

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA**  
**ANIMAL**  
**FISIOLOGIA ANIMAL**

**DISSERTAÇÃO**

**Passeriformes *versus* não Passeriformes: Comparação  
filogenética através da atividade da enzima lactato  
desidrogenase plasmática.**

**Ana Paula Martinez de Abreu**

**2009**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**PASSERIFORMES *VERSUS* NÃO PASSERIFORMES: COMPARAÇÃO  
FILOGENÉTICA ATRAVÉS DA ATIVIDADE DA ENZIMA LACTATO  
DESIDROGENASE PLASMÁTICA.**

**ANA PAULA MARTINEZ DE ABREU**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Luís Carlos Reis**

*e Co-orientação do Professor*  
**José Machado Neves Júnior**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração em Fisiologia Animal.

Seropédica, RJ  
Abril de 2009

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**ANA PAULA MARTINEZ DE ABREU**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências,  
no Curso de Pós-Graduação em Biologia animal, área de concentração em Fisiologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM -----/-----/-----

---

Luís Carlos Reis. PhD. UFRRJ.  
Orientador

---

Renato Rizo Ventura. PhD. UFPR.

---

Alexandre Fernandes Araujo . PhD. UFRRJ.

---

Luis Felipe Souza da Silva. PhD. Universit of Iowa.

## **DEDICATÓRIA**

À Deus, por permitir que eu passe por mais uma etapa do meu caminho.  
Aos meus pais, marido, irmã, familiares e amigos, que direta ou indiretamente me auxiliaram.  
Aos que não estão mais entre nós e que nunca nos abandonam.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Rosa Martinez de Abreu e Francisco Pinto de Abreu Filho, que acreditaram em mim, incentivaram meus estudos e viram em sua filha a possibilidade de realizar seus sonhos.

A meu querido marido, Gustavo Lopes Leitão, que sem entender muito bem o que eu fazia, nunca deixou de me incentivar e me amar, mesmo nos momentos mais estressantes desta dissertação, sempre tinha alegria em seu sorriso para me relaxar.

A minha querida irmã, que nos momentos mais desesperados sempre me diz coisas verdadeiras e sensatas.

A amiga, estagiária, orientadora e quase sócia Claudia Cardoso Castro, que viu em mim uma profissional que eu não via e fez com que eu acreditasse um pouco mais em mim.

Ao grande mestre e meu orientador, Luis Carlos Reis, que mesmo sem conhecer meu trabalho acreditou que eu poderia fazê-lo e nos poucos momentos sempre tinha algo a me ensinar.

A meu co-orientador, José Machado Neves Júnior, que me ofereceu oportunidades.

Ao amigo Álvaro Alberto Sá Passos, que se tornou um grande amigo e me ajudou muitas vezes durante meu experimento do mestrado, sem se importar de me carregar de carro de cima para baixo com periquitos e canários.

A amiga Thalita Jordão, que se tornou uma grande amiga e também me ajudou emprestando balança digital, fazendo contenção de aves para mim e fornecendo sempre uma palavra amiga.

Aos meus queridos estagiários e amigos Acácia Ferreira e Cristiano Ferreira, por acreditarem que tenho algo a lhes ensinar e por me tirarem da solidão de Vassouras.

Ao médico veterinário Francisco Rangel, que viu em mim uma amiga e profissional, me ajudando em momentos difíceis e de provação.

Ao médico veterinário, amigo e sempre chefe, Wagner Stelling, que me ensinou a ser metódica, organizada e profissional. Além disso, permitiu com prontidão que eu utilizasse as dependências do laboratório da Global Vet, para eu terminar minha dissertação.

A minha querida estagiária Eline Cecília Meireles Barbosa, que me ajudou muito durante o experimento do meu mestrado, realizando uma excelente contenção física de aves e estimulando minha mente com seus questionamentos.

A minha querida prima Luciana Figueira de Abreu, que me ajudou fazendo a revisão ortográfica do meu trabalho.

Aos funcionários do Hospital Veterinário da USS, Gil, Marcelo, Geovani, Rondinelio, Francisco e Seu Zé, que me ajudaram muitas vezes.

A todos meus queridos alunos, que serviram e ainda servem de cobaia para aprender o pouco que tenho a ensinar.

## RESUMO

ABREU, Ana Paula Martinez de. **Passeriformes versus não Passeriformes: Comparação filogenética através da atividade da enzima lactato desidrogenase plasmática**. Seropédica: UFRRJ, 2009. 78 p. (Dissertação, Mestrado em Biologia Animal, Fisiologia Animal).

Este estudo quantificou a atividade da lactato desidrogenase (LDH) de passeriformes (*Serinus canarius*) (n=32) e não passeriformes (*Melopsittacus undulatus*) (n=32), oriundos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, tendo como objetivo estabelecer diferenças entre as atividades plasmáticas da LDH, utilizando esta enzima como caráter filogenético. O sangue foi coletado através de punção na veia jugular, com seringa BD Ultra Fine II curta de volume de 0,3ml nos canários belga e 1 ml nos periquitos australianos. Antes de serem liberados os animais foram pesados em balança digital de precisão GEHAKA modelo BG 200. Após centrifugação das amostras, o plasma heparinizado foi separado e congelado a 4° C, sendo analisado bioquimicamente no dia seguinte, através de kits de bioquímica de LDH UV – PP da Gold Analisa (método cinético) e leitura em espectrofotômetro modelo BIOPLUS 2000. Os dados de massa (Kg), TMB (Kcal/dia), TMBE (Kcal/Kg/dia) e quantificação das enzimas de LDH (U/L) foram submetidos ao cálculo da média e desvio padrão pelo Excel 2003. Em seguida as médias foram comparadas através do teste (t) de Student ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa de estatística Statistic 7,0. Os resultados foram plotados, relacionando as atividades de LDH às massas, LDH às TMBs e LDH às TMBEs dos passeriformes e não passeriformes. Os passeriformes apresentaram massa de  $0,019 \pm 0,002$ , TMB de  $6,67 \pm 0,58$ , TMBE de  $346,74 \pm 9,92$  e LDH,  $1560,16 \pm 432,05$ . Em não passeriformes, massa de  $0,036 \pm 0,004$ , TMB de  $6,42 \pm 0,57$ , TMBE de  $179,60 \pm 5,21$  e LDH,  $123 \pm 56$ . Todos os dados são normais e paramétricos, e ao teste t foi possível verificar que existe diferença significativa entre massas, TMBEs e LDHs de passeriformes e não passeriformes. Não existe diferença significativa em TMB entre as aves. Passeriformes e não passeriformes menores apresentam TMB menor e TMBE maior. A atividade da LDH é massa-dependente dentro de uma mesma espécie, porém quando comparamos passeriformes e não passeriformes, é possível verificar que os passeriformes, mesmo sendo menores, são filogeneticamente mais anaeróbicos.

**Palavras chave:** passeriformes, não passeriformes, lactato desidrogenase, anaeróbico, endotermia.

## ABSTRACT

ABREU, Ana Paula Martinez de. **Passerines versus non Passerines: Phylogenetic comparison by means of the lactate dehydrogenase activity in plasm.** Seropédica: UFRRJ, 2009. 78 p. (Dissertation, Master Sciences in Animal Biology, Animal Physiology).

This study quantified the activity of lactate dehydrogenase (LDH) from passerines (*Serinus canarius*) (n = 32) and non passerines (*Melopsittacus undulatus*) (n = 32), from the State of Rio de Janeiro, Brazil, to establish differences between the plasm activities of LDH, using this enzyme as a phylogenetic character. The blood was collected through the jugular vein puncture with syringe BD Ultra Fine II Short volume of 0.3 ml to Belgian canaries and 1 ml in Budgerigars. Before being released the animals were weighed on digital scale for accuracy GEHAKA model BG 200. After centrifugation of samples, heparinized plasm was separated and frozen at 4 ° C, and biochemically examined the following day, through biochemical kits for LDH UV - PP's Gold Analysis (kinetic method) and read in spectrophotometer model BIOPLUS 2000. The data of mass (kg), BMR (Kcal / day), BMRS (Kcal / kg / day) and quantification of enzyme LDH (U / L) were subjected to calculation of mean and standard deviation for Excel 2003. Then the means were compared using the test (t) Student at 5% level of probability, using the statistical program of Statistic 7.0. The results were plotted, relating the activities of LDH to the masses, the LDH to BMRs and the LDH to BMRSs. Passerines showed the mass of  $0019 \pm 0002$ , BMR of  $6.67 \pm 0.58$ , BMRS of  $1949.84 \pm 55.76$  and LDH of  $1560.16 \pm 432.05$ . In non passerines, mass of  $0036 \pm 0004$ , BMR of  $6.42 \pm 0.57$ , BMRS of  $1009.95 \pm 29.27$  and LDH of  $123 \pm 56$ . All data are normal, parametric, and the t test was possible to verify that there is significant difference between masses, BMRSs and LDHs in passerines and non passerines. There is no significant difference in BMR between birds. Passerines and non passerines minors have lower BMR and BMRS greater. The activity of LDH is mass-dependent within the same species, but not when compared passerines and non passerines you can see that the passerines, although smaller, are phylogenetically more anaerobic.

**Key words:** passerines, non passerines, lactate dehydrogenase, anaerobic, endothermy.



## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1:</b> Relação de Taxa Metabólica Basal (TMB) e da Massa Corpórea entre Canários Belgas (n=32) e Periquitos Australianos (n=32) (EXCEL 2003).....	35
<b>Gráfico 2:</b> Histograma representando teste de normalidade da massa corpórea (Kg) de Canários Belgas (STATISTIC 7.0).....	40
<b>Gráfico 3:</b> Histograma representando teste de normalidade da massa corpórea (Kg) de Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).....	41
<b>Gráfico 4:</b> Comparação das Médias das Massas Corpóreas (Kg) entre Canários Belgas e Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).....	42
<b>Gráfico 5:</b> Histograma representando teste de normalidade da TMB (Kcal/dia) de Canários Belgas (STATISTIC 7.0).....	42
<b>Gráfico 6:</b> Histograma representando teste de normalidade da TMB (Kcal/dia) de Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).....	43
<b>Gráfico 7:</b> Comparação da TMB de passeriformes (Canário Belga) e não passeriformes (Periquito Australiano) (STATISTIC 7,0).....	44
<b>Gráfico 8:</b> Histograma representando teste de normalidade da TMBE (Kcal/dia/Kg) de Canários Belgas (STATISTIC 7.0).....	44
<b>Gráfico 9:</b> Histograma representando teste de normalidade da TMBE (Kcal/dia/Kg) de Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).....	45
<b>Gráfico 10:</b> Comparação da TMBE de passeriformes (Canário Belga) e não passeriformes (Periquito Australiano) (STATISTIC 7,0).....	46
<b>Gráfico 11:</b> Histograma representando teste de normalidade da atividade de LDH de Canários Belgas (STATISTIC 7.0).....	46
<b>Gráfico 12:</b> Histograma representando teste de normalidade da atividade de LDH de Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).....	47
<b>Gráfico 13:</b> Comparação da atividade da LDH plasmática de passeriformes (Canário Belga) e não passeriformes (Periquito Australiano) (STATISTIC 7,0).....	48
<b>Gráfico 14:</b> Gráfico de dispersão comparando LDH (U/L) e Massa Corporal (Kg) em Canários Belgas (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes) (EXCEL 2003).....	54
<b>Gráfico 15:</b> Gráfico de dispersão comparando LDH (U/L) e Taxa Metabólica Basal (TMB) em Canários Belgas (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes) (EXCEL 2003).....	55
<b>Gráfico 16:</b> Gráfico de dispersão comparando LDH (U/L) e Taxa Metabólica Basal Específica (TMBE) em Canários Belgas (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes) (EXCEL 2003).....	56

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Desenho de Canário Belga ( <i>Serinus canarius</i> ) (FONTE: Saúde Animal)..	7
<b>Figura 2:</b> Desenho de Periquito Australiano ( <i>Melopsittacus undulatus</i> ) (FONTE: Pets Cosmo).....	7
<b>Figura 3:</b> Canários Belgas ( <i>S. canarius</i> ) utilizados no experimento.....	24
<b>Figura 4:</b> Periquitos Australianos ( <i>M. undulatus</i> ) utilizados no experimento.....	24
<b>Figura 5:</b> Hospital Veterinário da Universidade Severino Sombra/ USS.....	25
<b>Figura 6:</b> Laboratório de Patologia Clínica da Global Vet.....	25
<b>Figura 7:</b> Contenção física de Canário Belga ( <i>S. canarius</i> ).....	26
<b>Figura 8:</b> Balança digital utilizada para verificação da massa corpórea das aves....	26
<b>Figura 9:</b> Visualização da veia jugular em Canário Belga ( <i>S. canarius</i> ).....	28
<b>Figura 10:</b> Seringas utilizadas para coleta de sangue.....	28
<b>Figura 11:</b> Eppendorf utilizado para armazenamento do sangue.....	28
<b>Figura 12:</b> Microcentrifuga refrigerada utilizada para centrifugar as amostras.....	29
<b>Figura 13:</b> Coleta de sangue em veia jugular de Canário Belga ( <i>S. canarius</i> ).....	29
<b>Figura 14:</b> Amostras de plasma heparinizado de Periquitos Australianos.....	30
<b>Figura 15:</b> Kits bioquímicos de LDH UV – PP da Gold Analisa utilizados.....	30
<b>Figura 16:</b> Espectrofotômetro semi-automático Bioplus 2000.....	30

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b> Resultados da atividade de LDH em Canários Belga ( <i>Serinus canarius</i> ) (n=32).....	32
<b>Quadro 2:</b> Resultados da atividade de LDH em Periquitos Australianos ( <i>Melopsittacus undulatus</i> ) (n=32).....	33
<b>Quadro 3:</b> Comparação da média da Massa Corporal (Kg) e média da TMB (Kcal/dia) entre Canário Belga e Periquito Australiano.....	34
<b>Quadro 4:</b> Exemplo comparando massa e TMBE de dois Canários com massas distintas.....	36
<b>Quadro 5:</b> Comparação da média da Massa Corporal (Kg) e média da TMBE (Kcal/Kg/dia) entre Canário Belga e Periquito Australiano.....	36
<b>Quadro 6:</b> Resultado dos cálculos alométricos de Taxa Metabólica Basal (TMB) e Taxa Metabólica Basal Específica de Canários Belga ( <i>Serinus canarius</i> ), a partir da massa corpórea (Kg).....	37
<b>Quadro 7:</b> Resultado dos cálculos alométricos de Taxa Metabólica Basal (TMB) e Taxa Metabólica Basal Específica de Periquitos Australianos ( <i>Melopsittacus undulatus</i> ), a partir da massa corpórea (Kg).....	38
<b>Quadro 8:</b> Exemplo comparando massa e TMBE de dois Canários com massas distintas.....	39
<b>Quadro 9:</b> Teste t para amostras dependentes de Massas Corpóreas de Canários Belgas (passeriforme) e Periquitos Australianos (não passeriforme) (STATISTIC 7.0).....	41
<b>Quadro 10:</b> Teste t para amostras dependentes de TMB (Kcal/dia) de Canários Belgas e Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).....	43
<b>Quadro 11:</b> Teste t para amostras dependentes de TMBE (Kcal/dia/Kg) de Canários Belgas e Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).....	45
<b>Quadro 12:</b> Teste t para amostras dependentes de LDH (U/L) de Canários Belgas e Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).....	47
<b>Quadro 13:</b> Comparação da média e desvio padrão da massa corpórea (Kg) para Canário Belga e Periquito Australiano (SPSS).....	49
<b>Quadro 14:</b> Comparação de média e desvio padrão de TMB (Kcal/dia) para Canário Belga e Periquito Australiano (SPSS).....	49
<b>Quadro 15:</b> Comparação de média e desvio padrão de TMBE (Kcal/Kg/dia) para Canário Belga e Periquito Australiano (SPSS).....	49
<b>Quadro 16:</b> Comparação de média e desvio padrão de LDH (U/l) para Canário Belga e Periquito Australiano (SPSS).....	50

### LISTA DE QUADROS (Continuação)

<b>Quadro 17:</b> Determinação da igualdade das matrizes de covariância (SPSS).....	51
<b>Quadro 18:</b> Teste de esfericidade de Bartlett (SPSS).....	51
<b>Quadro 19:</b> Teste dos efeitos entre as variáveis dependentes (TMB, TMBE, LDH) e a independente (massa corpórea) (SPSS).....	52
<b>Quadro 20:</b> Tabela com estimação de parâmetros para o modelo completo das variáveis dependentes (SPSS).....	53
<b>Quadro 21:</b> Comparação da média de todas as variáveis de Canário Belga e Periquito Australiano (SPSS).....	54

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1 HISTÓRICO.....	5
2.1.1 RELAÇÃO COM O HOMEM.....	6
2.1.1.1 Criação de Canários Belga.....	6
2.1.1.2 Criação de Periquitos Australiano.....	7
2.1.2 TAXONOMIA.....	7
2.1.2.1 Canário Belga.....	7
2.1.2.2 Periquito Australiano.....	7
2.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	8
2.2.1 Canário Belga.....	8
2.2.2 Periquito Australiano.....	9
2.3. TERMOS RELACIONADOS À VARIAÇÃO NA PRODUÇÃO CALÓRICA E À TERMORREGULAÇÃO.....	10
2.3.1 ENDOTERMIA.....	10
2.3.2 HOMEOTERMIA.....	11
2.4 TERMOS RELACIONADOS AO TAMANHO E AO METABOLISMO.....	12
2.4.1 MASSA.....	12
2.4.2 TAXA METABÓLICA BASAL (TMB).....	12
2.4.3 TAXA METABÓLICA BASAL ESPECÍFICA (TMBE).....	14
2.4.3.1 RELAÇÃO MASSA / SUPERFÍCIE CORPÓREA.....	15
2.4.4 TERMORREGULAÇÃO SEM TERMOGÊNESE ENDÓGENA.....	15
2.4.4.1 ISOLAMENTO PELA MASSA.....	16
2.4.4.2 COMPORTAMENTO DE ESCOLHA PELO MICROCLIMA E SUBSTRATO..	16
2.4.4.3 AJUSTES CIRCULATÓRIOS E METABÓLICOS.....	17
2.4.4.4 A UTILIZAÇÃO DE ANEXOS CORPORAIS.....	17
2.4.5 TERMOGÊNESE.....	18
2.4.5.1 RESPIRAÇÃO CELULAR ANAERÓBICA.....	18
2.4.5.2 RESPIRAÇÃO CELULAR AERÓBICA.....	19
2.5 ASPECTOS RELACIONADOS ÀS DIFERENÇAS ENTRE OS ORGANISMOS	

ECTO E ENDOTÉRMICOS.....	19
2.6 LACTATO DESIDROGENASE.....	20
2.6.1 LACTATO DESIDROGENASE NAS AVES.....	21
2.7 COLETA DE AMOSTRAS SANGUÍNEAS.....	22
2.8 ANTICOAGULANTES.....	22
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
3.1 ANIMAIS.....	24
3.2 LOCAIS DE REALIZAÇÃO DO PROJETO.....	25
3.3 CAPTURA E CONTENÇÃO.....	26
3.4 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPÓREA.....	26
3.5 CÁLCULO DA TAXA METABÓLICA BASAL – TMB.....	27
3.6 CÁLCULO DA TAXA METABÓLICA BASAL ESPECÍFICA – TMBE.....	27
3.7 COLETA DE AMOSTRAS SANGUÍNEAS.....	27
3.8 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA LDH .....	29
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
4.1 PARAMETROS BIOQUÍMICOS DE LDH ENCONTRADO.....	32
4.2 TAXA METABÓLICA BASAL (TMB).....	34
4.3 TAXA METABÓLICA BASAL ESPECÍFICA.....	36
4.4 DETERMINAÇÃO DA ANÁLISE DE LDH.....	39
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
4.5.1 Teste T de Student.....	40
4.5.1.1 Relação de Massa Corpórea (Kg) entre Passeriformes e não Passeriformes.....	40
4.5.1.2 Relação TMB (Kcal/dia) entre Passeriforme e não Passeriforme.....	42
4.5.1.3 Relação de TMBE (Kcal/dia/Kg) entre Passeriformes e não Passeriformes.....	44
4.5.1.4 Relação de LDH (U/L) entre Passeriformes e não Passeriformes.....	46
4.5.2 Determinação da média e desvio padrão das variáveis.....	48
4.5.3 Análise Multivariada de Variância (MANOVA).....	50
4.5.4 Relação Massa Corpórea (Kg) <i>versus</i> atividade da LDH plasmática (U/L).....	54
4.5.5 Relação ente TMB (Kcal/dia) <i>versus</i> atividade da LDH plasmática (U/L).....	55
4.5.6 Relação TMBE (Kcal/dia/Kg) <i>versus</i> atividade da LDH plasmática (U/L).....	56

<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>58</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>59</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O primeiro relato da ocorrência de fóssil de uma ave é do período cretáceo, o que fez com que paleontólogos suspeitassem de que as aves evoluíram dos répteis, havendo também grande semelhança do apêndice locomotor pélvico (ORR, 1986).

