

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ACOMPANHAMENTO ENDÓCRINO E
COMPORTAMENTAL DA ATIVIDADE REPRODUTIVA
ANUAL DE MACHOS DE FALCÕES QUIRI-QUIRI (*Falco
sparverius*) DE VIDA LIVRE.**

Ricardo José Garcia Pereira
Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Julho de 2008

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ACOMPANHAMENTO COMPORTAMENTAL E
ENDÓCRINO DA ATIVIDADE REPRODUTIVA ANUAL DE
MACHOS DE FALCÕES QUIRI-QUIRI (*Falco sparverius*)
DE VIDA LIVRE.**

Ricardo José Garcia Pereira

Orientador: Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Reprodução Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2008

P436a Pereira, Ricardo José Garcia
Acompanhamento endócrino e comportamental da atividade reprodutiva anual de machos de falcões quiri-quiri (*Falco sparverius*) de vida livre / Ricardo José Garcia Pereira. -- Jaboticabal, 2001 ix, 83 f.: il.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008
Orientador: José Maurício Barbanti Duarte
Banca examinadora: José Eduardo Pereira Wilken Bicudo, Jorge Luiz Engler Albuquerque, Paulo Henrique Franceschini, Elisabeth Criscuolo, Urbinati

Bibliografia

1. *Falco sparverius*. 2. Atividade reprodutiva. 3. Monitoramento endócrino não invasivo. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619: 612.6:639.128

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES

RICARDO JOSÉ GARCIA PEREIRA – nascido na cidade de São Paulo, no dia 08 de setembro de 1975, em fevereiro de 1994 ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal da Universidade Estadual Paulista (FCAVJ – UNESP), obtendo o título de Médico Veterinário em fevereiro de 1999. Desde o primeiro ano da graduação realizou estágios na área de Animais Selvagens, participando do Programa de Iniciação Científica do PIBIC/CNPq entre agosto de 1996 e julho 1997, e realizando seu estágio curricular no “The Raptor Center” (Minnesota – EUA). De março de 2000 a julho de 2002, realizou seu mestrado no Programa de Medicina Veterinária, área de concentração em Reprodução Animal, da FCAVJ – UNESP como bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Trabalhou como consultor técnico na Fundação Parque Zoológico de São Paulo nas áreas de manejo, nutrição, reprodução e educação ambiental com aves de rapina de agosto de 2002 a dezembro de 2004. Em março de 2005, ingressou no programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da FCAVJ – UNESP com apoio financeiro da FAPESP, obtendo o grau de doutor em 22 de julho de 2008. De março de 2005 a junho de 2008, desenvolveu atividades de ensino junto ao curso de Medicina Veterinária da Universidade de Franca (UNIFRAN) com a discipulo.

“O verdadeiro analfabetismo é a falta de curiosidade;

A curiosidade é a essência da cultura”.

Goffredo Parise

Dedico

As aves de rapina que desde o início de minha vida acadêmica serviram como
fonte de inspiração para meus anseios científicos e conservacionistas.

AGRADECIMENTOS

A minha amada esposa Carol, por todos estes anos de amor, felicidade e companheirismo. Você foi, é e sempre será imprescindível na minha vida. Te amo muito.

Aos meus pais Antônio e Tereza e meus irmãos Neto e Fernando pelo apoio incondicional durante todas as minhas jornadas. Vocês são tudo que um filho e irmão pode querer.

A minha vovó “Curação”, minhas tias Lucinha e Mariquita, tios, Darci e Izidro, e primos Betinho e Naná que mesmo à distância sempre torceram e oraram por mim. Vocês sempre estarão em meu coração onde quer que eu esteja.

Aos meus sogros Dona Beth e Seu Baldo, e cunhados Kika e Dudu pelo carinho, paciência e encorajamento durante os momentos difíceis.

Ao meu orientador Prof. José Maurício Barbanti Duarte pela amizade, orientação, confiança e principalmente pelo exemplo de dedicação à pesquisa e conservação de animais selvagens.

Ao amigo e parceiro Marco Antonio Monteiro Granzinolli por compartilhar a mesma paixão pelas aves de rapina e pela indispensável contribuição nos trabalhos de campo.

Aos amigos do NUPECCE e do Departamento de Zootecnia (Geléia, André, Léo, Elias, Guilherme, Mau-Mau, Eveline, Vanessa, Janota, Natália, Roberta, Tatiana, Guidão, Castanha, Bruna, Cris, Davi, Raul, Javier, Jaqueline, Piauí, Alex, Pissiroca, Caju, João, Paulo, Beterraba e Carlos), por toda ajuda, convivência e momentos de descontração nestes três anos e meio em Jaboticabal.

Aos amigos professores da UNIFRAN (José Abdo, Nelly, Josi, Juan, Daniel, Cris, Aline, Thais, James, Lucif, Andrigo, Alexandre).

Ao Prof. Antonio de Queiroz Neto e os funcionários do Laboratório de Farmacologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAVJ – UNESP, por ceder sua infraestrutura laboratorial para a realização das análises hormonais.

Ao Prof Gener Tadeu Pereira pelo suporte estatístico.

Ao Prof. Norberto Peporine Lopes e a química Izabel Cristina Casanova Turatti do Laboratório de Química Orgânica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, pela contribuição nas análises cromatográficas.

Aos Professores Rupert Palme e Franz Schwarzenberger (Universidade de Viena - Áustria), Coralie Munro (Universidade da Califórnia – EUA) e Juan Carlos Illera del Portal (Universidad Complutense de Madrid – Espanha), pelo auxílio com os anticorpos para os ensaios imunoenzimáticos.

Aos amigos da Fundação Parque Zoológico de São Paulo (Dr. Paulo Magalhães Bressan, Prof. João Batista da Cruz, Prof. José Luiz Catão Dias, Fernanda Junqueira Vaz Guida, Oriel Nogali, Cecília Gregório), por cederem os animais e a infra-estrutura durante a realização dos experimentos de cativeiro.

A bióloga Marisa dos Santos e os demais responsáveis pelo do Bosque Municipal de Ribeirão Preto, por também ceder os animais e a infra-estrutura durante a realização dos experimentos de cativeiro

Aos responsáveis e funcionários da Estação Ecológica de Itirapina – Instituto Florestal do Estado de São Paulo, por toda ajuda nos trabalhos de campo.

Ao Prof. Henrique M.G. Pereira (Instituto de Química - UFRJ) e a colega Flaviana Guião Leite (Departamento de Reprodução Animal – USP), por gentilmente cederem alguns reagentes químicos indispensáveis para os experimentos de cromatografia.

A FAPESP por todo apoio financeiro concedido durante os três anos e meio de projeto.

Enfim, a Deus e ao meu anjo da guarda por mais uma vez terem me protegido e iluminado durante os momentos difíceis, permitindo a realização de mais esse sonho.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
Objetivos Gerais.....	1
Revisão de Literatura.....	2
Referências Bibliográficas.....	8
CAPÍTULO 2 – INFLUÊNCIA DOS RADIOTRANSMISSORES SOBRE OS NÍVEIS DE GLUCOCORTICÓIDES FECAIS DE MACHOS DE FALCÕES QUIRI-QUIRI DE VIDA LIVRE.....	14
Introdução.....	17
Material e Métodos.....	19
Resultados.....	25
Discussão.....	27
Conclusões.....	29
Referências Bibliográficas.....	30
CAPÍTULO 3 – VARIAÇÕES SAZONAIS DOS NÍVEIS DE ANDRÓGENOS E GLUCOCORTICÓIDES FECAIS EM MACHOS DE FALCÃO QUIRI-QUIRI DE VIDA LIVRE E SUAS RELAÇÕES COM COMPORTAMENTOS REPRODUTIVOS E FATORES AMBIENTAIS.....	39

Introdução.....	43
Material e Métodos.....	47
Resultados.....	54
Discussão.....	59
Conclusões.....	69
Referências Bibliográficas.....	70

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Estratégias de conservação para aves de rapina ameaçadas, englobando desde a preservação de seus habitats até a definição de um plano de manejo, são cruciais para a manutenção da variabilidade genética de populações *in situ* e *ex situ*. No entanto, o sucesso desses programas está diretamente relacionado ao estudo da biologia reprodutiva das diferentes espécies, para que estoques genéticos possam ser produzidos seja pelo aumento no número de animais cativos ou pela criopreservação de seus gametas. Neste sentido, a ausência de informações sobre a endocrinologia reprodutiva (especialmente em espécimes de vida livre) pode implicar em dificuldades na realização de estratégias de conservação, uma vez que tais dados podem ser fundamentais na compreensão de diferentes fenômenos, tais como a influência dos fatores ambientais sobre a sazonalidade reprodutiva de espécies em clima tropical. Adicionalmente, o melhor conhecimento endócrino-reprodutivo das aves de rapina pode auxiliar na elaboração de esquemas de manejo de populações ameaçadas, por exemplo, testando efeitos dos diferentes poluentes ambientais sobre a secreção de hormônios reprodutivos ou induzindo comportamento reprodutivo em cativeiro por meio de protocolos de suplementação hormonal (CADE, 1986; REHDER et al., 1986; FERNIE et al., 2001; FISHER et al., 2001).

Objetivos

Este trabalho teve como objetivo principal contribuir para o conhecimento da biologia reprodutiva de rapinantes em clima tropical ao fornecer informações endócrinas e comportamentais básicas relacionadas à reprodução *in situ* de machos de falcões quiri-quiri (*Falco sparverius*), uma ave de rapina considerada por muitos pesquisadores "espécie-modelo" em estudos envolvendo Falconiformes (BIRD et al., 1980; CADE, 1986; REHDER et al., 1986; WIEMEYER & LINCER, 1987; BROCK & BIRD, 1991; FISHER et al., 2001). Além disso, este

estudo teve também o intuito de gerar dados importantes relacionados à validação de técnicas não-invasivas de monitoramento da atividade testicular e adrenal de rapinantes sulamericanos, além de avaliar os efeitos fisiológicos de radiotransmissores em machos de falcões quiri-quiri.

Revisão de Literatura

A relação entre humanos e aves de rapina pode ser considerada paradoxal, pois apesar dos rapinantes serem cultuados por diversas civilizações antigas como símbolos de veneração religiosa ou de poder, os mesmos têm sido impiedosamente perseguidos nos últimos séculos como predadores de animais domésticos (DEL HOYO et al., 1994; WEIDENSAUL, 1996). Contudo, o progressivo conhecimento da biologia destes animais vem demonstrando sua verdadeira importância ecológica no controle de vários insetos, aves e roedores, revelando os benefícios que a conservação destas espécies pode gerar ao homem (WEIDENSAUL, 1996; CHEBEZ & AGUILAR, 2001; FOWLER, 2001). Ainda assim, inúmeras ameaças pairam sobre as aves de rapina no mundo inteiro, sendo a maior delas a degradação e destruição do habitat, seguida pela contaminação ambiental por pesticidas e outros poluentes (p.e. metais pesados, compostos bifenólicos, etc), destruição de corredores de migração, envenenamento intencional e tráfico internacional de animais selvagens (DEL HOYO et al., 1994; WEIDENSAUL, 1996; BROWN, 1997; CHEBEZ & AGUILAR, 2001; FOWLER, 2001). Similarmente, tais dificuldades são enfrentadas pelas aves de rapina no Brasil, onde a situação é ainda agravada pelo fato do manejo, conservação e reprodução de rapinantes serem incipientes no país configurando um panorama desfavorável à preservação de espécies brasileiras.

De acordo com FERGUSON-LEES & CHRISTIE (2001), a ordem Falconiformes é representada por 307 espécies no mundo, das quais 69 espécies (aproximadamente 22%) podem ser encontradas em território brasileiro. Uma perspectiva dessa riqueza no continente sul-americano é fornecida por DEL

HOYO et al. (1994), ao descreverem que mais de 20 espécies de acipitrídeos podem coexistir em uma área limitada de floresta amazônica primária, sem considerar os rapinantes migrantes ou nômades provenientes de áreas abertas. Também, mais de dez gêneros de acipitrídeos são restritos ao neotrópico (p.e. *Harpagus*, *Rostrhamus*, *Leucopternis*, *Buteogallus*, etc.) e oito dos dez gêneros da família Falconidae estão concentrados na América do Sul (*Polyborus*, *Milvago*, *Daptrius*, *Phalcoboenus*, *Micrastur*, etc) (DEL HOYO et al., 1994; SICK, 1997). No entanto, além da importância em termos de biodiversidade, o continente sul-americano possui aves de rapina de grande valor em estratégias conservacionistas (p.e. *Harpia harpyja*), tanto pelo interesse que as mesmas despertam no público (tornando-as excelentes "espécies bandeiras"), quanto pelas amplas áreas de vida por elas ocupadas que, por conseguinte abrigam grandes populações de outros vertebrados (colocando-as na posição de "espécies guarda-chuva").

Por outro lado, a despeito da imensa biodiversidade, poucas espécies de Falconiformes no mundo são consideradas suficientemente conhecidas, fato que se mostra ainda mais alarmante nos rapinantes sul-americanos (DEL HOYO et al., 1994; BROWN, 1997; SICK, 1997). Um exemplo dessa carência de estudos encontra-se no fato de estimativas populacionais confiáveis de acipitrídeos estarem disponíveis para aproximadamente 20 espécies (8% do total), sendo a maioria delas oriundas de clima temperado (DEL HOYO et al., 1994). Adicionalmente, informações referentes à situação, ecologia e tendência populacional da maioria dos rapinantes de florestas tropicais são superficiais, sendo a inclusão de várias espécies em listas de fauna ameaçada uma postura de caráter provavelmente conservador (DEL HOYO et al., 1994). Segundo BLANCO et al. (2002a), o status real de conservação é verdadeiramente conhecido para menos de 10% de todas as aves de rapina no mundo, sendo 31 espécies (10% das espécies existentes) atualmente listadas como ameaçadas de extinção (DEL HOYO et al., 1994).

Neste contexto, alguns autores acreditam que embora a ordem Falconiformes venha enfrentando grandes dificuldades em vida livre, as últimas 4 décadas foram marcadas por avanços significativos no manejo *ex situ* de algumas populações (WEAVER & CADE, 1985; CADE, 1986; FOX, 1995; HEIDENREICH, 1997). Porém, não obstante dos excelentes resultados obtidos com determinadas espécies de falcões (p.e. *Falco peregrinus*) e condores (p.e. *Gymnogyps californianus*), a reprodução consistente em cativeiro continua insatisfatória, especialmente no caso de algumas águias e gaviões ameaçados (BLANCO et al., 2002b). Esta irregularidade nos resultados deve-se principalmente ao desconhecimento dos padrões biológicos da maioria das espécies, assim como pela alta susceptibilidade deste grupo ao estresse de cativeiro (MENDELSSOHN & MARDER, 1970; CADE, 1986; BLANCO et al., 2002b). Além disso, a propagação em cativeiro de aves de rapina encontra desafios adicionais que podem incluir: a não disponibilidade de aves para a formação de casais, a consangüinidade, a incompatibilidade entre macho-fêmea, a incapacidade para a cópula natural, a pobre qualidade de sêmen, entre outros (ENDERSON, 1986; FOX, 1995; BLANCO et al., 2002b). Por essa razão, WILDT et al. (2001) acreditam que a utilização de abordagens multidisciplinares objetivando a compreensão da biologia reprodutiva básica, para sua posterior aplicação no desenvolvimento de programas de reprodução assistida, seja vital na conservação desse grupo. Contudo, à exceção de um trabalho envolvendo águias carecas (*Haliaeetus leucocephalus*) em cativeiro (BERCOVITZ et al., 1982), não existe informações disponíveis relacionadas aos padrões sazonais de secreção hormonal em qualquer espécie de ave de rapina diurna.

Com relação à reprodução *in situ*, a densidade de casais e a época reprodutiva das aves de rapina são controladas por variados fatores ambientais (p.e. qualidade de habitat, presença de parceiros, disponibilidade de áreas de ninho, intensidade de comportamentos territoriais, etc.), mas a abundância de presas ao longo do ano é sem dúvida o elemento determinante na regulação de ambas as características (DEL HOYO et al., 1994; BROWN, 1996). A maioria das

espécies se reproduz durante um período restrito do ano objetivando sincronizar as fases de eclosão, criação e empenamento dos filhotes com a época de maior disponibilidade de alimento (FOLLETT, 1984; SHRUBB, 1993, SHARP, 1996, SCANES, 2000). Assim, a reprodução sazonal de rapinantes em latitudes superiores a 30°S ou 30°N coincide com a primavera e verão, época em que a elevação do fotoperíodo estimula o crescimento da vegetação resultando no aumento do número de invertebrados e pequenos vertebrados (FOLLETT, 1984; SHARP, 1996). Já no caso das aves de rapina de clima tropical, diversos estudos indicam que as pressões de seleção favoreceram a evolução de padrões reprodutivos projetados para explorar as flutuações locais de recursos, devido à ausência de fortes ritmos circadianos de luz (FOLLETT, 1984, DEL HOYO et al., 1994).

De modo geral, aves que se reproduzem nos trópicos são expostas à baixas ou nenhuma mudança sazonal no comprimento de dia. Algumas dessas espécies apresentam ritmos autônomos de atividade reprodutiva em condições constantes de iluminação, as quais se acredita serem sincronizadas por alterações sazonais sutis no comprimento do dia ou por algum outro "zeitgeber" (ou "fator ambiental de arraste") anual que coloque a reprodução no momento mais apropriado do ano (SHARP, 1984, GWINNER & HAU, 2000). Portanto, as estações reprodutivas em muitas aves tropicais e subtropicais mostram-se tão concentradas quanto nas aves de clima temperado, embora a postura de ovos nessas espécies possa ser teoricamente iniciada e concluída em quase qualquer período do ano (SHARP, 1996; WIKELSKI et al., 2000). Neste aspecto, após observar diversas espécies de aves aquáticas em latitudes inferiores a 40°S, HALSE & JAENSCH (1989) sugeriram que a época das chuvas é o fator ambiental mais importante para a estimulação da recrudescência gonadal. Segundo os autores, o comprimento do dia pode não ser tão importante para a regulação do início da reprodução nestas espécies, mas é provavelmente fundamental na regulação do término da época reprodutiva pela indução da fotorefratariedade.

Todavia, após monitorar a endocrinologia reprodutiva de passeriformes de vida livre em florestas tropicais, WIKELSKI et al. (2000) contestaram esta hipótese, concluindo que as aves de baixa latitude também utilizam o fotoperíodo como principal sinal de longo prazo para a previsão das alterações ambientais, e que os sinais de curto prazo como pluviosidade ou abundância de alimento são usados como mecanismos finos de ajuste da época reprodutiva. Ainda, WIKELSKI et al. (2000) notaram que apesar das gônadas e dos níveis de hormônio luteinizante (LH) apresentarem aumentos significativos durante a reprodução, as concentrações de testosterona e a agressividade nesses passeriformes mantiveram-se baixas durante o ano todo. Estes resultados contrastam com os dados oriundos de aves de clima temperado, que apresentam altos níveis de testosterona e freqüentes comportamentos de territorialidade durante suas respectivas épocas reprodutivas (WIKELSKI et al., 2000). Em resumo, tais descobertas revelam a necessidade dos monitoramentos endócrinos de longa duração com indivíduos de vida livre, para uma melhor elucidação dos mecanismos de resposta do eixo hipotálamico-hipofisário-gonadal à influência dos diferentes fatores ambientais nas espécies de regiões tropicais.

A determinação de concentrações plasmáticas de esteróides sempre foi uma técnica amplamente empregada em pesquisas endócrinas relacionadas à reprodução, ecologia e comportamento de aves domésticas e selvagens (FOLLETT, 1984; BISHOP & HALL, 1991; COCKREM & ROUNCE, 1994). Contudo, a exeqüibilidade desses ensaios hormonais é constantemente limitada, principalmente nas aves de pequeno porte, pela freqüência e volume das amostras sanguíneas que podem ser obtidas sem comprometer a saúde do animal estudado (LEE et al., 1995; TELL, 1997). Além disso, o estresse resultante da captura, manipulação e colheita de sangue pode alterar a secreção de hormônios pelos eixos adrenocortical e gonadal, gerando variáveis indesejáveis durante a análise dos resultados (WINGFIELD et al., 1982; BISHOP & HALL, 1991; LEE et al., 1995; TELL, 1997). Entretanto, muitos hormônios e seus metabólitos são excretados na urina e fezes das aves, e as concentrações relativas desses

produtos podem ser utilizadas como indicadores do bem-estar animal ou da condição reprodutiva (BISHOP & HALL, 1991; WASSER et al., 2000). Desta forma, o desenvolvimento de métodos não invasivos pela mensuração de esteróides urinários e fecais vem se mostrando útil na investigação endocrinológica de aves pela possibilidade de se coletar inúmeras amostras sem que haja a perturbação do animal (BISHOP & HALL, 1991; COCKREM & ROUNCE, 1994; LEE et al., 1995; TELL, 1997).

