início da postura de ovos e incubação. No início da fase reprodutiva, os níveis de hematócrito de *E. chiriquensis* caíram cerca de 3%. As fêmeas devem formar os ovos, que requerem grandes quantidades de nutrientes, principalmente lipídios e proteínas (Ankney & Alisauskas 1991). A fase reprodutiva interfere muito no metabolismo dos indivíduos, sendo que já foi demonstrado que com a elevação de hormônios estrógenos ocorre a redução dos níveis de hematócrito (Whittow 2000, Gwinner 2011). São necessários estudos sobre se essas diferenças na fase reprodutiva se devem à fase em si ou ao padrão expressado por cada família de aves e sua história de vida. Nesse sentido, outra ave bastante comum no Brasil e sem comportamento migratório, o *Turdus leucomelas*, da família Turdidae, apresenta relação negativa e significativa entre massa e hematócrito na fase reprodutiva (Lobato et al. 2011).

A expectativa era de que houvesse mudanças temporais na relação entre hematócrito e massa em *E. chiriquensis* no período em que a espécie reside no Cerrado para se reproduzir. Em primeiro lugar, na fase de chegada, a massa corporal possuía valores médios semelhantes à média do período reprodutivo, que foi também acompanhada pelos valores de hematócrito, mas sem relação significativa. Durante a fase de reprodução não houve relação entre as duas variáveis, e; finalmente, antes da partida houve aumento da massa acompanhado por aumento no hematócrito, positivamente correlacionados. Nota-se que esta espécie sofre alterações em sua massa e hematócrito durante a sua residência no local de reprodução, mas na fase de reprodução não houve relação entre esses parâmetros. Ainda assim, o sistema tem características peculiares, como a chegada em boas condições e eficiência no aproveitamento do curto período de tempo para se adaptar ao clima do Cerrado e se preparar para reproduzir. Isto sugere futuros estudos concentrando-se, por exemplo, em como ocorre a liberação de hormônios reprodutivos (estradiol, hormônio luteinizante, hormônio



folículo estimulante, prolactina e outros) nesta pequena janela temporal. A relação que estudamos sugere que o aumento da massa e hematócrito estão fortemente conectados em uma das fases do ciclo de vida desta espécie, demonstrando que a maioria dos indivíduos de *E. chiriquensis* que se preparam para partir para as áreas de invernada, o fazem em ótimas condições corporais e fisiológicas.

## REFERÊNCIAS

- Ankney, C. D., Alisauskas, R. T. 1991. Nutrient-reserve dynamics and diet of breeding female gadwalls. *Condor* 93:799-810.
- Arizmendi-Mejía, R., Militão, T., Viscor, G., Gonzáles-Solís, J. 2013. Pre-breeding ecophysiology of a long-distance migratory seabird. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 443:162-168.
- Bairlein, F., Gwinner, E., 1994. Nutritional mechanisms and temporal control of migratory energy accumulation in birds. *Annual Review of Nutrition* 14:187-215.
- Battley, P. F., Dietz, M. W., Piersma, T., Dekinga, A., Tang, S., Hulsman, K. 2001. Is long- distance bird flight equivalent to a high-energy fast? Body composition changes in freely migrating and captive fasting great knots. *Physiological and Biochemical Zoology* 74:435-449.
- Bauchinger, U., Goymann, W., Jenni-Eiermann, S. 2005. Bird hormones and bird migrations. New York, New York Academy of Sciences.
- Bearhop, S., Griffiths, R., Orr, K., Furness, R. W. 1999. Mean corpuscular volume (MCV) as a measure of condition in birds. *Ecological Letters* 2:352-356.
- Bell, E. F., Nahmias, C., Sinclair, J. C., Zipursky, A. 2014. Changes in circulating red cell volume during the first 6 weeks of life in very-low-birth-weight infants. *Pediatric Research* 75:81-84.
- Boross, N., Markó, G., Laczi, M., Garamszegi, L. Z., Hegyl, G., Herényi, M., Kiss, D., Nagy, G.,

- Rosivall, B., Szöllösi, E., Török, J. 2012. Sources of variation in haematocrit in the Collared Flycatcher (*Ficedulla albicollis*). *Ornis Hungarica* 20:64-72.
- Butler, P. J., Woakes, A. J., Bishop, C. M. 1998. Behaviour and physiology of Svalbard barnacle geese, *Branta leucopsis*, during their autumn migration. *Journal of Avian Biology* 29:536-545.
- Chastel, O., Weimerskirch, H., Jouventin, P. 1995. Influence of body condition on reproductive decision and reproductive success in the Blue petrel. *Auk* 112:964-972.
- Coles, B. H. 1997. *Avian Medicine and Surgery*. Blackwell Science, Oxford.
- Crossin, G. T., Phillips, R. A., Trathan, P. N., Fox, D. S., Dawson, A., Wynne-Edwards, K. E., Williams, T. D. 2012. Migratory carryover effects and endocrinological correlates of reproductive decisions and reproductive success in female albatrosses. *General and Comparative Endocrinology* 176:151-157.
- Cubas, Z. S., Silva, J. C. R., Catão-Dias, J. L. 2007. *Tratado de animais selvagens. Medicina Veterinária*. São Paulo: Editora Roca LTDA.
- Eichhorn, G., van der Jeugd, H. P., Harro, A. J., Meijer, H. A. J., Drent, R. H. 2010. Fueling incubation: differential use of body stores in Arctic and temperate-breeding barnacle geese (*Branta leucopsis*). *Auk* 127:162-172.
- Fair, J., Whitaker, S., Pearson, B. 2007. Sources of variation in haematocrit in birds. *Ibis* 149:535-552.
- Giudici, A., Navarro, J., Juste, C., González-Solís, J. 2010. Physiological ecology of breeders and sabbaticals in a pelagic seabird. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 389:13-17.
- Green, A. J. 2001. Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results? *Ecology* 82:1473-1483.
- Guglielmo, C. G., Williams, T. D. 2002. Phenotypic flexibility of body composition in relation to migratory state, age, and sex in the Western Sandpiper (*Calidris mauri*). *Physiological*

Biochemistry Zoology 76:84-98.

Gwinner, E. 2011. Bird migration: physiology and ecophysiology. Berlin: Springer Heidelberg.

Hatch, M. I., Smith, R. J. 2010. Repeatability of hematocrits and body mass of Gray Catbirds. *Journal of Field Ornithology* 81:64-70.

Hatch, M., Smith, R. J., Owen, J. C. 2010. Arrival timing and hematological parameters in Gray Catbirds (*Dumetella carolinensis*). *Journal of Ornithology* 151:545-552.

Hill, R. W., Wyse, G. A., Anderson, M. 2008. Animal Physiology. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.

Hõrak, P., Ots, I., Murumagi, A. 1998. Haematological health state indices of reproducing great tits: a response to brood size manipulation. *Functional Ecology* 12:750-756.

Hunter, S. R., Powers, L. R. 1980. Raptor hematocrit values. *Condor* 82:226-227.

Jenni-Eiermann, S., Jenni, L. 1994. Plasma metabolite levels predict body-mass changes in a small long-distance migrant, the Garden Warbler. *Auk* 111:888-899.

Jenni-Eiermann, S., Jenni, L., Piersma, T. 2002. Plasma metabolites reflect seasonally changing metabolic processes in a long-distance migrant shorebird (*Calidris canutus*). *Zoology* 105:239-246.

Kendeigh, S. C., Dolnik, V. R., Gavrilov, V. M. 1977. Avian energetics. In: Granivorous Birds in Ecosystems, Pinowski J., Kendeigh, S. C. (eds.) pp. 129–204. Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K.

Lobato, D. N. C., Braga, É. M., Belo, N. O., Antonini, Y. 2011. Hematological and parasitological health conditions of the Pale-breasted Thrush (*Turdus leucomelas*) (Passeriformes: Turdidae) in southeastern Brazil. *Zoologia* 28: 771-776.

Mallory, M. L., Forbes, M. R. 2008. Costly pre-laying behaviours and physiological expenditures by northern fulmars in the High Arctic. *Ecoscience* 15:545-554.

Marini, M. Â., Cavalcanti, R. B. 1990. Migrações de *Elaenia albiceps chilensis* e *Elaenia*

- chiriquensis albivertex* (Aves: Tyrannidae). Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Zoologia 6:59-67.
- Medeiros, R. C. S., Marini, M. Â. 2007. Biologia reprodutiva de *Elaenia chiriquensis* (Lawrence) (Aves, Tyrannidae) em Cerrado do Brasil Central. Revista Brasileira de Zoologia 24:12-20.
- Morton, M. L. 1994. Hematocrits in Montane Sparrows in relation to reproductive schedule. Condor 96:119-126.
- Navarro, J., González-Solís, J., Viscor, G. 2007. Nutritional and feeding ecology in Cory's shearwater, *Calonectris diomedea*, during breeding. Marine Ecology Progress Series 351:261-271.
- Niizuma, Y., Araki, Y., Mori, H., Takahashi, A., Watanuki, Y. 2002. Responses of body components to changes in the energetic demand throughout the breeding stages of rhinoceros auklets. Canadian Journal of Zoology 80:1549-1555.
- Nimer, E. 1979. Climatologia do Brasil: recursos naturais e meio ambiente. IBGE, Brasília, Brazil.
- Piersma, T. 1998. Phenotypic flexibility during migration: optimization of organ size contingent on the risks and rewards of fueling and flight. Journal of Avian Biology 29:511-520.
- Programa R (R Development Core Team). 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Prosser, L., Weinstein, S. J. F. 1950. Comparison of blood volume in animals with open and with closed circulatory systems. Physiological Zoology 23:113-124.
- Ricklefs, R. E., Wikelski, M. 2002. The physiology/life history nexus. Trends in Ecology & Evolution 17:462-468.
- Sealander, J. A. 1964. The influence of body size, season, sex, age and other factors upon some blood parameters in small mammals. Journal of Mammalogy 45:598-616.
- Stearns, S. C. 1992. The Evolution of Life Histories. Oxford University Press, Oxford, UK.

- Thrall, M. A. 2004. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Vanderkist, B. A., Williams, T. D., Bertram, D. F., Lougheed, L. W., Ryder, J. L. 2000. Indirect, physiological assessment of reproductive state and breeding chronology in free living birds: an example in the Marbled Murrelet (*Brachyramphus marmoratus*). *Functional Ecology* 14:758-765.
- Viscor, G., Fuster, J. F. 1987. Relationships between morphological parameters in birds with different flying habitats. *Comparative Biochemistry and Physiology* 87:231-249.
- Whittow, G. C. 2000. *Sturkie's avian physiology*, 5th ed. Academic Press, New York, NY.
- Winker, K., Warner, D. W., Weisbrod, A. R. 1992. Daily mass gains among woodland migrants at an inland stopover site. *Auk* 109:853-862.

## **CAPÍTULO II**

### **ESTRESSE E SUCESSO REPRODUTIVO DE *Elaenia chiriquensis* NA FASE DE INCUBAÇÃO DE OVOS NO CERRADO**

## RESUMO

Parâmetros fisiológicos têm sido cada vez mais agregados aos estudos de ecologia de aves, a fim de elucidar questões principalmente relacionadas aos custos de conduzir atividades dispendiosas para o organismo como a reprodução. Um dos principais parâmetros utilizados tem sido o estresse, medido, em aves, pelo hormônio corticosterona, o qual tem sido relacionado com o valor de ninhada e aptidão reprodutiva. Nesse sentido, este estudo objetiva definir o padrão de liberação do hormônio corticosterona em *Elaenia chiriquensis* no sítio reprodutivo, buscando verificar se existem diferenças e relações entre os níveis de estresse e sua aptidão reprodutiva. Espera-se que as fêmeas que obtêm sucesso reprodutivo da fase de incubação de ovos para a fase de ninhegos possuam altos níveis de corticosterona e intimamente relacionados com suas massas, enquanto fêmeas que não obtêm sucesso possuem níveis ou muito elevados (crônicos) ou muito baixos durante a fase de incubação, porém também relacionados com a massa. De forma geral, as fêmeas amostradas durante o período reprodutivo apresentaram média de massa de  $15,78 \pm 1,31$  g, sendo que as fêmeas que falharam tinham  $17,81 \pm 0,53$  g ( $N = 22$ ) em média e eram mais pesadas ( $t = 6,48$ , g.l. = 48,  $p < 0,05$ ) do que aquelas que obtiveram sucesso ( $13,76 \pm 1,01$  g;  $N = 27$ ) de eclosão. As fêmeas que não obtiveram sucesso na incubação apresentaram menores níveis de corticosterona ( $7,59 \pm 2,55$  ng/mL;  $N = 22$ ), enquanto as fêmeas que obtiveram sucesso tiveram níveis maiores ( $16,26 \pm 3,24$  ng/mL;  $N = 27$ ), com diferença significativa entre os dois grupos ( $t = 16,75$ ; g.l. = 48,  $p < 0,05$ ). Os resultados deste estudo registram que fêmeas sem sucesso apresentam menores índices de corticosterona, enquanto as fêmeas com sucesso apresentam elevados níveis de estresse. Assim, a incubação bem sucedida foi associada com níveis elevados de corticosterona, interpretado como o compromisso com o esforço atual de reprodução e futuro com os ninhegos que eclodiram.