Apesar disso, independente das possíveis origens filogenéticas mais próximas das aves atuais, existe o fato de que elas são endotérmicas e que derivaram de ancestrais tetrápodos, que teriam sido essencialmente ectotérmicos e viveram até o final do período triássico, a cerca de 220 milhões de anos (ORR, 1986). Sendo assim, é de difícil resolução a pergunta do modo como teria ocorrido a transição entre a ecto e a endotermia na linhagem tetrápodos-aves.

Não só esta transição é importante, mas também de que forma ela aconteceu em duas classes tão importantes como as aves e os mamíferos. Ao especular sobre isto, Hulbert & Else (2000), relataram que esta mudança evolutiva ocorreu por dois fatores: o primeiro foi a evolução de um sistema nervoso que passou a controlar o calor produzido (homeotermia) e o segundo, a evolução de um sistema enzimático celular que permitiu o aumento da produção interna de calor (endotermia).

Neves Júnior (2006) comentou a respeito da possibilidade da transição entre a ecto e a endotermia ter se desenvolvido através de um aumento da massa e/ou da atividade aeróbica em diversas linhas filogenéticas distintas, através de seleções que teriam levado os organismos a desenvolverem capacidades endotérmicas através de mecanismos de evolução convergente, o que corrobora com Angellita (2006), o qual relata que a heterogeneidade termal depende do tamanho, mobilidade e tempo de vida do animal.

LaBarbera (1989) em seus estudos, disse que o tamanho corpóreo é uma das características mais aparentes em um organismo e que esse pode estar relacionado a evolução e ecologia das espécies, corroborando com Calder III (1987), que afirma que na escala evolutiva, o tamanho do corpo de um indivíduo é considerado uma variável dependente do clima, do alimento e da competição interespecífica.

Segundo Schmidt-Nielsen (2002), o ato de voar também está relacionado com o tamanho corpóreo, e que voar mais rápido ou mais lentamente pode aumentar o consumo de oxigênio aumentando assim o consumo metabólico. Mesmo havendo este consumo metabólico, para ele, voar parece ser ainda mais econômico do que correr.



Em 1981, Calder III, realizou um estudo onde propôs que haveria uma redução do custo energético de homeotermia em aves não passeriformes quando comparado com as passeriformes, numa escala filogenética evolutiva, esta teoria é baseada nas idéias de seleção natural de Darwin.

Apesar das pesquisas com endotermia e homeotermia em aves ter ampliado nas últimas décadas, muito pouco se sabe sobre sua origem, e os relatos fósseis não são mais suficientes para contar esta história, isso nos leva as seguintes questões: “Dentro da escala evolutiva, qual grupo de aves modernas teria se adaptado primeiro ao meio? Os passeriformes podem ser considerados aves mais endotérmicas do que os não passeriformes? Ou os passeriformes apenas apresentam um melhor mecanismo de termorregulação frente à homeotermia?”

Sabe-se que na sua grande maioria as aves são animais endotérmicos / homeotérmicos com temperatura corpórea média de 41°C, dotadas de alto isolamento corpóreo (baixa condutividade térmica) e alto metabolismo aeróbio (WHITTOW, 1994).

É sabido, também, que as diferenças significativas nas capacidades de produção energética entre as células animais estão relacionadas à quantidade de mitocôndrias por unidade de massa de tecido (RANDALL *et al.*, 2000), bem como pela superfície de cristas mitocondriais. Associado a isso, existe o fato de que, no processo de produção de ATP, uma parte da energia proveniente da utilização da glicose é perdida sob a forma de calor. Essa maior produção energética, nas aves, parece ser ocasionada por uma maior concentração de enzimas respiratórias nas mitocôndrias, que seriam responsáveis pelo consumo de um maior número de moles de glicose por unidade de tempo. Isto poderia levar a uma maior produção de calor, que em última análise, serviria para aumentar ainda mais o metabolismo, através do aumento da velocidade da reação (MAYES, 1990; NEVES JÚNIOR, 2006).

A lactato desidrogenase (LDH), apesar de não fazer parte diretamente da via glicolítica, está intimamente relacionada com a interconversão do excesso de piruvato a lactato, que sob condições de privação de oxigênio não pôde ser convertido a acetil e ser carregado para dentro da mitocôndria (MAYES, 1990; PINCUS *et al.*, 1995). Sendo assim, sua determinação pode servir como um indicador do nível de metabolismo anaeróbico da célula (MAYES, 1990; PINCUS *et al.*, 1995; RIOUX & BLIER, 2006).

Bencic *et al.* (1997) observaram ainda uma maior atividade da ectoATPase em aves, quando comparada a organismos ectotérmicos, confirmando que o consumo de ATP é mais alto nos endotérmicos. Apesar da forte evidência de que os animais endotérmicos apresentariam uma maior atividade de enzimas mitocondriais que os ectotérmicos por unidade

de tecido, são escassos os estudos comparando as concentrações e atividades das enzimas que atuam na via glicolítica, onde a produção energética é mais baixa.

O presente estudo teve como objetivo estabelecer as atividades plasmáticas da lactato desidrogenase (LDH), em passeriformes e não passeriformes, utilizando esta enzima como caráter filogenético.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico

No ano de 1923, durante pesquisas paleontológicas no deserto de Gobi na Mongólia, foi descoberto um esqueleto adulto de dinossauro, próximo a restos de ovos que se acreditava serem de outra espécie, acreditava-se tratar de um animal adulto predando os ovos para sua alimentação. Desta forma, o esqueleto foi chamado de “ovirraptor” (Ladrão de ovos). Mais tarde, nova descoberta foi realizada no mesmo deserto, evidenciando um embrião intacto e bem conservado, da mesma espécie do esqueleto adulto. Este fato chamou atenção para características de cuidados com a prole e incubação dos ovos. Recentemente, em 1995, relatou-se a descoberta de um fóssil com idade aproximada de 80 milhões de anos, sentado sobre as patas, chocando quinze ovos. Esta descoberta pode ser a primeira prova direta de que os dinossauros cuidavam de seus filhotes e de que a incubação dos ovos, observada nas aves, existia muito antes de surgirem as espécies modernas. Os estudos sobre estes assuntos, de certa forma, contribuem com informações para questionamentos sobre a real origem das aves (CARRER *et al.*, 2004).

Os ossos das aves são leves e osos sendo mal preservados como fósseis, porém uma das mais importantes descobertas ocorreu na Bavária, o *Archaeopteryx lithographica*, de origem aproximada a 147 milhões de anos atrás (HICKMAN JR *at al.*, 2001; DAWSON & WHITTOW, 1994). Este fóssil fornece evidências de que as aves evoluíram a partir de ancestrais répteis. O crânio era muito semelhante ao dos primitivos archossauros tecodontes dos quais acredita-se terem surgido os dinossauros e as aves (ORR, 2000).

O *Archaeopteryx* possuía penas, e a forma das asas e penas eram semelhantes as aves modernas, chamadas neornithes (POUGH, 2003; ORR, 2000). Apesar disso, muito pouco se sabe sobre a evolução das aves modernas que datam de 30 milhões de anos mais tarde, na última parte do período cretáceo (ORR, 2000), quando começaram a ser consideradas predominantes entre as outras (POUGH, 2003).

O Eoceno foi o período de maior diversificação das aves, a maioria delas aquáticas e não passeriformes habitantes de florestas, já as aves canoras do velho mundo acredita-se que tiveram origem no Oligoceno (POUGH, 2003; ORR, 2000), porém não existe um consenso

ainda, sobre a filogenia das aves atuais, tornando impossível fornecer um cladograma das relações evolutivas destes animais (POUGH, 2003), sendo necessários novos estudos.

A falta de relatos fósseis sobre a história evolutiva de alguns animais, fez com que alguns pesquisadores buscassem a manipulação molecular de várias espécies, a fim de se obter o sequenciamento genético e cladograma das mesmas. Este fato é visivelmente observado em Tsuji *et al.* (1994), ao pesquisar a relação evolutiva da enzima LDH em mamíferos, aves, anfíbios, peixes, fungos e bactérias; e Mannen e colaboradores (2003), que estudaram a evolução da LDH em répteis e pombos, seres amniotes com evidências paleontológicas e morfológicas incompletas.

### **2.1.1 Relação com o homem**

COBRAP- ASCON/IBAMA (2004) relata que desde o tempo das cavernas o homem foi se integrando com a natureza e tendo prazer em se relacionar com as formas viventes, e que este convívio se perpetuou de tal forma que hoje é difícil achar um homem que não tenha em sua companhia um animal, seja este mamífero, ave, réptil, anfíbio ou peixe, fazendo crescer de tal forma o mercado considerado de animais pet.

Segundo COBRAP- ASCON/IBAMA (2004), criar passarinho ajuda a conservar as espécies, mas para isto é necessário que as aves sejam criadas de acordo com a legislação vigente. E é exatamente o que vem sendo feito por muito tempo na Europa com aves que apresentavam como característica o pequeno tamanho e o bonito canto, chamadas de passeriformes.

No Brasil, o sucesso da criação de animais considerados domésticos em cativeiro é tão grande que não se considera mais necessário à fiscalização destas criações pelos órgãos competentes como o IBAMA. Esta instituição ainda considera que animais exóticos e não ameaçados de extinção podem ser comercializados, sem risco de pena e sansão para quem os cria, desde que estes sejam mantidos hígidos (COBRAP- ASCON/IBAMA, 2004; COELHO, 2004).

Um exemplo disto, são os Canários Belgas (*S. canarius*), aves canouras, criadas para o mercado Pet devido ao forte apelo emocional que proporciona as crianças, bem como o som belíssimo do canto e a facilidade de manejo e comercialização (COELHO, 2004).

### **2.1.1.1 Criação de Canários Belgas (*Serinus canarius*)**

As Ilhas Canárias, local de origem dos canários, nem sempre tiveram este nome, de início chamava-se Ilhas Afortunadas depois Ilhas Espérides, em seguida Coliseu do Atlântico. Quando foi invadida por espanhóis estes ficaram curiosos com a quantidade de cães e passaram a chamá-la de Ilha Canes, mais tarde Cananeos. Ao descobrirem um pequeno pássaro cantante, batizaram este de canário em homenagem às Ilhas (COELHO, 2004).

No século XVI surgiram os primeiros relatos do deslocamento de pássaros das Ilhas das Canárias em direção a Europa Central. Até o final do século passado a criação de canários era pouco difundida, vindo a se desenvolver na Alemanha onde se tornou o mais notável centro de canaricultura (COELHO, 2004). São aves consideradas quase cosmopolitas, com exceção de Madagascar, Austrália e Oceania, onde não existem relatos de sua presença (ORR, 2000).

No Brasil, duas raças destacaram-se desde o início, despertando o interesse dos criadores: a do Frizado Parisiense e a do Belga ou Hamburguês. Hoje, ambas estão sendo substituídas pelos canários do Harz, vulgarmente conhecidos como Roller (COELHO, 2004), que segundo criadores trata-se de uma mistura destas duas raças citadas acima.

### **2.1.1.2 Criação de Periquitos Australianos (*Melopsittacus undulatus*)**

O periquito australiano, também conhecido como periquitos ondulatos, foi levado para a Europa pela primeira vez pelo explorador e naturalista John Gould em 1840, tornando-se imediatamente uma ave muito difundida. De fato, quarenta anos mais tarde os estabelecimentos comerciais de criação, que possuíam mais de 100 mil exemplares, procuravam satisfazer uma procura cada vez maior no continente europeu. As mutações de cor começaram a surgir nos finais do século XIX, aumentando a beleza dos periquitos; as novas cores constituíam uma novidade e representavam lucros financeiros consideráveis para os criadores que tinham a sorte de conseguir criar estas aves (COELHO, 2004).

O periquito é atualmente, o pássaro doméstico mais comum em todo o mundo, existindo milhões de exemplares como aves de estimação, de aviário e de exposição. São pássaros que se adaptam com facilidade a qualquer meio; o seu habitat natural são as terras áridas e geralmente inóspitas da Austrália. A criação destas aves é fácil, por serem pouco exigentes em termos de alimentação, mesmo durante o período de reprodução (COELHO, 2004). Da mesma forma que ocorre com os canários, os periquitos exercem um forte apelo

emocional com as crianças, desta vez não pelo canto, mas pela variedade de cores que estas aves podem ter.

No Brasil, a legislação não proíbe nem impede a criação e a manutenção do periquito australiano, bem como do canário belga, por se tratar de “animais exóticos domésticos”. Eles também não constam na lista da CITES (Convenção Internacional de Tráfico de Espécies Ameaçadas), logo, nada impede a criação e comercialização destas aves (KURT, 2003; COBRAP- ASCON/IBAMA, 2004).

## 2.1.2 Taxonomia

### 2.1.2.1 Canário Belga

Classe Ave

Subclasse Neornithes

Ordem Passeriforme

Subordem Passeres (Aves canoras)

Família Frigillidae

Subfamília Carduelinae

Gênero *Serinus*

Espécie *Serinus canarius* (Linnaeus, 1958)



**Figura 1** – Desenho de Canário Belga (*Serinus canarius*) (FONTE: Saúde Animal).

### 2.1.2.2 Periquito Australiano

Classe Ave

Subclasse Neornithes

Ordem Psittaciformes

Família Psittacidae

Gênero *Melopsittacus*

Espécie *Melopsittacus undulatus* (Shaw, 1805)



**Figura 2** – Desenho de Periquito Australiano (*Melopsittacus undulatus*) (FONTE: Pets Cosmo).

## 2.2 Características gerais

### 2.2.1 Canário Belga

Os canários são animais de pequeno a médio porte (50 a 120 mm) (JACKSON *et al.*, 2003), apresentam bico curto, grosso e cônico (ORR, 2000).

É uma ave canora, logo, apresenta de 5 a 7 pares de músculos na siringe, 14 vértebras cervicais, tendões planares profundos unidos (ORR, 2000). Os machos normalmente são os que vocalizam mais, principalmente durante a fase reprodutiva, cantam com facilidade, enquanto as fêmeas apenas emitem pios ou cantam com grande esforço (COELHO, 2004). Por isso no mercado Pet, os machos são mais caros quando comparados às fêmeas.

Quanto aos hábitos alimentares, são granívoros, porém em criatórios podem ser alimentados com alpiste, nabo, colza, linhaça, mostarda, aveia, farinhada com ovos e verduras como chicória, brócolis, agrião, couve, e almeirão (ORR, 2000).

A estratégia reprodutiva destes animais é monogâmica, porém, há relatos de trabalhos onde se adotou a poligamia em criatórios, com algum sucesso, porém com restrição de 3 ou 4 fêmeas para cada macho, sendo que as fêmeas devem ser mantidas juntas por algum tempo antes da introdução do macho (COELHO, 2004).

O período de acasalamento é variável em cada país. Isto normalmente ocorre devido à dependência da temperatura ambiente. Como forma geral, o inverno é uma estação com pouca frequência de acasalamento desta espécie, sendo o início desta fase assinalado pelo aquecimento da estação, que vai de setembro a janeiro. Porém em regiões tropicais é possível ver estes animais se acasalando no final de julho e início de agosto (COELHO, 2004).

Segundo Coelho (2004), o fator idade durante o acasalamento interfere na razão sexual de machos e fêmeas da prole. Sendo que as fêmeas normalmente reproduzem até 4 anos de idade, já os machos podem ser bons reprodutores até 5 ou 6 anos.

Quando prontas para reproduzir, as fêmeas preparam ninhos e após 8 dias da fecundação a fêmea inicia a postura que varia entre 3 a 6 ovos. O período de incubação dos ovos dura 13 a 14 dias, e durante este período, os machos levam constantemente alimentação para as fêmeas no ninho (COELHO, 2004).

Os criadores buscam identificar o sexo das aves de várias formas, uma delas é antes do nascimento, pelo formato do ovo. Os ovos de bico redondo geram fêmeas, e os ovos de bico fino produzem machos. Já no período de cria, torna-se mais fácil reconhecer o sexo. Em geral os machos têm a cabeça mais redonda, os olhos são maiores e redondos, o bico mais largo e

curto, as costas também são mais largas, destacando-se pela sua maior vivacidade (COELHO, 2004).

### **2.2.2 Periquito Australiano**

O periquitos são aves pequenas e de diversas cores, com o comprimento do corpo variando de 160 a 180 mm, a cauda de 8 a 9 mm e com massa corpórea de 30 a 40 g (KURT, 2003). Eles apresentam constituição robusta e são pouco sujeitos a doenças. A criação é fácil e eles se reproduzem em grande quantidade (COELHO, 2004).

Ao contrário do que sucede com muitos outros membros da família dos Psitacédeos, estas aves não são barulhentas, não deixando, porém, de serem capazes de reproduzir sons. A sua boa disposição e docilidade natural despertam o carinho das pessoas de todas as idades. Embora possam infligir uma bicada dolorosa se forem manuseados sem o devido cuidado, eles não constituem perigo para as crianças. Além disso, eles podem viver oito anos ou mais, quando criados de forma correta (KURT, 2003).

Quanto ao hábito alimentar, os periquitos são considerados granívoros, se alimentando de frutas e sementes (COELHO, 2004).

Na Austrália, local de origem destas aves, o período reprodutivo ocorre antes do período de chuvas (COELHO, 2004). Além disto, eles adotam como estratégia reprodutiva, diferentemente dos canários, a monogamia. Os periquitos são considerados essencialmente nômades, ou seja, não se fixam a locais para forrageamento ou reprodução, e o que não ocorre aos canários (KURT, 2003). Eles também realizam muda durante 6 semanas, um pouco antes do outono (COELHO, 2004).