A técnica de dosagem de hormônios fecais em aves foi primeiramente descrita como uma opção não-invasiva de sexagem de espécies monomórficas (CZEKALA & LASLEY, 1977; BERCOVITZ et al., 1978; STAVY et al., 1979). Posteriormente, BERCOVITZ et al. (1982) demonstraram sua possível utilização no monitoramento do status reprodutivo de aves selvagens em cativeiro, pela comparação dos níveis fecais de andrógenos e estrógenos (razão de A/E). Desde então, a aplicabilidade dessa metodologia foi comprovada tanto na avaliação de esteróides sexuais quanto de glucocorticóides em diversas aves domésticas (p.e. galinhas e codornas) e selvagens (p.e. beija-flores, pardais, canários, pombos, periquitos, papagaios, corujas, açores, cormorões, mergulhões e gansos) (BISHOP & HALL, 1991; KOFUJI et al., 1993; COCKREM & ROUNCE, 1994; LEE et al., 1995; TELL, 1997; WASSER et al., 1997; SOCKMAN & SCHWABL, 1999; HIRSCHENHAUSER et al., 1999; LEE et al., 1999; HIEBERT et al., 2000; DEHNHARD et al., 2003; WASHBURN et al., 2003; TEMPEL & GUTIÉRREZ, 2004; WASSER & HUNT, 2005).

Sendo assim, o presente trabalho pretende: (1) registrar as variações anuais de alguns comportamentos reprodutivos (p.e. cortejo, nidificação, cópula, época de nascimentos e cuidados com a prole) em machos de falcão quiri-quiri de vida livre; (2) estimar as flutuações anuais nos níveis de andrógenos e glucocorticóides fecais em machos de falcão quiri-quiri de vida livre; e (3) correlacionar os perfis hormonais anuais obtidos com os dados comportamentais e fatores ambientais. Este pequeno falconídeo foi escolhido para este estudo por ser uma espécie relativamente dócil e abundante no Brasil (SICK, 1997), e por ser

considerada uma das poucas aves de rapina diurnas estudadas com maior profundidade tanto em vida livre quanto em cativeiro (resultando em uma razoável base de dados para comparações) (FISHER et al., 2001). Também, esta espécie mostra-se interessante por apresentar uma ampla época de nascimentos nas regiões tropicais (p.e. de janeiro a agosto na América Central, de dezembro a maio ao norte da América do Sul, e de outubro a março ao sul da América do Sul), com a ocorrência de duas ninhadas no mesmo ano em regiões mais quentes (p.e. norte do Chile, primeira ninhada aparecendo em outubro, e segunda em dezembro/janeiro) (DEL HOYO et al., 1994; FERGUNSON-LEES & CHRISTIE, 2001).

Referências Bibliográficas

BERCOVITZ, A.B., CZEKALA, N.M., LASLEY, B.L. A new method of sex determination in monomorphic birds. **J. Zoo Anim. Med.**, v. 9, p. 114-124, 1978.

BERCOVITZ, A.B., COLLINS, J., PRICE, P., TUTTLE, D.. Noninvasive assessment of seasonal hormone profile in captive bald eagles (*Haliaeetus leucocephalus*). **Zoo Biol.**, v. 1, p. 111-117, 1982.

BIRD, D.M., WEIL, P.G., LAGUË, P.C. Photoperiodic induction of multiple breeding seasons of American kestrels. **Can. J. Zool.**, v. 58, p. 1022-1026, 1980.

BISHOP, C.M., HALL, M.R. Non-invasive monitoring of avian reproduction by simplified faecal steroid analysis. **J. Zool. Lond.**, v. 224, p. 649-668, 1991.

BLANCO, J.M., GEE, F.G., WILDT, D.E., DONOGHUE, A.M. Producing progeny from endangered birds of prey: treatment of urine contaminated semen and a novel intramaginal insemination approach. **J. Zoo Wildl. Med.**, v. 33, n. 1, p. 1-7, 2002a.

BLANCO, J.M., WILDT, D.E., MONFORT, S.L., GEE, G., DONOGHUE A.M. Developing assisted reproductive technologies to promote *ex situ* raptor conservation. In: **2nd International Symposium on Assisted Reproductive Technology for the Conservation and Genetic Management of Wildlife**. Henry Doorly Zoo, Omaha, Nebraska, 2002b

BROCK, M.K., BIRD, D.M.. Prefreeze and postthaw effects of glycerol and dimethylacetamide on motility and fertilizing ability of American kestrel (*Falco sparverius*) spermatozoa. **J. Zoo Wildl. Med.**, v. 22, n. 4, p. 453-459, 1991.

BROWN, L. **Birds of Prey**. 2. ed. London: Chancellor Press, 256p, 1997.

CADE, T.J. Propagating diurnal raptors in captivity: a review. **Int. Zoo Yb.**, v. 24/25, p. 1-20, 1986.

CHEBEZ, J.C., AGUILAR, R.F. Order Falconiformes (Hawks, Eagles, Falcons, Vultures). In: FOWLER M.E., CUBAS Z.C (eds). **Biology, medicine, and surgery of South American Wild Animals**. 1. ed. Iowa: Iowa State University Press, Chapter 12, p. 115-124, 2001.

COCKREM, J.F., ROUNCE, J.R. Faecal measurements of oestradiol and testosterone allow the non-invasive estimation of plasma steroid concentrations in the domestic fowl. **Br. Poultry Sci.**, v. 35, p. 433-443, 1994.

CZEKALA, N.M., LASLEY, B.L. A technical note on sex determination in monomorphic birds using faecal steroid analysis. **Int. Zoo Yb.**, v. 17, p. 209-211, 1977.

DEHNHARD, M., SCHREER, A., KRONE, O., JEWGENOW, K., KRAUSE, M., GROSSMANN, R. Measurement of plasma corticosterone and fecal glucocorticoid

metabolites in the chicken (*Gallus domesticus*), the great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), and the goshawk (*Accipiter gentilis*). **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 131, p. 345-352, 2003.

DEL HOYO, J., ELLIOTT, A., SARGATAL, J. **Handbook of the Birds of the World: New World Vultures to Guinea-fowl**. 1. ed. Barcelona: Lynx Edicions, 638p., 1994.

ENDERSON, J. Husbandry and captive breeding of birds of prey. In: FOWLER M.E. (ed). **Zoo and Wild Animal Medicine**. 2. ed. Philadelphia: Saunders, Chapter 27, p. 376-379, 1986.

FERGUSON-LEES, J., CHRISTIE, D.A. **Raptors of the world**. 1. ed. New York: Houghton Mifflin Company, 992p, 2001.

FERNIE, K.J., SMITS, J.E., BORTOLOTTI, G.R., BIRD, D.M. *In Ovo* exposure to polychlorinated biphenyls: reproductive effects on second-generation American kestrels. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 40, p. 544-550, 2001.

FISHER, S.A., BORTOLOTTI, G.R., FERNIE, K.J., SMITS, J.E., MARCHANT, T.A., DROUILLARD, K.G., BIRD, D.M. Courtship behavior of captive American kestrels (*Falco sparverius*) exposed to polychlorinated biphenyls. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 41, p. 215-220, 2001.

FOLLETT, B.K. Birds. In: LAMMING, G.E. (ed). **Marshall's Physiology of Reproduction: Reproductive Cycles of Vertebrates**. 4. ed. New York: Churchill Livingstone, Chapter 4, p. 283-350., 1984.

FOX, N. **Understanding the Bird of Prey**. 1. ed. Blaine: Hancock House Publishers, 375p, 1995.

FOWLER, M.E. Order Strigiformes (Owls). In: FOWLER M.E., CUBAS Z.C. (eds). **Biology, medicine, and surgery of South American Wild Animals**. 1. ed. Iowa: Iowa State University Press, Chapter 13, p. 125-132, 2001.

GWINNER, E., HAU, M. The pineal gland, circadian rhythms, and photoperiodism. In: WHITTOW, G.C. (ed). **Sturkie's Avian Physiology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, Chapter 21, p. 557-568, 2000.

HALSE, S.A., JAENSCH, R.P. Breeding seasons of waterbirds in southwestern Australia - The importance of rainfall. **Emu**, v. 89, p. 232-249, 1989.

HEIDENREICH, M. **Birds of Prey: Medicine and Management**. 1.ed. Oxford: Blackwell Science, 284p, 1997.

HIEBERT, S.M., RAMENOFKY, M., SALVANTE, K., WINGFIELD, J.C., LEE GASS, C. Noninvasive methods for measuring and manipulating corticosterone in hummingbirds. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 120, p. 235-247, 2000.

HIRSCHENHAUSER, K., MÖSTL, E., KOTRSCHAL, K. Within-pair testosterone covariation and reproductive output in greylag geese *Anser anser*. **Ibis**, v.141, p. 577-586, 1999.

KOFUJI, H., KANDA, M., OISHI, T. Breeding cycles and fecal gonadal steroids in the brown dipper *Cinclus pallasi*. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 91, p. 216-223, 1993.

LEE, J.V., TELL, L., LASLEY, B.L. A comparison of sex steroid hormone excretion and metabolism by psittacine species. **Zoo Biol.**, v. 18, p. 247-260, 1999.

LEE, J.V., WHALING, C.S., LASLEY, B.L., MARLER, P. Validation of an enzyme immunoassay for measurement of excreted estrogen and testosterone metabolites in the white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys oriantha*). **Zoo Biol.**, v. 14, p. 97-106, 1995.

MENDELSSOHN, H., MARDER, U. Problems of reproduction in birds of prey in captivity. **Int. Zoo Yearb.**, v. 10, p. 7-11, 1970.

REHDER, N.B., BIRD, D.M., LAGUË, P.C. Variations in plasma corticosterone, estrone, estradiol-17 β , and progesterone concentrations with forced renesting, molt, and body weight of captive female American kestrels. **Gen. Comp. Endocrin.**, v. 62, p. 386-393, 1986.

SCANES, C.G. Introduction to endocrinology: pituitary gland. In: WHITTOW, G.C. (ed). **Sturkie's Avian Physiology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, Chapter 16, p. 437-452, 2000.

SHARP, P.J. Seasonality and autonomous reproductive activity in birds. **Boll. Zool.**, v. 51, p. 395-403, 1984.

SHARP, P.J. Strategies in avian breeding cycles. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 42, p. 505-513, 1996.

SHRUBB, M. **The kestrel**. 1. ed. London: The Hamlyn Publishing, p. 128, 1993.

SICK, H. Ordem Falconiformes. In: _____. **Ornitologia Brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, Capítulo 10, p. 243-269, 1997.

SOCKMAN, K.W., SCHWABL, H. Daily estradiol and progesterone levels relative to laying and onset of incubation in canaries. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 114, p. 257-268, 1999.

STAVY, M., GILBERT, D., MARTIN, R.D. Routine determination of sex in monomorphic bird species using faecal steroid analysis. **Int. Zoo Yb**, v. 19, p. 209-214, 1979.

TELL, L.A. Excretion and metabolic fate of radiolabeled estradiol and testosterone in the cockatiel (*Nymphicus hollandicus*). **Zoo Biol.**, v. 16, p. 505-518, 1997.

TEMPEL, D.J., GUTIÉRREZ, R.J. Factors related to fecal corticosterone levels in California spotted owls: implications for assessing chronic stress. **Conserv. Biol.**, v. 18, n. 2, p. 538-547, 2004.

WASHBURN, B.E., MILLSPAUGH, J.J., SCHULZ, J.H., JONES, S.B., MONG, T. Using fecal glucocorticoids for stress assessment in mourning doves. **Condor**, v. 105, n. 4, p. 744-755, 2003.

WASSER, S.K., BEVIS, K., KING, G., HANSON, E. Noninvasive physiological measures of disturbance in the northern spotted owl. **Conserv. Biol.**, v. 11, n. 4, 1019-1022, 1997.

WASSER, S.K., HUNT, K.E. Noninvasive measures of reproductive function and disturbance in the barred owl, great horned owl and Northern spotted owl. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.1046, p. 1-29, 2005.

WASSER, S.K., HUNT, K.E., BROWN, J.L., COOPER, K., CROCKETT, C.M., BECHERT, U., MILLSPAUGH, J.J., LARSON, S., MONFORT, S.L. A generalized

fecal glucocorticoid assay for use in a diverse array of nondomestic mammalian and avian species. **Gen. Comp. Endocrin.**, v. 120, p. 260-275, 2000.

WEAVER, J.D., CADE, T.J. **Falcon propagation: A manual on captive breeding**. 1.ed. rev., Boise: The Peregrine Fund, Inc., 100p. 1985.

WEIDENSAUL, S. **Raptors - The birds of prey: an almanac of hawks, eagles, and falcons of the world**. 1. ed. Shrewsbury: Swan Hill Press, 382p, 1996.

WIEMEYER, S.N., LINCER, J.L. The use of kestrels in toxicology. In: BIRD, D.M., BOWMAN, R. (eds). **The ancestral kestrel**. Raptor Research Reports, no. 6. Raptor Research Foundation and McGill University, pp. 165-178, 1987.

WIKELSKI, M., HAU, M., WINGFIELD, J.C. Seasonality of reproduction in neotropical rain forest bird. **Ecology**, v. 81, n. 9, p 2458-2472, 2000.

WILDT, D.E., MONFORT, S.L., BLANCO, J.M., DONOGHUE, A.M., Integrating scientific disciplines through partnerships that benefit endangered species. In: **4th Eurasian Congress on Raptors**, Raptor Research Foundation, Abstract book, Sevilla, España, 25-29, September., 2001.

WINGFIELD, J.C., SMITH, J.P., FARNER, D.S. Endocrine responses of the white-crowned sparrows to environmental stress. **Condor**, v. 84, p. 399-409, 1982.

CAPÍTULO 2 – INFLUÊNCIA DOS RADIOTRANSMISSORES SOBRE OS NÍVEIS DE GLUCOCORTICÓIDES FECAIS DE MACHOS DE FALCÕES QUIRI-QUIRI DE VIDA LIVRE

Influência dos Radiotransmissores sobre os Níveis de Glucocorticóides Fecais de Machos de Falcões quiri-quiri de Vida Livre

RESUMO – Apesar da radiotelemetria ser considerada uma ferramenta valiosa em estudos ornitológicos, algumas teorias relativas ao impacto de radiotransmissores sobre a estimativa de parâmetros comportamentais, ecológicos e reprodutivos podem ser encontradas em literatura. Com o intuito de avaliar os potenciais efeitos fisiológicos de radiotransmissores do tipo mochila em falcões quiri-quiri (*Falco sparverius*) de vida livre, oito machos desta espécie foram capturados e divididos em dois grupos: indivíduos marcados com radiotransmissores (aproximadamente 5% do peso vivo, $n = 6$) e indivíduos controle (anilhados, $n = 2$). Em seguida, amostras fecais foram coletadas duas horas após a captura (dia -1) e durante os dias 0 (definido como o dia de soltura dos animais), 4, 7, 15, 30, 40 e 55. Previamente às análises laboratoriais, o ensaio imunoenzimático para dosagem de glucocorticóides fecais foi testado empregando procedimentos padrões de validação hormonal (paralelismo, curva de dose-resposta, validação fisiológica e coeficientes de variação inter- e intra-ensaio). Em relação aos machos monitorados, ambos os grupos apresentaram um aumento significativo nos níveis de glucocorticóides fecais durante o dia 0 ($P < 0,001$), mas as concentrações retornaram aos níveis pré-equipagem após 4 dias da soltura. Além disso, os níveis de glucocorticóides fecais não diferiram significativamente entre os falcões radiomarcados e os anilhados durante os 55 dias de monitoramento ($P > 0,05$). Embora o número de indivíduos neste estudo seja reduzido, estes resultados sugerem que radiotransmissores do tipo mochila não induzem efeitos persistentes sobre a atividade adrenal de machos de falcões quiri-quiri de vida livre. Considerando a literatura consultada, esta é a primeira pesquisa

a analisar os efeitos de radiotransmissores sobre a resposta adrecortical de aves de vida livre.

Palavras-chave: Aves de rapina, estresse, falcão quiri-quiri, *Falco sparverius*, glucocorticóides fecais, radiotelemetria.

CHAPTER 2 – INFLUENCE OF RADIOTRANSMITTERS ON FECAL GLUCOCORTICOID LEVELS OF FREE-RANGING MALE AMERICAN KESTRELS.

Influence of Radiotransmitters on Fecal Glucocorticoid Levels of Free-ranging Male American kestrels.

ABSTRACT Although radiotelemetry is considered a valuable technique for ornithological field studies, several assumptions have been made about the impact that transmitters may cause on the estimation of behavioral, ecological and reproductive parameters. To assess potential effects of backpack radiotransmitters, we captured and assigned 8 male American kestrels (*Falco sparverius*) in 2 groups: radio-tagged (n = 6) and control individuals (leg-banded, n = 2). Thereafter, we collected feces two hr after capture (day -1), and subsequently during days 0 (releasing day), 1, 4, 7, 15, 30, 40 and 55. Prior to fecal analysis, EIA corticosterone assay was validated using standard procedures (e.g. parallelism, dose-response curve), and physiological significance of fecal glucocorticoid metabolites was confirmed through adrenocorticotropin (ACTH) challenge, which induce an increase of 4-fold (446.10 ± 60.73 ng/ g) above baseline (114.27 ± 15.23 ng/ g) within 4 hr ($P < 0.001$). Both groups exhibited a significant increase in fecal glucocorticoids during day 0 ($P < 0.001$), but concentrations returned to pre-attachment values within 4 days. Fecal glucocorticoid concentrations did not differ between samples of radio-tagged and leg-banded kestrels ($P > 0.05$). In spite of the small number of monitored subjects, these findings suggested that radiotransmitters did not affect adrenocortical activity in male American kestrel. To our knowledge, this is the first research to evaluate the effects of transmitters on stress responses in free-ranging birds.

KEY WORDS American kestrel, *Falco sparverius*, fecal glucocorticoids, radiotelemetry, raptors, southeast Brazil, stress, transmitter attachment.

Introdução

A radiotelemetria é uma técnica amplamente empregada na investigação de vários aspectos ecológicos, comportamentais e reprodutivos em aves de rapina, as quais são consideradas espécies extremamente ariscas e que em muitos casos utilizam grandes áreas de vida (SQUIRES et al., 1993; PEREZ et al., 1996; MARZLUFF et al., 1997; MEYBURG et al., 2003; McINTYRE et al., 2006; CADAHIA et al., 2007; LINTHICUM et al., 2007). Uma hipótese importante no emprego desta ferramenta é que os dados provenientes de animais radio-marcados são fidedignos, refletindo apuradamente a condição normal da espécie estudada. No entanto, uma análise da literatura dos anos 90 revelou que apenas 10,4% dos 836 estudos envolvendo radiotelemetria avaliaram os efeitos dos radiotransmissores em seus portadores, sendo o táxon das aves o mais bem pesquisado (19,0 % dos 269 estudos) (GODFREY & BRYANT, 2003). Alguns autores focaram-se no impacto dos diferentes tipos e pesos de radiotransmissores em uma espécie particular, ao passo que outros pesquisadores estimaram os efeitos de apenas um único tipo de radiotransmissor confrontando o desempenho de aves radiomarcadas com aves anilhadas (GESSAMAN & NAGY, 1988; MASSEY et al., 1988; HOOGE, 1991; PATON et al., 1991; FOSTER et al., 1992).

Os efeitos deletérios dos radiotransmissores e seus acessórios em aves selvagens compreendem desde a redução da condição física e/ou taxa reprodutiva (SYKES et al., 1990; PATON et al., 1991; FOSTER et al., 1992; HUBBARD et al., 1998; ACKERMAN et al., 2004; WHIDDEN et al., 2007) até a diminuição na sobrevivência dos indivíduos marcados (JOHNSON & BERNER, 1980; WARNER & ETTER, 1983; MARKS & MARKS, 1987; CARROLL, 1990; REYNOLDS et al., 2004). Neste sentido, boa parte dos trabalhos existentes é baseada na avaliação de sinais evidentes manifestados pelos animais tais como mortalidade, danos físicos (p.e. abrasões na pele, perda de penas, variações de peso) e mudanças comportamentais (p.e. redução no tempo de forrageamento, vigilância, habilidade de voo, reprodução, etc) (SAYRE et al., 1981; GESSAMAN &

NAGY, 1988; HOOGE, 1991; PUTAALA et al., 1997; TODD et al., 2003; WHIDDEN et al., 2007). Todavia, as aves podem também responder fisiologicamente à presença destes dispositivos, por exemplo, aumentado à produção de hormônios relacionados ao estresse. Por essa razão, a dosagem de glucocorticóides é considerada vantajosa no diagnóstico de condições estressantes, uma vez que a mesma é mais difícil de ser mascarada e menos propensa a subjetividade quando comparada aos parâmetros comportamentais (WASSER & HUNT, 2005). Por outro lado, a mensuração dos níveis plasmáticos de corticosterona tem uma aplicação limitada nas aves devido aos distúrbios induzidos pela colheita de sangue e do pequeno volume total sanguíneo exibido por este grupo (TELL, 1997; MÖSTL et al., 2005; TOUMA & PALME 2005). Consequentemente, a análise não-invasiva de glucocorticóides fecais tem se tornado cada vez mais popular em estudos relacionados à ecologia e bem-estar de aves selvagens (HIEBERT et al., 2000; KOTRSCHAL et al., 2000; CARERE et al., 2003; TEMPEL & GUTIÉRREZ, 2004; SORATO & KOTRSCHAL, 2006).