Palavras-chave: incubação de ovos, estresse, corticosterona, sucesso reprodutivo.

## INTRODUÇÃO

Estudos sobre a relação entre a aptidão reprodutiva de um indivíduo e seu ambiente têm ajudado a entender as respostas apresentadas pelos organismos frente às alterações naturais ou artificiais no ambiente em que vivem (Dawson 2008). Tendo como base que a própria aptidão reprodutiva de um indivíduo é determinada pelo seu fenótipo e por influências advindas do ambiente, sugere-se que esta relação pode ser a chave para o entendimento dos diferentes estilos de vida adotados pelos organismos em seus ambientes (Levins 1963). O termo aptidão reprodutiva se refere ao sucesso reprodutivo direto do indivíduo ao longo do tempo, idealmente durante toda sua vida, mas que pode ser usado em estudos de curto prazo como indicador de aptidão (Ricklefs 1977, Ricklefs 1991).

No grupo das aves, entre aquelas de regiões tropicais e as de regiões temperadas, é possível estabelecer um eixo de estilo de vida que inclui diferentes taxas de sobrevivência e reprodução. As aves tropicais se encontrariam em um extremo deste eixo, com elevada sobrevivência e baixa reprodução e aves de regiões temperadas no extremo oposto, com baixa sobrevivência e elevadas taxas reprodutivas (Robinson et al. 2010). Assim as aves tropicais, ao contrário das aves de regiões temperadas, são consideradas de estilo de vida lento, por possuírem baixas taxas metabólicas, lento crescimento e desenvolvimento, baixo sucesso reprodutivo e deste modo, vida longa (Martin 1996, Magrath et al. 2000).

Atualmente, diversos estudos têm agregado conhecimentos de fisiologia para mensurar estes aspectos de história de vida e as respostas dos organismos ao seu ambiente (Wikelski & Cooke 2006, Wingfield et al. 2003). Os hormônios têm sido a principal ferramenta utilizada para relacionar estado fisiológico com alterações ambientais (Breuner & Hahn 2003, Cameron et al. 2010), condição corporal (Kitaysky et al. 1999), imunidade (Perfito et al. 2006), data de início da reprodução (Dawson 2008), sucesso reprodutivo (Ouyang et al. 2011), entre outros. Muitos



trabalhos têm mostrado o efeito do estresse (medido pelos níveis de glicocorticoides na circulação sanguínea) na sobrevivência e aptidão reprodutiva dos indivíduos, com excelentes contribuições na área de biologia reprodutiva, demografia, recrutamento, entre outros (Cooke et al. 2004, Ricklefs & Wikelski 2002, Wikelski & Cooke 2006).

O que é conhecido como estresse é, entre outros processos fisiológicos, o resultado da liberação de hormônios glicocorticoides na corrente sanguínea controlada pelo eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) de acordo com estímulos internos e externos ao organismo. Na classe dos glicocorticoides estão incluídos o cortisol, a corticosterona e a cortisona, com similar conformação molecular, porém variando em sua distribuição nos grupos animais (Wittow 2000). Em peixes e na maioria dos mamíferos é liberado o cortisol e a cortisona, enquanto em aves, répteis e anfíbios é liberada em maior concentração a corticosterona (Romero 2004, Hill et al. 2008). O eixo HPA é sensível a uma variedade de informações sensoriais endógenas e exógenas e sua resposta é essencial para manter a homeostase do organismo, além de potencializar a sobrevivência do animal (Sapolsky et al. 2000, Cubas et al. 2007). A corticosterona participa da regulação de padrões comportamentais e em níveis elevados, leva ao aumento da atividade motora, da mobilização de reservas energéticas, promove a regulação do metabolismo, do comportamento e do sistema imune (Breuner et al. 1998, Sapolsky et al. 2000, Gwinner 2011).

No entanto, desde as primeiras pesquisas nesse campo de estudo foi sendo verificado que o excesso de estresse tem efeitos patogênicos no metabolismo, na função vascular, na reparação de tecidos, nas defesas do sistema imune, e até na saúde de neurônios (Selye 1956, 1975). Uma das principais consequências adversas demonstrada em organismos silvestres foi a inibição da atividade de reprodução com o aumento dos níveis de estresse (Wingfield & Sapolsky 2003). Neste caso, o excesso de glicocorticoides na corrente sanguínea provoca a liberação de  $\beta$ -endorfina, que inibe a liberação do hormônio GnRH (gonadotrofina), precursor de hormônios reprodutivos, provocando declínio em suas concentrações no sistema endócrino (Ching 1983). Além da diminuição do GnRH,

em decorrência da liberação dos glicocorticoides, os níveis aumentados dos mesmos têm consequências aos ovários provocando decréscimo na secreção de LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo estimulante), gerando ciclo folicular irregular e mais longo nas fêmeas (Negro-Vilar 1993, Wingfield & Sapolsky 2003). No caso dos machos, a principal consequência é o declínio dos níveis de testosterona, o que diminui a libido, função e desempenho sexual (Whittow 2000).

Ainda a respeito do eixo de estilo de vida e os efeitos do estresse sobre a reprodução, há hipóteses que afirmam que o hormônio corticosterona está envolvido na regulação da escolha entre o investimento reprodutivo atual e futuro em aves (Wingfield et al. 1995, Hau et al. 2010). O conceito de fisiologia de história de vida tem mudado a visão de que as pressões de seleção sejam finalísticas sobre as características de história de vida, agregando conhecimentos fisiológicos no entendimento das diferentes dinâmicas de história de vida registradas (Ricklefs & Wikelski 2002). A predação, por exemplo, é uma das maiores causas de insucesso de aves tropicais (Martin 1996, Medeiros & Marini 2007), mas esse fator sozinho não explica toda a falha reprodutiva, sendo importante incluir fatores diretamente relacionados aos pais como comportamento, metabolismo, e condição corporal e fisiológica dos mesmos.

Em relação à fisiologia do estresse e aspectos de aptidão reprodutiva, vários preditores da relação entre estes dois aspectos podem ser considerados, por exemplo, a massa de ovos, que reflete a variância na fecundidade (Monaghan & Nager 1997, Bonier et al. 2009a), número de filhotes produzidos por fêmea, probabilidade de sobrevivência, probabilidade de reprodução, tamanho de ninhada, taxa de crescimento da ninhada, sucesso em cada fase, entre outros (Bonier et al. 2009b). Além disso, Bókony e colaboradores (2009a) mostram que a maioria das espécies de aves parece exibir relação negativa significativa entre a massa e os níveis do hormônio corticosterona. Isso quer dizer que conforme ocorre aumento de massa, os níveis de corticosterona tendem a diminuir, cuja explicação fisiológica estaria relacionada aos gastos energéticos e metabólicos durante a fase

reprodutiva, fase de grande custo no ciclo anual das aves (Winkler 2004, Gwinner 2011).

A condição física dos pais ao longo da reprodução é um fator muito importante não só para uma boa condução do processo reprodutivo como para sua sobrevivência, principalmente em espécies em que somente um indivíduo é responsável pela atividade de incubação ou cuidado com os ninhegos. Níveis muito elevados de corticosterona classicamente tem efeito negativo sobre o comportamento parental e é, portanto correlacionado com baixo sucesso reprodutivo (Sapolsky et al. 2000, Wingfield & Sapolsky 2003, Romero 2004, Landys et al. 2006). Neste caso, os indivíduos reorientam recursos para sua automanutenção, em detrimento da reprodução, a fim de lidar com o fator estressor em prol de sua sobrevivência (Breuner et al. 1998). Essa ideia é um extremo do que pode ocorrer. No entanto, este raciocínio está baseado na hipótese de valor da ninhada (Lendvai et al. 2007), que sugere que os níveis de estresse devem ser altos quando o valor da reprodução atual é alta. Geralmente, o valor da ninhada é maior e continua aumentando na fase de ninhegos, sendo a fase de ovos a de menor valor e que sofre mais com predações e outras causas de perdas de ninhadas.

Esta relação entre êxito reprodutivo e níveis de corticosterona foi utilizada recentemente para a comparação de esforço reprodutivo de pais que perderam seus ovos com os que conseguiram gerar ninhegos (Crossin et al. 2013). Este estudo mostrou que conseguir êxito está relacionado com a atividade do eixo HPA e secreção de corticosterona, necessária para apoiar o investimento futuro na criação dos ninhegos. Conjuntamente, os estudos já realizados sugerem que um mecanismo subjacente realiza mediação entre as decisões de reprodução atual e futura por meio da liberação da corticosterona, reforçando as associações entre secreção de corticosterona e medidas de aptidão reprodutiva (Bonier et al. 2009a, Hau et al. 2010). Assim, fêmeas com êxito da fase de ovos para ninhegos tem demandas metabólicas mais elevadas para o cuidado parental próximo requerendo regulação do eixo HPA no sentido de aumentar os níveis de corticosterona, para manter maior esforço de atendimento às demandas dos futuros ninhegos (Bonier et al. 2009, Crossin et al. 2013).

É importante mencionar que níveis muito baixos ou muito altos do hormônio corticosterona fora da normalidade da população estudada, podem produzir efeitos contrários ao predito pela hipótese aqui apresentada, como o abandono de ninho. Isto foi verificado para *Aptenodytes patagonicus*, uma espécie de pinguim, em que a corticosterona foi de duas a quatro vezes maior em indivíduos que abandonaram os ovos ou ninhos em comparação com os que não abandonaram (Groscolas et al. 2008).

A compreensão do papel da corticosterona na aptidão reprodutiva depende da interpretação de seus níveis para cada espécie. No caso da corticosterona é possível coletar dois tipos: a corticosterona base (CORT-base) e a induzida por manipulação do animal (CORT-induzida) (Breuner et al. 1998). Em aves, a CORT-base é obtida até três minutos após a captura do indivíduo, ao passo que o material coletado após esse tempo representa a CORT-induzida, pois decorre do estresse advindo da captura e manipulação (Breuner et al. 1998, Wittow 2000). Frequentemente, os níveis base da corticosterona são examinados para fins de relação com fatores pontuais de história de vida, já que estes níveis representam o estado natural de estresse do animal no momento em que foi medido (utiliza-se o termo base e não basal porque raramente o eixo HPA está em repouso em animais de vida livre) (Breuner 2011). Assim é esperado que aves com sucesso reprodutivo apresentem altos níveis de corticosterona, bem como que aves que não apresentem sucesso reprodutivo tenham níveis um pouco mais altos (crônicos) que as que obtiveram sucesso e/ou níveis muito baixos.

Nesse sentido, este estudo objetiva primeiramente mostrar o padrão de liberação do hormônio corticosterona em *Elaenia chiriquensis* no sítio reprodutivo. Testaremos a hipótese de valor de ninhada (Lendvai et al. 2007) e a hipótese de relação da corticosterona com aptidão reprodutiva (Bonier et al. 2009a), buscando verificar se existem diferenças e relações entre os níveis de estresse e a aptidão reprodutiva. Especificamente, esperamos que os níveis de estresse sejam altos quando o valor da reprodução atual é alta. Geralmente, o valor da ninhada aumenta da fase de

ovos até chegar à fase de ninhegos. Assim temos a seguinte predição em relação ao teste desta hipótese para nosso modelo de estudo: as fêmeas comprometidas com determinada tentativa reprodutiva irão manter maior esforço para atender às demandas dos futuros ninhegos e em decorrência disto apresentarão maiores níveis de corticosterona.

Para este estudo, consideramos o sucesso reprodutivo de produção de ninhegos como métrica de aptidão reprodutiva, ou seja, neste estudo sucesso reprodutivo foi considerado como o evento em que os ovos eclodiram para ninhegos. Esperamos que: a) as fêmeas que obtém sucesso reprodutivo da fase de incubação de ovos para a fase de ninhegos possuam altos e significativos níveis de corticosterona (CORT-base) controlados e relacionados com suas massas, enquanto b) as fêmeas que não obtém sucesso possuem níveis ou muito elevados (crônicos) ou muito baixos de corticosterona (CORT-base) durante a fase de incubação, porém também relacionados com a massa destas fêmeas.