Os periquitos atingem a maturidade sexual com 3 ou 4 meses de idade, e normalmente não se acasalam antes de um ano de vida. Sendo cada postura regulada de 4 a 6 ovos, chegando algumas a 10 ou 11 ovos. O período de incubação dura de 17 a 20 dias e os filhotes saem do ninho com mais ou menos um mês de nascidos, tempo necessário para se cobrirem as penas (COELHO, 2004).

Os machos identificam-se pelas narinas da cor azul-violácea e as fêmeas têm-nas cores pardas ou cinza, detalhes difíceis de perceber em periquitos de cor branca ou amarela (COELHO, 2004).



## 2.3 Termos Relacionados à Variação na Produção Calórica e a Termorregulação

### 2.3.1 Endotermia

A capacidade de controlar a temperatura corpórea tornou-se vantajosa à evolução das espécies, uma vez que a maioria dos processos biológicos estão relacionados direta ou indiretamente com a temperatura (POUGH, 1993; RUBEN, 1995; HICKMAN JR *et al.*, 2001). Assim surgiram os animais endotérmicos (POUGH, 1993), os quais são caracterizados como indivíduos que geram seu próprio calor como subproduto do metabolismo, elevando tipicamente suas temperaturas corporais acima das temperaturas ambientais (RANDALL *et al.*, 2000; POUGH, 1993; KOTEJA, 2000; SPEAKMAN, 2005; BENNETT & RUBEN, 1979).

Apesar das atuais pesquisas sobre endotermia, ainda existem poucos dados paleontológicos que descrevam a sua origem. Os principais fatores que caracterizam animais endotérmicos não podem ser observados em fósseis, como por exemplo: elevada capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue, pulmões complexos, concentração de mitocôndrias, etc. (RUBEN, 1995), por isso existem mais especulações do que fatos quando falamos na ontologia da endotermia.

As aves, por se tratarem de animais endotérmicos, regulam suas temperaturas corpóreas por mecanismos que equilibram precisamente ganho e perda de calor de origem metabólica, podendo alterar a intensidade de produção de calor variando bastante a taxa metabólica. Deste modo, um endotérmico mantém uma temperatura corpórea elevada constante ajustando a produção de calor de acordo com a sua perda pelo corpo, perante diferentes condições ambientais (POUGH, 1993; HICKMAN JR *et al.*, 2001; KOTEJA, 2000).

O aumento da temperatura corpórea em mamíferos e aves seguiu caminhos semelhantes, porém acredita-se que houve uma seqüência de eventos que culminou com a endotermia, sendo que o principal fator que levou a esta foi o aumento da capacidade aeróbica (BENNETT & RUBEN, 1979; RUBEN, 1995; KOTEJA, 2000; SEEBACHER *et al.*, 2006). Esta aerobiose é oriunda de um sistema cardiovascular eficiente que permite irrigar os músculos locomotores, otimizando a demanda funcional do sistema respiratório e outros compartimentos como: sangue, coração, capilares e mitocôndria (BISHOP, 2005; BISHOP & BUTLER, 1995; HASMUSSEN & HASMUSSEN, 2000).

As mitocôndrias são organelas intracitoplasmáticas de células animais, onde ocorre a formação de ATP a partir da oxidação de uma molécula de glicose gerando como produto duas moléculas de piruvato, na Via Glicolítica. Estas duas moléculas darão origem a duas moléculas de Acetil CoA, iniciando o Ciclo do Ácido Cítrico e formando ATP, NADH e FADH. Os dois últimos irão participar da Cadeia Respiratória, tendo como consequência a formação de grande quantidade de energia (VOET *et al.*, 2008; GUYTON, 2005; LEHNINGER & NELSON, 2005; MURRAY *et al.*, 2006; STRYER *et al.*, 1996; HASMUSSEN & HASMUSSEN, 2000).

Ao contrário do metabolismo anaeróbico, o sistema oxidativo apresenta uma enorme capacidade de produção de energia, na forma de ATP. Este processo impõe considerável demanda sobre a capacidade do organismo de liberar oxigênio aos músculos ativos (WILMORE & COSTILL, 2001).

### **2.3.2 Homeotermia**

Na primeira metade do século XX, os vertebrados eram classificados de acordo com a relação de produção interna de calor e a temperatura ambiente, e as terminologias poiquilotermos (calor variável) e homeotérmico (mesmo calor) eram amplamente difundidas, porém estas se tornaram obsoletas à medida que novos estudos foram surgindo (POUGH, 2003; HICKMAN JR *et al.*, 2001).

Sabe-se que a maioria das aves são animais endotérmicos homeotérmicos, porque além de produzirem calor, eles conseguem manter as temperaturas corporais acima da temperatura do ambiente e regulam suas temperaturas corporais dentro de limites fisiológicos estreitos pelo controle da produção e da perda de calor (RANDALL *et al.*, 2000; POUGH, 2003; KOTEJA, 2000; RUBEN, 1995). Porém, existem algumas aves que realizam torpor com finalidade de termorregular em ambientes extremamente frios, fazendo o que chamamos de pseudo-hibernação. Esses animais são considerados endotérmicos heterotérmicos, pois conseguem reduzir sua temperatura corpórea se aproximando da temperatura ambiente, sem igualá-la. (COOPER & GEISER, 2008).

A ausência de evidências e formas intermediárias das espécies atuais fez com que o autor Dolnik, em 2003, pesquisasse a origem da homeotermia, tentando correlacionar a massa corpórea de répteis, aves e mamíferos, com suas respectivas taxas metabólicas basais.

## **2.4 Termos Relacionados ao Tamanho e ao Metabolismo**

### **2.4.1 Massa**

A massa é uma grandeza física, propriedade fundamental da matéria, diretamente relacionada ao peso, e estas duas propriedades podem ser expressas em quilogramas (Kg) (SCHIMIDT-NIELSEN, 2002).

Acredita-se que o tamanho do corpo nos animais aumenta durante a história filogenética de uma dada espécie, e que este aumento está relacionado com a evolução das espécies (PIANKA, 1995; HUNT & ROY, 2006; NAGY, 2005; CALDER III, 1983).

Em 1983, Calder III relatou que o forrageamento pelos animais é uma variável dependente da massa corpórea do indivíduo, isso significa que quanto maior o animal, maior será o percurso que ele fará à procura de alimento, gastando grande quantidade de energia na busca.

Vários estudos têm sido realizados relacionando taxa metabólica basal de aves com massa corpórea, sendo que em passeriformes a TMB corrigida através da massa é de 65% quando comparado com outras aves (McNAB, 2009; LASIEWSKI & DAWSON, 1967), este frenesi ocorreu desde que LASIEWSKI & DAWSON (1967) publicaram uma revisão comparando TMB e massa corpórea de passeriformes e não passeriformes.

### **2.4.2 Taxa metabólica basal (TMB)**

De acordo com CALDER III (1987), a Taxa Metabólica Basal (TMB) é a mais baixa taxa contínua, em jejum e repouso, durante a fase inativa do ciclo diário de um indivíduo.

A taxa metabólica basal também pode ser vista como a mínima taxa de consumo de oxigênio necessário para sustentar a vida em estado organizado (GUYTON & HALL, 2005; POUGH, 2003; BISHOP, 1999; RUBEN, 1995), isto é, a TMB inclui o custo de ventilação dos pulmões ou brânquias, do bombeamento do sangue através do sistema circulatório, do transporte de íons através de membranas e de todas as outras atividades que são necessárias para manter a integridade de um organismo, não incluindo gastos energéticos em atividades como a locomoção. A TMB é sensível a temperatura, o que significa que o custo da vida é afetado por mudanças na temperatura corpórea (POUGH, 2003).

Segundo Schmidt-Nielsen (2002), os passeriformes têm taxas metabólicas um pouco mais altas que os não passeriformes do mesmo tamanho e, portanto as aves são divididas em dois grupos distintos (passeriformes e não passeriformes) quando se estuda seu metabolismo.

Existe também uma relação direta entre massa corpórea e taxa metabólica, ou seja, quanto maior a massa corpórea de um animal maior será a energia consumida por unidade de massa por unidade de tempo (RANDALL *et al.*, 2000; DAWSON, 1975; NEVES JÚNIOR, 2006).

Níveis mínimos ou basais de metabolismo são altamente previsíveis, sendo determinados principalmente por massa, temperatura ambiente e filogenia (HINDS *et al.*, 1994). Já Dolnik (2003) observa a possibilidade de a taxa metabólica basal ter origem comportamental, através da termorregulação.

A relação exponencial de taxa metabólica basal e massa corpórea nos animais descreve uma equação geral:  $TMB = a \times (\text{massa corpórea})^b$ , sendo que para cada grupo de animais temos uma constante “a”, que para passeriformes (1) corresponde a 129 e não passeriformes (2), 78. E uma segunda constante “b”, 0,75, que é fixa para organismos unicelulares, plantas e animais endotérmicos ou ectotérmicos (LASIEWSKI & DAWSON, 1967; DAWSON, 1975; CALDER III, 1983). Os autores concluíram relatando que a variação da constante “a” difere entre passeriformes e não passeriformes não só pela diferença da média da massa corpórea deles, mas também pelo alto metabolismo que os passeriformes apresentam, sendo incorreto, portanto, manter uma mesma constante “a”.

$$(1) TMB = 129 \times m^{0,75}$$

$$(2) TMB = 78 \times m^{0,75}$$

Entre os vertebrados endotérmicos, a alometria tem demonstrado que os passeriformes apresentam a mais alta taxa metabólica (LASIEWSKI & DAWSON, 1967; RESENDE *et al.*, 2005).

Resende *et al.* (2005) em seu estudo sobre diferenças na escala energética entre passeriformes e não passeriformes, utilizando como ferramenta matemática, a alometria, verificou que existe diferença significativa entre as TMBs dos dois grupos filogenéticos. Eles também notaram que não existe diferença significativa na taxa metabólica máxima de termorregulação, ou seja, ambos os grupos, dentro de suas características fisiológicas, estão aptos a se adaptarem as mudanças climáticas. Além disso, os autores frisaram a necessidade de novas pesquisas relacionando TMB e taxa metabólica máxima de termorregulação como fundamento da evolução da endotermia, corroborando com Dolnik (2003).

Nos animais endotérmicos, o aumento da capacidade metabólica fez com que aumentasse a atividade regulatória de algumas enzimas como a citrato sintase e citocromo c oxidase, no metabolismo aeróbico, e a lactato desidrogenase (LDH), no anaeróbico. Para isto, pressupõe-se que ocorreram mudanças nas estruturas de proteínas, modificações nas membranas e regulação na expressão gênica (SEEBACHER *et al.*, 2006).

Em aves, estas mudanças na atividade de enzimas do metabolismo oxidativo podem ter estabilizado a capacidade metabólica endotérmica durante a ontogenia, aumentando a capacidade respiratória, cardiovascular, gastrointestinal e talvez, neuronal e endócrina (SEEBACHER *et al.*, 2006).

Segundo Mckechnie (2008), as aves apresentam plasticidade fenotípica de limites mínimos e máximos de taxa metabólica, levando a variações intra ou interespecíficas em características fisiológicas, refletindo em um número variável de pesquisas de variações fenotípicas relacionadas à massa corpórea, inércia filogenética e adaptação genotípica, bem como flexibilidade fenotípica relacionada à aclimação e aclimatização. Com intuito de resolver este impasse, o autor propõe a revisão de pesquisas que utilizam estas taxas, ajustando sempre através de fatores ambientais, como a temperatura.

#### **2.4.3 Taxa metabólica basal específica (TMBE)**

É a taxa metabólica de uma unidade de massa de tecido, ou seja, é a quantidade de oxigênio consumido por quilograma por hora. Diferentemente da TMB, a TMBE diminui com o aumento da massa corpórea (RANDALL *et al.*, 2000).

O gasto energético dos animais pode ser afetado pela massa corpórea. Animais menores tendem a apresentar taxas metabólicas massa-específicas mais elevadas que os animais maiores (RANDALL *et al.*, 2000; TURNER *et al.*; 2005).

Portanto, as massas corpóreas são utilizadas para o cálculo das taxas metabólicas basais (TMB) e taxas metabólicas específicas (TMBE) (SEDGWICK, 1993; LASIEWSKI & DAWSON, 1967). A TMBE é estimada de acordo com as seguintes fórmulas, ajustadas para aves passeriformes (1) e não passeriformes (2), respectivamente:

$$(1) \text{ TMBE} = 129 \times m^{-0,25}$$

$$(2) \text{ TMBE} = 78 \times m^{-0,25}$$

#### **2.4.3.1 Relação massa / superfície corpórea**

Em 1983, o pesquisador Max Rubner propôs uma teoria atrativa conhecida por hipótese da superfície, onde ele acreditava que aves e mamíferos que mantinham a temperatura corporal mais ou menos constante deveriam apresentar proporcionalidade em relação à superfície corporal. Isto ocorre porque a massa aumenta de acordo com o cubo da dimensão linear ( $a^3$ ), enquanto a área de superfície aumenta apenas com o quadrado ( $a^2$ ), ou seja, a área de um objeto de proporções invariáveis, e densidade uniforme variam com uma potência de  $2/3$  de sua massa. Portanto, a razão superfície-volume para animais pequenos é maior que para animais grandes (HILL *et al.*, 2004; RANDALL *et al.*, 2000; LABARBERA, 1987).

Quando comparamos indivíduos de massas semelhantes chamamos de isometria (RANDALL *et al.*, 2000; LABARBERA, 1987). Nudds & Rayner (2006) com o intuito de escalonar área frontal e massa corpórea através de isometria, verificaram que não há diferença significativa entre passeriformes e não passeriformes, porém os espécimes utilizados estavam mortos e preservados (congelados ou em álcool), o que segundo os autores, pode ter tornado o experimento inexato.

Se compararmos indivíduos com proporções corporais diferentes, temos alometria (RANDALL *et al.*, 2000). Logo, a alometria consiste no estudo da independência matemática entre duas variáveis orgânicas de unidades diferentes, onde na prática procura-se extrapolar de um valor de necessidade calórica de um modelo animal conhecido para um que se quer conhecer (NEVES JUNIOR, 2006).

Segundo LaBarbera (1987), a mensuração de volume corpóreo é inconveniente e imprecisa, e para substituir isto, pesquisadores assumiram que a densidade dos organismos é semelhante, logo, substituíram o volume pela massa no cálculo de alometria.

#### **2.4.4 Termorregulação sem termogênese endógena**

Os animais endotérmicos usam uma variedade de mecanismos fisiológicos e comportamentais para manter a temperatura corporal dentro de uma faixa estreita (RANDALL *et al.*, 2000). Estes mecanismos são chamados de termorregulação.

Acredita-se que a termorregulação, sensibilidade térmica e aclimação térmica surgiram da necessidade de adaptação térmica do organismo ao meio. Para entender melhor esta problemática, Angellita *et al.* (2006) revisaram e integram modelos atuais para formar um

modelo conceitual de coadaptação, os quais foram insuficientes para se predizer qual comportamento térmico cada organismo terá frente a um clima, por isso passaram a associar estas teorias às associações bióticas de estratégias fisiológicas e comportamentais e concluíram que a percepção e a resposta de cada organismo à heterogeneidade termal depende do tamanho do corpo, da mobilidade e do tempo de vida deste animal.

Segundo Silva (2006), os mecanismos de termogênese são mais antigos do que a homeotermia, e alguns são ativados constantemente, sendo regulados em sua maioria por mecanismos neural e hormonal (DAWSON, 1975; SILVA, 2006), porém alguns animais com a finalidade de reter calor em seu interior e evitar perdas passaram a apresentar estratégias para manutenção do calor interno, através de modificações do seu tegumento, penas em aves e pêlos em mamíferos. Esta idéia é compartilhada por Pough (2003) ao afirmar que as aves produzem grandes quantidades de calor, que é retido em seus corpos pelo isolamento fornecido pelas penas, ou seja, quanto maior a atividade celular, menor será o isolamento corpóreo (NEVES JÚNIOR, 2006; ELSE & HULBERT, 1985).

#### **2.4.4.1 Isolamento pela massa**

Sabe-se que é difícil determinar a temperatura corpórea normal para um animal e desprezando-se as variações causadas pelas condições externas e atividade, pode-se dizer que aves mantêm sua temperatura a  $40 \pm 2^\circ \text{C}$ , sendo que as de pequeno porte podem ter temperatura corpórea um pouco mais elevada do que as aves grandes (SCHIMIDT-NIELSEN, 2002; RUBEN, 1995).

Acredita-se que as aves pequenas produzem e perdem calor mais facilmente para o ambiente, devido ao seu metabolismo mais acelerado e menor massa corpórea facilitando a condutividade térmica do corpo para o ambiente (SCHIMIDT-NIELSEN, 2002). Este fato corrobora com Silva (2006) que relata em seu trabalho que espécies menores não só tem taxa metabólica alta, como também apresentam condutância térmica maior devido à maior relação área/volume.

#### **2.4.4.2 Comportamento de escolha pelo microclima e substrato**

As aves normalmente ao construírem seu ninho escolhem substratos espalhados pelo ambiente. Sejam estas folhas, gravetos, capim seco ou outro tipo de material, a escolha certa do substrato que vai constituir seu ninho permite que este retenha mais ou menos calor

durante a incubação dos ovos, gerando o que chamamos de microclima. Esta teoria foi comprovada com a pesquisa de Mayer *et al.* (2009), que estudou a construção do ninho de uma ave verificando a escolha dos substratos e a termorregulação dos ovos a partir do microclima gerado.

#### **2.4.4.3 Ajustes circulatórios e metabólicos**

Existe um aumento desigual de temperatura nas várias partes do organismo, isto se deve ao fluxo sanguíneo que é direcionado quase que exclusivamente aos órgãos vitais (SCHIMIDT-NIELSEN, 2002).

Quando estudamos o sistema circulatório das aves, esperamos que aves maiores fossem capazes de prolongar por mais tempo o seu vôo, uma vez que apresentam uma maior massa corpórea e o gasto energético para o vôo, ser alto. Porém isto não ocorre, pois a quantidade de sangue requerido para os músculos das asas em aves grande é menor do que em aves de pequeno porte. Essa quantidade máxima de sangue bombeado do coração para o corpo pode ser calculada através da massa corpórea em cálculo alométrico (BISHOP, 2005; BISHOP & BUTLER, 1995).

Bishop (2005) e Ruben (1995) corroboram ao dizer que as aves menores apresentam um maior fluxo sanguíneo nos músculos das asas, então o vôo destes animais é mais aeróbio do que nas aves grandes.

#### **2.4.4.4 A utilização de anexos corporais**

A termogênese relacionada ao cuidado parental vem sendo amplamente discutida, onde Farmer (2000) propôs que o aumento da temperatura provocada por termogêneses sem arrepios e tremedeira em adultos, tem como benefícios o aquecimento e desenvolvimento dos seus embriões. Contraopondo-se a isto, Angellita & Sears (2003), defendem que a termogênese surgiu durante o cuidado parenteral em espécies que estavam num limite de desafios termiais de sobrevivência e reprodução de indivíduos, sendo que isto ocorre com um grande custo energético, principalmente para indivíduos em ambientes frios, que necessitam de um maior isolamento corpóreo ou quantidade de calor produzida.

Por tudo isso, Angellita & Sears (2003), condena a idéia de Farmer (2000) e afirma que o cuidado parental é uma conseqüência, e não uma causa da endotermia, caso contrario as



aves seriam endotérmicos facultativos, apresentando penas apenas durante o período reprodutivo.