Recentemente, ensaios para mensuração de glucocorticóides fecais têm sido empregados na estimação dos efeitos fisiológicos de radiotransmissores em aves silvestres (SUEDKAMP WELLS et al., 2003; SCHULZ et al., 2005). Contudo, ambos os experimentos foram conduzidos em cativeiro, onde a alimentação encontra-se disponível e a movimentação dos indivíduos é restringida por viveiros. Além disso, nenhuma das espécies estudadas até o momento (papa-capim americano – *Spiza americana* e rola-carpideira – *Zenaida macroura*) realiza vôos de alta maneabilidade durante o forrageamento como, por exemplo, as aves de rapina que dependem da velocidade e estabilidade de vôo para perseguir e capturar diferentes presas. Deste modo, o objetivo deste estudo foi comparar as concentrações de glucocorticóides fecais em machos de falcão quiri-quiri (*Falco sparverius*) de vida livre com e sem radiotransmissores do tipo mochila para determinar se as respostas adrenocorticais destes espécimes foram influenciadas ou não por esses dispositivos. Este pequeno falconídeo, previamente citado como “espécie-modelo” para as aves de rapina (FISHER et al., 2001), foi escolhido em

virtude de seu temperamento tranquilo e sua ampla distribuição no território brasileiro (SICK, 1997).

Material e Métodos

Área de Estudo

O monitoramento dos falcões de vida livre foi realizado na região de Itirapina – Brotas, numa porção central do Estado de São Paulo, totalizando 101,780 hectares. A Estação Ecológica de Itirapina (EEI) possui um dos últimos remanescentes de campos e campos cerrados do Estado de São Paulo (MANTOVANI, 1987; GIANOTTI, 1988). A porção de vegetação natural da região inclui: campo limpo, campo sujo, campo cerrado e cerrado *sensu stricto*, além de banhados e matas de galeria ao longo dos cursos de água (MANTOVANI, 1987; GIANOTTI, 1988). No entorno da reserva, os diversos tipos de ocupação e uso do solo (destinados principalmente à pecuária e a implantação de diferentes culturas) destruíram grande parte da vegetação nativa. Desta maneira, a paisagem atualmente se apresenta em forma de mosaico, intercalando porções maiores de áreas alteradas com remanescentes naturais de pequeno e médio porte, como por exemplo, os fragmentos de cerrado *sensu stricto* da Fazenda São José e do Horto da International Paper do Brasil. Além disso, áreas de propriedade do Estado, como o “aeroporto da Universidade de São Paulo” e a Estação Experimental (ambas vizinhas à estação) também compõem a paisagem na região. O clima da região é do tipo Cwa segundo a classificação de Koeppen, mesotérmico de inverno seco. A precipitação média anual é de 1.376 mm, com estação seca entre abril e setembro (32 – 55 mm mensais) e uma estação chuvosa entre outubro e março (117 – 257 mm mensais) (DAEE Posto D4 –014). As temperaturas médias mensais oscilam entre 16,2 e 20,1°C na estação seca, e 19,5° e 22,3°Celsius na estação chuvosa (GIANOTTI, 1988).

Animais

De 4 a 14 de Janeiro de 2007, 8 machos de falcão quiri-quiri foram capturados entre 8:00 e 18:00 horas com de armadilhas do tipo bal-chatri (BERGUER & MUELLER, 1959) abastecidas com gerbils jovens (*Meriones unguiculatus*) (licença n. 1236/2CEMAVE/ICMBIO). Imediatamente após a captura, os falcões foram colocados individualmente em caixas de papelão (30 x 30 x 30 cm) e transportados até a base da EEI. Com o objetivo de evitar a manipulação excessiva durante as horas mais quentes do dia, todos os animais foram medidos, pesados e equipados à noite, e mantidos dentro das caixas de papelão até sua soltura na manhã seguinte (informações detalhadas sobre cada indivíduo encontram-se expostas na Tabela1). Os radiotransmissores (modelo G3-1V mochila, AVM Instruments Company Ltd., Colfax, CA, USA) foram fixados nos falcões pelo método descrito por SMITH & GILBERT (1981) utilizando-se fitas de algodão/náilon com 4 mm de largura. Cada radiotransmissor foi fabricado com uma expectativa de vida útil de aproximadamente nove meses, enquanto que as tiras de algodão/náilon tinham vida teórica de 10 a 12 meses. Além disso, todas as aves foram anilhadas na pata esquerda com anilhas do CEMAVE/ICMBIO de tamanho-L, ao passo que os animais do grupo controle (ver delineamento experimental) foram também marcados na pata direita com anilhas de alumínio azuis identificadas com códigos alfa-numéricos. Os procedimentos acima mencionados levaram aproximadamente 1 hora por macho.

Tabela 1. Dados dos machos de falcão quiri-quiri (*Falco sparverius*) capturados na EEI e áreas circunvizinhas de 4 a 14 de janeiro de 2007.

Grupo	Macho	Idade	Peso (g)	Peso radiotransmissor (g) ^a	(% do peso vivo)	Hora da captura	Descrição da área de captura
Radio-marcado	2	Adulto	92,5	4,5 (4,8 %)		1740	Campo sujo
	3	Adulto	103,0	5,0 (4,8 %)		1645	Pasto
	4	Adulto	98,5	5,0 (5,0 %)		0945	Pasto
	5	Adulto	101,5	5,0 (4,9 %)		1115	Pasto/ campos de cana de açúcar
	6	Adulto	97,5	5,0 (5,1%)		1320	Pasto/ <i>Eucalyptus</i> sp./ campos de cana de açúcar
7	Subadulto	86,0	4,5 (5,2 %)		0820	Pasto/ Fragmentos de floresta	
Controle	8 ^b	Adulto	100,5	—		1630	Pasto
	9 ^b	Adulto	88,5	—		1000	Pasto

^a Peso dos radiotransmissores mais as fitas de algodão/náilon.

^b Machos anilhados na pata esquerda com anilhas CEMAVE/ICMBIO e na pata direita com anilhas de alumínio azul.

Delineamento Experimental e Colheita de Amostras Fecais

Com o objetivo de controlar possíveis efeitos da captura, manipulação e condições ambientais (p.e. variações de temperatura, tempestades), os falcões quiri-quiri capturados foram divididos em dois grupos: animais radio-marcados ($n = 6$) e controle ($n = 2$). Posteriormente, amostras fecais foram coletadas 2 horas pós-captura (representando o dia -1), e nos dias 0 (dia da soltura), 4, 7, 15, 30, 40 e 55. Ao mesmo tempo, o período de coleta para todas as aves foi padronizado com o intuito de controlar possíveis efeitos do ritmo circadiano na secreção de glucocorticóides. Deste modo, os animais capturados pela manhã (machos 4, 5, 7 e 9) foram coletados das 8:00 as 12:00, ao passo que os animais capturados a tarde (machos 2, 3, 6 e 8) foram coletados das 14:00 as 18:00.

Após a localização inicial, cada falcão foi monitorado a uma distância média de 100 metros (50–250 metros) com o auxílio de binóculos e lunetas (Bushmaster – BCI International Development Pty. Ltd., Melbourne, Austrália) até o momento da defecação. Sempre que os animais empoleiravam em árvores ou postes com grande quantidade de obstáculos para a queda das excretas no chão, o pesquisador se aproximava lentamente forçando-os a empoleirar em pontos mais propícios à coleta de fezes. Paralelamente, o pesquisador tentava coletar o máximo de amostras fecais durante o período estipulado na tentativa de suplantar os problemas associados ao pequeno volume de fezes por defecação (p.e. dificuldades nas fases de pesagem de amostras e extração dos esteróides fecais). Além disso, para evitar a colheita de amostras oriundas de outras aves, o pesquisador apenas coletou fezes quando foi possível observar o indivíduo defecando e quando as porções urinárias (parte branca da excreta) ainda se apresentavam úmidas (denotando que as fezes haviam sido recentemente defecadas). Após cada defecação, a porção fecal das excretas era removida da porção urinária, e acondicionadas em microtubos plásticos (1,5 mL). Cada amostra fecal foi coletada após aproximadamente 10 min. da defecação, e guardadas em gelo até sua armazenagem em freezer (-20°C) (que foi efetuada

dentro de 4 horas da coleta). Todas as amostras fecais foram mantidas em freezer até que a extração dos esteróides fosse realizada.

Extração Fecal e Ensaio Imunoenzimático

O protocolo de extração dos esteróides fecais foi realizado conforme metodologia descrita por TEMPEL & GUTIÉRREZ (2004). As fezes foram liofilizadas (Novalyphé–NL2000, Savant Instruments Inc., New York, USA) por aproximadamente 24 horas, e posteriormente trituradas. Concluídas as etapas de liofilização e trituração, 0,05 gramas de fezes foram colocadas em tubos de ensaio de vidro contendo 1,0 mL de metanol 80%, e foram agitadas em vortex por 30 segundos e posteriormente em agitador horizontal por 12 horas (Mod. AP22, Phoenix Ltda, Araraquara, Brazil). Amostras fecais extremamente pequenas (< 0,05 gramas) foram colocadas em tubos de ensaio contendo uma quantidade proporcional de metanol 80%, e também foram agitadas em vortex por 30 segundos e posteriormente em agitador de Kline por 12 horas. Após agitação as amostras foram centrifugadas a 2500 rpm por 20 minutos e os sobrenadantes foram transferidos para tubos limpos e estocados à – 20°C até as dosagens hormonais (executadas uma semana mais tarde).

Alíquotas dos extratos (50 µl) foram secas e re-suspendidas em 250 µl de solução de trabalho do conjugado, e então analisadas em duplicata usando os procedimentos para ensaio imunoenzimático descritos por Granado (comunicação pessoal). O anticorpo monoclonal criado contra corticosterona (fornecido pelo Dr. Juan Carlos Illera del Portal da Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Espanha) possui uma reatividade cruzada de: 100% para corticosterona; 10,01% para prednisolona; 7,01% para prednisona; 4,84% para Composto S; 0,89% para cortisol; 0,50% para cortisona; 0,4% para desoxicorticosterona; 0,20% para 21-deoxycortisona; <0,01% para 11-desoxicortisol; <0,01% para 17-beta-estradiol; <0,01% para progesterona; <0,01% para testosterona; <0,01% para DHEA; e <0,01% para dexametasona. Este ensaio foi validado para extratos fecais de

machos de falcão quiri-quiri pela demonstração de: paralelismo entre diluições seriadas dos extratos (1:2 a 1:256) e a curva padrão (0,02–200 ng/ mL), recuperação de corticosterona exógena (0,01–1000 pg/ 50 µl) adicionada aos extratos fecais (98,70%), sensibilidade (0,002 ng/ mL), e precisão (coeficientes de variação inter- e intra-ensaio <11% e <6%, respectivamente). Além disso, a validação fisiológica por meio da administração intramuscular de ACTH (100 UI/ kg, ACTH A6303, Sigma, St. Louis, MO, USA) (WALKER et al., 2005) em dois machos cativos de falcão quiri-quiri, demonstrou que este ensaio imunoenzimático foi capaz de mensurar um aumento de quatro vezes nos níveis basais de glucocorticóides fecais, que ocorreu quatro horas após a aplicação deste fármaco. Todas as concentrações hormonais são apresentadas em relação ao peso seco fecal.

Análise Estatística

Todas as concentrações de glucocorticóides fecais são apresentadas como média $\pm$ erro padrão (SEM), ao passo que diferenças de $P < 0,05$ foram consideradas significativas para todos os testes estatísticos, os quais foram realizados pelo SAS System for Windows 9.00 (SAS Institute Incorporation, Cary, NC, USA). Diferenças entre os níveis médios de glucocorticóides fecais dos machos foram calculadas utilizando ANOVA seguida de teste de Tukey. Para averiguar os efeitos do ritmo circadiano na excreção de glucocorticóides fecais, as concentrações médias dos machos coletados pela manhã foram comparadas com àquelas dos machos coletados à tarde utilizando o teste *t*. Posteriormente, os níveis de glucocorticóides fecais foram analisados por meio da ANOVA de medidas repetidas empregando o fator “grupo” em dois níveis (grupos radiotransmissor e controle) e o fator “dia” em oito níveis.

Resultados

Após a soltura, todos os machos apresentaram um padrão de vôo considerado normal pelos observadores, e nenhum deles demonstrou quaisquer dificuldades de vôo ao longo deste estudo. Paralelamente, a exceção do dia de soltura, todos os falcões desperdiçaram pouco tempo bicando ou puxando os radiotransmissores ou suas alças, ao passo que alguns indivíduos pareceram interagir com as anilhas uma mesma quantidade de tempo na primeira semana. Por duas vezes não foi possível coletar amostras fecais do macho n. 7 (dias 7 e 40) em virtude de seu comportamento arisco e sua movimentação contínua. Sendo assim, um total de 62 amostras fecais foi coletado dos machos de vida livre monitorados neste trabalho.

A análise estatística demonstrou que os níveis médios de glucocorticóides fecais foram menores no macho n. 5 ($108,20 \pm 54,27$ ng/ g) que nos machos n. 7 e 9 ($369,53 \pm 32,18$ e $350,92 \pm 44,48$ ng/ g, respectivamente) ($P < 0,05$). Não foram observadas diferenças entre as concentrações médias dos machos coletados de manhã ($270,85 \pm 30,71$ ng/ g) e a tarde ($227,4 \pm 25,78$ ng/ g) ($P > 0,05$). As concentrações de glucocorticóides fecais foram significativamente maiores no dia 0 que no dia -1 tanto para os animais controle quanto para os animais radio-marcados ($P < 0,001$), com um aumento de aproximadamente 1,5 vezes (Figura 1). Entretanto, ambos os grupos retornaram as concentrações pré-equipagem após quatro dias da soltura, e mantiveram os níveis de glucocorticóides fecais nesse patamar durante o resto do monitoramento. Não foram encontradas diferenças entre as concentrações de glucocorticóides fecais de falcões controle e radio-marcados ao longo dos 55 dias de monitoramento ($P > 0,05$).

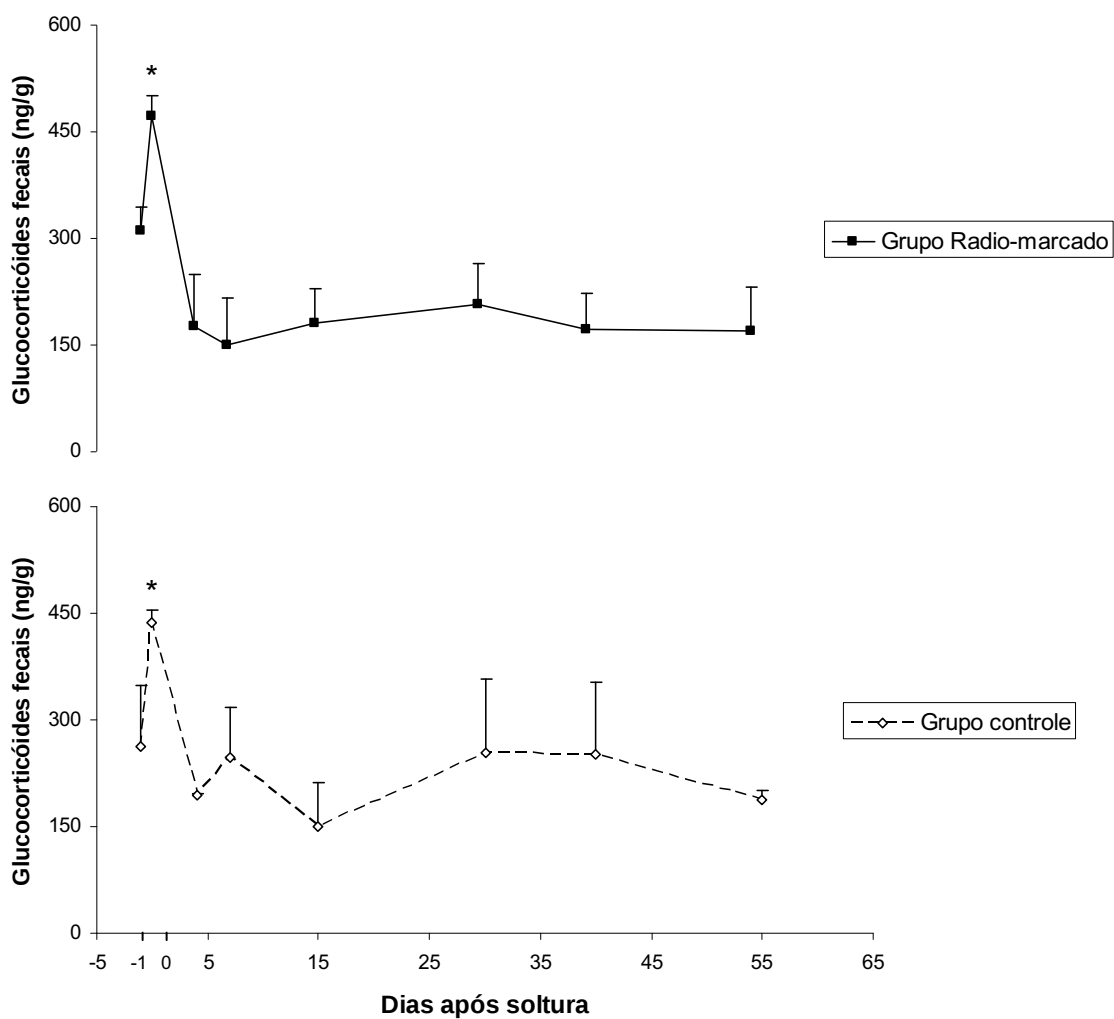


Figura 1 – Níveis médios de glucocorticóides fecais nos machos de falcão quiri-quiri do grupo radio-marcado ($n = 6$) e do grupo controle ($n = 2$) durante o período de 55 dias após a soltura. Diferenças entre as médias diárias ($\pm$ SE) das concentrações de glucocorticóides fecais dentro de cada grupo são ilustradas por asteriscos ($P < 0.001$). Não foram observadas diferenças significativas entre os níveis apresentados pelos grupos radio-marcado e controle ($P > 0.05$).

Discussão

Uma crescente preocupação entre pesquisadores que utilizam a radiotelemetria em aves selvagens é a probabilidade de que os transmissores possam influenciar adversamente os dados coletados ou que possam causar injúrias nos indivíduos monitorados (GODFREY & BRYANT, 2003). Neste sentido, o presente estudo demonstrou que a análise de glucocorticóides fecais se constitui em uma ferramenta promissora na estimativa de respostas fisiológicas de rapinantes (assim como outros grupos de aves) a radiotransmissores ou outros distúrbios potenciais. Tal afirmação baseia-se não apenas nos resultados aqui apresentados, mas também em experimentos prévios que investigaram com sucesso tanto os efeitos de radiotransmissores em aves cativas quanto às consequências de distúrbios prolongados em aves de vida livre (WASSER et al., 1997; FRIGERIO et al., 2001; SUEDEKAMP WELLS et al., 2003; TEMPEL & GUTIÉRREZ, 2004; SCHULZ et al., 2005). Além disso, os dados gerados pelos testes de acurácia, precisão e validação fisiológica (realizados aqui antes das dosagens hormonais) comprovaram que o ensaio imunoenzimático utilizado neste trabalho forneceu medidas confiáveis da atividade adrenal de machos de falcão quiri-quiri.