## **MÉTODOS**

*Área de estudo (Vide Apresentação Geral, página 9)*

*Espécie de estudo (Vide Apresentação Geral, página 10)*

*Procura e monitoramento de ninhos*

A procura por ninhos de *Elaenia chiriquensis* foi realizada em todos os substratos com potencial para nidificação na área de estudo. A verificação de atividade no ninho foi realizada por meio de observação de comportamentos como indivíduos carregando material de construção de ninho, cópulas; movimentação de pais para atividade de incubação; vocalização de ninhegos; ataque às outras aves invasoras em defesa do ninho; indivíduos carregando alimentos, entre outros.

Para cada ninho encontrado foi realizada a identificação do seu estágio (construção, incubação, presença de ninhegos, ou inativo) e a localização do mesmo na área de estudo. Quando o ninho estava vazio, foi colocada uma folha dentro do ninho e, nas checagens posteriores, e se verificado a presença da folha repetidas vezes no ninho, o mesmo foi considerado inativo, já que aves costumam higienizar seus ninhos com frequência, retirando folhas, sujeiras e excretas (Winkler 2004). O conteúdo de cada ninho encontrado (número de ovos) foi monitorado, pelo menos duas vezes por semana, até a verificação de seu estágio final, seja falha ou sucesso. Neste capítulo consideramos sucesso reprodutivo os eventos de reprodução que conseguiram seguir da fase de ovos para a fase de eclosão de ninhegos, e falha reprodutiva aqueles que não eclodiram.

#### *Captura, marcação e coleta de amostras de sangue de indivíduos em nidificação*

Para o teste da hipótese deste capítulo foi necessário o acompanhamento de fêmeas em incubação, assim foram capturados indivíduos com ninhos acompanhados desde o seu início, para ter controle sobre quando foram postos os ovos. Todas as fêmeas em incubação foram capturadas no meio da fase de incubação, entre o sexto e sétimo dia. Para isso, a partir de setembro, quando os primeiros ninhos da espécie são geralmente registrados, foram realizadas expedições semanais de captura e marcação de indivíduos de *Elaenia chiriquensis* em nidificação. Uma rede de neblina foi posicionada próxima a cada ninho e assim que a fêmea em incubação saía do ninho era capturada na rede. Posteriormente, uma amostra sanguínea de cada fêmea foi coletada por meio de perfuração na veia braquial alar direita com auxílio de agulha hipodérmica e capilar de colheita sanguínea heparinizado.

Conforme indicação ética de manipulação de animais silvestres, o volume de sangue retirado foi de aproximadamente 40  $\mu$ L e não ultrapassou o limite ético de 1% da massa de cada indivíduo (Thrall 2004, Cubas et al. 2007). Após a coleta, os capilares foram fechados em apenas uma de suas extremidades (a não heparinizada), com auxílio de maçarico portátil. Os capilares coletados foram

depositados em posição vertical em gelo, de maneira que a extremidade fechada do capilar ficasse por baixo. O tempo entre a coleta e a centrifugação foi de aproximadamente quatro horas ( $253 \pm 15$  min). Em laboratório as amostras foram centrifugadas por 10 minutos em centrífuga de micro-hematócrito a uma rotação de 12.000 rpm. Posteriormente separou-se a parte de plasma de cada amostra e armazenou-se a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises hormonais. A marcação das aves foi realizada com anilhas metálicas cedidas pelo CEMAVE e também houve marcação com anilhas coloridas para individualizar a fêmea. Todas as fêmeas foram pesadas com auxílio de dínamo de precisão igual a 0,1g (Pesola®).

### *Análises hormonais*

As análises hormonais foram realizadas no Laboratório Santé®, no equipamento Cobas®, pelo teste Elecsys Cortisol com supervisão técnica da Roche®. Este teste baseia-se no princípio do teste de competição utilizando um anticorpo policlonal especificamente dirigido contra o cortisol através de imunoensaio por eletroquimioluminescência (ECLIA) (Figura 1). Para mais detalhes conferir Roche (2013).

Cada ensaio teve duração total de 18 minutos e seguiu obrigatoriamente duas fases de incubação. Na primeira, 20  $\mu\text{L}$  de amostra de plasma foram incubados com um anticorpo biotilado específico anticortisol e um derivado do cortisol marcado com complexo de rutênio. Conforme a concentração de corticosterona na amostra e a formação do respectivo complexo imune, o local de ligação do anticorpo marcado foi sendo ocupado em parte pela corticosterona e em parte com hapteno marcado com rutênio. Na segunda incubação, após a adição das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interação da biotina e da estreptavidina.

A mistura de reação foi aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eletrodo. Os elementos não ligados são então removidos com

ProCell/ProCell M. Posteriormente, a aplicação de uma corrente elétrica ao eletrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador. Os resultados são determinados com base em uma curva de calibração gerada especificamente pelo analisador, por meio de uma calibração de 2 pontos, e em uma curva principal incluída no código de barras dos reagentes. Os reagentes do kit para detecção da corticosterona foram incluídos em uma unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada. Toda a informação necessária ao correto funcionamento é introduzida no analisador a partir dos respectivos códigos de barras do reagente.

O analisador calcula automaticamente a concentração da corticosterona de cada amostra em  $\mu\text{g/dL}$  e para efeito de padronização dos dados da área de ecofisiologia de aves, os dados foram convertidos para  $\mu\text{g/mL}$ , fazendo-se a divisão dos valores obtidos no equipamento por 100.



Figura 1. Procedimento das análises de dosagem de corticosterona em plasma de *Elaenia chiriquensis* no equipamento Cobas pelo imunensaio por eletroquimioluminescência (ECLIA) em 2013 no Laboratório Santé®.

#### *Análises estatísticas*

As análises consistiram de teste-t para verificar diferenças em cada parâmetro (massa e níveis de corticosterona) entre as fêmeas com e sem sucesso e análise de correlação entre massa e níveis de corticosterona para as fêmeas estudadas. É importante ressaltar que foram utilizados os



valores de massa e não de condição corporal (massa controlada pelo tamanho corporal) porque estes são capazes de evidenciar energia associada a reservas que é independente do tamanho corporal dos indivíduos (Green 2001). A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. Todas as análises foram executadas no Programa R (2013), com nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

## RESULTADOS

De forma geral, as fêmeas amostradas durante o período reprodutivo apresentaram média de massa de  $15,8 \pm 1,3$  g (N = 49). No entanto, houve diferenças na massa das fêmeas que falharam na reprodução ( $17,8 \pm 0,5$  g; N = 22) que eram 22,5% mais pesadas ( $t = 6,48$ ; g.l. = 48;  $P < 0,05$ ) do que aquelas que obtiveram sucesso ( $13,8 \pm 1,1$  g; N = 27) (Figura 2).

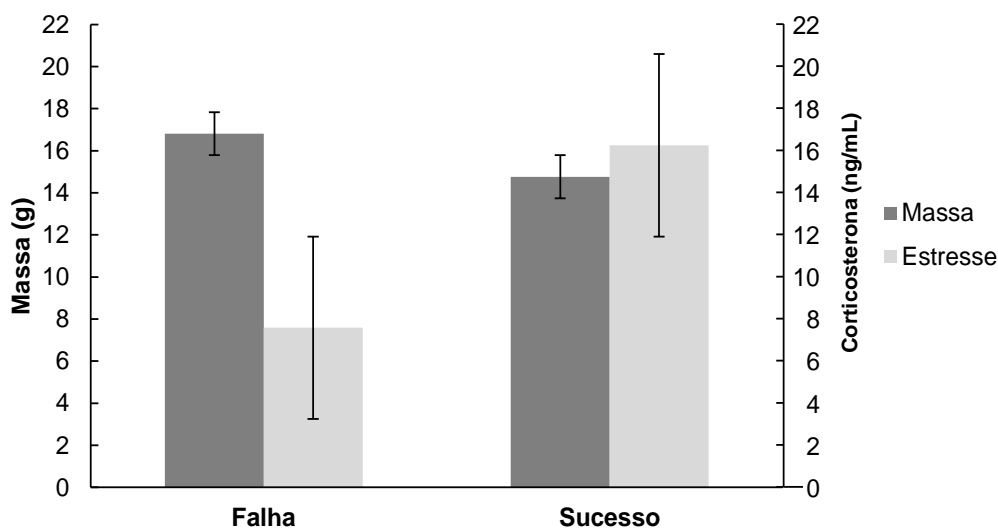


Figura 2. Massa (g) e níveis de corticosterona (ng/mL) das fêmeas de *Elaenia chiriquensis* em incubação no ano de 2012, comparando aquelas que falharam com as que obtiveram sucesso reprodutivo da fase de incubação para a fase eclosão de ovos em área reprodutiva da Estação Ecológica de Águas Emendadas, Brasília, DF.

No período amostrado, a população em reprodução apresentou valores médios de CORT-base de  $12,4 \pm 5,3$  ng/mL (N = 49). As fêmeas que não obtiveram sucesso na incubação apresentaram menores níveis de CORT-base ( $7,6 \pm 2,6$  ng/mL; N = 22), enquanto as fêmeas que obtiveram sucesso de eclosão dos ovos apresentaram elevados níveis ( $16,3 \pm 3,2$  ng/mL; N = 27), com diferença significativa entre os dois grupos ( $t = 16,75$ ; g.l. = 48;  $P < 0,05$ ) (Figura 2). Três fêmeas que obtiveram sucesso reprodutivo apresentaram valores de corticosterona acima de 21 ng/mL, valores acima da média apresentada pela espécie.

A relação entre os níveis de corticosterona e aptidão reprodutiva associada à massa corporal de cada indivíduo mostra panoramas semelhantes entre os dois grupos estudados e também para a população de modo geral (Tabela 1). Tanto para fêmeas que falharam como para as que obtiveram sucesso reprodutivo a massa relaciona-se com os níveis de corticosterona numa relação negativa e significativa, ou seja, quanto menor a massa, maiores os níveis de corticosterona (Figura 3).

Tabela 1. Valores estatísticos de regressão da relação entre massa e corticosterona de *Elaenia chiriquensis* em reprodução na Estação Ecológica de Águas Emendadas, Brasília, DF.

<b>Grupo</b>	<b>F</b>	<b>g.l.</b>	<b>r<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
Falha	102,7	21	0,60	< 0,05
Sucesso	149,2	26	0,81	< 0,05
Geral	336,3	47	0,90	< 0,05

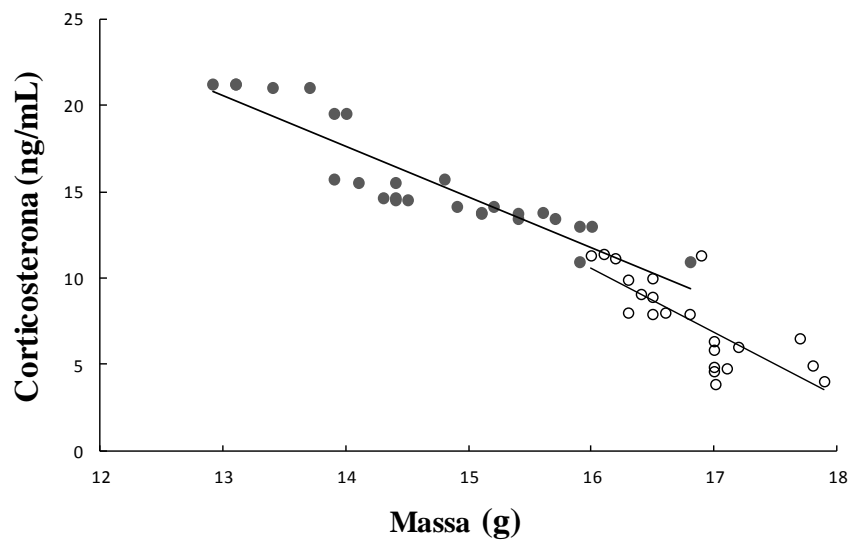


Figura 3. Relação entre níveis de corticosterona (ng/mL) e massa corporal (g) das fêmeas de *Elaenia chiriquensis* em incubação na área de estudo em 2012. Fêmeas com sucesso da fase de incubação de ovos para fase de eclosão de ninhegos representadas pelos círculos fechados e fêmeas que falharam entre as mesmas fases representadas por círculos abertos.