Nem todas as aves jovens exigem dos pais os cuidados parentais, podendo, portanto ser precoce, já apresentando penas e serem auto-suficientes, ou ser altriciais, precisando ser guardados e alimentados por um ou ambos os pais, após a eclosão do ovo (POUGH, 2003; BROWN & DOWNS, 2002; DAWSON & WHITTOW, 1994).

Ao estudar a evolução de tegumentos em amniotas, Wu *et al.* (2004) relatou que em aves estes tegumentos têm basicamente três funções: isolamento corpóreo, vôo e comunicação, as penas exercem as duas primeiras funções citadas acima.

Silva (2006) menciona que a manutenção da temperatura corpórea em habitat frio fez com que os animais utilizassem isolamento térmico para manter as funções vitais e minimizar a área de superfície do corpo de perda de calor para o ambiente (RUBEN, 1995; SCHIMIDT-NIELSEN, 2002). As aves além de possuírem penas, podem retraindo as patas e a cabeça o mais profundamente possível para dentro das penas, e assim evitar a perda de calor para o ambiente (SCHIMIDT-NIELSEN, 2002).

Ao estudar aclimatização de temperatura em aves e mamíferos, Chaffee & Roberts (1971), observaram que aves de habitat muito frio, tendem a apresentar uma maior quantidade de penas quando comparado a aves de habitat com clima tropical, concluindo que estes animais utilizavam o recurso de modificação do tegumento com a finalidade de isolar o corpo da temperatura ambiente.

#### **2.4.5 Termogênese**

Segundo Randall e colaboradores (2000), a termogênese é a produção de calor através de meios metabólicos tais como: degradação de lipídios, tecido adiposo marrom ou contração muscular durante o tremor, ou seja, é a quebra de reservas de energia tendo como produto final metabólico o calor.

##### **2.4.5.1 Respiração celular aeróbica**

Todos os vertebrados e a maioria dos invertebrados que necessitam de oxigênio para a respiração celular, são chamados aeróbios, logo, o indivíduo que realiza esse processo apresenta um metabolismo aeróbico, onde as moléculas de alimentos são oxidadas pelo

oxigênio molecular, na via do ciclo do ácido cítrico, formando dióxido de carbono, água e energia (RANDALL *et al.*, 2000; VOET *et al.*, 2008; GUYTON & HALL, 2005).

Acredita-se que a capacidade do metabolismo aeróbico está fisiologicamente ligada a TMB, então, se há o aumento da capacidade aeróbica, teremos a TMB aumentada (KOTEJA, 2000). Isto pode ser exemplificado com o estudo de Angellita & Sears (2003) que ao pesquisarem sobre a evolução dos cuidados parentais, observou que a alta taxa metabólica basal (TMB), e conseqüentemente uma alta temperatura corpórea nas aves, serviram somente para aumentar a temperatura dos embriões durante o seu desenvolvimento, e depois houve um aumento na capacidade aeróbica para realização do cuidado parental (KOTEJA, 2000).

#### **2.4.5.2 Respiração celular anaeróbica**

Alguns animais podem viver na ausência de oxigênio, anaeróbios obrigatórios (SCHIMIDT-NIELSEN, 2002; GUYTON & HALL, 2005) e outros podem se adaptar a uma ausência temporária, anaeróbios facultativos (VOET *et al.*, 2008).

As aves ao necessitarem de alta demanda energética podem exceder a capacidade do sistema aeróbico, quando isto ocorre o metabolismo anaeróbico é usado para suplementar a energia consumida. Nos vertebrados o metabolismo anaeróbico envolve principalmente (mas não exclusivamente) a produção de ácido láctico (BENNETT & RUBEN, 1979) como produto final reduzido, oriundo do piruvato, pela via glicolítica. Esta reação enzimática de oxi-redução ocorre com auxílio da enzima lactato desidrogenase (LDH) e do cofator enzimático,  $\text{NAD}^+$  (VOET *et al.*, 2008).

### **2.5 Aspectos Relacionados às Diferenças entre os Organismos Ecto e Endotérmicos**

A endotermia trouxe algumas vantagens aos mamíferos e aves como: Estabilização da catálise enzimática, independência no tempo de atividade diária e resistência ao frio (BENNETT & RUBEN, 1979).

A taxa de gasto metabólico em repouso dos endotérmicos é similar a todos os animais ectotérmicos, porém a taxa metabólica basal em mamíferos e aves, requer de 5 a 10 vezes mais energia para sua manutenção do que em vertebrados ectotérmicos de similar tamanho e temperatura corporal. Já durante atividade, aves e mamíferos, são capazes de aumentar o

consumo de oxigênio e excederem o trabalho aeróbico, aumentando assim a TMB (BENNETT & RUBEN, 1979, RUBEN, 1995).

Segundo Ruben (1995), a alta capacidade aeróbica em animais endotérmicos está diretamente relacionada à grande quantidade de mitocôndrias por área de tecido presente nos órgãos e músculos destes animais quando comparados aos ectotérmicos, logo, os endotérmicos são grandes produtores de calor.

## 2.6 Lactato Desidrogenase

A lactato desidrogenase (LDH) é uma das enzimas mais utilizadas como modelos para investigar a evolução molecular de isoenzimas de famílias multigenes (LI *et al.*, 2002; DYBUS *et al.*, 2006; TSUJI *et al.*, 1994).

Esta enzima de transferência de hidrogênio (MOSS & HENDERSON, 1998) catalisa a interconversão do piruvato em lactato através da coenzima, nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD<sup>+</sup>) (TSUJI *et al.*, 1994; MAYES, 1990; PINCUS *et al.*, 1995; MANNEN *et al.*, 1997; MOSS & HENDERSON, 1998; DYBUS, *et al.*, 2006), sob condições de privação de oxigênio, fazendo parte portanto da via glicolítica fermentativa. Sendo assim, sua determinação pode servir como um indicador do nível de metabolismo anaeróbico da célula (MAYES, 1990; PINCUS *et al.*, 1995; GUYTON & HALL, 2005).

Nos vertebrados, a LDH é um composto tetrâmero que apresenta dois homólogos ou subunidades (JAVED *et al.*, 1997; TSUJI *et al.*, 1994; HERBSCHLEB-VOOGT & KHAN, 1981; HALL, 2000; SEEBACHER *et al.*, 2006): LDH tipo M (tipo 5 ou LDH A) e LDH tipo H (tipo 1 ou LDH B) (JAVED *et al.*, 1997; MANNEN *et al.*, 1997; LI *et al.*, 2002; VOET *et al.*, 2008), sendo que a primeira está presente principalmente no músculo esquelético em condições de anaerobiose e a segunda em tecidos aeróbicos, como o músculo cardíaco (VOET *et al.*, 2008; DYBUS *et al.*, 2006).

A LDH tipo M parece atuar principalmente na interconversão de piruvato a lactato através do NAD<sup>+</sup>, ao passo que a do tipo H, está mais adaptada para catalisar a reação inversa (JAVED *et al.*, 1997; VOET *et al.*, 2008).

Em 1997, Javed e colaboradores comentaram a possibilidade de haver a combinação de várias formas de subunidades produzindo cinco isoenzimas de LDH, que diferem em suas propriedades físico-químicas, imunológicas e fisiológicas.

### 2.6.1 Lactato desidrogenase nas aves

As aves em geral, apresentam a LDH em três subunidades: LDH A, LDH B e LDH C (TSUJI *et al.*, 1994; LI *et al.*, 2002).

Em 1994, Tsuji e colaboradores pesquisaram a relação evolucionária das LDHs em mamíferos, aves, anfíbios, peixes e bactérias, e relataram que em aves columbriformes e mamíferos é possível encontrar uma isoenzima do LDH conhecida como LDH C, presente nos testículos.

A LDH em aves, não é específica para diagnosticar nenhum tipo de patologia. Porém ela pode estar aumentada quando temos hemólise ou lipêmia nas amostras coletadas de forma indevida (FUDGE, 2000).

Rioux & Blier (2006) realizaram estudos com biópsias de fibras musculares do Gastrocnêmio de humanos e músculo peitoral de aves, com a intenção de quantificar a LDH que se encontra em alta atividade nos músculos, e comprovar a plasticidade evolucionária do metabolismo muscular.

Segundo Moniello *et al.* (2005), em suas pesquisas com coleta de sangue para realização bioquímica e enzimológica de avestruzes, a atividade enzimática nos animais aumenta com a idade e a maturidade do corpo, então podemos crer que dentro de uma mesma espécie, quanto maior a massa corpórea de um indivíduo, maior será sua atividade enzimática. Estas informações corroboram com Bailey *et al.* (1997), que ao concluir seu trabalho, relatou a existência de uma mudança na atividade enzimática de falcões de acordo com o aumento da idade, contudo a razão da mudança idade-dependente permaneceu sem elucidação.

A LDH pode apresentar uma mudança na sua conformação quando o meio não atende a temperatura ótima em que a enzima exerce sua função catalítica, isto ocorre independentemente da expressão do gene, logo, se ocorrer qualquer mudança conformacional durante o desenvolvimento da ave, isto pode determinar a inativação da enzima (SEEBACHER *et al.*, 2006; NEVES JUNIOR, 2006). Por isso ao estudarmos a atividade enzimática de um animal qualquer, devemos ter em mente qual a temperatura corporal do animal que estamos trabalhando, para que as análises sejam válidas.

## 2.7 Coleta de Amostras Sanguíneas

Normalmente, o volume total de sangue em aves corresponde a 10% de sua massa corpórea, sendo que apenas 1% pode ser coletado, o que equivale a 10% do sangue total (FUDGE, 2000).

A agitação ou o estresse em aves durante a coleta pode ocasionar alterações nas amostras, por isso a coleta deve ser o mais rápido possível e sem provocar um grande estresse ao animal (FUDGE, 2000).

Em 1997, Bailey e seus colaboradores, ao analisar a LDH e outras enzimas plasmáticas em falcões e pombos, pode observar o aumento da atividade enzimática em aves que foram manipuladas por muito tempo, sendo que os pombos depois de estressados apresentam uma redução muito lenta das enzimas testadas quando comparados aos falcões.

Moniello *et al.*, (2005) ao pesquisar acesso venoso para coleta de sangue de avestruzes, observou que não há diferença significativa na concentração enzimática em locais diferentes de coleta e sim na idade do animal. Além disso, devemos observar o tamanho do animal, quanto menor o animal mais difícil será o acesso, sendo necessário na maioria das vezes utilizarmos grandes vasos para a venopunção.

A veia jugular direita é o melhor local para coleta de sangue em algumas espécies, principalmente aves pequenas como passeriformes. Entretanto, este acesso pode ser mais difícil de localizar ou provocar hematomas com maior facilidade (FUDGE, 2000).

Khazralinia *et al.* (2006) ao analisar a LDH do soro de avestruzes, verificou que não existe diferença significativa desta enzima entre idade ou sexo, além disso o autor concluiu que a LDH em avestruzes é mais alta quando comparado com outras espécies, logo, a atividade de LDH é espécie-dependente .

## 2.8 Anticoagulantes

O etilenodiaminotetracético (EDTA) é um anticoagulante amplamente empregado em mamíferos, porém, quando usado para coleta de sangue em aves, pode causar mudanças osmóticas principalmente em eritrócitos, (FUDGE, 2000; CAMPBELL, 1994) levando a hemólise das amostras.

A heparina sódica é um anticoagulante usado com grande flexibilidade em diversos exames laboratoriais, incluindo bioquímica, através do plasma heparinizado. O sangue

heparinizado é interessante para realizar análises em animais onde não podemos coletar muita amostra (FUDGE, 2000).

Segundo Moss & Henderson (1998) as amostras de soro ou plasma heparinizado para análise de LDH são satisfatórias. O plasma contendo outros anticoagulantes como oxalato, não deve ser utilizado, pois podem causar hemólise.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Animais

Foram avaliados 32 Canários Belga (*Serinus canarius*), de sexo feminino e 32 Periquitos Australianos (*Melopsittacus undulatus*), a maioria do sexo feminino.

Os indivíduos foram submetidos à avaliação física, e ao serem considerados clinicamente hígidos (através da avaliação de um médico veterinário), foram introduzidos ao experimento.



**Figura 3** – Canários Belgas (*S. canarius*) utilizados no experimento.



**Figura 4** – Periquitos Australianos (*M. undulatus*) utilizados no experimento.

### 3.2 Locais de Realização do Projeto

Os periquitos tiveram origem de criatórios particulares em Vassouras e os canários, provenientes de criatórios do Município de Duque de Caxias, todos no Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

As coletas de sangue total foram realizadas logo após a contenção e exame físico, no Hospital Veterinário da Universidade Severino Sombra/ USS, Vassouras.

As análises laboratoriais foram realizadas nos Laboratórios de Patologia Clínica da Global Vet, Rio de Janeiro.



**Figura 5** – Hospital Veterinário da Universidade Severino Sombra/ USS



**Figura 6** – Laboratório de Patologia Clínica da Global Vet.



### 3.3 Captura e Contenção

Todas as aves foram contidas manualmente, e mantidas aclimatizadas à temperatura de 22° C a fim de diminuir o estresse delas.

A avaliação física teve início antes da contenção.



**Figura 7** – Contenção física de Canário Belga (*S. canarius*).

### 3.4 Avaliação da Massa Corpórea

As aves foram pesadas em balança digital de precisão GEHAKA modelo BG 200 a fim de quantificar sua massa corpórea em kilogramas.



**Figura 8** – Balança digital utilizada para verificação da massa corpórea das aves.

### **3.5 Cálculo da Taxa Metabólica Basal (TMB)**

É o peso metabólico elevado a 0,75 e multiplicado por uma constante. Observamos que esta constante é específica para um determinado grupo de animais, gerando um gráfico de massa dos animais X taxa metabólica fornecendo uma linha reta e a comparação dessas linhas entre grupos de animais deferentes mostra uma série paralela que tem uma obliquidade de aproximadamente 0,75 e diferindo apenas em suas intercessões (FOWLER, 1993).

A taxa metabólica basal pode ser expressa em quilocalorias (FOWLER, 1993).

### **3.6 Cálculo da Taxa Metabólica Específica (TMBE)**

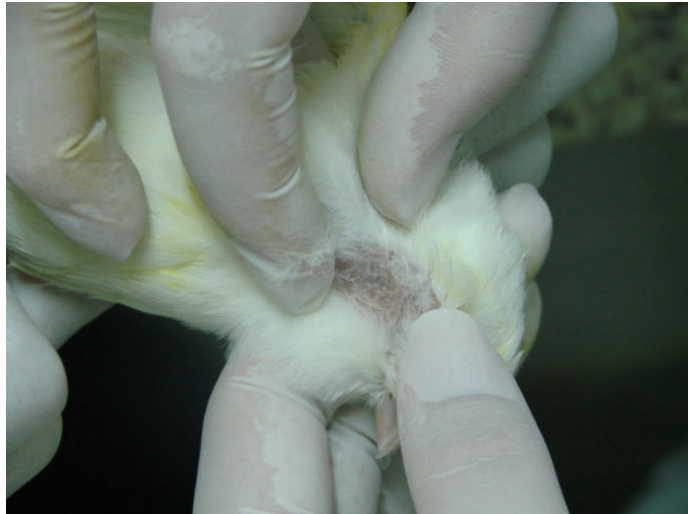
É o peso metabólico elevado a - 0,25 e multiplicado pela mesma constante da TMB. É expresso em quilocalorias/Kg/dia. Indica a energia mínima produzida por um animal num dia para cada quilograma de seu peso (FOWLER, 1993).

### **3.7 Coleta de Amostras Sanguíneas**

O sangue foi coletado através de punção venosa na veia jugular, com seringa BD Ultra Fine II curta de volume de 0,3mL nos canários belga e com volume de 1 ml nos periquitos australianos.

Após a coleta, o sangue foi depositado em eppendorf de volume 3ml com heparina sódica rinsada a parede do tubo e depois foi centrifugado sob refrigeração (cerca de 24° C) em microcentrífuga refrigerada modelo RT 805, no laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Severino Sombra, Vassouras/ RJ.

Antes de serem liberados, os animais foram pesados em balança digital de precisão GEHAKA modelo BG 200 com auxílio de uma caixa de papelão.



**Figura 9** – Visualização da veia jugular direita em Canário Belga (*S. canarius*).



**Figura 10** – Seringas utilizadas para coleta de sangue.



**Figura 11** – Eppendorf utilizado para armazenamento do sangue.



**Figura 12** – Microcentrifuga refrigerada utilizada para centrifugar as amostras.



**Figura 13** – Coleta de sangue em veia jugular de Canário Belga (*S. canarius*).

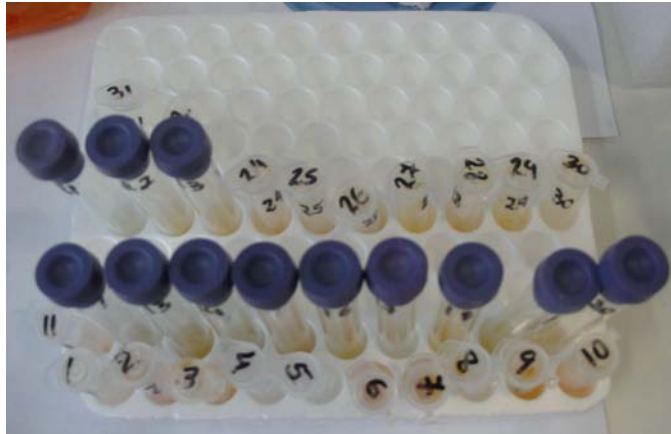
### **3.8 Determinação da Atividade da LDH**

Após centrifugação das amostras, o plasma heparinizado foi separado e congelado a 4° C, sendo analisado bioquimicamente no dia seguinte.

As amostras foram transportadas congeladas em isopor com gelo reciclável até a Global Vet/ RJ, onde foram processadas. O material restante está conservado sob congelamento, podendo ser utilizado como contra prova.

Foram utilizados Kits de bioquímica de LDH UV – PP da Gold Analisa, com método cinético de análise, através da técnica determinada pelo kit e leitura em espectrofotômetro modelo BIOPLUS 2000.

A técnica consta da adição de 20 µl do plasma heparinizado à 1 ml do reagente de trabalho, previamente aquecido à 37° C em banho-maria, no tubo de ensaio. Após a homogeneização, a solução foi analisada em espectrofotômetro.



**Figura 14** – Amostras de plasma heparinizado de Periquitos Australianos.



**Figura 15** – Kits bioquímicos de LDH UV – PP da Gold Analisa utilizados.



**Figura 16** – Espectrofotômetro semi-automático Bioplus 2000.

### **3.9 Análise Estatística**

Os dados de massa corpórea, TMB, TMBE e LDH foram submetidas ao cálculo da média e desvio padrão pelo Excel 2003 e pelo programa estatístico SPSS. Em seguida, as médias foram comparadas através do teste (t) de Student ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa de estatística Statistic 7,0 e SPSS. Foram feitos gráficos, relacionando as atividades de LDH às massas, LDH às TMBs e LDH às TMBEs das aves passeriformes e não passeriformes. E por último foram feitos testes de análise multivariada de variância (MANOVA).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE LDH ENCONTRADOS

Os resultados dos parâmetros bioquímicos de LDH encontrados neste estudo foram apresentados em quadros evidenciando os valores pontuais de cada Canário Belga (n=32) (Quadro 1) e Periquito Australiano (n=32) (Quadro 2), com suas médias e desvios padrão para volume de amostra coletado (ml), massa corpórea de cada ave (Kg) e concentração de LDH (U/L).

