

Resposta endócrina à contenção física e isolamento em papagaios-verdadeiros¹

Carla M. Queiroz², Gisele J. Santos³, Flavia C. Destro², Carlos R. Teixeira⁴, José C. Pantoja⁵, Elizabeth M.S. Schmidt³, Rupert Palme⁶ e João C.P. Ferreira^{2*}

ABSTRACT.- Queiroz C.M., Santos G.J., Destro F.C., Teixeira C.R., Pantoja J.C., Schmidt E.M.S., Palme R. & Ferreira J.C.P. 2016. [Endocrine response to physical restraint and isolation in blue-fronted parrots.] Resposta endócrina à contenção física e isolamento em papagaios-verdadeiros. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 36(Supl.1):41-45. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-970, Brazil. E-mail: jcferreira@fmvz.unesp.br

The aim of this study was to evaluate the response of blue-fronted parrots to restraint procedures and separation by non-invasive methods such as measurement of glucocorticoid metabolites in droppings. For this, we utilized 24 birds, 17 males and 7 females, initially kept in large adjacent aviaries, separated by sex. After capture and 3 minutes of manual contention, by random, 13 birds returned to the aviary and 11 animals were housed in individual cages in the same facility of the aviaries allowing the maintenance of auditory and visual contact between them. In order to evaluate if the physically isolated birds isolated or in groups would react in different ways, all droppings samples were collected at 3-hours intervals during 24 hours to evaluation of excreted glucocorticoid metabolites by enzymeimmunoassay. There were no significant effects of sex ($P=0.5850$), treatment ($P=0.6805$) and time ($P=0.2293$) and the glucocorticoid metabolites concentrations were within the diurnal range expected for this specie. Therefore, the endocrine response of both groups was similar and stress of capture and physical separation was not significant for the birds.

INDEX TERMS: Glucocorticoid metabolites, welfare, stress, *Amazona aestiva*.

RESUMO.- O objetivo deste trabalho foi analisar a resposta dos papagaios-verdadeiros aos procedimentos de contenção e separação física por método não invasivo, como a dosagem das concentrações de metabólitos de glicocorticoides nas excretas. Para tanto, foram utilizadas 24 aves, 17 machos e

sete fêmeas, inicialmente mantidas em viveiros amplos e adjacentes, separadas por sexo. Após captura e contenção de três minutos, 13 aves voltaram para os viveiros coletivos e 11 foram alojadas em gaiolas individuais no mesmo recinto dos viveiros, de modo a permitir que as aves isoladas mantivessem contato visual e auditivo com as demais. Para avaliar se os animais responderiam de maneira diferente quando fisicamente isolados ou em grupo, amostras de excretas foram coletadas sequencialmente em intervalos de três horas durante 24 horas para avaliação dos metabólitos de glicocorticoides por enzimaímunoensaio. Não houve efeito significativo de sexo ($P=0,5850$), tratamento ($P=0,6805$) e tempo ($P=0,2293$), e as concentrações de metabólitos de glicocorticoides mantiveram-se dentro da variação diurna esperada para esta espécie. Portanto, ambos os grupos responderam endocrinologicamente de forma semelhante e o estresse de captura e separação física não foi significativo para as aves.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Metabólitos de glicocorticoides, bem-estar, estresse, *Amazona aestiva*.

¹ Recebido em 14 de fevereiro de 2015.

Aceito para publicação em 21 de fevereiro de 2016.

² Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp), Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-970, Brasil. *Autor para correspondência: jcferreira@fmvz.unesp.br

³ Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, Unesp, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-970.

⁴ Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ, Unesp, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-970.

⁵ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ, Unesp, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-970.

⁶ Department für Biomedizinische Wissenschaften/Biochemie, Veterinärmedizinische Universität, Veterinärplatz 1, A-1210 Wien, Austria.

INTRODUÇÃO

Pertencente à Ordem Psittaciformes e à Família Psittacidae (IUCN 2012), a espécie *Amazona aestiva* também é conhecida popularmente como papagaio-verdadeiro, papagaio-comum ou papagaio-de-frente-azul (Sick 2001). São aves inteligentes, possuem plumagem exuberante e são capazes de imitar a voz humana e outros sons e por isto é comum o desejo de criá-las como animal de estimação (Collar 1997). Embora sua situação ainda seja “pouco preocupante” na Categoria Lista Vermelha da IUCN (International Union for Conservation of Nature), a tendência da população é o declínio (IUCN 2012). Estima-se que de cada dez animais traficados apenas um sobreviva, devido às condições extremas de estresse e maus tratos durante o processo (Renctas 2002).