## DISCUSSÃO

A corticosterona é um fator biológico relevante para a mediação de custos entre a reprodução atual e futura, sendo assim capaz de refletir nas decisões reprodutivas ou falhas na reprodução. Neste estudo, descrevemos como a variação natural na corticosterona base está ligada a um dos eventos mais importantes da história de vida de aves de vida livre, a reprodução. Outro estudo similar com *Sturnus vulgaris*, um Passeriforme, porém da família Sturnidae, mostrou níveis elevados de corticosterona em fêmeas durante a incubação como indicativo de reprodução bem sucedida e preparação para a próxima fase, a de cuidado com os futuros ninhegos (Love et al. 2014). Embora o presente estudo tenha sido realizado em apenas uma estação reprodutiva, foi possível explorar as informações sobre o papel da corticosterona como um mediador entre a reprodução atual e futura. Registramos: (1) a utilidade da corticosterona para evidenciar padrões

relacionados ao sucesso reprodutivo atual; (2) o potencial da utilização da corticosterona como um sinal integrado de aumento da regulação metabólica (pela específica relação com a massa dos indivíduos) no apoio ao investimento reprodutivo atual; e (3) um custo potencial da reprodução por meio da interação entre níveis determinados de corticosterona e o êxito reprodutivo.

O avanço das pesquisas nessa relação de corticosterona e aptidão reprodutiva também mostra resultados contrários ao que a maioria dos estudos registra. Para a andorinha *Tachycineta bicolor* baixos níveis de corticosterona são associados à maior produção de ninhos (sucesso de eclosão) (Bonier et al. 2009b). Coletivamente, os resultados do presente estudo sugerem que existe um mecanismo subjacente à mediação entre a corticosterona e a reprodução atual e futura, dando assim suporte à hipótese de corticosterona-aptidão reprodutiva (Bonier et al. 2009a). Esta prevê, no caso da fase de incubação, associações negativas e significativas entre a secreção de corticosterona e sucesso de eclosão de ovos. No entanto, mais trabalhos são necessários para averiguar outros fatores relacionados ao teste desta hipótese e verificar o papel da corticosterona como o agente causal responsável pela variação nestes eventos de história de vida (Ricklefs & Wikelski 2002). Uma possibilidade é acompanhar a reprodução sucessiva de casais conhecidos e fazer as aferições a respeito da influência das tentativas reprodutivas no próprio compromisso de reprodução aqui levantado e o papel da corticosterona nessas decisões do organismo. Além disso, é importante ressaltar que a corticosterona é apenas um elemento em uma rede de regulação complexa do eixo HPA. Fazer relações quanto à variação da corticosterona junto à aptidão reprodutiva, portanto, requer uma suposição de que todos os outros aspectos do eixo HPA foram expressos de forma semelhante entre os indivíduos. Não obstante a isso, diversos estudos mostram que a variação individual na corticosterona tem sido um elemento robusto e capaz de mostrar relação com parâmetros de história de vida e aptidão reprodutiva (Hennin et al. 2012, Love et al. 2013, Sheriff & Love 2013).

A interpretação dos resultados encontrados sobre o papel da corticosterona no esforço

reprodutivo também resulta do conhecimento da ecologia da espécie e do ecossistema do local de reprodução. *Elaenia chiriquensis* é uma ave migratória intratropical, ocorre no sítio reprodutivo apenas por quatro a cinco meses (agosto a dezembro) e após sua chegada necessita se recuperar fisiologicamente para iniciar a reprodução e também estar em boas condições antes da migração para as áreas de invernada (Capítulo 1). Ocorre também que é nesta ocasião que a oferta de recursos alimentares aumenta (Pereira 2011, Guaraldo 2014) e as condições climáticas também melhoram, passando de um período seco e com altas temperaturas em agosto e meados de setembro, para períodos com chuva e temperaturas amenas até dezembro (Nimer 1979). No entanto, em meio a boas condições para reprodução, há um fator que pode causar estresse para esta espécie no local de reprodução: a elevação temporal do risco de predação dos ninhos (Paiva 2008). Este seria outro aspecto de grande interesse a ser investigado e relacionado aos níveis de corticosterona dos pais.

Ao demonstrar que os níveis de corticosterona foram maiores em fêmeas com sucesso do que em fêmeas com falha, os resultados encontrados sugerem que a demanda metabólica mais elevada de cuidado parental em fêmeas requer uma regulação do eixo HPA para manter maior esforço em atender as demandas dos futuros ninhos após o sucesso de eclosão. Nas fêmeas que falharam na fase de incubação, os níveis de corticosterona foram significativamente menores, sendo que não foram registrados níveis altos e crônicos para este grupo. Segundo a hipótese de relação da corticosterona com aptidão reprodutiva (Bonier et al. 2009a), estes níveis baixos de corticosterona podem refletir a relação de baixo compromisso dos pais com aquela reprodução, o que resulta em falha reprodutiva. A partir daí, livres das demandas da maternidade, as fêmeas também estão livres para forragearem com menos urgência, em seus próprios horários e investirem em sua sobrevivência individual (Crossin et al. 2013). Vale ressaltar que outras possibilidades também podem estar relacionadas com este compromisso como a variação temporal da própria estação reprodutiva, experiência da fêmea, capacidade de avaliar custos e benefícios de investir naquela ninhada e até mesmo qualidade do sítio reprodutivo (Winkler 2004). No entanto, o estresse (níveis

de corticosterona) deve ser entendido como mecanismo de adaptação e bom funcionamento do organismo, capaz de mostrar algumas respostas. Para *E. chiriquensis*, maiores níveis de corticosterona implicam em mecanismos internos que promoverão o sucesso na fase de incubação de ovos.

Apesar da correlação negativa entre corticosterona e massa corporal não determinar causalidade, mostra que há um custo associado entre ambos, também verificado por outros autores (Hennin et al. 2012, Crossin et al. 2013, Love et al. 2013, Sheriff & Love 2013). No entanto, diferente destes estudos, os resultados encontrados para *E. chiriquensis* mostram diferença significativa na massa das fêmeas estudadas, sendo que as fêmeas que falharam foram mais pesadas. É possível que as fêmeas que falharam sejam jovens e sabe-se que aves jovens, de forma geral, tendem a ter menor sucesso reprodutivo em suas primeiras tentativas e conforme adquirem experiência conseguem obter êxito reprodutivo (Curio 1983, Weimerskirch 1992). Além disso, ser uma fêmea leve durante a reprodução pode ser vantajoso, pois as visitas ao ninho podem ser realizadas de forma mais rápida, sem chamar a atenção de predadores. Visitas e comportamentos próximos ao ninho são fatores muito importantes e relacionados ao compromisso com a reprodução atual, o que está diretamente relacionado ao valor de ninhada e nas chances de predação e insucesso (Martin 1996). Apesar disso, por haver uma relação entre corticosterona e massa corporal, independente de sucesso ou falha, há indicação de que existe um compromisso com a reprodução em curso, mas que também depende de outros fatores intrínsecos do próprio indivíduo em lidar com aquela tentativa reprodutiva atual (Fontaine et al. 2011).

Apesar de essencial à sobrevivência, o estresse pode ter efeitos negativos sobre a reprodução (Wingfield & Sapolsky 2003). Em *Aptenodytes patagonicus*, por exemplo, o nível de corticosterona foi de 2 a 4 vezes maior em indivíduos que abandonaram os ovos ou ninhos em comparação com os que não o fizeram (Groscolas et al. 2008). No entanto, a elevação crônica da corticosterona não foi registrada para *E. chiriquensis* com efeito negativo sobre a reprodução. Apenas alguns

indivíduos elevaram seus níveis acima da média, mas as fêmeas com sucesso tinham maiores níveis de corticosterona comparado com as que falharam. Isto evidencia que uma resposta apropriada de estresse fisiológico deve permitir com que o indivíduo lide com os desafios ao longo da reprodução e do tempo, sem violar um limiar além do qual podem ocorrer efeitos deletérios (Love et al. 2004, Hau et al. 2010, Crossin et al. 2012).

Nós testamos o papel da secreção de corticosterona no esforço reprodutivo de uma espécie migratória intratropical, e verificamos que *Elaenia chiriquensis* apresenta padrões de liberação do hormônio corticosterona, ao longo do período reprodutivo, com diferenças entre os indivíduos com e sem êxito reprodutivo. Esperávamos que as fêmeas que obtêm sucesso reprodutivo da fase de incubação de ovos para a fase de ninhegos possuíssem altos e significativos níveis de corticosterona significativamente relacionados com suas massas, enquanto fêmeas que não obtêm sucesso possuíssem níveis ou muito elevados (crônicos) ou muito baixos durante a fase de incubação, porém também relacionados com a massa destas fêmeas. Corroboramos as hipóteses com o diferencial de que não foram registrados níveis crônicos associados à falha nesta espécie e de que as fêmeas que falharam eram mais pesadas. Em petréis gigantes, o mesmo foi verificado, no entanto a alta corticosterona e reduzida massa corporal foi capaz de influenciar a decisão de reproduzir no ano seguinte (Crossin et al. 2013). As hipóteses de valor de ninhada (Lendvai et al. 2007) e de relação de estresse com aptidão reprodutiva (Bonier et al. 2009a) foram corroboradas conjuntamente, sendo observadas diferenças nas massas dos indivíduos, níveis de estresse e aptidão reprodutiva. O interessante é que a reprodução bem sucedida foi associada com níveis elevados de corticosterona, que nós interpretamos como um compromisso com o esforço atual de reprodução comparado com as fêmeas com falhas e baixos níveis de corticosterona. Trabalhos futuros podem se beneficiar de manipulações experimentais de corticosterona e observação detalhada do esforço atual e futuro em reprodução.

## REFERÊNCIAS

- Bókony, V., Lendvai, Á. Z., Liker, A., Angelier, F. 2009. Stress response and the value of reproduction: are birds prudent parents? *American Naturalist* 173:589-598.
- Bonier, F., Martin, P. R., Moore, I. T., Wingfield, J. C. 2009a. Do baseline glucocorticoids predict fitness? *Trends Ecology and Evolution* 24:634-642.
- Bonier, F., Moore, I. T., Martin, P. R., Robertson, R. J. 2009b. The relationship between fitness and baseline glucocorticoids in a passerine bird. *General and Comparative Endocrinology* 163:208-213.
- Breuner, C. W. 2011. Stress and reproduction in birds. In: Norris, D. O., Lopez, K. H. (Eds) *Hormones and reproduction of vertebrates, Volume 4-Birds*, pp.129-151. San Diego, Academic Press.
- Breuner, C. W., Greenberg, A. L., Wingfield, J. C. 1998. Noninvasive corticosterone treatment rapidly increases activity in Gambel's White-Crowned Sparrows (*Zonotrichia leucophrys gambelii*). *General and Comparative Endocrinology* 111:386-394.
- Breuner, C. W., Hahn, T. P. 2003. Integrating stress physiology, environmental change, and behavior in free-living sparrows. *Hormones and Behavior* 43:115-123.
- Cameron, A., Henley, D., Carrell, R., Zhou, A., Clarke, A., Lightman, S. 2010. Temperature-responsive release of cortisol from its binding globulin: a protein thermocouple. *Journal Clinical Endocrinology and Metabolism* 95:4689-4695.
- Ching, M. 1983. Morphine suppresses the proestrus surge of GnRH in pituitary portal plasmas of rats. *Endocrinology* 112:2209-2211.
- Cooke, S. J., Hinch, S. G., Wikelski, M., Andrews, R. D., Kuchel, L. J., Wolcott, T. G., Butler, P. J. 2004. Biotelemetry: a mechanistic approach to ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 19:334-343.