**Quadro 1-** Resultados da atividade de LDH em Canários Belga (*Serinus canarius*) (n=32).

COLETA DE SANGUE DE CANÁRIOS BELGA PARA DOSAGEM DE LDH					
Número	Sexo	Volume de sangue (ml)	Massa (Kg)	LDH (U/L)	Observações
1	F	0,25	0,020	1456	Jugular
2	F	0,25	0,017	1689	Jugular
3	F	0,25	0,018	2150	Jugular
4	F	0,25	0,020	1506	Jugular
5	F	0,10	0,016	1596	Jugular
6	F	0,20	0,017	989	Jugular
7	F	0,20	0,020	2129	Jugular
8	F	0,20	0,018	1765	Jugular
9	F	0,20	0,020	869	Jugular
10	F	0,15	0,020	1651	Jugular
11	F	0,25	0,021	1489	Jugular
12	F	0,25	0,017	2126	Jugular
13	F	0,20	0,017	1060	Jugular
14	F	0,20	0,016	1182	Jugular
15	F	0,25	0,016	2056	Jugular
16	F	0,20	0,022	1789	Jugular
17	F	0,25	0,024	944	Jugular
18	F	0,20	0,018	2137	Jugular
19	F	0,20	0,023	975	Jugular
20	F	0,40	0,022	1125	Jugular
21	F	0,20	0,022	2088	Jugular
22	F	0,50	0,019	1813	Jugular
23	F	0,20	0,018	1999	Jugular
24	F	0,20	0,022	2018	Jugular
25	F	0,10	0,018	1700	Jugular
26	F	0,40	0,023	1239	Jugular
27	F	0,40	0,020	1004	Jugular
28	F	0,50	0,018	1708	Jugular
29	F	0,20	0,018	2134	Jugular
30	F	0,50	0,019	1117	Jugular
31	F	0,50	0,021	1198	Jugular
32	F	0,30	0,018	1224	Jugular
MÉDIA		0,26	0,019	1560,16	
DESV PAD		0,11	0,002	432,05	

#### LEGENDAS E UNIDADES

F – Fêmea; LDH – Lactato desidrogenase (U/L); Observações – corresponde a via de acesso da coleta de sangue.

**Quadro 2-** Resultados da atividade de LDH em Periquitos Australianos (*Melopsittacus undulatus*) (n=32).

<b>COLETA DE SANGUE DE PERIQUITOS AUSTRALIANOS PARA DOSAGEM DE LDH</b>					
<b>Número</b>	<b>Sexo</b>	<b>Volume de sangue (ml)</b>	<b>Massa (Kg)</b>	<b>LDH (U/L)</b>	<b>Observações</b>
1	F	0,70	0,034	218	Jugular
2	F	0,50	0,040	242	Jugular
3	M	0,60	0,034	220	Jugular
4	F	0,10	0,034	122	Jugular
5	M	0,10	0,039	150	Jugular
6	M	0,50	0,034	97	Jugular
7	M	0,60	0,036	89	Jugular
8	F	0,20	0,034	186	Jugular
9	F	0,80	0,030	121	Jugular
10	F	0,70	0,034	89	Jugular
11	F	0,30	0,033	242	Jugular
12	F	0,25	0,034	105	Jugular
13	F	0,30	0,033	113	Jugular
14	F	0,30	0,038	89	Jugular
15	M	0,30	0,029	153	Jugular
16	F	0,30	0,041	105	Jugular
17	F	0,25	0,033	48	Jugular
18	F	0,30	0,031	40	Jugular
19	F	0,30	0,041	72	Jugular
20	F	0,30	0,046	129	Jugular
21	F	0,15	0,045	48	Jugular
22	F	0,30	0,035	89	Jugular
23	F	0,30	0,030	161	Jugular
24	F	0,20	0,033	64	Jugular
25	F	0,30	0,042	161	Jugular
26	F	0,30	0,031	137	Jugular
27	M	0,30	0,036	56	Jugular
28	F	0,30	0,039	145	Jugular
29	M	0,30	0,040	80	Jugular
30	M	0,30	0,034	113	Jugular
31	F	0,30	0,037	186	Jugular
32	M	0,30	0,038	80	Jugular
<b>MÉDIA</b>		<b>0,35</b>	<b>0,036</b>	<b>123</b>	
<b>DESV PAD</b>		<b>0,17</b>	<b>0,004</b>	<b>56</b>	

**LEGENDAS E UNIDADES**

F – Fêmea; M – Macho; LDH – Lactato desidrogenase (U/L) ; Observações – corresponde a via de acesso da coleta de sangue.



## 4.2 TAXA METABÓLICA BASAL (TMB)

As massas corpóreas citadas acima foram utilizadas para o cálculo da TMB e posteriormente relacionadas à atividade enzimática de LDH. A TMB foi calculada de acordo com os pesquisadores McNab (2009) e Lasiewski & Dawson (1967) quando compararam a TMB *versus* massa corpórea de passeriformes e não passeriformes.

Para cada massa corpórea de Canários e Periquitos foram calculadas suas respectivas TMB (Quadro 6 e 7, respectivamente). Sendo que durante o resultado serão discutidas também as médias das massas de Canários e Periquitos e suas respectivas TMBs, a fim de facilitar o entendimento e sem prejuízo teórico-matemático para os resultados.

Os animais foram mantidos em repouso, com diminuição do espaço livre para vôo através de gaiolas e em jejum horas antes da coleta, corroborando com Calder III (1987), ao conceituar a TMB como uma taxa baixa e contínua, em jejum e repouso.

As aves foram mantidas a uma temperatura controlada e constante de 25° C, a fim de evitar alteração da TMB como afirma Pough (2003) ao dizer que a TMB é termo-sensível.

Com a finalidade de se avaliar apenas a diferença filogenética de TMB de passeriformes e não passeriformes, representados por Canários Belgas e Periquitos Australianos, respectivamente, tentamos anular outros fatores (massa corpórea semelhante aos dois grupos e controle da temperatura ambiente), que segundo Hinds e colaboradores (1994) determinam a TMB.

Ao se realizar os cálculos alométricos de TMB, em função da média da massa corpórea de 0,019 Kg para Canários Belgas (1) e de 0,036 Kg para Periquitos Australianos (2), obteve-se aproximadamente:

$$(1) \text{ TMB} = 129 \times (0,019)^{0,75} = 6,67 \text{ Kcal/dia.}$$

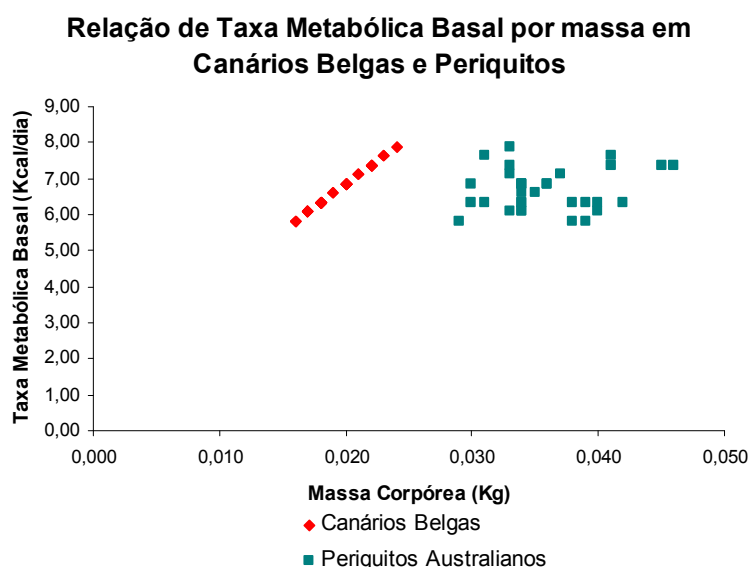
$$(2) \text{ TMB} = 78 \times (0,036)^{0,75} = 6,42 \text{ Kcal/dia.}$$

**Quadro 3** – Comparação da média da Massa Corporal (Kg) e média da TMB (Kcal/dia) entre Canário Belga e Periquito Australiano.

AVES	MASSA CORPORAL (Kg)	TMB (Kcal/dia)
Canário Belga (passeriforme)	0,019	6,67
Periquito Australiano (não passeriforme)	0,036	6,42

De acordo com o quadro acima é possível observar que a TMB dos Canários (passeriformes) foi mais elevada do que dos Periquitos (não passeriformes), o que corrobora com Schmidt-Nielsen (2002), Lasiewski & Dawson (1967) e Resende *et al.* (2005), ao concluírem que passeriformes têm taxas metabólicas um pouco mais altas que os não passeriformes do mesmo tamanho, porém vale frisar que em nossa pesquisa não foi possível estudar animais com mesma massa.

Ao plotarmos os dados dos quadros 1 e 2, conseguimos visualizar a diferença existente entre os grupos (Gráf. 1). E esta forte diferença deve-se provavelmente ao alto metabolismo de passeriformes quando comparado com não passeriformes, o que corrobora com a teoria de LASIEWSKI & DAWSON (1967) ao determinarem uma constante “a” diferente para passeriformes e não passeriformes.



**Gráfico 1** – Relação de Taxa Metabólica Basal (TMB) e da Massa Corpórea entre Canários Belgas (n=32) e Periquitos Australianos (n=32).

Comparando aves de um mesmo grupo, podemos observar que os Canários de massa corpórea menor apresentam TMB menor e o mesmo ocorre para os Periquitos, reforçando Randall *et al.* (2000), que relataram que existe uma relação direta entre massa corpórea e TMB. Isto pode ser visualizado no exemplo abaixo (Quadro 4).

**Quadro 4** – Exemplo comparando massa e TMBE de dois Canários com massas distintas.

COLETA DE SANGUE DE CANÁRIOS BELGA PARA DOSAGEM DE LDH				
Número	TMB (Kcal/dia)	TMBE (Kcal/Kg/dia)	Massa (Kg)	LDH (U/L)
1	6,86	343,03	0,020	1456
2	6,07	357,25	0,017	1689

#### 4.3 TAXA METABÓLICA BASAL ESPECÍFICA

Foram calculadas TMBEs para todas as massas de Canários e Periquitos, de acordo com Lasiewski & Dawson (1967), sendo que durante o resultado serão discutidas também as médias das massas e das TMBEs de Canários e Periquitos, para facilitar o entendimento e sem prejuízo teórico-matemático para os resultados (Quadro 7 e 8, respectivamente).

Segundo Randall *et al.* (2000) e Turner *et al.* (2005), a TMBE é a quantidade de oxigênio consumido por quilograma por hora, logo, quanto maior a massa do animal, mais anaeróbico ele será e menor será sua TMBE. Isto significa que existe uma relação inversa entre massa e TMBE.

Ao realizarmos os cálculos alométricos de TMBE, em função da média da massa corpórea de 0,019 Kg para Canários Belgas (1) e de 0,036 Kg para Periquitos Australianos (2), obtemos aproximadamente:

$$(1) \text{ TMBE} = 129 \times (0,019)^{-0,25} = 346,74 \text{ Kcal/Kg/dia.}$$

$$(2) \text{ TMBE} = 78 \times (0,036)^{-0,25} = 179,60 \text{ Kcal/Kg/dia.}$$

**Quadro 5** – Comparação da média da Massa Corporal (Kg) e média da TMBE (Kcal/Kg/dia) entre Canário Belga e Periquito Australiano.

AVES	MASSA CORPORAL (Kg)	TMBE (Kcal/dia)
Canário Belga (passeriforme)	0,019	346,74
Periquito Australiano (não passeriforme)	0,036	179,60

De acordo com o quadro 5, é possível observar que a TMBE dos Canários (passeriformes) foi mais elevada do que dos Periquitos (não passeriformes), o que corrobora com Schimidt-Nielsen (2002), Lasiewski & Dawson (1967) e Resende *et al.* (2005), ao

concluírem que passeriformes têm taxas metabólicas um pouco mais altas que os não passeriformes do mesmo tamanho, porém vale frisar que em nossa pesquisa não foi possível estudar animais com mesma massa.

**Quadro 6** - Resultado dos cálculos alométricos de Taxa Metabólica Basal (TMB) e Taxa Metabólica Basal Específica de Canários Belga (*Serinus canarius*), a partir da massa corpórea (Kg).

COLETA DE SANGUE DE CANÁRIOS BELGA PARA DOSAGEM DE LDH				
Número	TMB (Kcal/dia)	TMBE (Kcal/Kg/dia)	Massa (Kg)	LDH (U/L)
1	6,86	343,03	0,020	1456
2	6,07	357,25	0,017	1689
3	6,34	352,19	0,018	2150
4	6,86	343,03	0,020	1506
5	5,80	362,71	0,016	1596
6	6,07	357,25	0,017	989
7	6,86	343,03	0,020	2129
8	6,34	352,19	0,018	1765
9	6,86	343,03	0,020	869
10	6,86	343,03	0,020	1651
11	7,12	338,87	0,021	1489
12	6,07	357,25	0,017	2126
13	6,07	357,25	0,017	1060
14	5,80	362,71	0,016	1182
15	5,80	362,71	0,016	2056
16	7,37	334,95	0,022	1789
17	7,87	327,75	0,024	944
18	6,34	352,19	0,018	2137
19	7,62	331,25	0,023	975
20	7,37	334,95	0,022	1125
21	7,37	334,95	0,022	2088
22	6,60	347,46	0,019	1813
23	6,34	352,19	0,018	1999
24	7,37	334,95	0,022	2018
25	6,34	352,19	0,018	1700
26	7,62	331,25	0,023	1239
27	6,86	343,03	0,020	1004
28	6,34	352,19	0,018	1708
29	6,34	352,19	0,018	2134
30	6,60	347,46	0,019	1117
31	7,12	338,87	0,021	1198
32	6,34	352,19	0,018	1224
<b>MÉDIA</b>	<b>6,67</b>	<b>346,74</b>	<b>0,019</b>	<b>1560,16</b>
<b>DESV PAC</b>	<b>0,58</b>	<b>9,92</b>	<b>0,002</b>	<b>432,05</b>

**LEGENDAS E UNIDADES**

TMB – Taxa Metabólica Basal (Kcal/dia); TMBE – Taxa Metabólica Basal Específica (Kcal/Kg/dia); Massa Corpórea (Kg);  
LDH – Lactato desidrogenase (U/L).

**Quadro 7** - Resultado dos cálculos alométricos de Taxa Metabólica Basal (TMB) e Taxa Metabólica Basal Específica de Periquitos Australianos (*Melopsittacus undulatus*), a partir da massa corpórea (Kg).

<b>COLETA DE SANGUE DE PERIQUITOS AUSTRALIANOS PARA DOSAGEM DE LDH</b>				
<b>Número</b>	<b>TMB (Kcal/dia)</b>	<b>TMBE (Kcal/Kg/dia)</b>	<b>Massa (Kg)</b>	<b>LDH (U/L)</b>
1	6,18	181,65	0,034	218
2	6,98	174,41	0,040	242
3	6,18	181,65	0,034	220
4	6,18	181,65	0,034	122
5	6,85	175,52	0,039	150
6	6,18	181,65	0,034	97
7	6,45	179,07	0,036	89
8	6,18	181,65	0,034	186
9	5,62	187,42	0,030	121
10	6,18	181,65	0,034	89
11	6,04	183,01	0,033	242
12	6,18	181,65	0,034	105
13	6,04	183,01	0,033	113
14	6,71	176,66	0,038	89
15	5,48	189,01	0,029	153
16	7,11	173,34	0,041	105
17	6,04	183,01	0,033	48
18	5,76	185,89	0,031	40
19	7,11	173,34	0,041	72
20	7,75	168,42	0,046	129
21	7,62	169,35	0,045	48
22	6,31	180,33	0,035	89
23	5,62	187,42	0,030	161
24	6,04	183,01	0,033	64
25	7,24	172,30	0,042	161
26	5,76	185,89	0,031	137
27	6,45	179,07	0,036	56
28	6,85	175,52	0,039	145
29	6,98	174,41	0,040	80
30	6,18	181,65	0,034	113
31	6,58	177,85	0,037	186
32	6,71	176,66	0,038	80
<b>MÉDIA</b>	<b>6,42</b>	<b>179,60</b>	<b>0,036</b>	<b>123</b>
<b>DESV PAD</b>	<b>0,57</b>	<b>5,21</b>	<b>0,004</b>	<b>56</b>

**LEGENDAS E UNIDADES**

TMB – Taxa Metabólica Basal (Kcal/dia); TMBE – Taxa Metabólica Basal Específica (Kcal/Kg/dia); Massa Corpórea (Kg);

LDH – Lactato desidrogenase (U/L).

Ao compararmos as aves de cada grupo, podemos observar que os Canários de massa corpórea menor apresentam TMBE maior, e o mesmo ocorre para os Periquitos, reforçando Randall *et al.* (2000), que relataram que existe uma relação inversa entre massa e TMBE, dentro de uma mesma espécie. Por exemplo, os Canários 1 e 2 do Quadro 8, o primeiro tem massa corpórea maior do que o segundo, logo, terá TMBE menor.

**Quadro 8** – Exemplo comparando massa e TMBE de dois Canários com massas distintas.

COLETA DE SANGUE DE CANÁRIOS BELGA PARA DOSAGEM DE LDH				
Número	TMB (Kcal/dia)	TMBE (Kcal/Kg/dia)	Massa (Kg)	LDH (U/L)
1	6,86	343,03	0,020	1456
2	6,07	357,25	0,017	1689

#### 4.4 DETERMINAÇÃO DA ANÁLISE DE LDH

As amostras depois da coleta foram centrifugadas e o plasma heparinizado foi congelado a 4° C, sendo analisado bioquimicamente no dia seguinte no laboratório da Global Vet/ RJ, onde foram processadas. O transporte das amostras foi em isopor com gelo reciclável e as amostras continuam congeladas depois de processadas para serem usadas como contra prova.

A análise da LDH foi através do método cinético com Kits LDH UV – PP da Gold Analisa, tendo como leitor semi-automático o espectrofotômetro BIOPLUS 2000. A técnica utilizada foi à mesma da bula do Kit bioquímico, que não identifica qual fração de isoenzima de LDH (LDH A, LDH B e LDH C) está aumentada ou diminuída, apenas quantifica o todo presente na corrente sanguínea. Para tal, seria necessário separar as frações protéicas através do método de eletroforese, como sugere os autores Tsuji *et al.* (1994), Li *at al.* (2002) e Javed (1997), porém não foi nossa intenção realizar tal análise.

Como a maioria dos animais apresentou massa corpórea semelhante nos respectivos grupos e sendo impossível determinar a idade dos animais, não acreditamos que a idade e maturidade corpórea dos animais deste experimento tenham interferido nos resultados, como supõe Moniello *et al.* (2005), em suas pesquisas com coleta de sangue de avestruzes e Bailey *et al.* (1997), avaliando sangue de falcões.