Neste estudo observou-se que tanto os indivíduos radio-marcados quanto os animais controle mostraram um aumento agudo nas concentrações dos glucocorticóides fecais durante as primeiras 24 horas pós-captura. Esta resposta ao estresse da captura, manipulação e manutenção overnight em caixas de transporte era esperada, e foi quantitativamente comparável as respostas detectadas durante a administração de ACTH (variando de 401,62 to 536,01 ng/g). Contudo, os níveis fecais de ambos os grupos retornaram às concentrações pré-equipagem quatro dias depois da captura, sugerindo que esta espécie se habituou em um espaço relativamente curto de tempo a presença dos radiotransmissores. Estes achados são consistentes com as observações feitas por SUEDEKAMP WELLS et al. (2003), que reportaram efeitos passageiros dos radiotransmissores

sobre a resposta adrenocortical de papa-capim americano (com queda nas concentrações fecais de glucocorticóides ocorrendo dois dias pós-equipagem). É plausível supor que, do mesmo modo que em papa-capim americano, as concentrações de glucocorticóides nos falcões quiri-quiri possam ter alcançado valores basais antes dos quatro dias pós-soltura, porém esta hipótese não pôde ser confirmada em função do delineamento experimental empregado neste trabalho. Por outro lado, contrastando com os resultados obtidos com falcões e papa-capins, não foram detectados aumentos significativas nos glucocorticóides fecais de rola-carpideira mesmo após 1-2 dias do implante (SCHULZ et al., 2005).

Apesar de toda a literatura existente sobre os efeitos de radiotransmissores em aves de rapina ser fundamentada em alterações comportamentais ou dos índices de sobrevivência e sucesso reprodutivo, algumas relações podem ser feitas entre estes estudos e nossos resultados. Por exemplo, como constatado em outros rapinantes, a adaptação dos falcões quiri-quiri nos pareceu extremamente rápida. CHIPMAN et al. (2007) concluíram que o tempo de interação de corujas buraqueiras (*Athene cunicularia*) com seus respectivos colares diminuiu consideravelmente na primeira semana, enquanto que certas mudanças comportamentais (p.e. a redução no uso do espaço e o aumento no cuidado com as penas) desapareceram um dia após a colocação de radiotransmissores em gaviões-do-ombro-vermelho (*Buteo lineatus*) (McCRARY, 1981). A completa ausência de efeitos ou presença de efeitos mínimos foi também descrita em águias-pescadoras (*Pandion haliaetus*) juvenis equipadas com radio-colares (GILSON, 1998). Similarmente as nossas observações com *Falco sparverius*, boa parte dos falcões-das-pradarias (*Falco mexicanus*) equipados com transmissores do tipo mochila pareceram interagir com as anilhas por um tempo igual ou maior àquele gasto com as alças dos dispositivos (STEENHOF et al., 2006). Ainda, o sucesso reprodutivo de francelhos (*Falco naumanni*), esmirilhões (*Falco columbarius*) e falcões-das-pradarias não foram afetados negativamente tanto com transmissores de cauda (no caso das duas primeiras espécies), quanto com transmissores do tipo mochila (última espécie) (SODHI et al., 1991; HIRALDO et

al., 1994; VEKASY et al., 1996), sustentando a idéia de que radiotransmissores possuem poucos efeitos persistentes quando instalados apropriadamente.

Em contraste, algumas pesquisas registraram efeitos negativos de radiotransmissores sobre as taxas de sobrevivência e reprodutiva de corujas-barradas (*Strix occidentalis*), corujas buraqueiras e açores (*Accipiter gentilis*) (PATON et al., 1991; FOSTER et al., 1992; REYNOLDS et al., 2005; GERVAIS et al., 2006; ROSIER et al., 2006). Neste estudo, excluindo os efeitos fisiológicos transitórios, não foram documentadas mortes de falcões quiri-quiri nos quase dois meses de monitoramento. Em conjunto, acreditamos que estas informações conflitantes devem ser cuidadosamente interpretadas visto que diferentes técnicas de colocação de radiotransmissores podem induzir respostas distintas dependendo da espécie em questão. Vários fatores tais como espécie, sexo, condições ambientais, peso e tipo de transmissor têm demonstrado exercer influência na respostas das aves a marcação com esses dispositivos (GAMMONLEY & KELLEY Jr., 1994; DZUS & CLARK, 1996; REYNOLDS et al., 2005; GERVAIS et al., 2006; ROBERT et al., 2006). Por exemplo, radiocolares e transmissores de cauda requerem menos experiência para instalar que os radiotransmissores do tipo mochila (os quais devem ser especificamente ajustados a cada indivíduo), e por essa razão têm probabilidades menores de desencadear efeitos adversos devido à chance reduzida de ser colocado erradamente em seu portador. Assim, considerando a sensibilidade das técnicas não-invasivas de monitoramento da atividade adrenal na detecção de efeitos fisiológicos sutis, aconselha-se a associação desta metodologia com observações comportamentais para melhor avaliar o impacto dos radiotransmissores em aves selvagens.

Conclusões

Os dados apresentados neste trabalho sugerem que os radiotransmissores do tipo mochila (pesando aproximadamente de 5% do peso da ave) não elevam persistentemente as concentrações de glucocorticóides fecais em machos de

falcão quiri-quiri de vida livre, e que a resposta aguda observada no início do monitoramento pode estar associada aos efeitos da captura e manipulação dos indivíduos. Todavia, ao considerar o pequeno número de falcões avaliados e o amplo intervalo entre a soltura e a coleta das primeiras amostras fecais realizados nesta pesquisa, acredita-se que estudos adicionais são necessários para verificar se a metodologia empregada aqui é confiável no monitoramento de pequenas aves de rapina.

Referências Bibliográficas

ACKERMAN, J.T., J. ADAMS, J.Y., TAKEKAWA, H.R., CARTER, D.L., WHITWORTH, S.H., NEWMAN, R.T., GOLIGHTLY, AND D.L. ORTHMEYER. 2004. Effects of radiotransmitters on the reproductive performance of Cassin's auklets. **Wildlife Society Bulletin** 32: 1229-1241.

BERGUER, D. D. AND H. C. MUELLER. 1956. The bal-chatri: a trap for birds of prey. **Bird Banding** 30:18-26.

CADAHIA, L., V. URIOS, AND J.J. NEGRO. 2007. Bonelli's Eagle *Hieraetus fasciatus* juvenile dispersal: hourly and daily movements tracked by GPS. **Bird Study** 54:271-274.

CARERE, C., T.G.G. GROOTHUIS, E. MÖSTL, S. DAAN, AND J.M. KOOLHAAS. 2003. Fecal corticosteroids in a territorial bird selected for different personalities: daily rhythm and the response to social stress. **Hormones and Behavior** 43: 540-548.

CARROLL, J.P. 1990. Winter and spring survival of radio-tagged gray partridge in North Dakota. **Journal of Wildlife Management** 54: 657-662.

CHIPMAN, E.D., N.E. MCINTYRE, J.D. RAY, M.C. WALLACE, AND C.W. BOAL. 2007. Effects of radiotransmitter necklaces on behaviors of adult male western burrowing owls. **Journal of Wildlife Management** 71:1662-1668.

DZUS, E.H., AND R.G. CLARK. 1996. Effects of harness-style and abdominally implanted transmitters on survival and return rates of mallards. **Journal of Field Ornithology** 67(4): 549-557.

FISHER, S.A., G.R. BORTOLOTTI, K.J. FERNIE, J.E. SMITS, T.A. MARCHANT, K.G. DROUILLARD, AND D.M. BIRD. 2001. Courtship behavior of captive American kestrels (*Falco sparverius*) exposed to polychlorinated biphenyls. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 41, 215-220.

FOSTER, C.C., E.D. FORSMAN, E.C. MESLOW, G.S. MILLER, J.A. REID, F.F. WAGNER, A.B. CAREY, AND J.B. LINT. 1992. Survival and reproduction of radio-marked adult spotted owls. **Journal of Wildlife Management** 56: 91-95.

FRIGERIO, D., E. MÖSTL, AND K. KOTRSCHAL. 2001. Excreted metabolites of gonadal steroid hormones and corticosterone in greylag geese (*Anser anser*) from hatching to fledging. **General and Comparative Endocrinology** 124: 246-255.

GAMMONLEY, J.H., AND J.R. KELLEY JR. 1994. Effectes of back-mounted radio packages on breeding wood ducks. **Journal of Field Ornithology** 65(4): 530-533.

GERVAIS, J.A., D.H. CATLIN, N.D. CHELGREN, AND D.K. ROSENBERG. 2006. Radio transmitter mount type affects burrowing owl survival. **Journal of Wildlife Management** 70: 872-876.

GESSAMAN, J.A., AND K.A. NAGY. 1988. Transmitter loads affect the flight speed and metabolism of Homing Pigeons. **Condor** 90:662-668.

GIANOTTI, E. Composição florística e estrutura da vegetação do cerrado e de transição entre cerrado e mata ciliar da Estação Experimental de Itirapina, SP. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Campinas, 1988.

GILSON, L.N. 1998. Evaluation of neck-mounted radio transmitter for use with juvenile ospreys. **Journal of Raptor Research** 32: 247-250.

GODFREY, J.D., AND D.M. BRYANT. 2003. Effects of radio transmitters: Review of recent radio-tracking studies. Pages 83-95 *in* **Conservation applications of measuring energy expenditure of New Zealand birds: Assessing habitat quality and costs of carrying radio transmitters** (M. Williams, Comp.). Science for Conservation 214F.

HIBERT, S.M., K. SALVANTE, M. RAMENOFISKY, AND J.C. WINGFIELD. 2000. Corticosterone and nocturnal torpor in the Rufous hummingbird (*Selasphorus rufus*). **General and Comparative Endocrinology** 120: 220-234.

HIRALDO, F., J.A. DONÁZAR, J.A., AND J.J. NEGRO. 1994. Effects of tail-mounted radio-tags on adult lesser kestrels. **Journal of Field Ornithology** 65:466-471.

HOOGE, P.N. 1991. The effects of radio weight and harnesses on time budgets and movements of acorn wood-peckers. **Journal of Field Ornithology** 62: 230-238.

HUBBARD, M.W., L.C. TSAO, E.E. KIAAS, M. KAISER, AND D.H. JACKSON. 1998. Evaluation of transmitter attachment techniques on growth of wild turkey poults. **Journal of Wildlife Management** 62: 1574-1578.

JOHNSON, R.N., AND A.H. BERNER. 1980. Effects of radiotransmitters on released cock pheasants. **Journal of Wildlife Management** 44: 686-689.

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

LINTHICUM, J., R.E. JACKMAN, B.C. LATTA, J. KOSHEAR, AND M. SMITH. 2007. Annual migrations of Bald Eagles to and from California. **Journal of Raptor Research** 41:106-112.

MANTOVANI, W. Análise florística e fitossociológica do estrato herbáceo sub-arbustivo do cerrado na reserva biológica de Guaçu e Itirapina. **Tese de doutorado**. Universidade Estadual de Campinas, 1987.

MARKS, J.S., AND V.S. MARKS. 1987. Influence of radio collars on survival of sharp-tailed grouse. **Journal of Wildlife Management** 51: 468-471.

MARZLUFF, J. M., B.A. KIMSEY, L.S. SCHUECK, M.E. MCFADZEN, M.S. VEKASY, AND J.C. BEDNARZ. 1997. The influence of habitat, prey abundance, sex, and breeding success on the ranging behavior of Prairie Falcons. **Condor** 99:567-584.

MASSEY B.K., K. KEANE, AND C. BOARDMAN. 1988. Adverse effects of radio transmitters on the behavior of nesting Least Terns. **Condor** 90: 945-947.

MCCRARY, M.D. 1981. Effects of radio-tagging on the behavior of red-shouldered hawks. **North American Bird Bander** 6(4): 138-141.

MCINTYRE, C.L., M.W. COLLOPY, AND M.S. LINDBERG. 2006. Survival probability and mortality of migratory juvenile golden eagles from interior Alaska. **Journal of Wildlife Management** 70:717-722.

MEYBURG, B.U., P. PAILLAT, AND C. MEYBURG. 2003. Migration routes of Steppe Eagles between Asia and Africa: A study by means of satellite telemetry. **Condor** 105:219-227.

MILLSPAUGH, J.J., AND B.E. WASHBURN. 2004. Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. **General and Comparative Endocrinology** 138: 189-199.

MÖSTL, E., S. RETTENBACHER, AND R. PALME. 2005. Measurement of corticosterone metabolites in bird's droppings: An analytical approach. *Annals New York Academy of Sciences* 1046: 17-34.

PATON, P.W.C., C.J. ZABEL, D.L. NEAL, G.N. STEGER, N.G. TILGHMAN, AND B.R. NOON. 1991. Effects of radio tags on spotted owls. **Journal of Wildlife Management** 55: 617-622.

PEREZ, C.J., P.J. ZWANK, AND D.W. SMITH. 1996. Survival, movements and habitat use of aplomado falcons released in southern Texas. **Journal of Raptor Research** 30:175-182.

PUTAALA, A., J. OKSA, H. RINTAMÄKI, AND R. HISSA. 1997. Effects of hand-rearing and radiotransmitters on flight of gray partridge. **Journal of Wildlife Management** 61(4): 1345-1351.

REYNOLDS, R.T., G.C. WHITE, S.M. JOY, AND R.W. MANNAN. 2004. Effects of radiotransmitters on northern goshawks: Do tailmounts lower survival of breeding males? **Journal of Wildlife Management** 68:25-32.

ROBERT, M., B. DROLET, AND J.P.L. SAVARD. 2006. Effects of backpack radio-transmitter on female Barrow's goldeneyes. **Waterbirds** 29(1): 115-120.

SAYRE, M.W., T.S. BASKETT, AND P.B. BLENDEN. 1981. Effects of radio-tagging on breeding behavior of mourning doves. **Journal of Wildlife Management** 45: 428-434.

SCHULZ, J.H., J.J. MILLSPAUGH, B.E. WASHBURN, A.J. BERMUDEZ, J.L. TOMLINSON, T.W. MONG, AND Z. HE. 2005. Physiological effects of radiotransmitters on mourning doves. **Wildlife Society Bulletin** 33(3): 1092-1100.

SICK, H. 1997. Ordem Falconiformes. Pages 243-269 in **Ornitologia Brasileira**, 2nd. ed. (H. Sick, Ed.). Editora Nova Fronteira, Rio de Janeiro, Brazil.

SODHI, N.S., I.G. WARKENTIN, P.C. JAMES, AND L.W. OLIPHANT. 1991. Effects of radiotagging on breeding merlins. **Journal of Wildlife Management** 55: 613-616.

SORATO E., AND K. KUTRSCHAL. 2006. Hormonal and behavioural symmetries between the sexes in the Northern bald ibis. **General and Comparative Endocrinology** 146: 265-274.

SQUIRES, J.R., S.H. ANDERSON, AND R. OAKLEAF. 1993. Home Range Size and Habitat-Use Patterns of Nesting Prairie Falcons near Oil Developments in Northeastern Wyoming. **Journal of Field Ornithology** 64:1-10.

SMITH, D.G., AND R. GILBERT. 1981. Backpack radio transmitter attachment success in screech owls (*Otus asio*). **North American Bird Bander** 6(4): 142-143.

STALEY, A.M., J.M. BLANCO, A.M. DUFTY JR, D.E. WILDT, AND S.L. MONFORT. 2007. Fecal steroid monitoring for assessing gonadal and adrenal activity in the golden eagle and peregrine falcon. **Journal of Comparative Physiology B** 177: 609-622.

STEENHOF, K., K.K. BATES, M.R. FULLER, M.N. KOCHERT, J.O. MCKINLEY, AND P.M. LUKACS. 2006. Effects of radiomarking on prairie falcons: attachment failures provide insights about survival. **Wildlife Society Bulletin** 34(1):116-126.

SUEDKAMP WELLS, K.M., B.E. WASHBURN, J.J. MILLSPAUGH, M.R. RYAN, AND M.W. HUBBARD. 2003. Effects of radio-transmitters on fecal glucocorticoid levels in captive dickcissels. **Condor** 105: 805-810.

SYKES, P.W., JR., J.W. CARPENTER, S. HOLZMAN, AND P.H. GEISLER. 1990. Evaluation of three miniature radio transmitter attachment methods for small passerines. **Wildlife Society Bulletin** 18: 41-48.

TELL, L.A. 1997. Excretion and metabolic fate of radiolabeled estradiol and testosterone in the cockatiel (*Nymphicus hollandicus*). **Zoo Biology** 16: 505-518.

TEMPEL, D.J., AND R.J. GUTIÉRREZ. 2004. Factors related to fecal corticosterone levels in California spotted owls: implications for assessing chronic stress. **Conservation Biology** 18(2): 538-547.

TODD, L.R., R.G. POULIN, T.I. WELLICOME, AND R.M. BRIGHAM. 2003. Post-fledgling survival of burrowing owls in Saskatchewan. **Journal of Wildlife Management** 67: 512-519.

TOUMA C., AND R. PALME. 2005. Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation. **Annals New York Academy of Sciences** 1046: 54-74.

VEKASY, M.S., J.M. MARZLUFF, M.N. KOCHERT, R.N. LEHMAN, AND K. STEENHOF. 1996. Influence of radio transmitters on Prairie Falcons. **Journal of Field Ornithology** 67:680-690.

WALKER, B.G., J.C. WINGFIELD, AND P.D. BOERSMA. 2005. Age and food deprivation affects expression of the glucocorticosteroid stress response in Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) chicks. **Physiology and Biochemistry Zoology** 78(1): 78-89.

WARNER, R.E., AND S.L. ETTER. 1983. Reproduction and survival of radio-marked hen ring-necked pheasants in Illinois. **Journal of Wildlife Management** 47: 369-375.

WASSER, S.K., K. BEVIS, G. KING, AND E. HANSON. 1997. Noninvasive physiological measures of disturbance in the northern spotted owl. **Conservation Biology** 11(4): 1019-1022.

WASSER, S.K., K.E. HUNT, J.L. BROWN, K. COOPER, C.M. CROCKETT, U. BECHERT, J.J. MILLSPAUGH, S. LARSON, AND S.L. MONFORT. 2000. A generalized fecal glucocorticoid assay for use in a diverse array of non-domestic mammalian and avian species. **General and Comparative Endocrinology** 120: 260-275.

WASSER, S.K., AND K.E. HUNT. 2005. Noninvasive measures of reproductive function and disturbance in Barred owl, Great horned owl, and Northern spotted owl. **Annals New York Academy of Sciences** 1046: 1-29.

WHIDDEN, S.E., C.T. WILLIAMS, A.R. BRETON, AND C.L. BUCK. 2007. Effects of transmitters on the success of Tufted puffins. **Journal of Field Ornithology** 78(2): 206-212.

CAPÍTULO 3 – VARIAÇÕES SAZONAIS DOS NÍVEIS DE ANDRÓGENOS E GLUCOCORTICÓIDES FECAIS EM MACHOS DE FALCÃO QUIRI-QUIRI DE VIDA LIVRE E SUA RELAÇÃO COM COMPORTAMENTOS REPRODUTIVOS E FATORES AMBIENTAIS.

Variações sazonais dos níveis de andrógenos e glucocorticóides fecais em machos de falcão quiri-quiri de vida livre e sua relação com comportamentos reprodutivos e fatores ambientais.

RESUMO – Neste estudo, ensaios imunoenzimáticos foram validados para a quantificação de metabólitos de testosterona e corticosterona nas fezes de falcões quiri-quiri, com o intuito de investigar mudanças sazonais na atividade esteroidogênica testicular e adrenal, e estabelecer possíveis correlações com comportamentos reprodutivos e fatores ambientais. Para tanto, amostras fecais e dados comportamentais foram coletados quinzenalmente por um período de 11 meses de seis machos de falcões quiri-quiri de vida livre oriundos do sudeste do Brasil (latitude 20°S). As médias da concentração de glucocorticóides fecais nos meses de maio ($358,65 \pm 64,48$ ng/g) e junho ($379,00 \pm 107,80$ ng/g) foram maiores que a média estimada no mês de novembro ($134,13 \pm 48,03$ ng/g) ($P < 0,05$). A média de andrógenos fecais no mês de setembro ($5646,67 \pm 2650,05$ ng/g) foi mais elevada que as médias dos meses de janeiro a abril, outubro e novembro (variação média entre $394,22$ – $836,61$ ng/g) ($P < 0,05$). A muda das penas ocorreu de janeiro a março, ao passo que cópulas foram observadas de junho a outubro (com um pico em setembro). A atividade de ninho e o oferecimento de comida do macho para a fêmea ocorreram predominantemente em outubro, enquanto que os cuidados com a prole foram apenas registrados em novembro. Comportamentos de defesa de território foram poucos, mas ocorreram ao longo do ano. Correlações positivas foram observadas entre: níveis fecais de andrógenos e glucocorticóides ($P < 0,01$, $r = 0,49$), níveis fecais de andrógenos e número de cópulas ($P < 0,01$, $r = 0,34$), fornecimento comida para fêmeas e

número de cópulas ($P < 0,01$, $r = 0,53$), fornecimento comida para fêmeas e defesa de território contra diferentes espécies de rapinantes ($P < 0,05$, $r = 0,29$), fornecimento comida para fêmeas e atividades de ninho ($P < 0,01$, $r = 0,49$), número de cópulas e tempo do macho junto à fêmea ($P < 0,01$, $r = 0,36$), número de cópulas e atividade de ninho ($P < 0,01$, $r = 0,44$), e tempo do macho junto à fêmea e atividade de ninho ($P < 0,05$, $r = 0,29$). Por outro lado, correlações negativas foram encontradas entre a muda de penas e andrógenos fecais ($P < 0,01$, $r = -0,37$), e entre muda de penas e o número de cópulas ($P < 0,01$, $r = -0,30$). Estes achados indicam que machos de falcão quiri-quiri exibem mudanças sazonais nas concentrações fecais de andrógenos e glucocorticóides, que possivelmente modulam a incidência de comportamentos sexuais e parentais, e confirmam a aplicabilidade dos métodos não invasivos na avaliação endócrina de falcões quiri-quiri de vida livre.