- Crossin, G. T., Phillips, R. A., Lattin, C. R., Romero, L. M., Williams, T. D. 2013. Corticosterone mediated costs of reproduction link current to future breeding. *General and Comparative Endocrinology* 193:112-120.
- Crossin, G. T., Trathan, P. N., Phillips, R. A., Gorman, K. B., Dawson, A., Sakamoto, K. Q., Williams, T. D. 2012. Corticosterone predicts foraging behaviour and parental care in macaroni penguins. *American Naturalist* 182:E31-E41.
- Cubas, Z. S., Silva, J. C. R., Catão-Dias, J. L. 2007. *Tratado de animais selvagens. Medicina Veterinária. São Paulo: Editora Roca LTDA.*
- Curio, E. 1983. Why do young birds reproduce less well? *Ibis* 125:400-404.
- Dawson, A. 2008. Control of the annual cycle in birds: endocrine constraints and plasticity in response to ecological variability. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 363:1621-1633.
- Fontaine, J. J., Arriero, E., Schwabl, H., Martin, T. E. 2011. Nest predation and circulating corticosterone levels within and among species. *Condor* 113: 825-833.
- Green, A. J. 2001. Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results? *Ecology* 82:1473-1483.
- Groscolas, R., Lacroix, A., Robin, J.-P. 2008. Spontaneous egg or chick abandonment in energy-depleted king penguins: a role for corticosterone and prolactin? *Hormones and Behavior* 53:51-60.
- Guaraldo, A. C. 2014. *Ecologia comparada de tiranídeos (Aves) residentes e migratórios. Tese de doutorado, UnB, Brasília, DF.*
- Gwinner, E. 2011. *Bird migration: physiology and ecophysiology. Berlin: Springer Heidelberg.*
- Hau, M., Ricklefs, R. E., Wikelski, M., Lee, K. A., Brawn, J. D., 2010. Corticosterone, testosterone and life-history strategies of birds. *Proceedings of the Royal Society B* 277:3203-3212.
- Hennin, H. L., Bêty, J., Gilchrist, H. G., Love, O. P., 2012. Do state-mediated hormones predict

- reproductive decisions in Arctic-nesting common eiders? *Integrative and Comparative Biology* 52: E76.
- Hill R. W., Wyse, G. A., Anderson, M. 2008. *Animal Physiology*. Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- Kitaysky, A. S., Wingfield, J. C., Piatt, J. F. 1999. Dynamics of food availability, body condition and physiological stress response in breeding Black-legged Kittiwakes. *Functional Ecology* 13:577-584.
- Landys, M. M., Ramenofsky, M., Wingfield, J. C. 2006. Actions of glucocorticoids at a seasonal baseline as compared to stress-related levels in the regulation of periodic life processes. *General and Comparative Endocrinology* 148:132-149.
- Lendvai, Á. Z., Giraudeau, M., Chastel, O. 2007. Reproduction and the modulation of the stress response: an experimental test in house sparrow. *Proceedings of the Royal Society B* 274:391-397.
- Levins, R. 1963. Theory of fitness in a heterogeneous environment. II. Developmental flexibility and niche selection. *American Naturalist* 97:75-90.
- Love, O. P., Breuner, C. W., Vézina, F., Williams, T. D. 2004. Mediation of a corticosterone-induced reproductive conflict. *Hormones and Behavior* 46:59-65.
- Love, O. P., McGowan, P., Sheriff, M. J., 2013. Maternal adversity and ecological stressors in natural populations: the role of stress axis programming in individuals, with implications for populations and communities. *Functional Ecology* 27:81-92.
- Magrath, R. D., Leedman, A. W., Gardner, J. L., Giannasca, A., Nathan, A. C., Yezerinac, S. M., Nicholls, J. A. 2000. Life in the slow lane: reproductive life history of the White-browed Scrubwren, an Australian endemic. *Auk* 117:479-489.
- Martin, T. E. 1996. Life history evolution in tropical and south temperate birds: what do we really know? *Journal of Avian Biology* 27:263-272.

- Medeiros, R. C. S., Marini, M. Â. 2007. Biologia reprodutiva de *Elaenia chiriquensis* (Lawrence) (Aves, Tyrannidae) em Cerrado do Brasil Central. *Revista Brasileira de Zoologia* 24:12-20.
- Monaghan, P., Nager, R. G. 1997. Why don't birds lay more eggs? *Tree* 12:270-274.
- Negro-Vilar, A. 1993. Stress and other environmental factors affecting fertility in men and women: overview. *Environmental Health Perspective* 101:59-64.
- Nimer, E. 1979. *Climatologia do Brasil: recursos naturais e meio ambiente*. IBGE, Brasília, Brazil.
- Ouyang, J. Q., Sharp, P. J., Dawson, A., Quetting, M., Hau, M. 2011. Hormone levels predict individual differences in reproductive success in a passerine bird. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 278:2537-2545.
- Paiva, L. V. 2008. Fatores que determinam o período reprodutivo de *Elaenia chiriquensis* (Aves: Tyrannidae) no cerrado do Brasil central. Tese de doutorado, UnB, Brasília, DF.
- Pereira, Z. P. 2011. Influência dos recursos alimentares sobre a reprodução de *Neothraupis fasciata* (Aves, Thraupidae). Dissertação de mestrado, UnB, Brasília, DF.
- Perfito, N., Bentley, G., Hau, M. 2006. Tonic activation of brain GnRH immunoreactivity despite reduction of peripheral reproductive parameters in opportunistically breeding Zebra finches. *Brain, Behavior and Evolution* 67:123-134.
- R Program (R Development Core Team). 2013. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>
- Ricklefs, R. E. 1977. On the evolution of reproductive strategies in birds: reproductive effort. *American Naturalist* 111:453-478.
- Ricklefs, R.E. 1991. Structures and transformations of life histories. *Functional Ecology* 5:174-183.
- Ricklefs, R. E., Wikelski, M. 2002. The physiology/life history nexus. *Trends in Ecology and Evolution* 17:462-468.
- Robinson, W. D., Hau, M., Klasing, K. C., Wikelski, M., Brawn, J. D., Austin, S. H., Tarwater, C.

- T., Ricklefs, R. E. 2010. Diversification of life histories in New world birds. *Auk* 127:253-262.
- Roche 2013. Disponível em: <https://usdiagnostics.roche.com/products/11875116160/PARAM313/overlay.html>. Acessado em 12/10/2013.
- Romero, L. M. 2004. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends in Ecology and Evolution* 19:249-255.
- Sapolsky, R. M., Romero, L. M., Munck, A. U. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews* 21:55-89.
- Selye, H. 1956. *The stress of life*. New York: McGraw-Hill.
- Selye, H. 1975. Confusion and controversy in the stress field. *Journal of Human Stress* 1:37-44.
- Sheriff, M. J., Love, O. P., 2013. Determining the adaptive potential of maternal stress. *Ecology Letters* 16:271-280.
- Thrall, M. A. 2004. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Weimerskirch, H. 1992. Reproductive effort in long-lived birds: age-specific patterns of condition, reproduction and survival in the Wandering Albatross. *Oikos* 64:464-473.
- Whittow, G. C. 2000. *Sturkie's Avian Physiology*. New York: Academic Press.
- Wikelski, M., Cooke, S. 2006. Conservation physiology. *Trends in Ecology and Evolution* 21:38-46.
- Wingfield, J. C., O'Reilly, K. M., Astheimer, L. B. 1995. Modulation of the adrenocortical responses to acute stress in arctic birds: a possible ecological basis. *American Zoologist* 35:285-294.
- Wingfield, J. C., Sapolsky, R. M. 2003. Reproduction and resistance to stress: when and how? *Journal of Neuroendocrinology* 15:711-724.
- Winkler, D. W. 2004. Nests, eggs, and young: breeding biology of birds. In: Podulka, S.,

Rohrbaugh, R. W. Jr., Bonney, R. (eds). Handbook of bird biology. Princeton University Press, Ithaca, New York.

### **CAPÍTULO III**

## **ESTRESSE DURANTE O CUIDADO PARENTAL: QUANTO MAIS VELHOS OS NINHEGOS MAIS ESTRESSADA A FÊMEA**

## RESUMO

As subfases do ciclo de vida anual das aves apresentam seus custos, sendo na reprodução a fase de cria de ninhegos a fase mais custosa energeticamente para os pais. Uma das formas recentes de medir este custo é por meio da aferição dos níveis de estresse do organismo e sua influencia em variáveis de investimento parental, como taxa de entrega de alimento, e variáveis relacionadas aos próprios ninhegos, como ganho de massa e idade. Assim, avaliamos o padrão de liberação da corticosterona (hormônio de estresse) para *Elaenia chiriquensis* durante o período de cria de ninhegos no ninho. Essa liberação foi comparada entre duas fases de cria dos ninhegos, diferenciando as demandas por alimento por meio da taxa de entrega de alimento aos ninhegos com 1-2 dias e 10-11 dias de idade. Comparando-se os dois períodos analisados, na fase inicial de cria dos ninhegos a taxa de entrega de alimento foi em média de  $7,7 \pm 1,2$  entregas/hora/ninho, com massa média dos ninhegos de  $2,2 \pm 0,8$  g. Nessa fase, as fêmeas apresentaram níveis de corticosterona baixos de  $65,3 \pm 27,4$  ng/mL (N = 24). Já na fase final de cuidado com os ninhegos, a taxa de entrega de alimento apresentou maior média com  $17,5 \pm 1,6$  entregas/hora/ninho, sendo que os ninhegos pesaram em média  $12,3 \pm 0,7$  g. As fêmeas estavam com níveis de estresse maiores que no início da fase, apresentando média de  $156,4 \pm 26,4$  ng/mL (N = 24). Tanto os níveis de estresse parental ( $t = 13,67$ ; g.l. = 23;  $p < 0,05$ ), a taxa de entrega de alimento ( $t = 22,04$ ; g.l. = 23;  $p < 0,05$ ) e a massa dos ninhegos ( $t = 52,27$ ; g.l. = 23;  $p < 0,05$ ) foram significativamente maiores na fase final da cria dos ninhegos. O GLM confirmou que a variação na liberação de corticosterona é devido às fases em si. Nosso estudo mostra altos níveis de corticosterona para aves tropicais e que à medida que o cuidado com os ninhegos no ninho avança no tempo, *E. chiriquensis* eleva seu níveis de estresse de acordo com as exigências reprodutivas desta fase.

Palavras-chave: reprodução, corticosterona, idade do ninhegos, história de vida.

## INTRODUÇÃO

A história de vida dos seres vivos apresenta basicamente dois aspectos, um com base genética no qual certos parâmetros são fixados pela herança das características e outro que está relacionado à capacidade de respostas dos fenótipos aos seus ambientes. Este último sofre uma variedade de pressões seletivas que interferem em seu desempenho: condições físicas, saúde, sazonalidade do ambiente, disponibilidade de alimento, influência de predadores, organismos que geram doenças, e as relações dentro de grupos sociais e familiares. Dentro das condições físicas e de saúde a função fisiológica, incluindo mecanismos de controle endócrino, é a que promove diretamente a resposta do organismo ao ambiente e às atividades que necessita realizar. Assim, a fisiologia influencia fortemente aspectos da história de vida como o comportamento, controle do ciclo anual da reprodução, determinação dos marcos de transição no desenvolvimento e modulação das respostas à imprevisibilidade ambiental.

Um aspecto bastante estudado em história de vida é o cuidado parental, que reflete a capacidade dos pais de criar seus ninhos e obterem sucesso, ao mesmo tempo garantindo sua própria sobrevivência (Lack 1954, Winkler 2004). Evidências teóricas e de estudos de campo sugerem que os pais muitas vezes trabalham perto dos limites energéticos durante a intensa fase de coleta de alimentos do ciclo de cria ninhos no ninho (Royama 1966, Ricklefs & Williams 1984). Conforme os adultos sofrem limites metabólicos durante o ciclo de cria dos ninhos, alguns limites são atingidos na quantidade de comida entregue a cada um deles, limites que influenciam em sua própria alimentação e condições físicas (Lack 1954, Jacobs & Wingfield 2000).

Tradicionalmente, o período de cuidado dos ninhos é visto como um gargalo no ciclo reprodutivo, pois as visitas frequentes de alimentação no ninho, que evidenciam diretamente o esforço parental, e os riscos agregados o definem como um período crítico (Ricklefs & Wikelski 2002, DuRant et al. 2013). A taxa de alimentação da ninhada é um compromisso entre as demandas



dos futuros jovens fora do ninho e do esforço exigido dos pais para coletar o alimento, o que introduziu o conceito de "esforço parental máximo" para explicar como pais lidam com este compromisso. Assim, a capacidade de trabalho dos pais sofre limitações fisiológicas que definem um nível de trabalho sustentado em termos metabólicos (Royama 1966, Ricklefs & Wikelski 2002). Em algumas situações os pais podem ignorar esse nível de alerta fisiológico máximo, mas a penalidade será a perda da condição física que por sua vez implica em redução da sobrevivência e aumento da mortalidade (Jacobs & Wingfield 2000).