A coleta sanguínea foi realizada em ambiente aclimatizado e as amostras foram congeladas a seguir. Da mesma forma da coleta, o transporte foi realizado sob refrigeração,

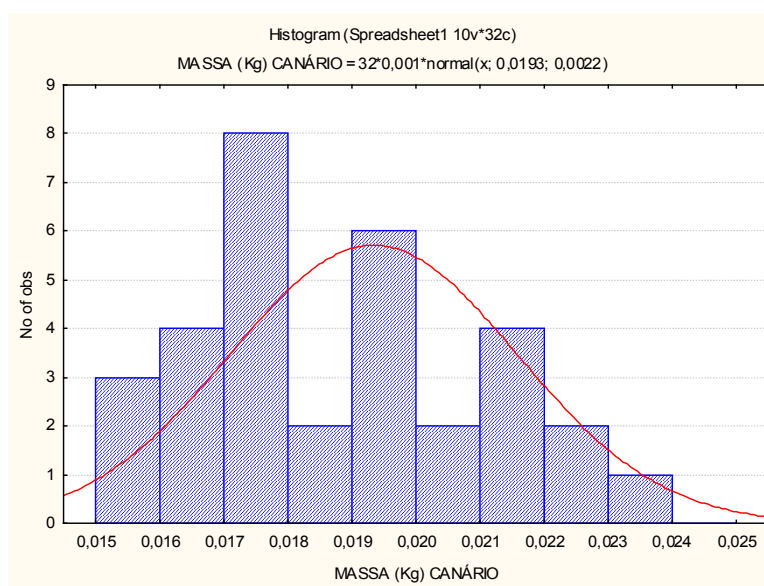
sem risco de perda do material. Além disso, o espectrofotômetro é termostatizado à 37° C, como determina o Kit bioquímico, não havendo portanto, chance de mudança na conformação da LDH presente nas amostras com conseqüente inativação enzimática, como relatam na sua literatura Seebacher *et al.* (2006). O que nos cabe sugerir seria avaliar se a temperatura preconizada pelo Kit bioquímico é ideal para aves, uma vez que estas apresentam temperatura corporal média de 40° C corroborando com Neves Júnior (2006).

## 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

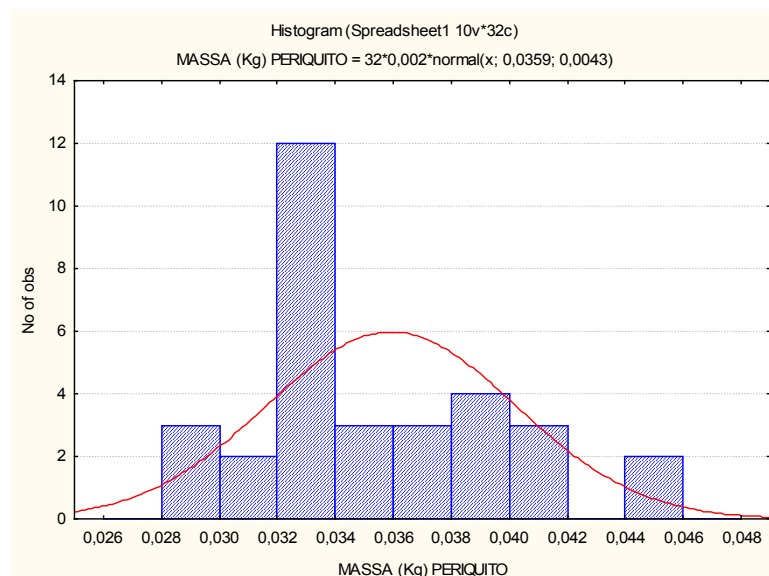
### 4.5.1 Teste T de Student

#### 4.5.1.1 Relação de Massa Corpórea (Kg) entre Passeriformes e não Passeriformes.

Foram realizados histogramas das massas corpóreas de Canários Belgas (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes), a fim de testar os dados quanto à normalidade e verificar se são paramétricos. Ao visualizarmos a Curva de Gauss central aos dados (Gráfico 2 e 3) podemos concluir que são dados normais, podendo portanto ser realizado Teste t de Student.



**Gráfico 2** - Histograma representando teste de normalidade da massa corpórea (Kg) de Canários Belgas. (STATISTIC 7.0)



**Gráfico 3** - Histograma representando teste de normalidade da massa corpórea (Kg) de Periquitos Australianos. (STATISTIC 7.0)

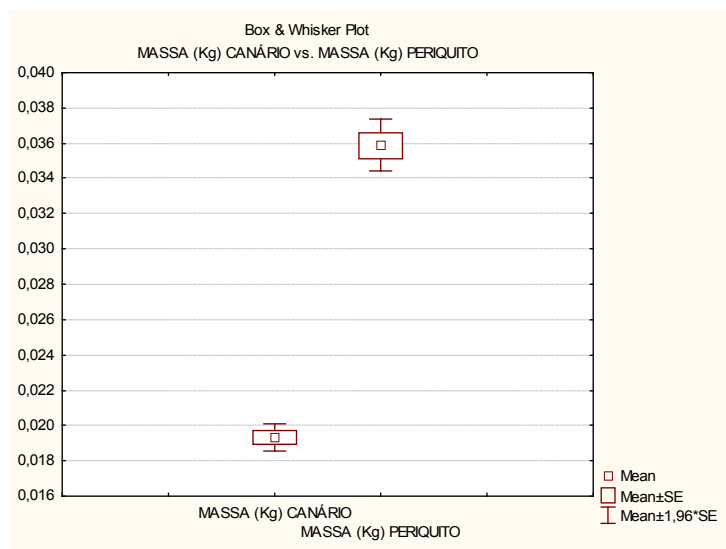
Como mencionado anteriormente, não foi possível obter animais com massas corpóreas semelhantes, sendo esta diferença de massas significativa na para  $p < 0,05$ , em Test t de Student, realizado com auxílio do programa estatístico Statistic 7.0 (Quadro 3).

**Quadro 9** – Teste t para amostras dependentes de Massas Corpóreas de Canários Belgas (passeriforme) e Periquitos Australianos (não passeriforme) (STATISTIC 7.0).

Variable	T-test for Dependent Samples (Spreadsheet1) Marked differences are significant at $p < .05000$							
	Mean	Std.Dv.	N	Diff.	Std.Dv. Diff.	t	df	p
MASSA (Kg) CANÁRIO	0,019	0,002						
MASSA (Kg) PERIQUITO	0,036	0,004	32	-0,017	0,005	-20,785	31	0,000

Para facilitar a visualização da diferença que existe entre as médias de massa corpórea de passeriformes (Canário Belga) e não passeriformes (Periquito Australiano), realizamos a plotagem do gráfico 4, com auxílio do programa Statistic 7.0.

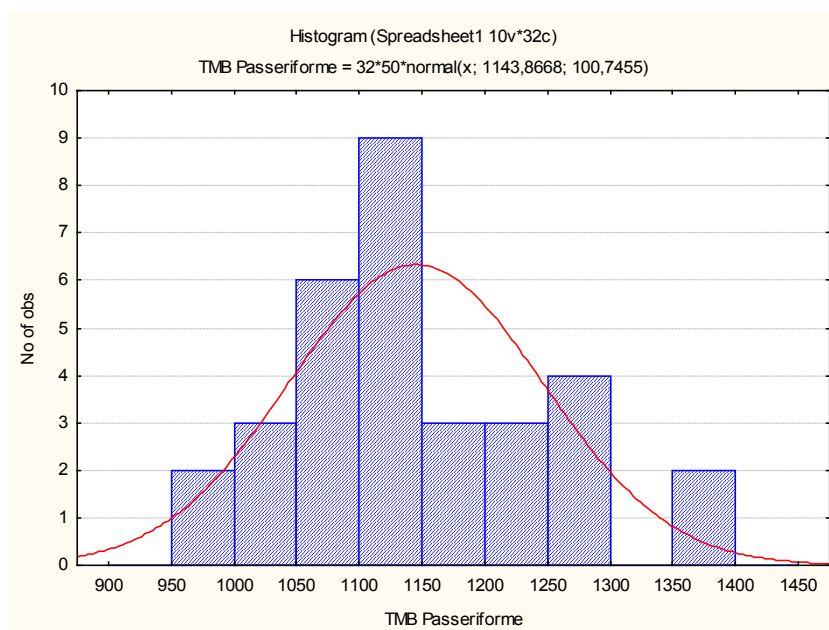




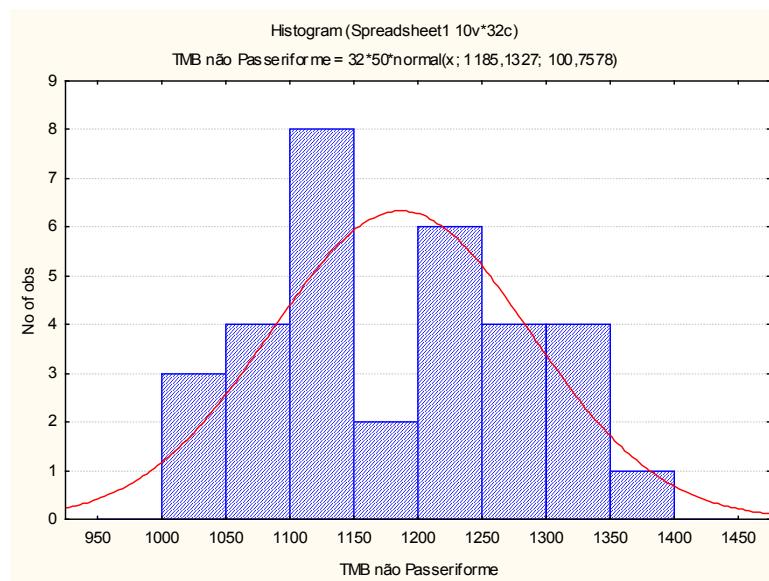
**Gráfico 4** – Comparação das Médias das Massas Corpóreas (Kg) entre Canários Belgas e Periquitos Australianos.

#### 4.5.1.2 Relação TMB (Kcal/dia) entre Passeriforme e não Passeriforme.

Foram realizados histogramas, com o auxílio do programa estatístico Statistic 7.0, da TMB (Kcal/dia) de cada espécie de ave. Como podemos observar nos gráficos 5 e 6, os dois grupos de aves, apresentam Curva de Gauss normal, logo poderemos realizar o Teste t de Student, para dados paramétricos.



**Gráfico 5** – Histograma representando teste de normalidade da TMB (Kcal/dia) de Canários Belgas. (STATISTIC 7.0)



**Gráfico 6** – Histograma representando teste de normalidade da TMB (Kcal/dia) de Periquitos Australianos. (STATISTIC 7.0)

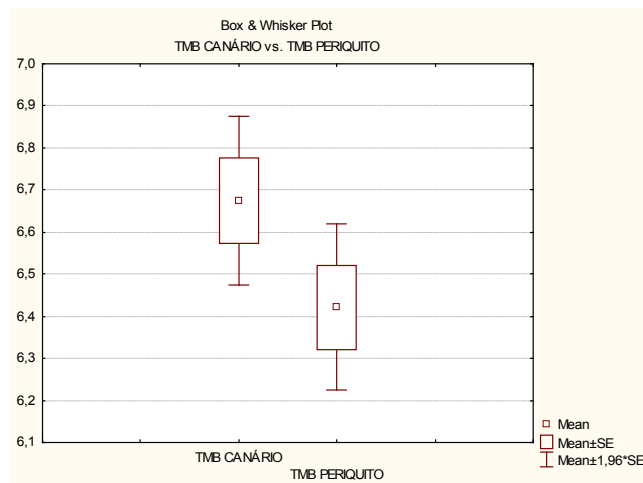
As TMBs de passeriformes e não passeriformes foram comparadas através do teste (t) de Student para amostras dependentes ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa de estatística Statistic 7,0.

**Quadro 10** – Teste t para amostras dependentes de TMB (Kcal/dia) de Canários Belgas e Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).

Variable	T-test for Dependent Samples (Spreadsheet1)							
	Mean	Std.Dv.	N	Diff.	Std.Dv. Diff.	t	df	p
TMB CANÁRIO	6,675	0,578						
TMB PERQUITO	6,422	0,570	32	0,253	0,749	1,913	31	0,065

Através do Teste t de Student, representado no quadro 10, comparando duas médias dependentes de TMB (Kcal/dia) de Canários Belgas (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes), foi possível verificar que não existe diferença significativa, com  $p > 0,05$ , logo, a TMB no passeriforme Canário Belga não diferente da ave não passeriforme, Periquito Australiano. Este dado vai contra a literatura de Resende *et al.* (2005) que ao utilizarem a alometria para comparar filogeneticamente passeriformes e não passeriformes, verificaram que existe diferença significativa entre as TMBs dos dois grupos. Esta controvérsia provavelmente ocorreu, pois as massas corpórea das aves apresentaram diferença significativa, indo contra o que preconiza Randall *et al.* (2000).

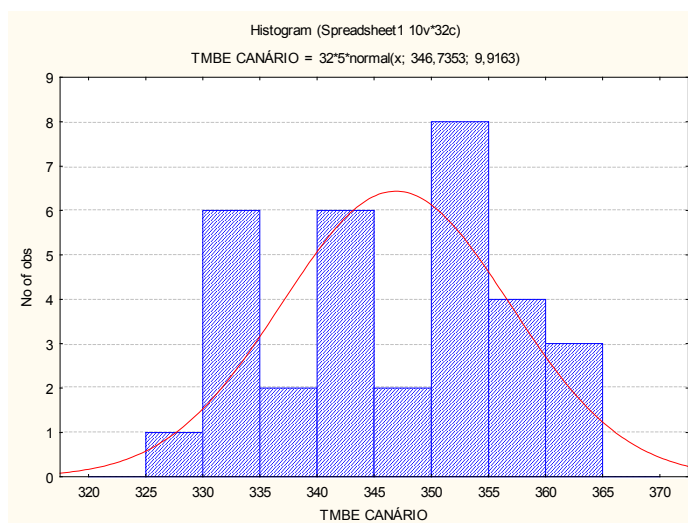
Ao plotarmos os dados através do programa estatístico Statistic 7.0, foi possível observar que no gráfico 7, representando a comparação das médias de TMB dos dois grupos, não existe uma diferença visível entre as amostras.



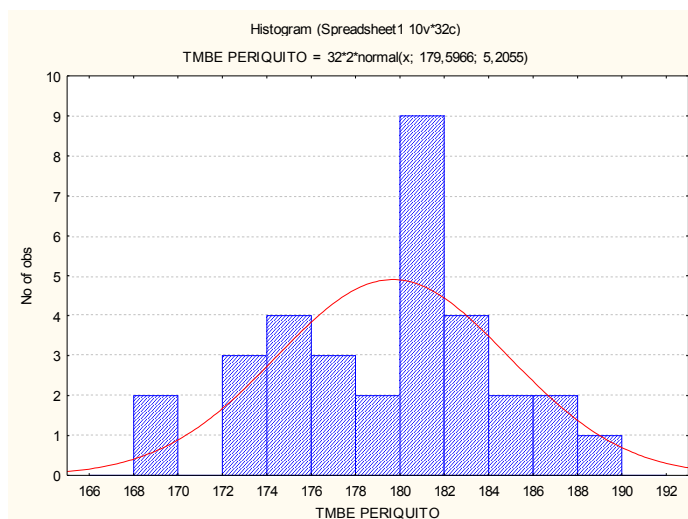
**Gráfico 7** – Comparação da TMB de passeriformes (Canário Belga) e não passeriformes (Periquito Australiano) (STATISTIC 7,0).

#### 4.5.1.3 Relação de TMBE (Kcal/dia/Kg) entre Passeriformes e não Passeriformes.

Foi realizado histograma com auxílio do programa estatístico STATISTIC 7.0, para verificar se as TMBEs estavam dentro da curva de normalidade de Gauss. Estando normais, comparamos as médias das TMBEs através do Teste t de Student, para sabermos se há diferença significativa entre elas.



**Gráfico 8** – Histograma representando teste de normalidade da TMBE (Kcal/dia/Kg) de Canários Belgas (STATISTIC 7.0).



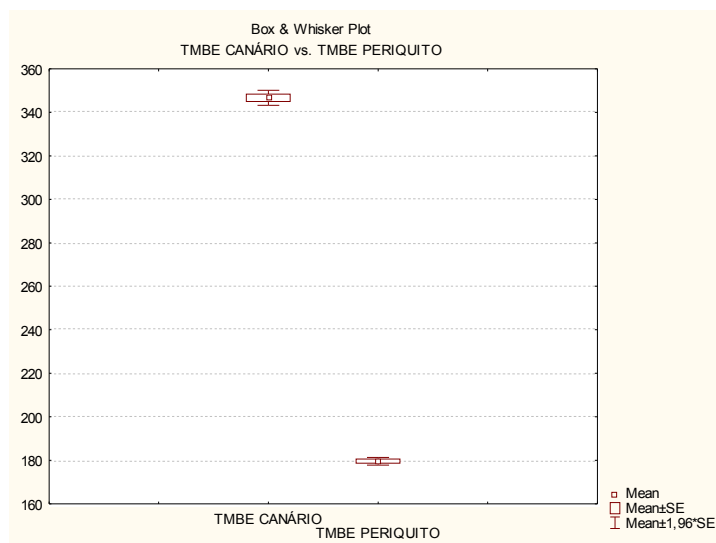
**Gráfico 9** – Histograma representando teste de normalidade da TMBE (Kcal/dia/Kg) de Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).

**Quadro 11** – Teste t para amostras dependentes de TMBE (Kcal/dia/Kg) de Canários Belgas e Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).

Variable	T-test for Dependent Samples (Spreadsheet1)							
	Mean	Std.Dv.	N	Diff.	Std.Dv. Diff.	t	df	p
TMBE CANÁRIO	346,7353	9,916287						
TMBE PERIQUITO	179,5966	5,205464	32	167,1388	10,55396	89,58531	31	0,00

Através do Teste t de Student, representado no quadro acima, comparando duas médias dependentes de TMBE de Canários Belgas (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes), foi possível verificar que existe diferença significativa, com  $p < 0,05$ , logo, a TMBE no passeriforme Canário Belga é diferente da TMBE da ave não passeriforme, Periquito Australiano.

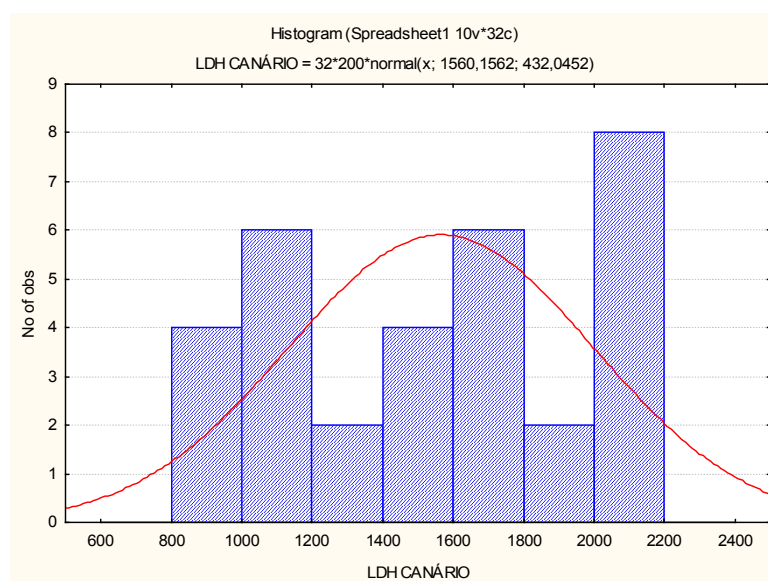
Ao plotarmos os dados acima através do programa estatístico Statistic 7.0, foi possível observar que no gráfico 10, representando a comparação das médias de TMBE dos dois grupos, existe uma diferença visível entre eles, onde os periquitos com maior massa apresentam uma menor TMBE, o que corrobora com os autores Randall *et al.* (2000) e Turner *et al.* (2005), ao afirmarem que quanto maior a massa do animal, mais anaeróbico ele será e menor será sua TMBE.