Palavras-chave: Aves de rapina, ciclos reprodutivos, andrógenos, falcão quiri-quiri, *Falco sparverius*, glucocorticóides, fezes.

CHAPTER 3 – SEASONAL CHANGES IN FECAL ANDROGEN AND GLUCOCORTICOID LEVELS IN FREE-RANGING MALE AMERICAN KESTREL AND THEIR RELATIONSHIP TO THE REPRODUCTIVE BEHAVIOR AND ENVIRONMENTAL FACTORS.

Seasonal Changes in Fecal Androgen and Glucocorticoid Levels in Free-ranging Male American kestrel and their Relationship to the Reproductive Behavior and Environmental Factors.

ABSTRACT – In this study, enzymeimmunoassays were validated to quantify testosterone and corticosterone metabolites in American kestrel feces, in order to investigate the seasonal changes in testicular and adrenal steroidogenic activity and their correlation to reproductive behaviors and environmental factors. Fecal samples and behavioral data were collected at a fortnightly basis during an 11 months period from free-ranging male American kestrels living in southeast Brazil (20°S latitude). The results revealed that monthly mean of fecal glucocorticoid concentrations in May (358.65 ± 64.48 ng/g) and June (379.00 ± 107.80 ng/g) were higher than those estimated in November (134.13 ± 48.03 ng/ g) ($P < 0.05$). In parallel, monthly mean of androgen concentrations in September (5646.67 ± 2650.05 ng/ g) was higher than those from January to April and those from October to November (mean range 394.22–836.61 ng/ g) ($P < 0,05$). Molt took place from January to March, whereas copulation was observed from June to October but peaked in September. Nest activity and food transfer from male to female occurred predominantly in October, and parental behavior in males was noticed only in November. Territory defense occurred throughout the year. Positive correlations were observed between: fecal androgens and glucocorticoids ($P < 0.01$, $r = 0.49$), fecal androgens and number of copulations ($P < 0.01$, $r = 0.34$), food transfer to females and number of copulations ($P < 0.01$, $r = 0.53$), food transfer to females and territorial aggression against different raptors ($P < 0.05$, $r =$

0.29), food transfer to females and nest activity ($P < 0.01$, $r = 0.49$), number of copulation and male-female time ($P < 0.01$, $r = 0.36$), number of copulation and nest activity ($P < 0.01$, $r = 0.44$), and male-female time and nest activity ($P < 0.05$, $r = 0.29$). In contrast, negative correlations were found between fecal molt and fecal androgens ($P < 0.01$, $r = -0.37$), and between molt and number of copulations ($P < 0.01$, $r = -0.30$). These findings indicate that male American kestrels exhibit seasonal changes in fecal androgen and glucocorticoid concentrations, which modulate the incidence of sexual and parental behavior, and confirm that fecal steroids analysis is a practical and reliable non-invasive method for the evaluation of the endocrine status of free-ranging American kestrels.

Keywords: American kestrel, androgens, birds of prey, *Falco sparverius*, feces, glucocorticoids, reproductive activity.

Introdução

De modo geral, a organização temporal da reprodução em vertebrados, assim como o controle das mudanças comportamentais e fisiológicas associadas a este evento, tem sido evolutivamente moldada pela sazonalidade do ambiente ao qual cada indivíduo está inserido. Neste sentido, duas características são consideradas críticas na sazonalidade de um ambiente: a amplitude das variações estacionais e a precisão nas quais estas flutuações ocorrem a cada ano (HAU, 2001). Aves de clima temperado vivem em ambientes onde os recursos necessários para a criação de filhotes variam de maneira previsível ao longo dos anos, ao mesmo tempo em que estão altamente relacionados às alterações sazonais no comprimento do dia (SHARP, 1996). Consequentemente, grande parte destas espécies baseia-se no fotoperíodo para regular o momento da reprodução além de outros processos fisiológicos (p.e. migração, troca das penas, etc) (SHARP, 1996; HAU, 2001; DEVICHE & SMALL, 2005). Tal mecanismo de controle faz com que as estações reprodutivas em aves de altas latitudes sejam curtas, variem pouco entre espécies e indivíduos, e coincidam com a época do ano onde temperatura e disponibilidade de comida permitam a sua procriação (WINGFIELD et al., 1992).

Todavia, ao comparar condições climáticas de altas e baixas latitudes é possível perceber uma redução gradual tanto na amplitude das flutuações sazonais quanto em sua previsibilidade ano após ano (HAU, 2001). Sendo assim, seria de se esperar que aves de regiões tropicais se reproduzissem em qualquer época do ano, uma vez que os trópicos são geralmente vistos como locais de clima favorável onde a alimentação encontra-se disponível o ano inteiro (STUTCHBURY & MORTON, 2001). No entanto, apesar da reprodução ao longo do ano já ter sido reportada em algumas espécies (TALLMAN & TALLMAN, 1997), a maioria das aves tropicais surpreendentemente apresenta uma forte sazonalidade reprodutiva (STUTCHBURY & MORTON, 2001). As principais diferenças da época reprodutiva de aves tropicais em relação àquelas observadas

em clima temperado são: a maior extensão das estações reprodutivas e a maior variabilidade entre espécies (e em alguns casos entre indivíduos) na época do ano em que a reprodução acontece (STUTCHBURY & MORTON, 2001). Estas peculiaridades levaram muitos pesquisadores no passado a crer que o fotoperíodo era inexpressivo na regulação reprodutiva de aves tropicais, em decorrência da baixa variação do comprimento do dia em áreas próximas ao Equador (HALSE & JAENSCH, 1989; STUTCHBURY & MORTON, 2001).

Contudo, estudos recentes demonstraram que alguns pássaros neotropicais podem distinguir variações no fotoperíodo menores que uma hora em seu habitat natural (HAU et al., 1998; GWINNER & SCHEUERLEIN, 1999). Estas descobertas confirmaram a teoria de que mesmo em aves tropicais o recrudescência gonadal está primariamente sob o controle do fotoperíodo, e que outros fatores ambientais como pluviosidade, temperatura e disponibilidade de comida são utilizados como mecanismos suplementares para o ajuste preciso da época reprodutiva (WIKELSKI et al., 2000; HAU, 2001; MOORE, 2005; DAWSON & SHARP, 2007). Segundo WINGFIELD et al. (1992), estes estímulos ambientais suplementares só podem influenciar o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal se o mesmo for previamente ativado pelo fotoperíodo. Porém, existem evidências de que o grau no qual estes mecanismos suplementares são integrados ao controle reprodutivo tende a aumentar em baixas latitudes e em ambientes com elevada variação da sazonalidade (HAU, 2001; MOORE, 2005). Estas discrepâncias nos mecanismos reguladores dos ciclos reprodutivos induzem diferenças nos perfis morfológicos, fisiológicos e comportamentais entre espécies tropicais e temperadas (p.e. mudanças na coloração de penas, manifestação da territorialidade, comportamentos de cortejo e canto, etc.) (HAU, 2001).

Grande parte das aves que se reproduzem em altas latitudes é migratória e sua presença em áreas de nidificação é normalmente limitada a poucos meses da primavera e verão (STUTCHBURY & MORTON, 2001; RÓDL et al., 2004). Tais circunstâncias geram uma alta sincronia reprodutiva com uma elevada competição por parceiros, ninhos e territórios no início da primavera, fato que está diretamente

relacionado com aumentos extremos nos níveis plasmáticos de testosterona (WINGFIELD et al. 1990). Em contraste, a baixa amplitude e previsibilidade das mudanças climáticas nos trópicos fazem com que as aves destas regiões sejam sedentárias, tenham formação de pares mais estáveis, e apresentem territorialidade o ano inteiro (STUTCHBURY & MORTON, 2001; HAU et al., 2000; RÖDL et al., 2004). Adicionalmente, espécies tropicais exibem níveis mais baixos de testosterona que aves de clima temperado, além de mostrar amplitudes menores na secreção deste esteróide durante seus ciclos anuais (LEVIN & WINGFIELD, 1992; HUNT et al., 1995; GWINNER & SCHEUERLEIN, 1999; HAU et al., 2000; HAU, 2001; WILKESKI et al., 2000; WILKESKI et al., 2003).

Alguns autores têm tentado explicar evolutivamente as razões pelas quais aves de clima tropical, especialmente machos, apresentam menores níveis e flutuações de testosterona ao longo do ano. Uma hipótese é que a imunossupressão gerada pela alta secreção de testosterona seria prejudicial para espécies que vivem em ambientes com grande potencial de exposição à parasitas, como no caso dos trópicos (SAINO et al., 1995; MOLLER, 1998; PETERS, 2000). Outra corrente de pensamento acredita que as baixas concentrações de testosterona estejam associadas ao menor número de fertilizações extra-par registradas em aves tropicais (STUTCHBURY & MORTON, 2001). Porém, independentemente da teoria proposta, poucas pesquisas tem investigado mais a fundo os possíveis fatores desencadeadores dessas diferenças na secreção de testosterona de espécies de clima tropical e temperado (MOORE et al., 2002). Por exemplo, aves tropicais podem claramente defender e manter territórios na ausência de altos níveis de testosterona, muito embora machos de algumas espécies possam elevar oportunamente a secreção deste esteróide em períodos prolongados de instabilidade social (WILKESKY et al. 1999). Apesar disso, confrontos sociais ocorrem com menor frequência em espécies tropicais, uma vez que as mesmas são sedentárias e têm seus territórios bem definidos (STUTCHBURY & MORTON, 2001). Em conjunto, estas informações evidenciam que diferenças no habitat, nos sistemas de acasalamento e cuidados com a prole,

assim como na organização social (p.e. disputas territoriais e suas possíveis implicações sobre a atividade adrenocortical) podem induzir diferenças nos sistemas fisiológicos de controle da reprodução.

Entretanto, um dos maiores obstáculos no estudo comparativo do controle reprodutivo de aves tropicais e temperadas é a possibilidade de distorções filogenéticas decorrentes da comparação de dados de indivíduos diferentes grupos taxonômicos (MOORE et al., 2002; RÖDL et al., 2004). Este problema pode ser solucionado ao se estudar espécies próximas que vivam em latitudes diferentes, ou até mesmo espécies que possuam uma ampla distribuição latitudinal (MOORE et al., 2002; RÖDL et al., 2004). Deste modo, o objetivo deste estudo foi caracterizar e correlacionar às variações anuais dos níveis fecais de andrógenos e glucocorticóides de machos de falcão quiri-quiri (*Falco sparverius*) de vida livre (latitude 22°S) com aspectos comportamentais e condições climáticas. O falcão quiri-quiri é uma das menores aves de rapina do mundo (~100 gramas), alimentando-se predominantemente de insetos (acima de 60%), e foi considerada ideal para esta investigação por inúmeras razões: (1) tem ampla distribuição no continente americano (entre latitudes 68°N e 57°S); (2) se reproduz tanto na América do Norte quanto nas Américas Central e Sul; (3) é abundante dentro de sua área de ocorrência; (4) tem o temperamento dócil e diferença sexual na plumagem (características que facilitam na captura, monitoramento e colheita de fezes); e (5) possui uma considerável base de dados endócrina e reprodutiva em regiões de clima temperado (DEL HOYO et al., 1994; SICK, 1997; FERGUSON-LEES & CHRISTIE, 2001; FISHER et al., 2001). Além disso, este falconídeo mostrou-se interessante por ser considerado espécie-modelo no estudo de aves de rapina e por apresentar uma ampla variação na época de nascimentos em regiões tropicais (p.e. de janeiro a agosto na América Central, de dezembro a maio ao norte da América do Sul, e de outubro a março ao sul da América do Sul), com a ocorrência de duas ninhadas no mesmo ano em regiões mais quentes (p.e. norte do Chile, primeira ninhada aparecendo em outubro, e segunda em

dezembro/janeiro) (DEL HOYO et al., 1994; FERGUNSON-LEES & CHRISTIE, 2001).

Material e Métodos

Área de Estudo

O monitoramento dos falcões de vida livre foi realizado na região de Itirapina – Brotas, numa porção central do Estado de São Paulo, totalizando 101.780 hectares. A Estação Ecológica de Itirapina (EEI) possui um dos últimos remanescentes de campos e campos cerrados do Estado de São Paulo (MANTOVANI, 1987; GIANOTTI, 1988). A porção de vegetação natural da região inclui: campo limpo, campo sujo, campo cerrado e cerrado *sensu stricto*, além de banhados e matas de galeria ao longo dos cursos de água (MANTOVANI, 1987; GIANOTTI, 1988). No entorno da reserva, os diversos tipos de ocupação e uso do solo (destinados principalmente à pecuária e a implantação de diferentes culturas) destruíram grande parte da vegetação nativa. Desta maneira, a paisagem atualmente se apresenta em forma de mosaico, intercalando porções maiores de áreas alteradas com remanescentes naturais de pequeno e médio porte, como por exemplo, os fragmentos de cerrado *sensu stricto* da Fazenda São José e do Horto da International Paper do Brasil. Além disso, áreas de propriedade do Estado, como o “aeroporto da Universidade de São Paulo” e a Estação Experimental (ambas vizinhas à estação) também compõem a paisagem na região. O clima da região é do tipo Cwa segundo a classificação de Koeppen, mesotérmico de inverno seco. A precipitação média anual é de 1.376 mm, com estação seca entre abril e setembro (32 – 55 mm mensais) e uma estação chuvosa entre outubro e março (117 – 257 mm mensais) (DAEE Posto D4 –014). As temperaturas médias mensais oscilam entre 16,2 e 20,1°C na estação seca, e 19,5° e 22,3°Celsius na estação chuvosa (GIANOTTI, 1988).

Animais

De 4 a 14 de Janeiro de 2007, 6 machos de falcão quiri-quiri foram capturados entre 8:00 e 18:00 horas com de armadilhas do tipo bal-chatri (BERGUER & MUELLER, 1959) abastecidas com gerbils jovens (*Meriones unguiculatus*) (licença n. 1236/2 CEMAVE/ICMBIO). Imediatamente após a captura, os falcões foram colocados individualmente em caixas de papelão (30 x 30 x 30 cm) e transportados até a base da EEI. Com o objetivo de evitar a manipulação excessiva durante as horas mais quentes do dia, todos os animais foram medidos, pesados e equipados à noite e mantidos dentro das caixas de papelão até sua soltura na manhã seguinte (informações detalhadas sobre cada indivíduo encontram-se expostas na Tabela 1). Radiotransmissores (modelo G3-1V mochila, AVM Instruments Company Ltd., Colfax, CA, USA) foram fixados em 6 falcões pelo método descrito por SMITH & GILBERT (1981) utilizando-se fitas de algodão/náilon com 4 mm de largura (conjunto pesando aproximadamente 5% do peso de cada indivíduo). Cada radiotransmissor foi fabricado para durar aproximadamente nove meses, enquanto que as tiras de algodão/náilon tinham vida teórica de 10 a 12 meses. Todas as aves foram anilhadas na pata esquerda com anilhas do CEMAVE/ICMBIO de tamanho-L, ao passo que os machos 8 e 9 (que não receberam radiotransmissores) foram também marcados na pata direita com anilhas de alumínio coloridas. Os procedimentos acima mencionados levaram aproximadamente 1 hora por macho.

Tabela 1. Dados dos machos de falcão qui-qui-qui (*Falco sparverius*) capturados na EEI e áreas circunvizinhas de 4 a 14 de janeiro de 2007.

Macho	Idade	Peso (g)	Peso radiotransmissor (g) ^a	Hora da captura	Descrição da área de captura
2	Adulto	92,5	4,5 (4,8 %)	1740	Campo sujo
3	Adulto	103,0	5,0 (4,8 %)	1645	Pasto
4	Adulto	98,5	5,0 (5,0 %)	0945	Pasto
5	Adulto	101,5	5,0 (4,9 %)	1115	Pasto/ campos de cana de açúcar
8 ^b	Adulto	100,5	—	1630	Pasto
9 ^b	Adulto	88,5	—	1000	Pasto

^a Peso dos radiotransmissores mais as fitas de algodão/náilon.^b Machos anilhados na pata esquerda com anilhas CEMAVE/ICMBIO e na pata direita com anilhas de alumínio azul

Delineamento Experimental e Colheita de Amostras Fecais

De Janeiro a Novembro de 2007, todos os machos foram acompanhados quinzenalmente para observação dos comportamentos e colheita de amostras fecais. Na tentativa de controlar os possíveis efeitos do ritmo circadiano sobre a excreção de andrógenos e glucocorticóides fecais, o horário de coleta para todas as aves foi padronizado. Assim, os animais capturados pela manhã (machos 4, 5, 7 e 9) foram sempre coletados das 8:00 as 12:00, ao passo que os animais capturados a tarde (machos 2, 3, 6 e 8) foram sempre coletados das 14:00 as 18:00.

Após a localização inicial, cada falcão foi monitorado a uma distância média de 100 metros (50–250 metros) com o auxílio de binóculos e lunetas (Bushmaster – BCI International Development Pty. Ltd., Melbourne, Austrália) até o momento da defecação. Sempre que os animais empoleiravam em árvores ou postes com grande quantidade de obstáculos para a queda das excretas no chão, o pesquisador se aproximava lentamente forçando-os a empoleirar em pontos mais propícios à coleta de fezes. O pesquisador tentava coletar o máximo de amostras fecais durante o período estipulado com o intuito de suplantar os problemas associados ao pequeno volume de fezes por defecação (p.e. dificuldades nas fases de pesagem de amostras e extração dos esteróides fecais). Além disso, para evitar a colheita de amostras oriundas de outras aves, o pesquisador coletou fezes apenas quando foi possível observar o indivíduo defecando e quando as porções urinárias (parte branca da excreta) ainda se apresentavam úmidas (denotando as fezes haviam sido recentemente defecadas). Após cada defecação, a porção fecal das excretas era removida da porção urinária, e acondicionada em microtubos plásticos (1,5 mL). Cada amostra fecal foi coletada após aproximadamente 10 min. da defecação, e guardadas em gelo até sua armazenagem em freezer (-20°C) (que foi efetuada dentro de 4 horas da coleta). Todas as amostras fecais foram mantidas em freezer até que a extração dos esteróides fosse realizada.

Dados Comportamentais

Durante as 4 horas de acompanhamento quinzenal para colheita das fezes foram realizadas observações do tipo focal contínua (totalizando 8 horas de observação/ macho/ mês). Anotações referentes ao número de comportamentos desempenhados por cada macho durante este período de acompanhamento foram efetuadas para os seguintes comportamentos: defesa de território contra indivíduos da mesma espécie (i.e. investidas em vôo acompanhadas por vocalizações contra indivíduos da mesma espécie que entraram na área de vida do casal), defesa de território contra outros rapinantes (i.e. investidas em vôo acompanhadas por vocalizações contra outras espécies de aves de rapina que entraram na área de vida do casal), fornecimento de comida para fêmea, atividade de ninho (i.e. carregar gravetos, entrar, permanecer e/ou vocalizar dentro de ocos de árvores), cortejo aéreo (acrobacias aéreas entre macho e fêmea), cópula e fornecimento de comida para os filhotes. Adicionalmente, o observador estimava (em porcentagem) quanto tempo do acompanhamento o macho permaneceu sozinho ou junto à fêmea. Neste caso, foi considerado junto à fêmea quando o macho se encontrava empoleirado na mesma árvore, sobre o mesmo galho ou em galhos próximos (menos de dois metros um do outro). Dados referentes ao período em que os machos realizaram a muda das penas também foram registrados. Todos os dados comportamentais foram coletados pelo mesmo observador.