Uma das formas do organismo emitir os alertas fisiológicos, em fases custosas, é por meio da liberação de glicocorticoides como o cortisol e a corticosterona, capazes de regular os estágios da história de vida (Wingfield 1994). No caso da corticosterona, o principal glicocorticoide das aves, os níveis base (medidos até três minutos após a captura) revelam o estresse natural do organismo na fase em que está vivendo naquele momento da amostragem (reprodução, troca de penas, etc.). Já a corticosterona induzida (coletada 30 minutos após a captura) geralmente reflete o estresse decorrente da situação de perigo vivida pelo indivíduo, como a própria captura ou risco de predação (Breuner & Hahn 2003). Como o hormônio corticosterona pode mediar condições momentâneas e situacionais, há hipóteses que afirmam que o hormônio corticosterona esteja envolvido na regulação da escolha entre o investimento reprodutivo atual e futuro em aves (Jacob & Wikelski 2000, Hau et al. 2010). Uma dessas hipóteses relaciona-se a fisiologia do estresse e aptidão reprodutiva na fase de investimento parental na prole, sugerindo que os níveis de estresse devem ser altos quando o valor de aptidão da reprodução atual é alto (Bonier et al. 2009).

A obtenção de sucesso reprodutivo direto, definido como aptidão reprodutiva, ocorre principalmente na fase de cria dos ninhegos no ninho, quando se aproxima a possibilidade de obtenção do efetivo sucesso com a saída dos filhotes do ninho (Ricklefs & Williams 1984, Lendvai et al. 2007). A compreensão do papel da corticosterona na aptidão reprodutiva depende da interpretação de seus níveis para cada espécie (Crossin et al. 2013). Entre as aves, as concentrações

de corticosterona basais variam de 0,7 a 57 ng/mL e as concentrações de corticosterona induzida pelo estresse podem variar de 12 a 103 ng/mL (Bókony et al. 2009). As diferenças entre as espécies nos níveis de corticosterona induzida durante a época de reprodução têm sido relacionadas à variação no cuidado parental e o valor reprodutivo de uma determinada tentativa reprodutiva (Wingfield et al. 1995, Goymann et al. 2004, Garamszegi et al. 2008, Bókony et al. 2009). Além disso, aves tropicais possuem desenvolvimento lento, baixo metabolismo, baixa taxa reprodutiva e alta longevidade (Promislow & Harvey 1990, Ricklefs 2000, Jones et al 2008, Lancaster et al. 2008). Assim, há diferenças na liberação da corticosterona pelos diferentes aspectos de sua biologia e pelas pressões de sobrevivência. Aves de vida longa, como as tropicais, investem mais em sua própria preservação, especialmente quando atingem elevadas concentrações de corticosterona que indica o enfrentamento de situações estressantes (Hau et al. 2010).

Dessa forma, quando um indivíduo experimenta condições muito adversas (e.g. demanda de alimento no ninho, pressão de predador), a secreção de glicocorticoides pode aumentar dentro de 2-3 min, atingindo concentrações máximas dentro de 30-60 min (Wingfield et al. 1998, Sapolsky et al. 2000). Tais aumentos redirecionam seu comportamento e fisiologia no sentido de garantir a eficiência da execução de determinada atividade ou sua sobrevivência imediata (Wingfield et al. 1998). Isto também é explicado pelo tamanho corporal da espécie, sendo que durante condições ambientais adversas, as concentrações mais elevadas de corticosterona induzida podem beneficiar indivíduos de espécies com tamanhos menores, garantindo a rápida alocação de recursos metabólicos para a realização de processos que promovem a sobrevivência (Hau et al. 2010).

Assim, avaliamos a liberação da corticosterona basal de *Elaenia chiriquensis* durante o período de cria de ninhegos no ninho. Essa liberação foi comparada entre duas fases: (1) inicial em que os ninhegos tinham entre 1 e 2 dias de idade, e (2) final com os ninhegos com idade de 10 a 11 dias. Foi controlada a massa dos ninhegos e a taxa de entrega de alimento pelos pais. A hipótese testada foi de que as fêmeas devem estar mais estressadas na fase final de ninhegos, o que lhes

garantiriam maior eficiência metabólica para a conclusão dessa fase e possível sucesso reprodutivo.

## **MÉTODOS**

*Área de estudo (Vide Apresentação Geral, página 9)*

*Espécie de estudo (Vide Apresentação Geral, página 10)*

*Procura e monitoramento de ninhos com ninhegos*

Foi realizada a procura por ninhos de *Elaenia chiriquensis* e para cada ninho encontrado foi realizada a identificação do seu estágio (construção, incubação, presença de ninhegos, ou inativo) e a localização do mesmo na área de estudo. No caso de ninhos vazios, foi realizada a colocação de uma folha no fundo do ninho e, nas checagens posteriores, quando verificado a presença da folha repetidas vezes no ninho, o mesmo foi considerado inativo, já que aves costumam higienizar seus ninhos com frequência, retirando folhas, sujeiras e excretas (Winkler et al. 2004). O conteúdo de cada ninho encontrado (número de ovos e ninhegos) foi monitorado pelo menos duas vezes por semana, até a verificação de seu estágio final. Os ninhos foram acompanhados do início até a fase de cria dos ninhegos, sendo que os que sofreram predação foram excluídos das análises deste capítulo.

*Taxa de entrega de alimento*

A taxa de entrega de alimento foi representada pelo número de visitas total que a fêmea fez ao ninho trazendo alimento em relação ao período total de observação (número de entregas/hora/ninho). As observações ocorreram em duas fases, a primeira, chamada de início, ocorreu quando os ninhegos tinham entre 1 e 2 dias e a segunda, chamada de final, quando os

ninhegos tinham entre 10 e 11 dias. Foram utilizados binóculos 8X42 Steiner® e as observações foram feitas a no mínimo 15 m de distância do ninho. Em cada uma das duas fases, as observações de entrega de alimento aos ninhegos no ninho foram realizadas durante três dias, entre 5:30hs e 11:30hs da manhã, totalizando seis dias de observação para cada ninho. Após o segundo dia de observação, a fêmea foi capturada para coleta de amostras sanguíneas para dosagens do hormônio corticosterona e os ninhegos (sempre dois) foram pesados para obtenção de dados de sua massa.

#### *Captura, marcação e coleta de amostras de indivíduos em nidificação*

As fêmeas foram acompanhadas desde o início da reprodução. Ao chegar à fase de eclosão dos ninhegos, estas foram capturadas de acordo com as idades (fases) dos ninhegos. A marcação das fêmeas foi realizada com anilhas metálicas cedidas pelo CEMAVE e com anilhas coloridas para individualiza-las e poder captura-las separadamente. Em cada fase, uma rede de neblina foi posicionada próxima a cada ninho e a fêmea capturada. Foi realizada a coleta de amostra sanguínea da fêmea capturada, a qual foi tomada por meio de perfuração na veia braquial alar direita e o sangue coletado por meio de capilares heparinizados.

Conforme indicação ética de manipulação de animais silvestres, o volume de sangue retirado foi de aproximadamente 40 µL e não ultrapassou o limite ético de 1% da massa de cada indivíduo (Thrall 2004, Cubas et al. 2007). Após a coleta, os capilares foram fechados em apenas uma de suas extremidades (a não heparinizada) com auxílio de maçarico portátil. Os capilares coletados foram depositados em posição vertical em gelo, de maneira que a extremidade fechada do capilar ficasse por baixo. O tempo entre a coleta e a centrifugação foi de no máximo quatro horas ( $253 \pm 15$  min). Em laboratório as amostras foram centrifugadas por 10 minutos em centrífuga de micro-hematócrito a uma rotação de 12.000 rpm. Posteriormente a parte correspondente ao plasma foi separada de cada amostra e armazenada a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises hormonais. Após as coletas de amostras sanguíneas e anilhamento, os ninhegos foram pesados com dínamo de precisão de 0,1 g

(Pesola®).

### *Análises hormonais*

As análises hormonais foram realizadas no laboratório Santé®, no equipamento Cobas®, pelo teste Elecsys Cortisol sob supervisão técnica da Roche®. Este teste baseia-se no princípio do teste de competição utilizando um anticorpo policlonal especificamente dirigido contra o cortisol por meio de imunoensaio por eletroquimioluminescência (ECLIA). Para mais detalhes conferir Roche (2013).

Cada ensaio teve duração total de 18 minutos e seguiu obrigatoriamente duas fases de incubação, na primeira 20 µL de amostra de plasma foram incubados com um anticorpo biotinilado específico anticortisol e um derivado do cortisol marcado com complexo de ruténio. Conforme a concentração de corticosterona na amostra e a formação do respectivo complexo imune, o local de ligação do anticorpo marcado foi sendo ocupado em parte pela corticosterona e em parte com hapteno marcado com ruténio. Na segunda incubação, após a adição das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interação da biotina e da estreptavidina.

A mistura de reação foi aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eletrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell/ProCell M. Posteriormente, a aplicação de uma corrente elétrica ao eletrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador. Os resultados são determinados com base numa curva de calibração gerada especificamente pelo analisador, por meio de uma calibração de 2 pontos, e numa curva principal incluída no código de barras dos reagentes. Os reagentes do kit para detecção da corticosterona foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada. Toda a informação necessária ao correto funcionamento é introduzida no analisador a partir dos respectivos códigos de barras do reagente.

O analisador calcula automaticamente a concentração da corticosterona de cada amostra em  $\mu\text{g/dL}$  e para efeito de padronização dos dados da área de ecofisiologia de aves, os dados foram convertidos para  $\text{ng/mL}$ , fazendo-se a divisão dos valores obtidos no equipamento por 100.

### *Análises estatísticas*

Realizamos todas as análises estatísticas usando o Programa R (2014) e o pacote estatístico JMP. Usamos o modelo linear generalizado (GLM), com distribuição de Poisson e uma função de ligação log, com fase (inicial e final) como a variável resposta e os níveis de corticosterona maternas como variável independente. Se esforço reprodutivo (medido pela taxa de entrega de alimento controlado pela massa adquirida pelos ninhegos em cada fase) direta ou indiretamente influencia os níveis de corticosterona, previmos que as duas fases analisadas de cria de ninhegos (inicial e final) devem prever esta alteração de liberação no hormônio. Assim, a possível relação significativa apresentada na análise de GLM sugerirá que o investimento em cuidado com a prole interage direta ou indiretamente com os níveis de corticosterona.

## **RESULTADOS**

Foram acompanhadas 24 fêmeas durante todo o período de cuidado com os ninhegos. Comparando-se os dois períodos analisados, na fase inicial de cria dos ninhegos a taxa de entrega de alimento foi em média de  $7,7 \pm 1,2$  entregas/hora/ninho, com massa média dos ninhegos de  $2,2 \pm 0,8$  g (N = 48). Nessa fase, as fêmeas apresentaram níveis de corticosterona de  $65,3 \pm 27,4$   $\text{ng/mL}$  (N = 24) (Figura 1). Já na fase final de cuidado com os ninhegos, a taxa de entrega de alimento apresentou maior média com  $17,5 \pm 1,6$  entregas/hora/ninho, sendo que os ninhegos pesaram em média  $12,3 \pm 0,7$  g (N = 48). As fêmeas estavam com níveis de corticosterona maiores que no início da fase, apresentando média de  $156,4 \pm 26,4$   $\text{ng/mL}$  (N = 24).

É possível verificar que, entre os dois períodos analisados, há diferenças significativas em todos os parâmetros. Como esperado, tanto a taxa de entrega de alimento ( $t = 22,04$ ; g.l. = 23;  $p < 0,05$ ) e a massa dos ninhos ( $t = 52,27$ ; g.l. = 23;  $p < 0,05$ ) são significativamente maiores na fase final da cria dos ninhos. Apesar de haver diferença na taxa de entrega de alimento entre os períodos inicial e final de cria dos ninhos, a explicação dada pela taxa de entrega de alimento na massa dos ninhos só ocorre, em pequena parte, na fase inicial ( $F = 92,6$ ; g.l. = 23;  $r^2 = 0,15$ ;  $p < 0,05$ ). A relação entre a taxa de entrega de alimento com a massa na fase final é fraca e não significativa ( $F = 17,2$ ; g.l. = 23;  $r^2 = 0,0014$ ;  $p > 0,05$ ). A reta de regressão do período inicial é  $y = 0,5852x + 6,4161$  e do período final  $y = 0,0859x + 16,468$  (Figura 1).