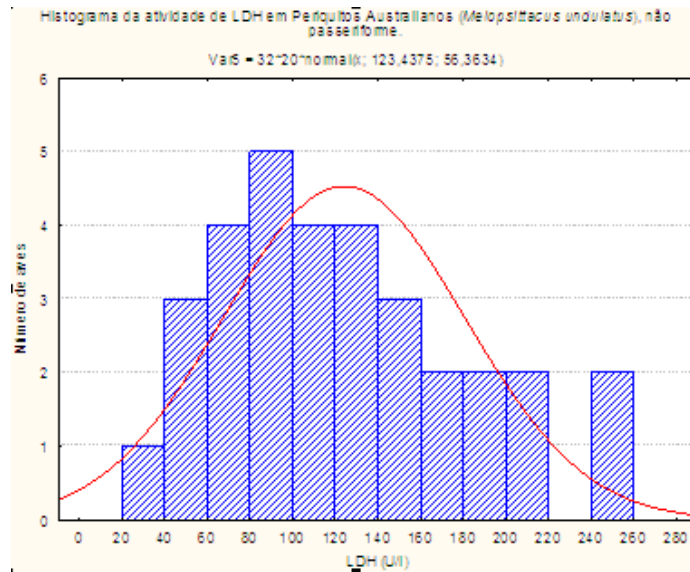
**Gráfico 10** – Comparação da TMBE de passeriformes (Canário Belga) e não passeriformes (Periquito Australiano) (STATISTIC 7,0).

#### 4.5.1.4 Relação de LDH (U/L) entre Passeriformes e não Passeriformes.

Os resultados dos parâmetros bioquímicos de LDH das aves foram testados para verificar se estavam dentro da curva de normalidade de Gauss, para enfim realizarmos o Teste t de Student. Para isso, foi realizado histograma das amostras com auxílio do programa estatístico Statistic 7.0.



**Gráfico 11** – Histograma representando teste de normalidade da atividade de LDH de Canários Belgas (STATISTIC 7.0).



**Gráfico 12** – Histograma representando teste de normalidade da atividade de LDH de Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).

Com auxílio da Curva de Gauss foi possível verificar que os dados estão dentro da normalidade, sendo, portanto possível realizar o Teste t de Student para dados paramétricos.

As médias das concentrações de LDH plasmática das duas aves foram comparadas através do teste (t) de Student para amostras dependentes ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa de estatística Statistic 7,0.

**Quadro 12** – Teste t para amostras dependentes de LDH (U/L) de Canários Belgas e Periquitos Australianos (STATISTIC 7.0).

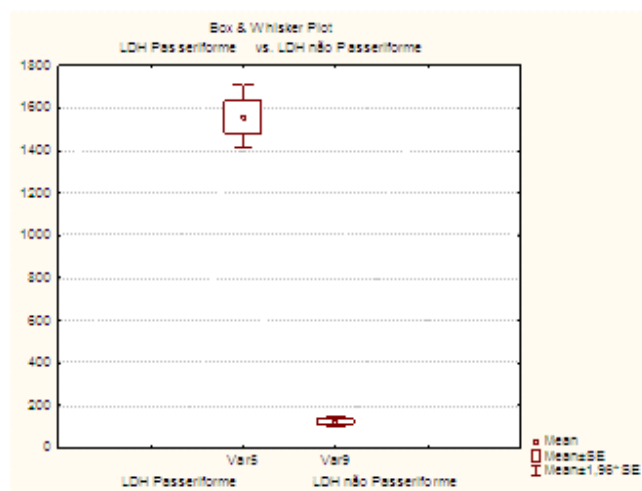
		T-test for Dependent Samples (Spreadsheet1_(Recovered))							
		Marked differences are significant at p < ,05000							
Variable		Mean	Std.Dv.	N	Diff.	Std.Dv. Diff.	t	df	p
LDH Canário Belga (passeriforme)		1560,15	432,05						
LDH Periq. Austral. (não passeriforme)		123,44	56,36	32	1436,72	431,2324	18,85	31	0,00

Através do Teste t de Student, representado no quadro 12, comparando duas médias dependentes de LDH de Canários Belgas (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes), foi possível verificar que existe diferença significativa, com  $p < 0,05$ , logo, a atividade da enzima LDH no passeriforme Canário Belga é diferente da atividade na ave não passeriforme, Periquito Australiano.

Neste experimento, não só houve diferença significativa entre a atividade das enzimas, como também os passeriformes apresentaram maior atividade. Levando em consideração as

literaturas de Mayes (1990), Pincus et al. (1995) e Rioux & Blier (2006), que disseram que a LDH está aumentada em indivíduos com maior nível de metabolismo anaeróbico, pressupõe-se que passeriformes são mais anaeróbicos pois apresentam maior atividade enzimática de metabolismo anaeróbico do que aves não passeriformes.

Ao plotarmos os dados de LDH através do programa estatístico Statistic 7.0, foi possível observar que no gráfico 13, representando a comparação das médias de LDH dos dois grupos, passeriformes apresentam uma maior atividade da enzima quando comparado com não passeriformes.



**Gráfico 13** – Comparação da atividade da LDH plasmática de passeriformes (Canário Belga) e não passeriformes (Periquito Australiano) (STATISTIC 7,0).

#### 4.5.2 Determinação da média e desvio padrão das variáveis.

Através do programa estatístico SPSS foi possível obter média e desvio padrão das variáveis dependentes (TMB, TMBE, LDH) e da variável independente (massa corpórea), como vemos abaixo (Quadros 13, 14, 15, 16) .

**Quadro 13** – Comparação da média e desvio padrão da massa corpórea (Kg) para Canário Belga e Periquito Australiano (SPSS).

<b>Massa (Kg)</b>			
	Total	Aves	
		Canário Belga	Periquito Australiano
Média	0.027594	0.019313	0.035875
Desvio padrão	0.009006	0.002235	0.004271058
Numero de amostras	64	32	32

**Quadro 14** – Comparação de média e desvio padrão de TMB (Kcal/dia) para Canário Belga e Periquito Australiano (SPSS).

<b>TMB ( Kcal/dia )</b>			
	Total	Aves	
		Canário Belga	Periquito Australiano
Média	6.548906	6.674688	6.423125
Desvio padrão	0.584743	0.5797	0.571107794
Número de amostras	64	32	32

**Quadro 15** – Comparação de média e desvio padrão de TMBE (Kcal/Kg/dia) para Canário Belga e Periquito Australiano (SPSS).

<b>TMBE ( Kcal/Kg/dia )</b>			
	Total	Aves	
		Canário Belga	Periquito Australiano
Média	263.093	346.5878	179.598125
Desvio padrão	84.51805	9.86795	5.206620746
Número de amostras	64	32	32



**Quadro 16** – Comparação de média e desvio padrão de LDH (U/l) para Canário Belga e Periquito Australiano (SPSS).

LDH (U/l)			
	Total	Aves	
		Canário Belga	Periquito Australiano
Média	841.7969	1560.156	123.4375
Desvio padrão	785.9037	432.0452	56.36341613
Número de amostras	64	32	32

Observando os quadros acima, pode-se perceber que existe diferença significativa de massa corpórea entre os dois tipos de aves, pois o canário belga possui massa um pouco menor do que o periquito australiano.

Em relação a TMB e TMBE, o Canário Belga apresenta valores superiores ao Periquito Australiano. O mesmo pode ser observado relação a LDH, porém para esta variável a diferença se torna bastante grande, visto que a média dos 32 Canários estudados foi de 1560,16 (U/l) e dos 32 Periquitos, foi 123,44 (U/l), o que nos leva a crer que existe diferença estatística entre os dois tipos de aves para esta variável, porém serão feitos outros testes para comprovar as suspeitas em relação a esta variável e identificar possíveis diferenças para as outras variáveis do modelo.

#### 4.5.3. Análise Multivariada de Variância (MANOVA)

No modelo a seguir iremos considerar TMB, TMBE e LDH como variáveis dependentes e a massa corpórea como variável independente, a presença de mais de uma variável dependente neste estudo, nos permite trabalhar com a MANOVA. Também faremos uso da variável “ave”, uma vez que se faz necessário saber se a espécie ou a ordem a que pertencem, influência de alguma forma no modelo. Para que esta variável seja utilizada será inserida uma variável “dummy” (modelo) que funcionará assumindo valor 1 quando for Periquito Australiano e 0 quando for Canário Belga.

Nos quadros abaixo observamos alguns testes que visam verificar fatores importantes na determinação de um modelo como a Covariância das Variáveis observadas e a Covariância dos Resíduos (Quadro 17 e 18).

Foi utilizado o Teste M Box de Igualdade das Matrizes de Covariância (Quadro 13), do programa estatístico SPSS, que se trata de um teste para pequenas amostras com homogeneidade de variância e o teste de esfericidade (Quadro 14) que avalia a correlação entre as condições.

**Quadro 17** – Determinação da igualdade das matrizes de covariância (SPSS).

<b>Teste M Box de Igualdade das Matrizes de Covariância(a)</b>	
Box's M	256.7728
<b>F</b>	<b>40.54293</b>
df1	6
df2	27850.87
Sig.	1.89E-49

**LEGENDAS**

a – projeto; F = relação de variância entre grupos e dentro de grupos; df = grau de liberdade; Sig = significância

**Quadro 18** – Teste de esfericidade de Bartlett (SPSS).

<b>Bartlett's Test of Sphericity(a)</b>	
Likelihood Ratio	0
Approx. Chi-Square	1421.629
df	5
Sig.	2.4E-304

**LEGENDAS**

Likelihood Ratio = Taxa de estimativa errônea; Approx. Chi-Square = escore; df = grau de liberdade; Sig = significância

De acordo com os quadros acima (Quadro 17 e 18), o modelo completo, com massa como variável independente, determina que a matriz de covariância para os valores observados é diferente nos dois grupos de aves. Isto também é visto ao verificarmos a matriz de covariância dos resíduos.

Com a finalidade de contemplar o efeito de cada uma das variáveis dependentes, foi realizado o Test of Within-Subjects Effects (Teste dos Efeitos dentro Assuntos), através do programa estatístico SPSS (Quadro 19).

**Quadro 19** – Teste dos efeitos entre as variáveis dependentes (TMB, TMBE, LDH) e a independente (massa corpórea) (SPSS).

Source	Dependent	Type III Sum	df	Mean Sq	Partial Eta Sq
Corrected Model	tmb	19.616294	2	9.80815	0.91063973
	tmbe	448760.04	2	224380	0.99718263
	ldh	33131590	2	1.7E+07	0.85145773
Intercept	tmb	4.1686482	1	4.16865	0.6841052
	tmbe	92759.768	1	92759.8	0.98651572
	ldh	1287102.7	1	1287103	0.18212545
massa	tmb	18.603755	1	18.6038	0.9062322
	tmbe	2591.1501	1	2591.15	0.67144843
	ldh	105017.45	1	105017	0.01784483
aves	tmb	19.144429	1	19.1444	0.90863844
	tmbe	41465.149	1	41465.1	0.97032986
	ldh	3450360.4	1	3450360	0.37380484
Error	tmb	1.9249295	61	0.03156	
	tmbe	1267.8955	61	20.7852	
	ldh	5780018.6	61	94754.4	
Total	tmb	2766.3843	64		
	tmbe	4879974.2	64		
	ldh	84263415	64		
Corrected Total	tmb	21.541223	63		
	tmbe	450027.94	63		
	ldh	38911608	63		

#### LEGENDAS E UNIDADES

Dependente = Variáveis Dependentes; Type III Sum = Soma dos Quadrados do Tipo III; df = Grau de Liberdade; Mean Square = Média dos Quadrados; TMB – Taxa Metabólica Basal (Kcal/dia); TMBE – Taxa Metabólica Basal Específica (Kcal/Kg/dia); Massa Corpórea (Kg);

LDH – Lactato desidrogenase (U/L).

Ao observarmos o quadro acima (Quadro 19) percebe-se que para o modelo inicial proposto (Correct Model) todas as variáveis dependentes são significativas (Sig), ou seja,  $p < 0,005$ . Além disso, vale observar que a explicação dos modelos corrigidos estão bastante altos para todas as variáveis dependentes do modelo (Partia Eta Squared), pois o menor modelo é o que possui LDH e este tem 0.8514 de explicação, o que é considerado alto visto que o máximo que um modelo pode ter é 1. Para falar sobre a explicação do modelo poderíamos falar que para TMB o modelo tem 91,07% de explicação, para TMBE, tem 99,72% e para LDH, 85,14%.

Uma outra análise mais profunda seria observar as variáveis independentes individualmente (ave e massa). Ao fazer isto, percebemos que o intercepto carrega a maior parte da explicação do modelo, logo, a constante explicaria bem o modelo. A variável ave também tem um bom grau de explicação, porém a variável massa relacionada a variável dependente (LDH) não tem explicação quase nenhuma (0,29 de significância), logo, a massa não pode ser considerada individualmente reforçando a hipótese nula que a variável seria igual a zero.

Para a variável LDH, percebe-se que a única variável com maior grau de explicação é ave, evidenciando que existe diferença entre passeriformes e não passeriformes para esta variável.

Agora vamos apresentar a tabela que mostra a estimação dos parâmetros para o modelo completo para cada uma das variáveis dependentes.

**Quadro 20** – Tabela com estimação de parâmetros para o modelo completo das variáveis dependentes (SPSS).

Dependent Variable	Parameter	B	Std. Error	t	Sig.
tmb	Intercept	0.658	0.240	2.747	0.008
	massa	160.702	6.619	24.281	0.000
	aves	2.913	0.118	24.631	0.000
tmbe	Intercept	247.637	6.147	40.287	0.000
	massa	-1896.562	169.862	-11.165	0.000
	aves	135.578	3.035	44.665	0.000
ldh	Intercept	556.592	415.028	1.341	0.185
	massa	-12074.007	11468.864	-1.053	0.297
	aves	1236.743	204.950	6.034	0.000

**LEGENDAS E UNIDADES**

TMB – Taxa Metabólica Basal (Kcal/dia); TMBE – Taxa Metabólica Basal Específica (Kcal/Kg/dia); Massa Corpórea (Kg);  
LDH – Lactato desidrogenase (U/L).

De acordo com o quadro acima (Quadro 20), para as variáveis dependentes TMB e TMBE, o modelo é aceitável, uma vez que todas as variáveis são significativas ( $p < 0,005$ ). Porém para LDH, a única variável que pode ser considerada significativa é o grupo das aves, o que nos leva a crer que a variável ave é importante para todos os 3 tipos de modelo, ocorrendo com mais clareza para o LDH, logo pode-se concluir que existe diferença entre passeriformes e não passeriformes.

Para certificar essa diferença entre as aves para cada um das 3 variáveis dependentes, notamos a tabela do teste estatístico para a média de cada uma das variáveis.

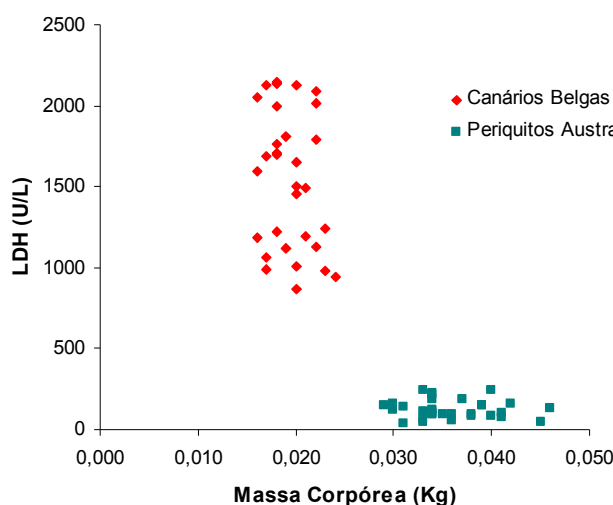
**Quadro 21** – Comparação da média de todas as variáveis de Canário Belga e Periquito Australiano (SPSS).

	Aves		Teste Estatístico
	Canario Belga	Periquito Australiano	
TMB	6.674688	6.423125	NS
TMBE	346.5878	179.5981	S
LDH	1560.156	123.4375	S
Massa	0.019313	0.035875	NS

Segundo quadro acima (Quadro 21), a variável massa e TMB não são significativas quanto variáveis isoladas, o que não ocorre para TMBE e LDH, porém não estamos avaliando aqui sua importância para o modelo estatístico e o quanto cada uma interfere.

#### 4.5.4 Relação Massa Corpórea (Kg) *versus* atividade da LDH plasmática (U/L).

Os dados obtidos e devidamente registrados em quadros contendo massa corpórea (Kg) e atividade de LDH plasmática (U/L) foram plotados no gráfico de dispersão abaixo, onde é possível verificar a distribuição espacial de cada amostra de Canários Belga (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes). Além disso, nos quadros 1 e 2 é possível visualizar as médias e desvio-padrão, realizados através do programa estatístico Excel 2003.



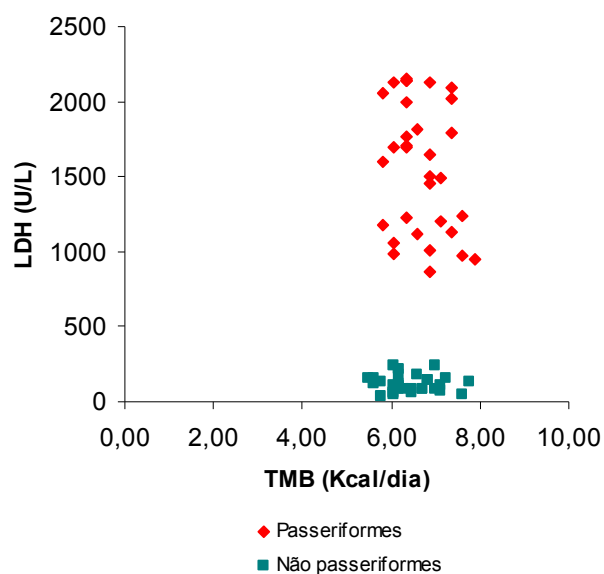
**Gráfico 14** – Gráfico de dispersão comparando LDH (U/L) e Massa Corporal (Kg) em Canários Belgas (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes) (EXCEL 2003).

Através do gráfico 14, podemos observar que a atividade de LDH é maior em passeriformes do que não passeriformes. Também notamos que os pontos de dispersão de LDH de passeriformes apresentam um intervalo de dispersão maior (eixo y) do que os pontos de não passeriformes. Esta maior dispersão pode significar que a atividade de LDH varia muito mais intraespecie em Canários do que em Periquitos, sendo necessário avaliar outras espécies de passeriformes para verificar se este fato é isolado.

Sendo a LDH um indicador do nível de metabolismo anaeróbico da célula (MAYES, 1990; PINCUS *et al.*, 1995; RIOUX & BLIER, 2006), passeriformes mesmo apresentando massa corpórea menor, são filogeneticamente mais anaeróbicos do que não passeriformes.

#### 4.5.5 Relação ente TMB (Kcal/dia) *versus* atividade da LDH plasmática (U/L).

Depois de calcularmos a TMB dos dois grupos de aves (passeriformes e não passeriformes), plotamos os dados relacionando TMB e atividade de LDH plasmática (Gráfico 15), através do programa estatístico Excel 2003. Como resultado houve uma maior dispersão dos pontos de passeriformes no eixo y, semelhante ao gráfico Massa Corpórea (Kg) *versus* LDH (U/L) (Gráfico 16).