Extração Fecal e Ensaio Imunoenzimático

O protocolo de extração dos esteróides fecais foi realizado conforme metodologia descrita por TEMPEL & GUTIÉRREZ (2004). As fezes foram liofilizadas (Novalyphe–NL2000, Savant Instruments Inc., New York, USA) por aproximadamente 24 horas, e posteriormente trituradas. Concluídas as etapas de

linfofilização e trituração, 0,05 gramas de fezes foram colocadas em tubos de ensaio de vidro contendo 1,0 mL de metanol 80%, e foram agitadas em vortex por 30 segundos e posteriormente em agitador horizontal por 12 horas (Mod. AP22, Phoenix Ltda, Araraquara, Brasil). Amostras fecais extremamente pequenas (< 0,05 gramas) foram colocadas em tubos de ensaio contendo uma quantidade proporcional de metanol 80%, e também foram agitadas em vortex por 30 segundos e posteriormente em agitador de Kline por 12 horas. Após agitação as amostras foram centrifugadas a 2500 rpm por 20 minutos e os sobrenadantes foram transferidos para tubos limpos e estocados à -20°C . Todas as dosagens hormonais foram executadas após uma semana da extração.

As concentrações de andrógenos foram mensuradas em duplicata (alíquotas de 50 μl do extrato fecal diluído em tampão EIA na proporção de 1:8), utilizando o protocolo para ensaios imunoenzimáticos descrito por BROWN et al. (2004). O anticorpo monoclonal criado contra testosterona (fornecido pela Dra. C. Munro, University of California, Davis, CA) possui uma reatividade cruzada de: 100% para testosterona; 57,3% para 5α -dihydrotestosterona; 0,2% para androstenediona; 0,4% para androsterona; e <0,04% para todos os outros metabólitos testados. Este ensaio foi previamente validado para extratos fecais de machos de falcão quiri-quiri pela demonstração de: paralelismo entre diluições seriadas dos extratos (1:2 a 1:128) e a curva padrão (0,09–12 ng/ mL), curva de dose-resposta ($y = 0,83x + 41,14$, $r^2 = 0,95$), sensibilidade (0,04 ng/ mL), e precisão (coeficientes de variação inter- e intra-ensaio <15% e <8%, respectivamente). Paralelamente, a validação fisiológica por meio da administração intramuscular de LH (5000 ng/ kg, LH L0637, Sigma, St. Louis, MO, USA) (MOORE et al., 2005) em três machos cativos de falcão quiri-quiri, demonstrou que este ensaio imunoenzimático foi capaz de mensurar um aumento de dez vezes ($1820,72 \pm 274,52$ ng/ g) nos níveis pré-aplicação de andrógenos fecais ($146,09 \pm 51,81$ ng/ g), que ocorreu quatro horas após da aplicação.

Para a dosagem de glucocorticóides fecais, alíquotas dos extratos (50 µl) foram secas e re-suspendidas em 250 µl de solução de trabalho do conjugado, para que as mesmas fossem analisadas em duplicada usando os procedimentos para ensaio imunoenzimático descritos por Granado (comunicação pessoal). O anticorpo monoclonal criado contra corticosterona (fornecido pelo Dr. Juan Carlos Illera del Portal da Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Espanha) possui uma reatividade cruzada de: 100% para corticosterona; 10,01% para prednisolona; 7,01% para prednisona; 4,84% para Composto S; 0,89% para cortisol; 0,50% para cortisona; 0,4% para desoxicorticosterona; 0,20% para 21-deoxycortisona; <0,01% para 11-desoxicortisol; <0,01% para 17-beta-estradiol; <0,01% para progesterona; <0,01% para testosterona; <0,01% para DHEA; e <0,01% para dexametasona. Este ensaio foi previamente validado para extratos fecais de machos de falcão quiri-quiri pela demonstração de: paralelismo entre diluições seriadas dos extratos (1:2 a 1:256) e a curva padrão (0,02–200 ng/ mL), curva de dose-resposta ($y = 0,97x + 0,97$, $r^2 = 0,99$), sensibilidade (0,002 ng/ mL), e precisão (coeficientes de variação inter- e intra-ensaio <11% e <6%, respectivamente). Além disso, a validação fisiológica por meio da administração intramuscular de ACTH (100 UI/ kg, ACTH A6303, Sigma, St. Louis, MO, USA) (WALKER et al., 2005) em dois machos cativos de falcão quiri-quiri, demonstrou que este ensaio imunoenzimático foi capaz de mensurar um aumento de quatro vezes ($446,10 \pm 60,73$ ng/ g) nos níveis pré-aplicação de glucocorticóides fecais ($114,27 \pm 15,23$ ng/ g), que ocorreu quatro horas após da aplicação. Todas as concentrações hormonais são apresentadas em relação ao peso seco fecal.

Análise Estatística

As concentrações mensais de andrógenos e glucocorticóides fecais são apresentadas como médias $\pm$ erro padrão. Diferenças de $P < 0,05$ foram consideradas significativas para todos os testes estatísticos, os quais foram

realizados pelo SAS System for Windows 9.00 (SAS Institute Incorporation, Cary, NC, USA). Logaritmos das concentrações de andrógenos e glucocorticóides fecais foram empregados em todas as análises. Comparações entre os níveis médios de andrógenos e glucocorticóides fecais de machos, estações e meses foram calculadas utilizando a análise GLM (General Linear Model) seguida pelo teste de Tukey. Adicionalmente, foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson entre os níveis fecais de andrógenos e glucocorticóides, além dos coeficientes de correlação de Pearson dos níveis fecais de andrógenos e glucocorticóides em relação aos parâmetros: muda de penas, cópula, atividade de ninho, oferecimento de comida para a fêmea, oferecimento de comida para os filhotes, defesa de território contra indivíduos da mesma espécie, e defesa de território contra diferentes espécies de rapinantes.

Resultados

Os dados referentes à precipitação mensal média e fotoperíodo na região da EEI encontram-se resumidos na Figura 1A. A variação máxima do fotoperíodo foi de apenas 2,38 horas de luz/ dia, ao passo que a precipitação mensal média variou de 0,00 a 364,90 mm³ (meses de agosto e janeiro, respectivamente). Paralelamente, as temperaturas médias mensais tiveram uma variação máxima de 8,5°C (mínima de 17,95°C em julho e máxima de 26,45°C em fevereiro).

A média de andrógenos fecais no inverno ($3054,30 \pm 961,10$ ng/ g) foi mais elevada que a média observada no verão ($540,08 \pm 185,60$ ng/ g) e outono ($943,31 \pm 257,10$ ng/ g) ($P < 0,05$). Os níveis de andrógenos fecais permaneceram baixos da metade do verão a metade do outono (janeiro – abril; médias variando de 226,55 a 233,02 ng/ g), e aumentaram gradualmente com a chegada do inverno (meses de maio e junho com 1843,08 e 3887,00 ng/ g, respectivamente) (Figura 1B). Ao longo do inverno (junho e agosto), as concentrações médias mantiveram-se entre 2991,00 e 3611,78 ng/ g. Um pico nos níveis médios de

andrógenos fecais foi observado no início da primavera ($5646,90 \pm 2650,23$ ng/ g) ($P < 0,05$), seguido por uma queda abrupta nos meses de outubro e novembro ($836,60$ e $394,20$ ng/ g, respectivamente).

Os níveis médios de glucocorticóides fecais no inverno ($338,28 \pm 32,33$ ng/ g) e outono ($296,79 \pm 33,63$ ng/ g) foram diferentes daqueles registrados na primavera ($172,44 \pm 32,21$ ng/ g) ($P < 0,05$). Pequenas flutuações nas concentrações de glucocorticóides fecais foram detectadas ao longo do ano (Figura 1B). Os valores médios destes esteróides permaneceram relativamente constantes da metade do verão a metade do outono (janeiro – abril, com médias variando de $226,50$ a $287,35$ ng/ g) e elevaram-se na transição do outono para o inverno (meses de maio e junho com $358,60$ e $379,75$ ng/ g, respectivamente). Posteriormente, verificou-se uma redução gradativa dos níveis médios de glucocorticóides entre junho e novembro. Diferenças significativas nas concentrações de glucocorticóides fecais foram apenas observadas entre a média do mês de novembro ($134,10 \pm 46,03$ ng/ g) e os meses de maio e junho ($P < 0,05$).

O comportamento de cópula foi observado entre os meses de junho e outubro, enquanto que a média mais alta deste parâmetro foi registrada durante mês de setembro ($3,20 \pm 0,58$ cópulas/ 8 horas de monitoramento) ($P < 0,05$) (Figura 1C). Ao mesmo tempo, picos na atividade de ninho ($1,83 \pm 0,90$ atividades/ 8 horas de monitoramento) e no fornecimento de comida para as fêmeas ($4,20 \pm 1,02$ fornecimentos/ 8 horas de monitoramento) foram documentados em outubro ($P < 0,05$) (Figuras 1C e 1D). No mês de novembro, os machos que obtiveram ninhadas (três dos seis indivíduos) realizaram os cuidados paternos oferecendo comida para os filhotes (média de $3,33$ fornecimentos/ 8 horas de monitoramento) (Figura 1D). Dois machos obtiveram dois filhotes em suas ninhadas, enquanto um macho teve três filhotes. Estima-se que a postura dos ovos e o nascimento dos filhotes tenham ocorrido no início e fim de outubro, respectivamente.

Em média, os machos de falcão quiri-quiri permaneceram mais tempo junto à fêmea no mês de abril ($43,33 \pm 11,45$ %) que nos meses de janeiro ($5,00 \pm 0,00$ %), maio ($5,83 \pm 1,53$ %) e novembro ($5,00 \pm 2,23$ %) ($P < 0,05$) (Figura 1E). Os comportamentos de defesa de território tanto contra indivíduos da mesma espécie quanto contra outros rapinantes foram esporádicos e não apresentaram um padrão sazonal (Figura 1F). Similarmente, os comportamentos de cortejo aéreo foram considerados raros (junho e agosto para o macho 4 / julho e setembro para o macho 9). Todos os machos monitorados apresentaram a muda das penas entre os meses de janeiro e março (Figura 1A).

As correlações entre os comportamentos analisados e os níveis de andrógenos e glucocorticóides fecais encontram-se detalhadas na Tabela 1. Os níveis de andrógenos fecais apresentaram correlações positivas com os valores de glucocorticóides fecais ($r^2 = 0,49$, $P < 0,01$) e com o comportamento de cópula ($r^2 = 0,34$, $P < 0,01$), mas correlações negativas com a fase de muda das penas ($r^2 = -0,37$, $P < 0,01$). As concentrações de glucocorticóides fecais não demonstraram correlação com nenhum dos comportamentos analisados ($P > 0,05$). O comportamento de oferecer de comida para as fêmeas apresentou correlação positiva com as cópulas ($r^2 = 0,53$, $P < 0,01$), defesas de território contra diferentes espécies de rapinantes ($r^2 = 0,29$, $P < 0,05$) e entradas de ninho ($r^2 = 0,49$, $P < 0,01$). As cópulas também se mostraram positivamente correlacionadas com o comportamento de entrada no ninho ($r^2 = 0,44$, $P < 0,01$) e tempo dos machos com as fêmeas ($r^2 = 0,36$, $P < 0,01$), mas negativamente correlacionadas com o processo de muda das penas ($r^2 = -0,30$, $P < 0,01$). Adicionalmente, o tempo em que os machos permaneceram junto às fêmeas correlacionou-se positivamente com as atividades de ninho ($r^2 = 0,29$, $P < 0,05$).

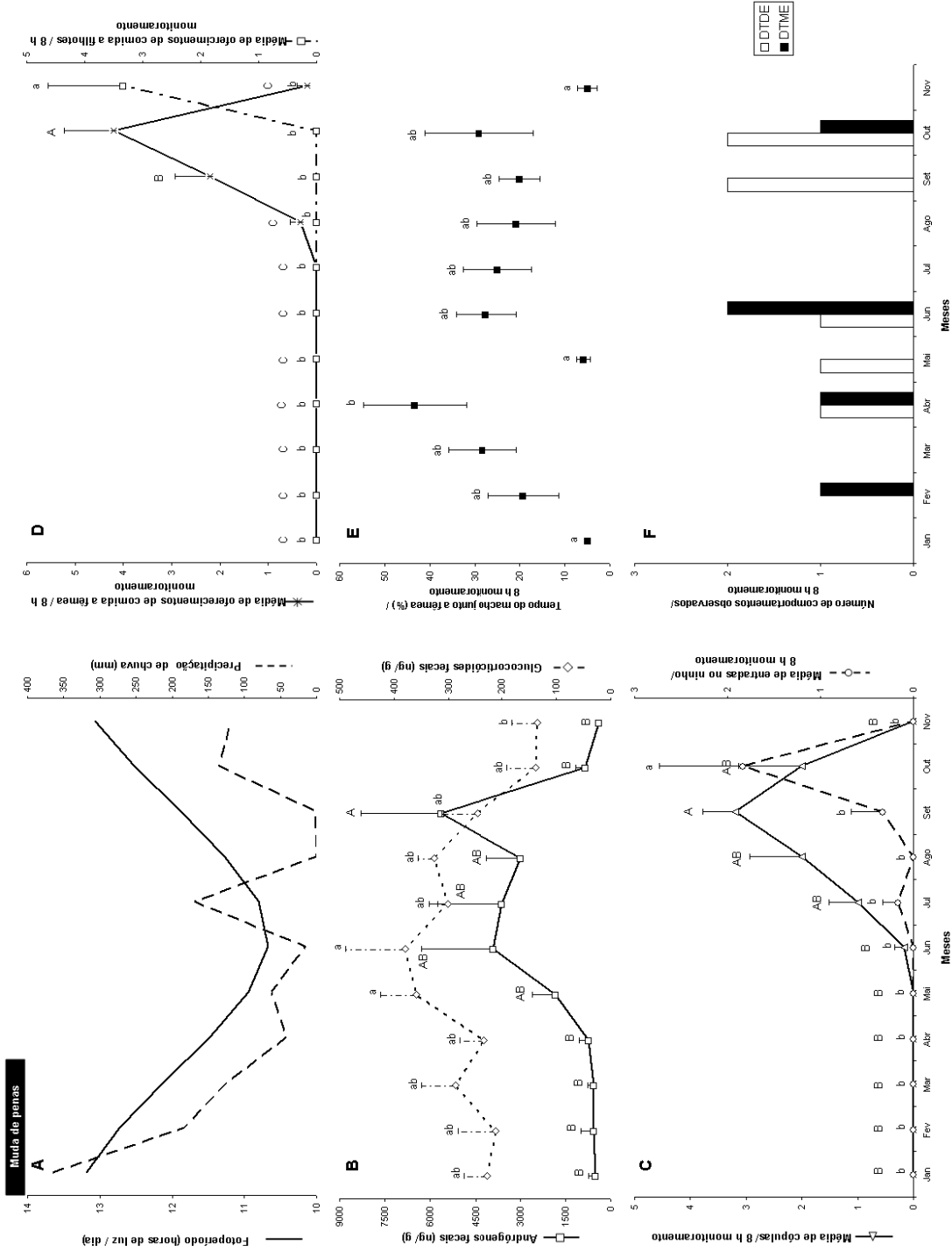


Figura 1. (A) Fotoperíodo e precipitação mensal média na EEI (barra no alto representa época de muda). (B) Médias mensais dos níveis de andrógenos e glucocorticóides fecais; (C) de cópulas e entradas no ninho; (D) de fornecimento de comida para fêmeas e filhotes; (E) de tempo do macho junto à fêmea; e (f) número mensal de defesas de territórios contra indivíduos da mesma espécie (DTME) e de espécies diferentes de rapinantes (DTDE) realizados pelos machos de falcão qui-qui-qui de vida livre de janeiro a novembro de 2007. Dados com letras diferentes representam diferenças entre os valores mensais ($P < 0,05$).

Tabela 1. Correlações entre as concentrações de andrógenos e glucocorticóides fecais (ng/ g) e os diferentes comportamentos reprodutivos analisados em machos de falcão quiiri-quiri (*Falco sparverius*) de vida livre.

VARIÁVEIS	VARIÁVEIS								
	Glucocorticóide fecais ^a	Muda	Cópula	FCFe	FCFi	DTME	DTDE	TFe	AN
Andrógenos fecais ^a	0,49**	-0,37**	0,34**	0,05 ^{NS}	-0,11 ^{NS}	-0,11 ^{NS}	0,15 ^{NS}	0,05 ^{NS}	0,09 ^{NS}
Glucocorticóides fecais ^a	—	0,00 ^{NS}	0,04 ^{NS}	-0,17 ^{NS}	-0,10 ^{NS}	-0,23 ^{NS}	-0,05 ^{NS}	0,04 ^{NS}	-0,18 ^{NS}
Muda	—	—	-0,30*	-0,23 ^{NS}	-0,13 ^{NS}	-0,05 ^{NS}	-0,24 ^{NS}	-0,11 ^{NS}	-0,15 ^{NS}
Cópula	—	—	—	0,53**	-0,10 ^{NS}	-0,10 ^{NS}	0,10 ^{NS}	0,36**	0,44**
FCFe	—	—	—	—	-0,08 ^{NS}	-0,07 ^{NS}	0,29*	0,16 ^{NS}	0,49**
FCFi	—	—	—	—	—	-0,06 ^{NS}	-0,08 ^{NS}	-0,14 ^{NS}	-0,05 ^{NS}
DTME	—	—	—	—	—	—	0,06 ^{NS}	0,14 ^{NS}	0,20 ^{NS}
DTDE	—	—	—	—	—	—	—	0,05 ^{NS}	0,13 ^{NS}
TFe	—	—	—	—	—	—	—	—	0,29*
AN	—	—	—	—	—	—	—	—	—

^a Log das concentrações.

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade / ** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

^{NS} Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

FCFe – Fornecimento de comida do macho para a fêmea.

FCFi – Fornecimento de comida do macho para os filhotes.

DTME – Defesa de território contra indivíduos da mesma espécie.

DTDE – Defesa de território contra indivíduos de espécies diferentes de rapinantes.

TFe – Tempo em que o macho permaneceu junto a fêmea.

AN – Atividades de ninho.

Discussão

O presente estudo comprovou a aplicabilidade da dosagem de esteróides fecais na avaliação do status gonadal e adrenal de falcões quiri-quiri, e é provavelmente um dos poucos a empregar esta ferramenta em monitoramentos endócrinos de longo prazo com espécimes de vida livre. Os dados apresentados indicam que a metodologia foi confiável na quantificação de metabólitos fecais imunoreativos de testosterona e corticosterona, uma vez que os resultados de desempenho dos ensaios imunoenzimáticos (p.e. paralelismo, recuperação de esteróides exógenos e precisão) estiveram dentro dos limites considerados aceitáveis em literatura (MILLSPAUGH & WASHBURN, 2004; MÖSTL et al., 2005; PALME, 2005; TOUMA & PALME, 2005). Adicionalmente, ambos os ensaios foram capazes de detectar elevações consistentes na excreção andrógenos e glucocorticóides fecais após a administração de LH e ACTH respectivamente, demonstrando a relevância fisiológica destes compostos em machos desta espécie. Após avaliar filhotes e adultos de falcão quiri-quiri mantidos em cativeiro, LOVE et al. (2003) concluíram que a repetida contenção e colheita de sangue influenciou negativamente os níveis basais e pós-estresse de corticosterona plasmática, possivelmente pela habituação dos indivíduos a manipulação. Consequentemente, estes autores sugeriram que pesquisadores devem reduzir o emprego de colheitas seriadas de sangue no estudo da função adrenal de aves, opinião que ressalta a contribuição que os métodos endócrinos não-invasivos podem fornecer na investigação de espécies domésticas e selvagens.

Por outro lado, concomitantemente as questões relativas à validação das técnicas não-invasivas, existem outros fatores que podem comprometer a veracidade dos resultados obtidos pela análise de hormônios fecais em aves. Diferentes dietas podem influenciar a produção de fezes e, por conseguinte, as concentrações dos metabólitos hormonais excretados

(GOYMANN, 2005; KLASING, 2005). Esta interferência pode gerar distorções na avaliação endócrina de aves selvagens uma vez que diversas espécies insetívoras mudam para uma alimentação a base de frutas no outono, e muitas espécies granívoras nutrem-se de insetos nas fases de criação dos filhotes e muda de penas (STUTCHBURY & MORTON, 2001). Além disso, a mensuração de metabólitos hormonais nas fezes pode também ser afetada por condições climáticas, como por exemplo, a temperatura (GOYMANN et al., 2006a). Recentemente, GOYMANN et al. (2006a) comprovou que machos de cartaxo (*Saxicola torquata*) mantidos sob baixas temperaturas (5°C) reduziram significativamente suas concentrações de andrógenos e glucocorticóides fecais quando comparados a indivíduos mantidos em temperaturas mais amenas (22°C). Tal efeito sobre os esteróides fecais acontece devido ao aumento da ingestão de comida em baixas temperaturas, fenômeno que induz um aumento na produção de fezes e consequentemente uma diluição dos metabólitos de corticosterona e testosterona nas amostras (GOYMANN et al., 2006a). Apesar disso, acredita-se ser pouco provável que fatores alimentares e/ou climáticos tenham causado efeitos significativos nas concentrações de andrógenos e glucocorticóides fecais durante este monitoramento, visto que todos os machos de falcão quiri-quiri mostraram-se predominantemente insetívoros e a temperatura apresentou discreta oscilação ao longo do ano (médias variando entre 17,9 e 26,4°C).