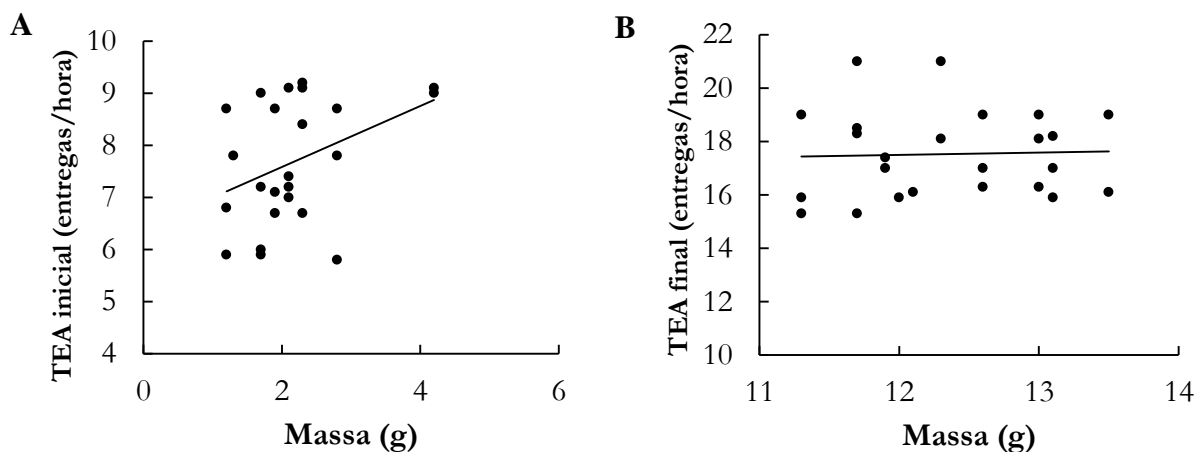


Figura 1. Relação entre TEA (taxa de entrega de alimento) (entregas/hora/ninho) e massa corporal (g) dos ninhos de *Elaenia chiriquensis* no período inicial **A** e final **B**.

Os resultados da modelagem de GLM mostraram que a liberação do hormônio corticosterona (estresse) é efetivamente variável com a fase em si (Tabela 1), sendo que na fase final os níveis são significativamente maiores do que na fase inicial ( $t = 13,67$ ; g.l. = 23;  $p < 0,05$ ) (Figura 2). No entanto, o esforço materno medido, neste estudo, como a taxa de entrega de alimentos aos ninhos não proporcionou explicação à variação no hormônio corticosterona, nem a

massa adquirida pelos mesmos (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados dos modelos lineares generalizados (GLMs) para explicar os níveis de liberação do hormônio corticosterona em fêmeas de *Elaenia chiriquensis* no Cerrado, na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF, no ano de 2012. Os modelos foram testados em relação à fase de cria dos ninhegos (inicial, com 1 a 2 dias de idade e final, com 10 a 11 dias de idade), taxa de entrega de alimento e massa dos ninhegos nas respectivas fases.

<b>Modelo</b>	<b>Termos</b>	<b>Estimativas (E.P.)</b>	<b>Z</b>	<b>p</b>
<i>Variação nos níveis de corticosterona liberados pelas fêmeas em cuidado parental</i>				
	<b>Início</b>			
	Intercepto	2,107 (0,722)	2,908	0,004
	Taxa de entrega de alimento	0,176 (0,348)	0,507	0,61
	Massa dos ninhegos	-0,008 (0,015)	-0,545	0,58
	<b>Final</b>			
	Intercepto	1,786 (0,658)	2,007	0,002
	Taxa de entrega de alimento	0,228 (0,434)	0,524	0,60
	Massa dos ninhegos	0,133 (0,421)	0,316	0,75



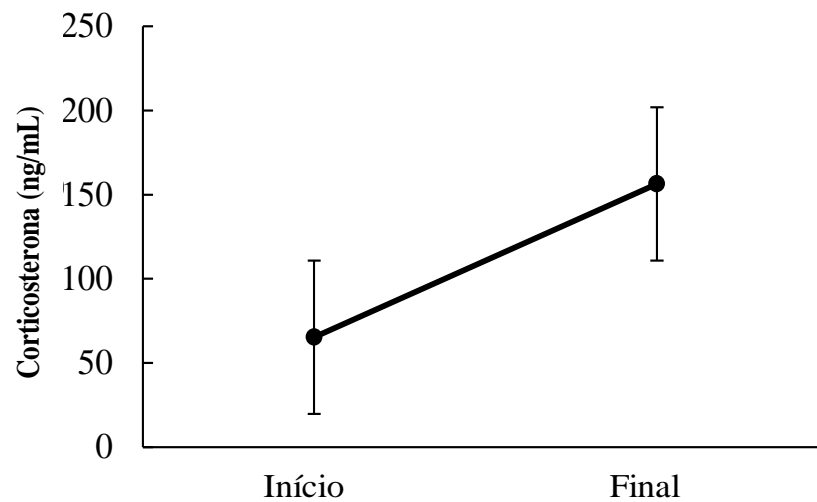


Figura 2. Valores médios com erro padrão de estresse das fêmeas de *Elaenia chiriquensis* em duas fases: inicial: quando os ninhegos tinham entre 1 e 2 dias e final: quando os ninhegos tinham entre 10 e 11 dias.

## DISCUSSÃO

Algumas fêmeas de aves, na fase final de cria de ninhegos, apresentam aumento nos níveis de estresse devido às demandas que esta fase requer, sendo que apresentam até diminuição de sua massa e reservas energéticas (Bellrose et al. 1961, Freed 1981, Whittow 2000). Realmente os níveis de corticosterona das fêmeas de *E. chiriquensis* foram altos quando comparados, por exemplo, aos níveis verificados durante a fase de incubação (Capítulo II) que chegaram no máximo a 23 ng/mL e aqui registramos mais de 100 ng/mL. Fêmeas de *Aptenodytes patagonicus* cuidando de ninhegos também liberam mais corticosterona nessa fase, cerca de 55% a mais comparada à fase de incubação de seus ovos (Viblanç et al. 2014). No entanto, verificamos que isso ocorre com as fêmeas de *E. chiriquensis* não pela demanda de massa que seus ninhegos precisam ganhar ou pelo esforço da taxa de entrega de alimento, mas pela valor da fase final em si, o que foi confirmado pelos modelos.

À primeira vista, é esperado que a taxa de alimentos entregues pelos pais exerça influência direta sobre a massa dos pais ou ganho de massa dos ninhegos no ninho. No entanto, em nosso estudo, encontramos uma relação fraca entre a massa dos ninhegos de *Elaenia chiriquensis* e a taxa de entrega de alimento somente na fase inicial, com ninhegos com um e dois dias de idade. Verificamos assim, que a massa dos ninhegos é significativamente maior na fase final, mas a taxa de entrega de alimento não explica seu aumento e nem o aumento dos níveis de corticosterona das fêmeas. Também é preciso lembrar que *E. chiriquensis* é uma das muitas espécies de aves altriciais, que se caracterizam principalmente pelo fato dos ninhegos serem extremamente dependentes dos pais para se desenvolver e sobreviver (Nice 1957). Estas aves geralmente desenvolvem bem o sistema digestivo após um ou dois dias de sua eclosão, que é quando o ninhego cresce de forma intensa, muitas vezes dobrando sua massa várias vezes nos primeiros dez dias (Winkler 2004). Aves altriciais apresentam uma curva de crescimento acentuada e que se mantém constante com o aumento da idade. A partir daí, a tarefa mais importante é deixar o ninho, o que eles geralmente o fazem com proporção de 70 a 80% da massa de seus pais (Whittow 2000).

Se o esforço dos pais na entrega de alimento não tem relação com a massa de seus ninhegos em criação e sim com a fase, como verificado, nota-se que a fase final, ou seja, de saída destes ninhegos, constitui para *E. chiriquensis*, uma fase crítica importante e bastante relacionada com o esforço parental na entrega de alimento. O deixar o ninho não é uma tarefa fácil e, muitas vezes, é arriscada. Os ninhegos quando deixam o ninho ainda são relativamente vulneráveis e para que seus pais saibam sua localização geralmente tentam ficar próximos ao mesmo ou na vegetação, e frequentemente realizam uma série de chamados pelos mesmos e por alimento, o que pode chamar a atenção de predadores (Nice 1957, Martin 1993). Na perspectiva dos pais seria uma fase de muito investimento, sendo a fase crítica em que efetivamente terão sucesso reprodutivo. Essa ideia tem base na hipótese de valor da ninhada (Lendvai et al. 2007), em que o valor de aptidão reprodutiva da reprodução atual é maior quanto mais avançada está a reprodução, e igualmente os níveis de

estresse devem ser mais altos.

As aves tropicais sofrem distintas pressões de sobrevivência, geralmente criam poucos descendentes por ninhada, mas precisam evitar muitos predadores, o que explicaria seus altos níveis de corticosterona (Ricklefs & Wikelski 2002, Hau et al. 2010). Além disso, estas aves conseguem perceber variações leves no ambiente e as utilizam para desencadear mudanças fisiológicas para realização de diversas atividades, como muda de penas, defesa de território e reprodução (Hau et al. 1998). Em *Cyphorhinus phaeocephalus* no Panamá, a pluviosidade explica quase 40% da variação dos níveis de corticosterona (Busch et al. 2011). *Elaenia chiriquensis* inicia sua reprodução independentemente da precipitação, mas há estudo que mostra que esta é influenciada pela variação entre temperaturas máximas e mínimas e o aumento da umidade relativa do ar (Paiva 2008). Ela também sofre pressão elevada de predação de ninhos (Medeiros & Marini 2007), o que potencialmente resulta em altos níveis de corticosterona esperados para espécies tropicais (Ricklefs & Wikelski 2002).

Segundo Hau e colaboradores (2010) espécies de ambientes secos e frios exibem pequenos valores máximos de níveis de corticosterona comparadas às espécies de ambientes méxicos e tropicais. Isso foi verificado para uma espécie de ave sub-tropical africana, *Saxicola torquata axillaris*, durante o período de alimentação dos filhotes, em que os pais apresentaram altos níveis de corticosterona (Scheuerlein et al 2001). Isso também foi confirmado neste estudo para *E. chiriquensis*. O padrão de liberação de corticosterona durante o cuidado parental apresentado por *E. chiriquensis* é resultado de sua história de vida como espécie tropical, confirmada pela importância da fase final de cria dos ninhos e dos riscos de predação, frequentemente elevados. A corticosterona promove respostas de urgência, alerta e escape, mas é um parâmetro fisiológico que diz muito da história evolutiva de uma determinada espécie, principalmente quando associado à outras variáveis e à perguntas ecológicas (Evans & Heiser 2004).

Neste estudo, foram acompanhadas as mesmas fêmeas tanto na fase de início como de final

do período de cria dos ninhegos. É indicado que assim se proceda para que as inferências sejam seguras, já que as populações de uma mesma espécie podem diferir em concentrações hormonais e traços de história de vida em ambientes diferentes, indicando que os dados de hormônios e de história de vida devem ser provenientes de indivíduos de uma mesma população para descobrir padrões significativos (Wingfield et al. 1995, Ricklefs & Wikelski 2002). Com nosso estudo é possível concluir que o nível de corticosterona das fêmeas de *E. chiriquensis* em cuidado parental, apesar de poder ser influenciado por vários fatores dependendo da subfase do ciclo de vida analisada, é fortemente influenciada pela fase de finalização de cria dos ninhegos em si. À medida que o cuidado com os ninhegos no ninho avança no tempo, *E. chiriquensis* eleva seu níveis de corticosterona, e assim aumenta seu metabolismo, para criar os ninhegos. Os níveis de corticosterona (estresse) das fêmeas foram associados às exigências reprodutivas conforme o aumento da idade dos ninhegos.

## REFERÊNCIAS

- Bellrose, F. C., Scott, T. G., Hawkins, A. S., Low, J. B. 1961. Sex ratios and age ratios in North American ducks. Illinois Natural History Survey Bulletin 27:391-474.
- Bókony, V., Lendvai, A. Z., Liker, A., Angelier, F., Wingfield, J. C., Chastel, O. 2009. Stress response and the value of reproduction: are birds prudent parents? American Naturalist 173:589-598.
- Bonier, F., Moore, I. T., Martin, P. R., Robertson, R. J. 2009. The relationship between fitness and baseline glucocorticoids in a passerine bird. General and Comparative Endocrinology 163:208-213.
- Breuner, C. W., Hahn, T. P. 2003. Integrating stress physiology, environmental change, and behavior in free-living sparrows. Hormones and Behavior 43:115-123.