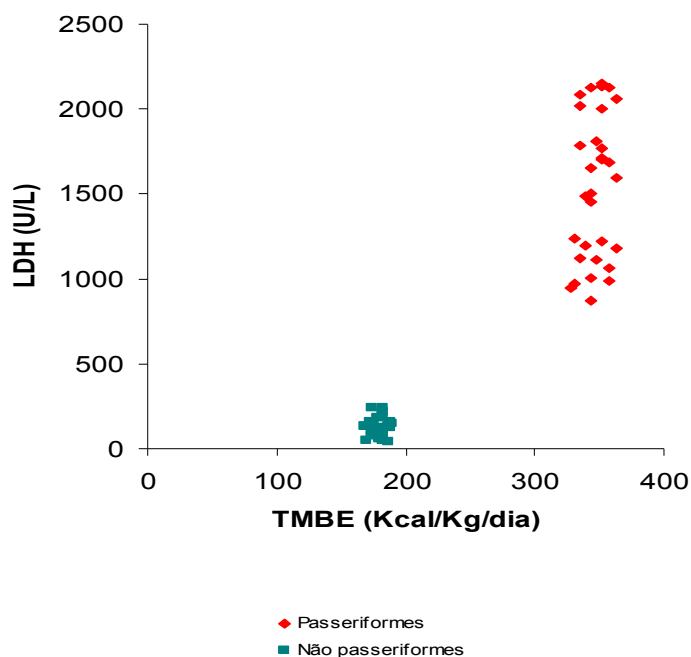


**Gráfico 15** - Gráfico de dispersão comparando LDH (U/L) e Taxa Metabólica Basal (TMB) em Canários Belgas (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes) (EXCEL 2003).

Essa semelhança dos gráficos de massa *versus* LDH (gráfico 16) e TMB *versus* LDH (gráfico 17), não é por acaso. Quanto maior a massa do animal, maior será sua anaerobiose, logo, maior será a atividade da LDH, porém animais com alto metabolismo corpóreo como passeriformes que apresentam uma alta TMB, vão apresentar uma anaerobiose maior quando comparado a não passeriformes de mesma massa corpórea. Isto nos confirma a relação igual e direta que existe entre massa e LDH, e TMB e LDH. Esta relação também é relatada por Neves Junior ao comparar as classes filogenéticas de répteis, mamíferos e aves.

#### 4.5.6 Relação TMBE (Kcal/dia/Kg) *versus* atividade da LDH plasmática (U/L).

Ao calcularmos a TMBE dos passeriformes e não passeriformes, plotamos os dados relacionando TMBE e atividade de LDH plasmática (Gráfico 16), através do programa estatístico Excel 2003.



**Gráfico 16** - Gráfico de dispersão comparando LDH (U/L) e Taxa Metabólica Basal Específica (TMBE) em Canários Belgas (passeriformes) e Periquitos Australianos (não passeriformes) (ORIGIN).

Com o gráfico de dispersão acima foi possível observar que os passeriformes, por apresentarem uma massa corpórea menor, terão uma TMBE elevada, esta observação corrobora com as literaturas de Randall *et al.* (2000), Turner *et al.* (2005) e Neves Junior

(2006) ao relatarem que o gasto energético pode ser afetado pela massa do animal, ou seja, animais menores, tendem a apresentar TMBEs maiores.

Outra observação importante, é que quanto maior a massa, mais anaeróbico é o animal e maior será a atividade enzimática, porém menor será sua TMBE. Em passeriformes, isto não ocorre da mesma forma, apesar de terem massa menor do que os não passeriformes, sua TMBE será aumentada e a atividade de LDH também, pois os passeriformes fazem anaerobiose não pelo tamanho, mas devido ao alto metabolismo e demanda energética.



## 5 CONCLUSÃO

Ao estudarmos a relação filogenética de passeriformes e não passeriformes, através de seus representantes, Canários Belgas (*Serinus canarius*) e Periquitos Australianos (*Melopsittacus undulatos*), percebemos que existe uma diferença significativa entre a atividade enzimática de LDH plasmática de passeriformes e não passeriformes.

A atividade da LDH é massa-dependente se compararmos dentro de uma mesma espécie, porém em passeriformes a maior atividade enzimática associada à anaerobiose não é só um fator dependente da massa, mas também do alto metabolismo destes animais representado pela TMB. Logo, os passeriformes não são mais ou menos endotérmicos, eles apenas têm uma maior demanda energética, retirando energia inclusive da oxidação do piruvato a lactato, fase anaeróbica da via glicolítica.

A padronização da massa corpórea de passeriformes e não passeriformes pode tornar a relação LDH/ TMB mais exata.

Seria interessante avaliar a atividade plasmática de LDH em outras espécies de passeriformes para termos certeza de que a grande variação da atividade não ocorre somente em Canários Belgas.

Análises da atividade da LDH em temperaturas condizentes com a média da temperatura corpórea do animal estudado podem aperfeiçoar a técnica do Kit bioquímico usado em humanos e utilizados por nós neste experimento.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGELLITA, M. J. Jr; SEARS, M. W. Is Parental Care the Key to Understanding Endothermy in Birds and Mammals? *The American Naturalist*, 162 (6): 821-825. 2003.
- ANGELLITA, M. J. Jr.; BENNETT, A. F.; GUDERLEY, H.; NAVAS, C. A.; SEEBACHER, F.; WILSON, R. S. Coadaptation: a unifying principle in evolutionary thermal biology. *Physiol. Biochem. Zool*, 79 (2): 282-94. mar-apr, 2006.
- BAILEY, T. A.; WERNERY, U.; NALDO, J.; SAMOUR, J. H. Plasma Concentration of Creatine Kinase and Lactate Dehydrogenase in Houbara Bustards (*Chlamydotis undulate macqueenii*) Immediately Following Capture. *Comparative Haematology International*, 1: 113-116. 1997.
- BHATTACHARYYA, T.K., SARKAR, A.K. Avian leukocytic responses induced by stress and corticoid inhibitors. *Indian. J. Exp. Biol.* 6:26-28, 1968
- BENCIC, D. C.; YATES, T. J.; INGERMANN, R. L. Ecto-ATPase Activity of Vertebrate Blood Cells. *Physiologic Zoology*, 70 (6): 621-630. 1997.
- BENNETT, A. F.; RUBEN, J. A. Entothermy and Activity in Vertebrates. *Science*, 206 (4419): 649-54. Nov 9, 1979.
- BISHOP, C. M. The Maximum Oxygen Consumption and aerobic scope of birds and mammals: getting to the heart of the matter. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 266: 2275- 2281. 1999.
- BISHOP, C. M. Circulatory variables and the flight performance of birds. *The Journal of Experimental Biology*, 208: 1695-1708. 2005.
- BISHOP, C. M.; BUTLER, P. J. PHYSIOLOGICAL MODELLING OF OXYGEN CONSUMPTION IN BIRDS DURING FLIGHT. *The Journal of Experimental Biology*, 198: 2153–2163. 1995.
- BROWN, M.; DOWNS, C. T. Development of homeothermy in hatchling crowned plovers *Vanellus coronatus*. *Journal of Thermal Biology*, 27: 95-101. 2002.
- CALDER III, W. A. Scaling Energetics of Homeothermic Vertebrates: An Operational Allometry. *Ann. Rev. Physiol*, 49:10. 1987.
- CALDER III, W. A. Ecological Scaling: Mammals and Birds. *Ann. Rev. Ecol. Syst*, 14:213-30. 1983.
- CALDER III, W. A. Scaling of Physiological Processes in Homeothermic Animals. *Ann. Rev. Physiol*, 43:301-322. 1981.
- CAMPBELL, T. W. **Avian hematology & cytology**. 2<sup>nd</sup> ed Ames; IA: Iowa State University Press, 1995. 104 p.
- CHAFFEE, R. R. J.; ROBERTS, J. C. Temperature Acclimation in Birds and Mammals. *Annu. Rev. Physiol.*, 33:155-202. 1971.

COBRAP – ASCON/ IBAMA. Confederação Brasileira de Criadores de Pássaros. Documentos técnicos. Disponível em: <<http://www.cobrap.com.br>>. Acesso em: 24 fev. 2009.

COELHO, O. O. **Sucesso na criação de pássaros**. São Paulo: Ed. Nobel. 2004. 128 p.

COOPER, C. E.; GEISER, F. The “minimal boundary curve for endothermy” as a predictor of heterothermy in mammals and birds: a review. *J. Comp. Physiol. B*, 178: 1-8. 2008.

DAWSON, W. R. Avian Physiology. *Annu. Rev. Physiol.*, 37: 441-465. 1975.

DAWSON, W. R.; WHITTOW, G. C. 1994. Regulation of body temperature. Pages 343–390 In: Whittow, G. C. **Sturkie’s Avian Physiology**. 5th ed. Ed. Academic Press, London.

DOLNIK, V. R. The Origin of Homoiothermy Remains Unsolved Problem. *Zh. Obshch. Biol.*, 64 (6): 451-462. nov-dez, 2003.

DYBUS, A.; PIJANKA, J.; CHENG, Y. H.; SHEEN, F.; GRZESIAK, W. Polymorphism within the LDHA gene in the homing and non-homing pigeons. *J. Appl. Genet.*, 47 (1): 63-67. 2006.

FOWLER, M. E. **Zoo & Wild Animal Medicine**. 3 ed. Philadelphia: W. B. Saunders. 1993. 617 p.

FUDGE, A. **Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets**. Philadelphia: W. B. Saunders Company. 2000. 486 p.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Textbook of Medical Physiology**. 11 ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Saunders. 2005. 1116 p.

HALL, G. V. Lactate as a fuel for mitochondrial respiration. *Acta Physiol Scand*, 168: 643-656. 2000.

HASMUSSEN, U. F.; HASMUSSEN, H. N. Human skeletal muscle mitochondrial capacity. *Acta Physiol Scand*, 168: 473- 480. 2000.

HERBSCHLEB-VOGT, E.; KHAN, P. M. Defining the Locus of Origin of a Genetically Determined Electrophoretic Variant of a Multilocus Enzyme System; The Calcutta-1 of Human LDH System is a B-Locus Variant. *Hum. Genet.*, 57: 290-295. 1981.

HICKMAN JR, C. P.; ROBERTS, L. S.; LARSON, A. **Integrated Principles of Zoology**. 11a ed. New York: McGraw-Hill Higher. 2001. 899 p.

HILL, R. W.; WISE, G. A.; ANDERSON, M. **Animal Physiology**. 2<sup>a</sup> ed. Massachusetts: Sinauer Associates. 2004. 770 p.

HINDS, D. S.; BAUDINETTE, R. V.; MACMILLEN, R. E.; HALPERN, E. A. Maximum metabolism and the aerobic factorial scope endotherms. *J. Exp. Biol.*, 182: 41-56. 1993.

HULBERT, A. J.; ELSE, P. L. Mechanisms underlying the cost of living in animals. *Annual Review of Physiology*, 62: 207-235. 2000.

HUNT, G.; ROY, K. Climate change, body size evolution, and Cope's Rule in deep-sea ostracodes. *PNAS*, 103 (5): 1347-1352. jan 31, 2006.

JACKSON, J. A.; BOCK, W. J.; OLENDORF, D.; TRUMPEY, J. E.; HUTCHINS, M. **Grzimek's Animal Life Encyclopedia**. 2a ed. USA: Gale. 2003. v11. 616 p.

JAVED, M. H.; AZIMUDDIN, S. M. I.; HUSSAIN, A. N.; AHMED, A.; ISHAQ, M. Purification and characterization of lactate dehydrogenase from Varanus liver. *Experimental and Molecular Medicine*, 29 (1): 25-30. mar, 1997.

KOTEJA, P. Energy assimilation, parental care and the evolution of endothermy. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267: 479-484. 2000.

KHAZRALINIA, P.; SAEI, S.; MOHRI, M.; HADDADZADEH, H. R. Serum biochemistry of ostrich (*Struthio camelus*) in Iran. *Comp. Clin. Pathol.*, 15: 87-89. 2006.

KURT, K. **Periquitos Australianos: comportamento, alimentação e cuidados**. São Paulo: Ed. Melhoramentos, 2003. 48 p.

LaBARBERA, M. Analyzing Body Size as a Factor in Ecology and Evolution. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 97-117. Nov, 1989.

LASIEWSKY, R. C.; CALDER, W. A. Jr. A preliminary allometric analysis of respiratory variables in resting birds. *Respiration Physiology*, 11 (2): 152-166. 1971.

LASIEWSKI, R. C.; DAWSON, W. R. A Re-examination of the Relation Between Standart Metabolic Rate and Body Weight in Birds. *The Condor*, 69:13-23. 1967.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, K. Y. **Princípios de Bioquímica**. 3. ed. São Paulo : Sarvier, 2005, 975 p.

LI, Y. J.; TSOI, S. C. M.; MANNEN, H.; SHOEI-LUNG, S. Phylogenetic Analysis of Vertebrate Lactate Dehydrogenase (LDH) Multigene Families. *J. Mol. Evol*, 54: 614-624. 2002.

MANNEN, H.; TSOI, S. C. M.; KRUSHKAL, J. S.; LI, W. H.; LI, S. S. L. The cDNA Cloning and Molecular Evolution of Reptile and Pigeon Lactate Dehydrogenase Isozymes. *Mol. Biol. Evol*, 14(11): 1081-1087. 1997.

MAYER, P.M.; SMITH, L. M.; FORD, R. G.; WATTERSON, D. C.; McCUTCHEN, M. D.; RYAN, M. R. Nest construction by a ground-nesting bird represents a potential trade-off between egg crypticity and thermoregulation. **Oecologia**, 158 (4): jan, 2009. Disponível em: <<http://www.springerlink.com>>. Acesso em: 24 fev. 2009.

MAYES, P. A. Glicólise e oxidação do piruvato. **In: Harper' Bioquímica**. 6ª ed. São Paulo: Ed. Atheneu. 1990. 705 p.

MAXWELL, M.H. Avian blood leucocyte responses to stress. *World. Poult. Sci. J.* 49: 34-43, 1993.

MCKECHNIE, A. E. Phenotypic Flexibility in basal metabolic rate and the changing view of avian physiological diversity: a review. *J Comp Physiol B*, 178: 235–247. 2008.

- McNAB, B. K. Ecological factors affect the level and scaling of avian BMR. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 159: 22-45. 2009.
- MONIELLO, G.; BOVERA, F.; SOLINAS, I. L.; PICCOLO, G.; PINNA, W.; NIZZA, A. Effect of age and blood collection site on the metabolic profile of ostriches. *South African Journal of Animal Science*, 35 (4): 268-272. 2005.
- MOSS, D. W.; HENDERSON, A. R. Enzimas. **In: Tietz Fundamentos de Química Clínica**. 4ª ed. Philadelphia: Ed. Guanabara Koogan. 1998. 299 p.
- MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A.; RODWELL, V. W. **HARPER: Bioquímica ilustrada**. São Paulo : Atheneu, 2006, 692p.
- NAGY, K. A. Field metabolic rate and body size. *The Journal of Experimental Biology*, 208: 1621-1625. 2005.
- NEVES JÚNIOR, J. M. 2006. 96 p. **Estudo sobre as variações da massa corpórea, metabolismos basais e metabolismos específicos de alguns vertebrados ecto e endotérmicos, tendo como base a atividade da enzima lactato desidrogenase plasmática**. Tese de Doutorado em Biologia Animal – Fisiologia Animal. Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006.
- NUDDS, R. L.; RAYNER, J. M.; Scaling of body frontal area and body width in birds. *J. Morphol.*, 267(3):341-6. mar, 2006.
- ORR, R. T. **Biologia dos Vertebrados**. 5ª ed. São Paulo: Ed. Rocca. 2000. 508 p.
- PIANKA, E. R. Evolution of body size: Varanid lizard as a model system. *The American Naturalist*, 146 (3): 398-414. 1995.
- PINCUS, M. R.; ZIMMERMAN, H. L.; HENRY, J. B. Enzimologia Clínica. In: HENRI, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamentos – por métodos laboratoriais**. 19ª ed. São Paulo: Ed. Manole. 1995. 1677 p.
- POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A Vida dos Vertebrados**. 3ª ed. São Paulo: Ed. Atheneu. 2003. 699 p.
- RADALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. **Eckert Fisiologia Animal: Mecanismos e Adaptações**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan. 2000. 716 p.
- RESENDE, E. L.; SWANSON, D. L.; NOVOA, F. F.; BOZINOVIC, F. Passerines versus nonpasserines: so far, no statistical differences in the scaling of avian energetics. *The Journal of Experimental Biology*, 205: 101-107. 2002.
- RIOUX, P.; BLIER, P. U. Energetic Metabolism and Biochemical Adaptation: A BIRD FLIGHT MUSCLE MODEL. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 34 (2): 125–128. 2006.
- RUBEN, J. The Evolution of Endothermy in Mammals and Birds: From Physiology to Fossils. *Annu. Rev. Physiol.* 1995. 57:69-95. 1995.

SCHMIDT- NIELSEN, K. **Fisiologia Animal: Adaptação e Meio Ambiente**. 5ª ed. São Paulo: Ed. Santos. 2002. 611 p.

SEDGWICK, C. J. Allometric Scaling and Emergency Care: The Importance of Body Size. In: FOWLER, M. E. **Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy 3**. WB Saunders Company, Philadelphia, 1993. 617 p. p. 34-37.

SEEBACHER, F.; SCHWARTZ, T. S.; THOMPSON, M. B. Transition from ectothermy to endothermy: the development of metabolic capacity in a bird (*Gallus gallus*). *Proceedings of The Royal Society B*, 273: 565-570. 2006.

SILVA, J. E. Thermogenic Mechanisms and Their Hormonal Regulation. *Physiol Rev*, 86: 435-464. 2006.

SPEAKMAN, J. R. Body size, energy metabolism and lifespan. *The Journal Experimental Biology*, 208: 1717-1730. 2005.

STRYER, L.; TYMOSCKO, J.L.; BERG, J.M. **Bioquímica**. 4. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1996, 1002 p.

TSUJI, S.; QURESHI, M. A.; HOU, E. W.; FITCH, W. M.; LI, S. S. L. Evolutionary relationships of lactate dehydrogenases (LDHs) from mammals, birds, an amphibian, fish, barley, and bacteria: LDH cDNA sequences from *Xenopus*, pig and rat. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 91: 9392-9396. sept, 1994.

TURNER, N.; ELSE, P. L.; HULBERT, A. J. An allometric comparison of microsomal membrane lipid composition and sodium pump molecular activity in the brain of mammals and birds. *The Journal of Experimental Biology*, 208: 371-381. 2005.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica: a vida em nível molecular**. 2ª ed. Porto Alegre: Ed. Artmed. 2008. 1264 p.

WHITTOW, G. C. **Sturkie's Avian Physiology**. 5ª ed. San Diego, USA: Academic Press. 1994. 685 p.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. **Fisiologia do Esporte e do Exercício**. 2 ed. São Paulo: Ed. Manole. 2001. 709 p.

WU, P.; HOU, L.; PLIKUS, M.; HUGHES, M.; SCEHNET, J.; SUKSAWEANG, S.; WIDELITZ, R. B.; JIANG, T.; CHUONG, C.; Evo-Devo of amniote integuments and appendages. *Int. J. Dev. Biol.*, 48: 249-270. 2004.