O fato da excreção de andrógenos fecais em falcões quiri-quiri apresentar variações estacionais e certa sincronia entre indivíduos sugere que esta espécie mesmo em condições tropicais adota uma estratégia reprodutiva sazonal. As médias mensais dos andrógenos fecais demonstram que a atividade esteroideogênica apresenta um declínio (janeiro – abril) seguido por um período de recrudescência testicular (maio – agosto) que antecede a estação de chuvas (Figura 1B). Tal perfil hormonal assegurou que o pico na secreção de andrógenos ocorresse exatamente no início da

primavera, reforçando a hipótese de que espécies tropicais também utilizam o fotoperíodo no ajuste temporal da reprodução (HAU 2001). A reativação das gônadas meses antes do período das chuvas foi previamente reportada em *Hylophylax naevioides*, um passarinho neotropical capaz de responder fisiologicamente a aumentos no fotoperíodo de apenas 17 minutos (HAU et al., 1998; WIKELSKI et al., 2000). No entanto, neste passeriforme a taxa de crescimento gonadal diferiu entre anos em virtude de mudanças na proporção de chuvas na estação seca, indicando que fatores locais de curto prazo são responsáveis pelo ajuste fino do início da época reprodutiva (WIKELSKI et al., 2000). Desta forma, é provável que falcões quiri-quiri também utilizem mecanismos suplementares de controle do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal para iniciar sua atividade reprodutiva, uma vez que somente após a segunda quinzena de setembro (momento em que reiniciaram as chuvas) tanto os andrógenos fecais quanto as cópulas tiveram uma elevação significativa em seus valores.

Porém, ao analisar as condições climáticas da área de estudo (Figura 1A) constatou-se que o pico na precipitação de chuvas observado no mês de julho (168,80 mm³) não foi capaz de induzir um aumento expressivo nos parâmetros reprodutivos. Uma explicação plausível para este fenômeno é dada por WINGFIELD et al. (1992), os quais afirmam que fatores suplementares como a precipitação de chuvas só influenciam sistemas neuro-endócrinos pré-ativados pelo fotoperíodo. Assim, especula-se que a precipitação de chuvas só possa estimular os estágios finais do desenvolvimento testicular em falcões quiri-quiri, e consequentemente o aumento no número de cópulas, em épocas de fotoperíodo crescente. Além disso, apesar da abundância de comida não ter sido sistematicamente avaliada nesta pesquisa, foi possível observar que o início das chuvas ao final de setembro desencadeou uma maior disponibilidade de certos itens alimentares, especialmente cupins (*Cornitermes spp.*) e besouros rola-bosta (*Dichotomius spp.*), fato que não foi verificado durante o mês de julho. De

acordo com HAHN et al. (2005) e DAWSON & SHARP (2007), embora os estágios iniciais do desenvolvimento gonadal sejam amplamente dependentes de fatores não-alimentares, a disponibilidade de comida pode também agir como um elemento de previsibilidade para o início da estação reprodutiva. Por exemplo, a ocorrência de fêmeas de milhafre europeu (*Falco tinnunculus*) com postura adiantada e maiores ninhadas correlacionou-se positivamente com o maior volume de caça proporcionado por seus parceiros, ao mesmo tempo em que a suplementação artificial de comida antecipou a data de postura deste rapinante (MEIJER et al., 1990). Assim, estudos futuros avaliando a inter-relação entre disponibilidade de comida e níveis de andrógenos fecais mostram-se necessários para elucidar o verdadeiro papel deste elemento no controle da atividade reprodutiva de falcões quiri-quiri.

As oscilações nas concentrações de andrógenos fecais em machos de falcão quiri-quiri foram também acompanhadas por diversas mudanças comportamentais ao longo do ano. Em geral, elevações nos níveis médios de andrógenos fecais (maio – julho) foram seguidas com um mês de atraso por aumentos no número médio de cópulas (junho – agosto), apesar dos valores máximos de ambos os parâmetros serem documentados em setembro. Tal correlação positiva entre níveis de andrógenos fecais e número de cópulas foi posteriormente confirmada pela análise estatística (Tabela 1). Outro aspecto interessante é que, independentemente do sucesso reprodutivo, todos os machos apresentaram perfis anuais semelhantes de andrógenos fecais e número de cópulas. Estes achados são compatíveis com aqueles obtidos com machos de falcões quiri-quiri de clima temperado, os quais apontaram variações similares nas concentrações plasmáticas de andrógenos em indivíduos reprodutores e não-reprodutores mantidos em cativeiro (REHDER et al., 1988). Para REHDER et al. (1988), os níveis máximos de andrógenos plasmáticos manifestados no início da estação reprodutiva tanto por espécimes reprodutores quanto por não-

reprodutores estão relacionados com a competição entre machos por parceiras e territórios, uma vez que o falcão quiri-quiri é caracterizado como uma espécie monogâmica e altamente territorialista (DEL HOYO et al., 1994; FERGUSON-LEES & CHRISTIE, 2001). Esta suposição é reforçada por diversas pesquisas envolvendo aves de clima temperado, as quais demonstraram que níveis de testosterona plasmática são especialmente altos nas fases de estabelecimento de territórios e a formação de casais (HAU et al., 2000; LEVIN & WINGFIELD, 1992; WINGFIELD et al., 1987; WINGFIELD et al., 1990).

Entretanto, ao observar os resultados referentes à defesa de territórios contra indivíduos da mesma espécie e contra outras espécies de rapinantes notou-se que, além de esporádicos, estes comportamentos não se concentraram em nenhum período deste monitoramento (Figura 1F). Estas discrepâncias na expressão da territorialidade estão possivelmente associadas as diferentes estratégias evolutivas adotadas por populações de clima tropical e temperado. Por exemplo, ao retornarem do sul no início da primavera machos de altas latitudes devem rapidamente adquirir territórios e atrair parceiras, processos que estão diretamente correlacionados com altos índices de testosterona plasmática, crescimento testicular e agressividade no início da estação reprodutiva (WINGFIELD et al., 1990). Além disso, a instabilidade territorial e a grande sincronia reprodutiva entre machos resulta em uma alta frequência de cópulas extra-par, fato que parece estimular os comportamentos de defesa de território (p.e. agressividade e canto) em espécies de clima temperado (STUTCHBURY & MORTON, 2001). Em contraste, grande parte das aves tropicais é sedentária, podendo assegurar os limites de seu território e escolher parceiros durante o ano inteiro (STUTCHBURY & MORTON, 2001). Tais adaptações fazem com que aves em baixas latitudes exibam taxas menores de invasão de territórios e cópulas extra-par, e talvez expliquem por que machos destas espécies geralmente apresentam crescimento testicular e flutuações plasmáticas de

testosterona inferiores a seus congêneres em clima temperado (WIKELSKI et al., 2000; MOORE et al., 2002; RÖDL et al., 2004).

Todavia, diferentemente da maioria das aves tropicais estudadas até o momento, os falcões quiri-quiri apresentaram um grande aumento nos níveis de andrógenos fecais durante setembro (mês de pico no número de cópulas e início das atividades de ninho). Resultados similares foram obtidos com o cartaxo equatorial (*S. t. auxiliaries*), onde o pico de testosterona plasmática ocorreu no período em que as fêmeas encontravam-se receptivas e os ovos foram fertilizados (GOYMANN et al., 2006b). Por essa razão, acreditamos que o aumento nos andrógenos fecais observado em setembro possa estar vinculado com a aproximação do período fértil das fêmeas, uma vez que a competição entre machos por parceiras não se mostrou relevante a ponto de estimular a secreção de testosterona nos indivíduos aqui monitorados. Esta hipótese encontra certo apoio no trabalho realizado por VILLARROEL et al., (1998), que ao analisarem o significado adaptativo da alta frequência de cópulas em falcões quiri-quiri concluíram que tal comportamento está provavelmente atrelado à fertilização e/ou avaliação da qualidade dos parceiros. Estes autores descartaram a possibilidade do número de cópulas como moeda de troca por comida ou como mecanismo das fêmeas de quiri-quiri de dissuadir seus parceiros a efetuarem cópulas extra-par. Entretanto, este trabalho não rejeita a hipótese das fêmeas trocarem cópulas por comida em virtude da alta correlação observada entre os parâmetros fornecimento de comida para fêmea e cópulas. Adicionalmente, os resultados deste estudo sugerem que os falcões quiri-quiri se encaixam na relação citada por GOYMANN et al. (2004) para aves tropicais, onde o comprimento da época reprodutiva é considerado fator determinante na amplitude do pico de testosterona (com épocas reprodutivas curtas induzindo picos maiores de testosterona).

Outra questão importante é que os comportamentos de defesa de território em machos de falcões quiri-quiri ocorreram tanto em fases de alta

quanto de baixa secreção de andrógenos. Estudos prévios observaram que apesar das aves tropicais serem consideradas altamente agressivas e territoriais, as mesmas exibem baixas concentrações de testosterona ao longo do ano todo (LEVIN & WINGFIELD, 1992; WILKESKI et al., 1999; HAU et al., 2000). Estas informações juntamente com aquelas relatadas por CANOINE & GWINNER (2002), que comprovaram agressividade em machos de cartaxo mesmo após a aplicação de inibidores de andrógenos e estrógenos, indicam que concentrações elevadas de testosterona (e provavelmente de seus metabólitos estrogênicos) não são pré-requisitos para a expressão da agressividade em certas espécies.

Baixos níveis de andrógenos fecais foram registrados nos meses em que as médias dos comportamentos de atividade de ninho e fornecimento de comida para fêmeas e filhotes atingiram seu ápice (Figuras 1C e 1D). Estes dados concordam com aqueles descritos por REHDER et al. (1988), onde machos de falcão quiri-quiri mantidos em cativeiro apresentaram uma queda abrupta nos níveis de andrógenos plasmáticos durante a fase de postura dos ovos e criação dos filhotes. Elevações na testosterona plasmática seguidas por declínios algumas semanas mais tarde foram também associadas com a transição do comportamento sexual para parental em machos deste falcão, fenômeno que segundo SOCKMAN et al. (2004) era esperado em virtude do quiri-quiri ser considerada uma espécie com ninhada única com alta participação do macho na criação dos filhotes. Em aves monogâmicas, baixas concentrações de testosterona estão geralmente vinculadas às fases de postura e cuidados com a prole e, por conseguinte a altas concentrações de prolactina (LEA et al., 1986; BUNTIN et al., 1991; SEILER et al., 1992; LORMÉE et al., 2000; KHAN et al., 2001). Contudo, a elevação da prolactina concomitantemente a redução da testosterona durante a transição do comportamento sexual para parental em machos de falcão quiri-quiri parece estar mais relacionada às mudanças sazonais na secreção de prolactina que com o desenvolvimento do comportamento

parental em si (p.e. presença de ovos ou filhotes) (SOCKMAN et al., 2004). Aumentos nos níveis de prolactina independentemente do estímulo tátil dos ovos e filhotes foram previamente relatados em pinguins de Adélie (*Pygoscelis adeliae*) e albatrozes (*Diomedea spp.*) (HECTOR & GOLDSMITH, 1985; VLECK et al. 2000). Portanto, apesar da dosagem de prolactina não ter sido efetuada neste trabalho, estas evidências podem talvez explicar por que falcões quiri-quiri que não obtiveram ninhadas (três dos seis indivíduos) apresentaram uma queda nas concentrações de andrógenos fecais proporcional àqueles que criaram seus filhotes.

A análise de correlações também revelou que tanto os níveis de andrógenos fecais quanto o número de cópulas estão negativamente relacionados com a muda das penas, evento que ocorreu logo após o término da criação dos filhotes do ano anterior (janeiro a março). Em diversas espécies, a troca de penas geralmente se inicia ao final da atividade reprodutiva e em períodos de abundância de alimento (STUTCHBURY & MORTON, 2001). Isto porque a muda de penas é considerada um processo energeticamente dispendioso para as aves, e por essa razão não se sobrepõe a outros eventos igualmente desgastantes tais como reprodução ou migração (DAWSON, 2006). Esta organização temporal sugere a existência de mecanismos reguladores da transição entre reprodução e troca de penas. A periodicidade da muda em aves tem sido frequentemente relacionada a aumentos significativos de tiroxina (T_4) e triiodotironina (T_3), e a níveis basais de hormônio luteinizante (LH), testosterona e estrógeno (GROSCOLAS & LELOUP, 1986; GROSCOLAS et al., 1986; MAUGET et al., 1994; OTSUKA et al. 2004). Ao que tudo indica o fotoperíodo parece estar envolvido neste controle temporal, uma vez que a muda de penas é normalmente induzida por dias longos (DAWSON, 2006). De fato, a muda de penas em machos de falcões quiri-quiri teve início no mês de maior comprimento de dia (Figura 1A). Entretanto, ainda existem dúvidas se o fotoperíodo exerce um controle direto sobre a troca das penas ou se a

ocorrência deste processo é consequência da regressão gonadal induzida por dias longos (DAWSON, 2006). Indícios de que implantes de testosterona podem retardar, impedir ou interromper a troca de penas apontavam para uma inter-relação entre o início da muda e a regressão gonadal (SCHLEUSSNER et al., 1985; NOLAN et al., 1992; DAWSON, 1994). Apesar disso, a castração teve poucos efeitos sobre o momento da muda em estorninhos (*Sturnus vulgaris*) (DAWSON & GOLDSMITH, 1984). Neste sentido, DAWSON (2006) recentemente demonstrou não haver relação consistente entre o fotoperíodo ou regressão gonadal e a troca de penas, mas sim uma associação significativa entre o início da muda e o pico nos níveis de prolactina.

O papel dos esteróides sexuais na expressão de comportamentos reprodutivos e agressividade em aves tem sido amplamente explorado em literatura (SOMA et al., 1999; DeRIDDER et al., 2000; HAU et al., 2000; CANOINE & GWINNER, 2002; BALTHAZART et al., 2003). Por outro lado, poucos estudos têm examinado as ações desses hormônios sobre comportamentos de pareamento, como por exemplo, o tempo de permanência junto ao parceiro ou o sucesso na formação do casal (TOMASZYCKI et al., 2006). Neste contexto, o tempo em que machos de falcão quiri-quiri permaneceram junto às fêmeas não apresentou qualquer correlação com os níveis de andrógenos fecais, indicando que este grupo de hormônios talvez não seja fundamental para a interação entre parceiros. A ausência de correlação entre níveis plasmáticos de testosterona e a frequência de associações entre parceiros durante a época não-reprodutiva foi previamente relatada em pica-paus (*Picoides pubescens*), resultado que segundo KELLAM et al. (2004) sugere que os efeitos da testosterona sobre as interações entre parceiros estejam limitados ao desencadeamento de certos comportamentos, mas não a interação espacial do casal. Além disso, após estudarem as ações de inibidores de aromatase combinados a anti-andrógenos em mandarins (*Taeniopygia guttata*), TOMASZYCKI et al. (2006)

concluíram que apesar dos hormônios esteróides serem importantes na manifestação da agressividade e de comportamentos de cortejo, os mesmos não são necessários na estimulação e/ou manutenção dos comportamentos de pareamento.

Um dado importante deste estudo foi à correlação positiva encontrada entre andrógenos e glucocorticóides fecais em machos de falcão quiri-quiri. Isto porque altos níveis de glucocorticóides estão geralmente associados a supressões da atividade sexual e/ou concentrações de hormônios reprodutivos (WINGFIELD 1985; WINGFIELD & SILVERIN, 1986; WINGFIELD et al., 1994; WINGFIELD, 2005). Todavia, esta interação entre atividade adrenal e testicular durante a estação reprodutiva foi também relatada em outras espécies, tais como tico-tico (*Zonotrichia leucophrys gambelii*; WINGFIELD & FARNER, 1978), papa-moscas (*Fidecula hypoleuca*; SILVERIN & WINGFIELD, 1982), escrevedeira-das-neves (*Plectrophenax nivalis*; ROMERO et al., 1998), codornas (*Perdícula asiatica*; SUDHAKUMARI et al., 2001), e juncos (*Junco hyemalis*; DEVICHE et al., 2000). Adicionalmente, alguns autores constataram que implantes de testosterona induzem elevações significativas nas concentrações plasmáticas de corticosterona (KETTERSON et al., 1991; KLUKOWSKI et al., 1997). Tais informações são aparentemente conflitantes uma vez que atribuem efeitos estimulatórios da atividade adrenal aos andrógenos, ao mesmo tempo em que incrementos na secreção de glucocorticóides podem inibir a reprodução.

No entanto, estudos recentes propõem a existência de diversos mecanismos de resistência do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG) as ações dos glucocorticóides, entre eles: (1) o HHG pode não considerar estressantes as variações sazonais nos glucocorticóides associadas a perturbações previsíveis do ambiente; (2) estressores não resultam em secreção de glucocorticóides devido ao bloqueio do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal na época reprodutiva (3) um ou vários componentes do

HHG podem se tornar resistentes aos efeitos das altas concentrações de glucocorticóides; (4) a inibição da reprodução induzida pelos altos níveis de glucocorticóides pode ser superada por mecanismos compensatórios do HHG; e (5) globulinas carreadoras de corticosteróides (GCC) ou até mesmo barreiras tissulares podem proteger o HHG das ações dos glucocorticóides (WINGFIELD & SAPOLSKY, 2003; WINGFIELD, 2005). Neste sentido, evidências crescentes apontam à participação dos andrógenos no mecanismo de controle envolvendo às GCCs, visto que elevações nos níveis plasmáticos de GCC são reguladas por aumentos de testosterona (SCHOECH et al., 1999; DEVICHE et al., 2001). Assim, como teorizado para passeriformes de altas latitudes (WINGFIELD, 2005), é possível que falcões quiri-quiri modulem suas respostas adrenocorticais por meio das GCCs com o intuito de permitir que o sistema reprodutivo seja reativado mesmo sob condições ambientais ainda desfavoráveis (p.e. meio da estação seca). Contudo, pesquisas adicionais para elucidar estas relações entre andrógenos e glucocorticóides em machos de falcão quiri-quiri são indispensáveis para confirmar tais especulações.

A variação sazonal das concentrações de corticosterona é um fenômeno aparentemente comum a várias aves, e ao que tudo indica não está restrito apenas as espécies que enfrentam mudanças climáticas extremas (ROMERO, 2002; ROMERO et al., 2006). Em machos de falcão quiri-quiri, os níveis médios de glucocorticóides fecais apresentaram pouca variação ao longo do ano, alcançando valores máximos em maio/ junho (período pré-reprodutivo) e mínimos em novembro (fase de comportamentos parentais). Considerando o papel dos glucocorticóides na adaptação fisiológica de indivíduos frente às perturbações ambientais (SAPOLSKY et al., 2000; LANDYS et al. 2006), supõe-se que os altos níveis observados nos meses de maio e junho possam representar um período de maior exigência metabólica para os falcões devido à reduzida precipitação das chuvas e provável escassez de comida, enquanto que a baixa concentração registrada

em novembro poderia ser resultado do retorno das chuvas e conseqüente abundância de insetos. Porém, muito embora CABRAL et al. (2006) tenham comprovado a existência de sazonalidade na dieta de falcões quiri-quiri na área de estudo, a ausência de informações referentes à abundância de presas deste falconídeo ao longo do ano impede o estabelecimento de inter-relações mais profundas entre glucocorticóides e disponibilidade de comida. De qualquer maneira, acreditamos que o perfil hormonal apresentado por machos de quiri-quiri se enquadra no conceito de “alostase” mencionado por LANDYS et al. (2006), em que flutuações nas concentrações de glucocorticóides ocorram dentro de limites basais sazonais em resposta as exigências relacionadas a mudanças ambientais previsíveis ou a certos processos vitais (p.e. reprodução e migração). Para estes autores, apenas elevações acima destes limites basais sazonais decorrentes de perturbações não-previsíveis e ameaçadoras (p.e. predação, infecção, deficiências alimentares, e ou instabilidade social) seriam consideradas concentrações associadas ao estresse.

Conclusões

Diante das condições experimentais descritas e com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que machos de quiri-quiri no sudeste do Brasil apresentam sazonalidade reprodutiva, sugerindo que fotoperíodo deve ser utilizado no ajuste temporal da reprodução nesta espécie. Além disso, as variações observadas nos níveis de glucocorticóides fecais indicam que a transição entre outono e inverno pode representar um período de maior exigência ambiental. Apesar disso, as variações sazonais nos níveis de glucocorticóides observadas neste estudo não foram suficientes para inibir a secreção de andrógenos e conseqüentemente a expressão dos comportamentos de cópula. Estudos futuros avaliando a inter-relação entre disponibilidade de comida e níveis de andrógenos fecais mostram-se

necessários para elucidar o verdadeiro papel deste elemento no controle da atividade reprodutiva de falcões quiri-quiri.