- Busch, D. S., Robinson, W. R., Robinson, T. R., Wingfield, J. C. 2011. Influence of proximity to a geographical range limit on the physiology of a tropical bird. *Journal of Animal Ecology* 80:640-649.
- Crossin, G. T., Phillips, R. A., Lattin, C. R., Romero, L. M., Williams, T. D. 2013. Corticosterone mediated costs of reproduction link current to future breeding. *General and Comparative Endocrinology* 193:112-120.
- Cubas, Z. S., Silva, J. C. R., Catão-Dias, J. L. 2007. *Tratado de animais selvagens. Medicina Veterinária. São Paulo: Editora Roca.*
- DuRant, S. E., Hopkins, W. A., Hepp, G. R., Romero, L. M. 2013. Energetic constraints and parental care: is corticosterone indicative of energetic costs of incubation in a precocial Bird? *Hormones and Behavior* 63:385-391.
- Evans, H. E., Heiser, J. B. 2004. What's inside: anatomy and physiology. In: Podulka, S., Rohrbaugh, R. W. Jr., Bonney, R. (eds). *Handbook of bird biology*. Princeton University Press, Ithaca, New York.
- Freed, L. A. 1981. Loss of mass in breeding wrens: stress or adaptation? *Ecology* 62:1179-1186.
- Garamszegi, L. Z., Hirschenhauser, K., Bokony, V., Eens, M., Hurtrez-Bousses, S., Moller, A. P., Oliveira, R. F., Wingfield, J. C. 2008. Latitudinal distribution, migration, and testosterone levels in birds. *American Naturalist* 172:533-546.
- Goymann, W., Moore, I. T., Scheuerlein, A., Hirschenhauser, K., Grafen, A., Wingfield, J. C. 2004. Testosterone in tropical birds: effects of environmental and social factors. *American Naturalist* 164:327-334.
- Hau, M., Ricklefs, R. E., Wikelski, M., Lee, K. A., Brawn, J. D. 2010. Corticosterone, testosterone and life-history strategies of birds. *Proceedings of the Royal Society B* 277:3203-3212.
- Hau, M., Wikelski, M., Wingfield, J. C. 1998. A neotropical forest bird can measure the slight changes in tropical photoperiod. *Proceedings of the Royal Society of London B* 265:89-95.

- Hurvich, C. M. 1991. Bias of the corrected AIC criterion for underfitted regression and time series models. *Biometrika* 78:499-509.
- Hurvich, C. M., Tsai, C.-L. 1989. Regression and time series model selection in small samples. *Biometrika* 76:297-307.
- Jacobs, J. D., Wingfield, J. C. 2000. Endocrine control of life-cycle stages: a constraint on response to the environment? *Condor* 102:35-51.
- Jones, O. R., Gaillard, J.-M., Tuljapurkar, S., Alho, J. S., Armitage, K. B., Becker, P. H., Bize, P., Brommer, J., Charmantier, A., Charpentier, M., Clutton-Brock, T., Dobson, F. S., Festa-Bianchet, M., Gustafsson, L., Jensen, H., Jones, C. G., Lillandt, B.-G., McCleery, R., Merilä, J., Neuhaus, P., Nicoll, M. A. C., Norris, K., Oli, M. K., Pemberton, J., Pietiäinen, H., Ringsby, T. H., Roulin, A., Saether, B.-E., Setchell, J. M., Sheldon, B. C., Thompson, P. M., Weimerskirch, H., Wickings, E. J., Coulson, T. 2008. Senescence rates are determined by ranking on the fast-slow life-history continuum. *Ecological Letters* 11:664-673.
- Lack, D. 1954. *The natural regulation of animal numbers*. Oxford, Clarendon Press.
- Lancaster, L. T., Hazard, L. C., Clobert, J., Sinervo, B. R. 2008. Corticosterone manipulation reveals differences in hierarchical organization of multidimensional reproductive trade-offs in r-strategist and K-strategist females. *Journal of Evolutionary Biology* 21:556-565.
- Lendvai, Á. Z., Giraudeau, M., Chastel, O. 2007. Reproduction and the modulation of the stress response: an experimental test in house sparrow. *Proceedings of the Royal Society of London B* 274:391-397.
- Martin, T. E. 1993. Nest predation and nest sites. *BioScience* 43:523-532.
- Nice, M. M. 1957. Nesting success in altricial birds. *Auk* 74:305-321.
- Programa R (R Development Core Team) 2014. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

- Promislow, D. E. L., Harvey, P. H. 1990. Living fast and dying young—a comparative analysis of life-history variation among mammals. *Journal of Zoology* 220:417-437.
- Ricklefs, R. E. 2000. Density dependence, evolutionary optimization, and the diversification of avian life histories. *Condor* 102:9-22.
- Ricklefs, R. E., Wikelski, M. 2002. The physiology/life history nexus. *Trends in Ecology & Evolution* 17:462-468.
- Ricklefs, R. E., Williams, J. B. 1984. Daily energy expenditure and water-turnover rate of adult European Starlings (*Sturnus vulgaris*) during the nestling cycle. *Auk* 101:707-716.
- Roche. 2013. Disponível em: <https://usdiagnostics.roche.com/products/11875116160/PARAM313/overlay.html>. Acessado em 12/10/2013.
- Royama, T. 1966. Factors governing feeding rate, food requirement and brood size of nestling Great Tits *Parus major*. *Ibis* 108:313-347.
- Sapolsky, R. M., Romero, L. M., Munck, A. U. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews* 21:55-89.
- Scheuerlein, A., Van't Hof, T. J., Gwinner, E. 2001. Predators as stressors? Physiology and reproductive consequences of predation risk in tropical stonechats (*Saxiola torquata axillaris*). *Proceedings of the Royal Society of London B* 268:1575-1582.
- Thrall, M. A. 2004. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Viblanç, V. A., Gineste, B., Stier, A. 2014. Stress hormones in relation to breeding status and territory location in colonial King penguin: a role for social density? *Oecologia* 175:763-772.
- Whittow, G. C. 2000. *Sturkie's Avian Physiology*. New York: Academic Press.
- Wingfield, J. C., Maney, D. L., Breuner, C. W., Jacobs, J. D., Lynn, S., Ramenofsky, M., Richardson, R. D. 1998. Ecological bases of hormone-behavior interactions: the 'emergency

life history stage'. *American Zoologist* 38:191-206.

Wingfield, J. C. 1994. Modulation of the adrenocortical response to stress in birds. In: Davey, K. G., Peter, R. E., Tobe, S. S. (eds.) *Perspectives in comparative endocrinology*, pp. 520-528. Ottawa: National Research Council Canada.

Wingfield, J. C., O'Reilly, K. M., Astheimer, L. B. 1995. Modulation of the adrenocortical responses to acute stress in arctic birds: a possible ecological basis. *American Zoologist* 35:285-294.

Winkler, D. W. 2004. Nests, eggs, and young: breeding biology of birds. In: Podulka, S., Rohrbaugh, R. W. Jr., Bonney, R. (eds). *Handbook of bird biology*. Princeton University Press, Ithaca, New York.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Escolhemos investigar aspectos de história de vida envolvidos com a ecologia e fisiologia da migração e reprodução, tendo como modelo de estudo *Elaenia chiriquensis*, espécie de interesse também por ser uma das espécies com menor período de ocorrência na área reprodutiva no Cerrado do Brasil Central. No capítulo I, apresentamos as mudanças temporais na relação entre hematócrito e massa em *E. chiriquensis*, demonstrando também que há diferenças fisiológicas relativas à perda ou ganho de massa e apresentação de níveis de hematócrito sanguíneo. Quando a espécie chega ao Cerrado há registro de massa corporal e hematócrito equilibrados comparados aos níveis médios apresentados pela população ao longo do tempo em que permanece na área reprodutiva, mas sem relação significativa. Também não há relação durante a fase de reprodução e os níveis de massa e hematócrito sofrem diminuição. Porém, antes de partir, em curto período de tempo entre o final da reprodução e partida, há um aumento da massa acompanhado por aumento no hematócrito, fortemente correlacionados. A relação que estudamos indica que o aumento da massa e hematócrito estão fortemente conectados em pelo menos uma das fases do ciclo de vida desta espécie, demonstrando que a maioria dos indivíduos de *E. chiriquensis* que se preparam para partir para as áreas de invernada, o fazem em boas condições fisiológicas.

Nos capítulos II e III, voltamos nosso olhar para os custos da reprodução em si, diferenciando-os na fase de incubação de ovos (capítulo II) e cuidados com os ninhegos (capítulo III), levando em consideração ainda a massa corporal, mas com outra abordagem fisiológica, o de estresse dos pais nessas fases. Este parâmetro tem sido muito utilizado para relacionar os custos e o nível de compromisso dos pais com ovos e ninhegos, em detrimento, por exemplo, de investir em sua sobrevivência. No capítulo II descrevemos a variação natural na corticosterona (hormônio de estresse) e mostramos que ela é chave para evidenciar o compromisso parental com a incubação de ovos e futuro sucesso de eclosão ou não, apoiando assim as hipóteses de relação do estresse parental

com o valor da ninhada e aptidão reprodutiva. Mostramos que há diferenças na secreção do hormônio de estresse entre os indivíduos com e sem êxito reprodutivo na eclosão, no entanto, a reprodução bem sucedida desta espécie em termos de eclosão de ovos, foi associada com níveis elevados de corticosterona, e as fêmeas que falharam em reproduzir apresentaram baixos níveis de corticosterona.

No capítulo III, o estresse parental de *E. chiriquensis* pode ser medido (corticosterona) e relacionado com a taxa de entrega de alimento, o ganho de massa dos ninhegos e a idade dos mesmos. Ao longo do período de cuidado com os ninhegos, *E. chiriquensis* eleva seu nível de estresse, e assim aumenta seu metabolismo para ter êxito nesta fase. Não houve influência do esforço de entrega de alimento e do ganho de massa dos ninhegos nos níveis de estresse das fêmeas. Foi possível corroborar a hipótese de elevados níveis de estresse esperado para aves tropicais e verificar o efeito do estresse no compromisso reprodutivo de obter sucesso especialmente no final da criação dos ninhegos.

*Elaenia chiriquensis* é uma espécie que exibiu um panorama ecofisiológico interessante e capaz de ser associado a perguntas de história de vida como investimento em migração e reprodução. De forma geral, verificamos que a espécie chega em condições corporais e fisiológicas razoáveis ao local de reprodução, mas leva um tempo entre a chegada da migração e a realização da reprodução. Quando reproduz, verificamos que a massa e hematócrito diminuem consideravelmente e que apresentam níveis de estresse (corticosterona) elevados durante a incubação e cuidado parental, com especial ênfase a fase final de criação de ninhegos. O sucesso reprodutivo de eclosão de ovos esteve associado a esses altos níveis de corticosterona. Verificamos que a massa e o hematócrito da espécie aumentam antes da partida para o local de invernada, o que mostra que a espécie consegue se recuperar dos custos fisiológicos e corporais da reprodução e migrar de volta em boas condições.

Ainda há perguntas a responder neste sistema, pois até há pouco tempo acreditava-se que

esta espécie vivia em algumas áreas da região amazônica do Brasil e depois migrava para o Brasil Central para reproduzir. No entanto, um estudo vem conduzindo capturas, marcação e uso de geolocalizadores em *E. chiriquensis* para confirmar seu local de origem. Apesar de poucos indivíduos terem sido recapturados, aparentemente esta espécie também exibe uma migração no sentido longitudinal, sendo encontrada em outras localidades fora da Amazônia no período não reprodutivo (Guaraldo, A. C. comunicação pessoal). A confirmação deste aspecto da história de vida de *E. chiriquensis* trará luz às inferências ecofisiológicas registrada no presente estudo.

Este trabalho também teve um cunho descritivo de como se mostram certos parâmetros fisiológicos para uma ave tropical. Poucos trabalhos se voltaram para a ótica do aspecto fisiológico de aves silvestres e ainda poucos procuraram responder perguntas ecológicas com esta ótica. A partir deste estudo é possível verificar que existem muitas associações, especialmente com os custos na condução das atividades do ciclo anual como migração e reprodução. Assim, é possível indagar sobre a real extensão de migração de *Elaenia chiriquensis* e associar aspectos de saúde com seu esforço de migrar da região ou fazer paradas para se recuperar. Outro aspecto importante é compreender o que ocorre durante a reprodução, como vimos neste estudo e em outras referências que a fase reprodutiva é complexa em termos fisiológicos. Seria a liberação de hormônios reprodutivos a explicação para a diminuição no hematócrito e massa e aumento de estresse nas fêmeas nessa fase? Além disso, podemos investigar sobre saúde e bem estar animal, se as aves silvestres estudadas sofreram condições de anemia ao longo do período de estudo, enfim se houve efeitos metabólicos e fisiológicos das atividades realizadas pela espécie ao longo do período estudado.