Referências Bibliográficas

BALTHAZART, J., BAILLIEN, M., CHARLIER, T.D., CORNIL, C.A., BALL, G.F. The neuroendocrinology of reproductive in Japanese quail. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v. 25, p. 69-82, 2003.

BERGUER, D. D. MUELLER, H.C. The bal-chatri: a trap for birds of prey. **Bird Banding** 30:18-26, 1956.

BROWN, J.L., WALKER, S., STEINMAN, K. **Endocrine manual for the reproductive assessment of domestic and non-domestic species**. Endocrine Research Laboratory, National Zoological Park – Smithsonian Institution, Front Royal, 2004.

BUNTIN, J.D., BECKER, G.M., RUZYCKI, E. Facilitation of parental behavior in ring doves by systemic or intracranial injections of prolactin. **Horm. Behav.**, v. 25, p. 424-444, 1991.

CABRAL, J.C., GRANZINOLLI, M.A.M., MOTTA-JUNIOR, J.C. Dieta do quiri-quiri, *Falco sparverius* (Aves: Falconiformes), na Estação Ecológica de Itirapina, SP. **Rev. Brasil. Ornitol.**, v. 14, f. 4, p. 393-399, 2006.

CANOINE, V., GWINNER, E. Seasonal differences in the hormonal control of territorial aggression in free-living European Stonechats. **Horm. Behav.**, v. 41, p. 1-8, 2002.

DAWSON, A. The effects of daylength and testosterone on the initiation and progress of moult in starlings (*Sturnus vulgaris*). **Ibis**, v. 136, p. 335-340, 1994.

DAWSON, A. Control of molt in birds: Association with prolactin and gonadal regression in starlings. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 147, p. 314-322, 2006.

DAWSON, A., GOLDSMITH, A.R. Effects of gonadectomy on seasonal changes in plasma LH and prolactin concentrations in male and female starlings (*Sturnus vulgaris*). **J. Endocrinol.**, v. 100, p. 213-218, 1984.

DAWSON, A., SHARP, P.J. Photorefractoriness in birds – photoperiodic and non-photoperiodic control. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 153, p. 378-384, 2007.

DeRIDDER, E., PINXTEN, R., EENS, M. Experimental evidence of a testosterone-induced shift from paternal to mating behaviour in a facultatively polygynous songbird. **Behav. Ecol. Sociobiol.**, v. 49, p. 24-30, 2000.

DEL HOYO, J., ELLIOTT, A., SARGATAL, J. **Handbook of the Birds of the World VOL. 2: New World Vultures to Guinea-fowl**. 1. ed. Barcelona: Lynx Edicions, 638p., 1994.

DEVICHE, P., BREUNER, C., ORCHINIK, M. Testosterone, corticosterone, and photoperiod interact to regulate plasma levels of binding globulin and free steroid hormone in dark-eyed juncos, *Junco hyemalis*. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 122, p. 67-77, 2001.

DEVICHE, P., SMALL, T. Environmental control of reproduction in Sonoran desert *Aimophila* sparrows. In: DAWSON, A., SHARP, P.J. (eds.). **Functional Avian Endocrinology**. New Delhi: Narosa Publishing House, Chapter 12, p. 153-166, 2005.

DEVICHE, P., WINGFIELD, J.C., SHARP, P. Year-class differences in the reproductive system, plasma prolactin and corticosterone concentrations, and onset of prebasic molt in male dark-eyed juncos (*Junco hyemalis*) during breeding period. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 118, p. 425-435, 2000.

FERGUSON-LEES, J., CHRISTIE, D.A. **Raptors of the world**. 1. ed. New York: Houghton Mifflin Company, 992p, 2001.

FISHER, S.A., BORTOLOTTI, G.R., FERNIE, K.J., SMITS, J.E., MARCHANT, T.A., DROUILLARD, K.G., BIRD, D.M. Courtship behavior of captive American kestrels (*Falco sparverius*) exposed to polychlorinated biphenyls. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 41, p. 215-220, 2001.

GIANOTTI, E. Composição florística e estrutura da vegetação do cerrado e de transição entre cerrado e mata ciliar da Estação Experimental de Itirapina, SP. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Campinas, 1988.

GOYMANN, W. Non-invasive monitoring of hormones in bird droppings: biological validations, sampling, extraction, sex differences, and the influence of diet on hormone metabolite levels. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1046, p. 35-53.

GOYMANN, W., GEUE, D., SCHWABL, I., FLINKS, H., SCHMIDL, D., SCHWABL, H., GWINNER, E. Testosterone and corticosterone during the breeding cycle of equatorial and European stonechats (*Saxicola torquata axillaris* and *S. t. rubicola*) **Horm. Behav.**, v. 50, p. 779–785, 2006b.

GOYMANN, W., MOORE, I.T., SCHEUERLEIN, A., HIRSCHENHAUSER, K., GRAFEN, A., WINGFIELD, J.C. Testosterone in tropical birds: effects of environmental and social factors. **Am. Nat.**, v. 164, p. 327–334, 2004

GOYMANN, W., TRAPPSCHUH, M., JENSEN, W., SCHWABL, I. Low ambient temperature increases food intake and dropping production, leading to incorrect estimates of hormone metabolite concentrations in European stonechats. **Horm. Behav.**, v. 49, p. 644-653, 2006a.

GROSCOLAS, R., LELOUP, J. The endocrine control of reproduction and molt in emperor (*Aptenodytes forsteri*) and adelié (*Pygoscelis adelié*) penguins. II. Annual changes in plasma levels of thyroxine and triiodothyronine. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 63, p. 264-274, 1986.

GROSCOLAS, R., JALLAGEAS, M., GOLDSMITH, A., ASSENMACHER, I. The endocrine control of reproduction and molt in emperor (*Aptenodytes forsteri*) and adelié (*Pygoscelis adelié*) penguins. I. Annual changes in plasma levels of gonadal steroids and LH. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 63, p. 264-274, 1986.

GWINNER, E., SCHEUERLEIN, A. Photoperiodic responsiveness of equatorial and temperate-zone stonechats. **Condor**, v. 101, p. 347-359.

HALSE, S.A., JAENSCH, R.P. Breeding seasons of waterbirds in southwestern Australia - The importance of rainfall. **Emu**, v. 89, p. 232-249, 1989.

HAHN, T.P., PEREYRA, M.E., KATTI, M., WARD, G.M., MACDOUGALL-SHACKLETON, S.A. Effects of food availability on the reproductive system. In: DAWSON, A., SHARP, P.J. (eds.). **Functional Avian Endocrinology**. New Delhi: Narosa Publishing House, Chapter 13, p. 167-180, 2005.

HAU, M., WIKELSKI, M., SOMA, K., WINGFIELD, J.C. Testosterone and year-round territorial aggression in a tropical bird. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 117, p. 20-33, 2000.

HAU, M. Timing of breeding in variable environments: tropical birds as model systems. **Horm. Behav.** v. 40, p. 281-290, 2001.

HAU, M., WILKESKI, M., WINGFIELD, J.C. A neotropical forest bird can measure the slight changes in tropical photoperiod. **Proc. Royal Soc. London B**, v. 265, p. 89-95, 1998.

HECTOR, J.A.L., GOLDSMITH, A.R. The role of prolactin during incubation: comparative studies of three *Diomedea* albatrosses. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 60, p. 236-243, 1985.

HUNT, K., WINGFIELD, J.C., ASTHEIMER, L.B., BUTTEMER, W.A., HAHN, T.P. Temporal patterns of territorial behavior and circulating testosterone in the Lapland longspur and other Arctic passerines. **Am. Zool.**, v. 35, p. 274-284, 1995.

KELLAM, J.S., WINGFIELD, J.C., LUCAS, J.R. Nonbreeding season pairing behavior and the annual cycle of testosterone in male and female downy woodpeckers, *Picoides pubescens*. **Horm. Behav.**, v. 46, p. 703-714, 2004.

KETTERSON, E.D., NOLAN Jr, V., WOLF, L., ZIEGENFUS, C., DUFTY Jr, A.M., BALL, G.F., JOHNSEN, T.S. Testosterone and avian life histories: The effect of experimentally elevated testosterone on corticosterone and body mass in dark-eyed juncos. **Horm. Behav.**, v. 25, p. 489-503, 1991.

KHAN, M.Z., MCNABB, F.M.A., WLATERS, J.R., SHARP, P.J. Patterns of testosterone and prolactin concentrations and reproductive behavior of helpers and breeders in the cooperatively breeding red-cockaded woodpecker (*Picoides borealis*). **Horm. Behav.**, v. 40, p. 1-13, 2001.

KLASING, K.C. Potential impact of nutritional strategy on non-invasive measurements of hormones in birds. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1046, p. 5-16.

KLUKOWSKI, L.A., CAWTHORN, J.M., KETTERSON, E.D., NOLAN Jr, V. Effects of experimentally elevated testosterone on plasma corticosterone and corticosteroid-binding globulin in dark-eyed juncos (*Junco hyemalis*). **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 108, p. 141-151, 1997.

LANDYS, M.M., RAMENOFISKY, M., WINGFIELD, J.C. Actions of glucocorticoids at a seasonal baseline as compared to stress-related levels in the regulation of periodic life processes. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 148, p. 132-149, 2006.

LEA, R.W., VOWLES, D.M., DICK, H.R. Factors affecting prolactin secretion during the breeding cycle of the ring dove (*Streptopelia risoria*) and its possible role in incubation. **J. Endocrinol.**, v. 110, p. 447-458.

LEVIN, R.N., WINGFIELD, J.C. The hormonal control of territorial aggression in tropical birds. **Ornis Scand.**, v. 23, p. 284-291, 1992.

LORMÉE, H., JOUVENTIN, P., LACROIX, A., LALLEMAND, J., CHASTEL, O. Reproductive endocrinology of tropical seabirds: sex-specific patterns in LH, steroids, and prolactin secretion in relation to parental care. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 117, p. 413-426, 2000.

LOVE, O.P., SHUTT, L.J., SILFIES, J.S., BIRD, D.M. Repeated restraint and sampling results in reduced corticosterone levels in developing and adult captive American kestrels (*Falco sparverius*). **Physiol. Biochem. Zool.**, v. 76, f. 5, p. 753-761, 2003.

MANTOVANI, W. Análise florística e fitossociológica do estrato herbáceo sub-arbustivo do cerrado na reserva biológica de Guaçu e Itirapina. **Tese de doutorado**. Universidade Estadual de Campinas, 1987.

MAUGET, R., JOUVENTIN, P., LACROIX, A., ISHII, S. Plasma LH and steroid hormones in King Penguin (*Aptenodytes patagonius*) during the onset of the breeding cycle. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 93, p. 36-43, 1994.

MEIJER, T., DAAN, S., HALL, M.R. Family planning in the kestrel (*Falco tinnunculus*): the proximate control of laying date and clutch size. **Behaviour**, v. 114, p. 117-136, 1990.

MILLSPAUGH, J.J., WASHBURN, B.E. Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. **Gen. Comp. Endocrin.**, v. 138, p. 189-199, 2004.

MOLLER, A.P. Evidence of larger impact of parasites on hosts in the tropics: investment in immune function within and outside the tropics. **Oikos**, v. 82, p. 265-270, 1998.

MOORE, I.T., PERFITO, N., WADA, H., SPERRY, T.S., WINGFIELD, J.C. Latitudinal variation in plasma testosterone levels in birds of the genus *Zonotrichia*. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 129, p. 13-19, 2002.

MOORE, I.T. Non-photoperiodic seasonality in a tropical songbird. In: DAWSON, A., SHARP, P.J. (eds.). **Functional Avian Endocrinology**. New Delhi: Narosa Publishing House, Chapter 14, p. 181-192, 2005.

MÖSTL, E., RETTENBACHER, S., PALME, R. Measurement of corticosterone metabolites in bird's droppings: An analytical approach. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 1046, p. 17-34, 2005.

NOLAN, V., KETTERSON, E.D. Effect of long days on molt and autumn migratory state of site-faithful dark-eyed juncos held at their winter sites. **Wilson Bull.**, v. 102, p. 469-479, 1990.

OTSUKA, R., MACHIDA, T., WADA, M. Hormonal correlations at transition from reproduction to molting in an annual life cycle of Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*). **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 135, p. 175-185, 2004.

PALME, R. Measuring fecal steroids: guidelines for practical application. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 1046, p. 1-6, 2005.

PETERS, A. Testosterone treatment is immunosuppressive in superb fairy-wrens, yet free-living males with high testosterone are more immunocompetent. **Proc. Royal Soc. London B**, v. 267, p. 883-889, 2000.

REHDER, N.B., BIRD, D.M., SANFORD, L.M. Plasma androgen levels and body weights for breeding and nonbreeding male American kestrels. **Condor**, v. 90, p. 555-560, 1988.

RÖDL, T., GOYMANN, W., SCHWABL, I., GWINNER. Excremental androgen metabolite concentration and gonad sizes in temperate zone vs.

tropical stonechats (*Saxicola torquata ssp.*). **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 139, p. 124-130, 2004.

ROMERO, L.M. Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 128, p. 1-24, 2002.

ROMERO, L.M., CYR, N.E., ROMERO, R.C. Corticosterone responses change seasonally in free-living house sparrows. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 149, p. 58-65, 2006.

ROMERO, L.M., SOMA, K.K., O'REILLY, K.M., SUYDAM, R., WINGFIELD, J.C. Hormones and territorial behavior during breeding in snow buntings (*Plectrophenax nivalis*): An arctic-breeding songbird. **Horm. Behav.**, v. 33, p. 40-47, 1998.

SAINO, N., MOLLER, A.P., BOLZERN, A.M. Testosterone effects on immune system and parasite infestations in the barn swallow (*Hirundo rustica*): an experimental test of the immunocompetence hypothesis. **Behav. Ecol.**, v. 6, f. 4, p. 397-404, 1995

SAPOLSKY, R.M., ROMERO, L.M., MUNCK, A.U. how do glucocorticoids influence stress response? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocr. Rev.**, v. 21, p. 55-89, 2000.

SCHLEUSSNER, G. DITTAMI, J.P., GWINNER, E. Testosterone implants affect molt in male European starlings, *Sturnus vulgaris*. **Physiol. Zool.**, v. 58, p. 597-604, 1985.

SCHOECH, S., KETTERSON, E.D., NOLAN Jr, V. Exogenous testosterone and the adrenocortical response in the dark-eyed junco, *Junco hyemalis*. **Auk**, v. 11, 64-72, 1999.

SEILER, H.W., GAHR, M., GOLDSMITH, A.R., GÜTTINGER, H. Prolactin and gonadal steroids during the reproductive cycle of the Bengalese finch (*Lonchura striata* var. domestica, Estrildidae), a nonseasonal breeder with biparental care. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 88, p. 83-90, 1992.

SHARP, P.J. Strategies in avian breeding cycles. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 42, p. 505-513, 1996.

SICK, H. Ordem Falconiformes. In: _____. **Ornitologia Brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, Capítulo 10, p. 243-269, 1997.

SILVERIN, B., WINGFIELD, J.C. Patterns of breeding behavior and plasma levels of hormones in a free-living population of pied flycatchers, *Ficedula hypoleuca*. **J. Zool. London**, v. 198, p. 117-129, 1982.

SMITH, D.G., GILBERT, D.R. Backpack radio transmitter attachment success in screech owls (*Otus asio*). **North Am. Bird Band.**, v. 6, f. 4, p. 142-143, 1981.

SOCKMAN, K. W., SCHWABL, H., SHARP, P.J. Removing the confound of time in investigating the regulation of serial behaviours: testosterone, prolactin and the transition from sexual to parental activity in male American kestrels. **Anim. Behav.**, v. 67, p. 1151-1161, 2004.

SOMA, K.K., SULLIVAN, K., WINGFIELD, J.C. Combined aromatase inhibitor and antiandrogen treatment decreases territorial aggression in a wild

songbird during the nonbreeding season. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 115, p. 442-453, 1999.

STUTCHBURY, B.J.M., MORTON, E.S. **Behavioral ecology of tropical birds**. 1 ed. San Diego: Academic Press, 165p. , 2001.

SUDHAKUMARI, C.C., HALDAR, C., SENTHILKUMARAN, B. Seasonal changes in adrenal and gonadal activity in the quail, *Perdica asiatica*: involvement of the pineal gland. **Comp. Biochem. Physiol. B**, v. 128, p. 793-804, 2001.

TALLMAN, D.A., TALLMAN, E.J. Timing of breeding by antbirds (Formicariidae) in an aseasonal environment in Amazonian Ecuador. **Ornithol. Monogr.**, v. 48, p. 783-789, 1997.

TEMPEL, D.J., GUTIÉRREZ, R.J. Factors related to fecal corticosterone levels in California spotted owls: implications for assessing chronic stress. **Conserv. Biol.**, v. 18, f. 2, p. 538-547, 2004.

TOMASZYCKI, M.L., BANERJEE, S.B., ADKINS-REGAN, E. The role of sex steroids in courtship, pairing and pairing behaviors in the social monogamous zebra finch. **Horm. Behav.**, v. 50, 141-147, 2006.

TOUMA, C., PALME, R.. Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 1046, p. 54-74, 2005

VLECK, C.M., ROSS, L.L., VLECK, D., BUCHER, T.L. Prolactin and parental behavior in Adélie penguins: effects of absence from nest, incubation length and nest failure. **Horm. Behav.**, v. 38, p. 149-158, 1985.

VILLARROEL, M., BIRD, D.M., KUHNLEIN, U. Copulatory behavior and paternity in the American kestrel: the adaptative significance of frequent copulations. **Anim. Behav.**, v. 56, p. 289-299, 1998.

WALKER, B.G., J.C. WINGFIELD, BOERSMA, P.D. Age and food deprivation affects expression of the glucocorticosteroid stress response in Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) chicks. **Physiol. Biochem. Zool.**, v. 78, f. 1, p. 78-89, 2005.

WIKELSKI, M., HAU, M., WINGFIELD, J.C. Social instability increases plasma testosterone in year-round territorial neotropical bird. **Proc. Royal Soc. London B**, v. 266, p. 551-556, 1999.

WIKELSKI, M., HAU, M., WINGFIELD, J.C. Seasonality of reproduction in neotropical rain forest bird. **Ecology**, v. 81, n. 9, p 2458-2472, 2000.

WIKELSKI, M., HAU, M., ROBINSON, W.D., WINGFIELD, J.C. Reproductive seasonality of seven neotropical passerine species. **Condor**, v. 105, p. 683-695, 2003.

WINGFIELD, J.C. influence of weather on reproduction of male song sparrows, *Melospiza melodia*. **J. Zool. London**, v. 205, p. 525-544, 1985.

WINGFIELD, J.C. Modulation of the adrenocortical response to acute stress in breeding birds. In: DAWSON, A., SHARP, P.J. (eds.). **Functional Avian Endocrinology**. New Delhi: Narosa Publising House, Chapter 18, p. 225-240, 2005.

WINGFIELD, J.C., BALL, G.F., DUFTY Jr., A.M., HEGNER, R.E., RAMENOFISKY, M. Testosterone and aggression in birds. **Am. Sci.**, v. 75, f. 6, p. 602-608, 1987.

WINGFIELD, J.C., DEVICHE, P., ASTHEIMER, L., HOLBERTON, R., SUYDAM, R., HUNT, K. Seasonal changes in the adrenocortical responses to stress in common redpolls. **J. Exp. Zool.**, v. 270, p. 372-380, 1994.

WINGFIELD, J.C., FARNER, D.S. The annual cycle of plasma irLH and steroid hormones in feral populations of the whitecrowned sparrow, *Zonotrichia leucophrys gambelii*. **Biol. Reprod.**, v. 19, p. 1046–1056, 1978.

WINGFIELD, J.C., HAHN, T.P., LEVIN, R., HONEY, P. Environmental predictability and control of gonadal cycles in birds. **J. Exp. Zool.**, v. 261, p. 214-231, 1992.

WINGFIELD, J.C., HEGNER Jr., E., DUFTY Jr., A.M., BALL, G.F. The 'challenge hypothesis': theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. **Amer. Nat.**, v. 136, p. 829-846, 1990.

WINGFIELD, J.C., SAPOLSKY, R.M. Reproduction and resistance to stress: when and how. **J. Neuroendocrinol.**, v. 15, p. 711-724, 2003

WINGFIELD, J.C., SILVERIN, B. Effects of corticosterone on territorial behavior of free-living male song sparrows *Melospiza melodia*. **Horm. Behav.**, v. 20, p. 405-417, 1986.