A princípio, o estresse é uma resposta adaptativa que permite ao organismo responder fisiologicamente às mudanças e desafios (McEwen 2000, Goymann & Wingfield 2004). Contudo, para espécies da fauna selvagem, quando alguma demanda natural não é mantida em cativeiro, altos níveis de estresse podem ser gerados (Van Zeeland et al. 2009). A elevação crônica dos hormônios relacionados ao estresse favorece o desenvolvimento de distúrbios comportamentais como fobias, arrancamento de penas, estereotipias, agressividade excessiva e automutilação (Van Hoek & Tem Cate 1998, Meehan et al. 2004, Van Zeeland et al. 2009) e ainda afeta o crescimento animal, condição corporal e sistema imunológico (Korte et al. 2005, Lundberg 2005, Stöwe et al. 2008) favorecendo efeitos multidimensionais negativos na saúde animal (Stothart et al. 2016). Estudos que envolvam o bem-estar e características sociais destas aves em cativeiro se fazem necessários para melhorar o cuidado e o manejo (Meehan et al. 2003, Peixoto & Tischer 2004).

A mensuração das concentrações sanguíneas de corticosterona em aves provê informações importantes a respeito da atividade adrenocortical, possibilitando inferir sobre o bem-estar nesses animais. Porém, a obtenção de sangue em aves silvestres é um procedimento invasivo, estressante e inapropriado para essa avaliação (Romero & Reed, 2005). Os benefícios associados às amostragens que não requerem contenção, anestesia e coleta de sangue incluem menor risco ao animal e investigador, assim como a possibilidade de obter perfis endócrinos que não foram influenciados pelo procedimento de amostragem. Para tanto, é possível utilizar as excretas dos animais para quantificação dos metabólitos de glicocorticoides (MG) (Möstl et al. 2005, Palme 2012). Como o uso de kits específicos para dosagem das concentrações sanguíneas de hormônios plasmáticos (cortisol, corticosterona) tem se mostrado inadequado para a mensuração dos MG nas excretas de papagaios-verdadeiros (Fujihara et al. 2014), é necessário que sejam empregados, para as dosagens hormonais nas excretas, ensaios que utilizem anticorpos com afinidade para um grande número dos metabólitos, como o ensaio imunoenzimático de cortisona grupo específico validado para essa espécie por Ferreira et al. (2015).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é analisar a resposta dos papagaios-verdadeiros a procedimentos enfren-

tados em cativeiro como contenção física seguida ou não de separação física por meio da dosagem dos níveis de metabólitos de glicocorticoides nas excretas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 24 papagaios, sete fêmeas e 17 machos, hígidos, adultos, de diversas idades, pertencentes ao CEMPAS (Centro de Manejo e Pesquisa de Animais Silvestres) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp-Botucatu. Os animais, mantidos em dois viveiros coletivos amplos e adjacentes, estavam separados por sexo e familiarizados ao manejo e à alimentação. O experimento estava de acordo com os princípios éticos na experimentação animal e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) sob o Protocolo nº145/2010.

O projeto foi desenvolvido no mês de abril de 2012. Após um período de adaptação de 15 dias às condições experimentais e à presença da equipe de trabalho, os animais foram submetidos à captura com puçá e contenção manual por aproximadamente três minutos. Após este procedimento, realizado por diferentes veterinários, as aves foram separadas ao acaso, sendo que 13 (11 machos e duas fêmeas) voltaram para os viveiros coletivos e 11 (seis machos e cinco fêmeas) foram alojadas em gaiolas individuais no mesmo recinto dos viveiros, de modo a permitir que as aves isoladas mantivessem o contato visual e auditivo com as demais.

Uma hora antes do procedimento as fezes dos animais foram coletadas na forma de *pool*, representando o momento zero. Subsequentemente, a cada três horas, durante 24 horas, as excretas foram colhidas dos viveiros (*pool* de amostras) e das gaiolas (amostras individuais), sendo acondicionadas imediatamente a -20°C.

A extração dos MG foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Proteínas de Fase aguda e Monitoramento Não invasivo da Reprodução e do Bem-estar Animal da FMVZ, Unesp Botucatu. Para tanto, foram pesados 0,05g de excretas em balança analítica e acrescentado 1mL de Metanol 80%. Após agitação contínua de 30 minutos em vórtex multitubos, as amostras foram centrifugadas a 500g por 20 minutos. Então, uma alíquota de 500µL do sobrenadante foi transferida para outro frasco e evaporada a 50°C por 14 horas. Após a evaporação os extratos secos foram armazenados a -20°C até o momento do ensaio.

As dosagens dos MG foram realizadas por ensaio imunoenzimático no Departamento de Ciências Biomédicas da Universidade de Medicina Veterinária de Viena, Austria. Um dia antes das análises, os extratos secos foram rediluídos em 500µL de metanol 80%. Após a diluição, as alíquotas foram misturadas e mantidas a -20°C por 24 horas, agitadas por um minuto em vórtex multitubos e centrifugadas a 8000 g por dois minutos.

Os MG foram quantificados em uma alíquota de 30 µL do extrato diluído na proporção 1:10 em solução de ensaio, empregando-se a técnica de ensaio imunoenzimático de cortisona grupo específico, primeiramente descrita e validada em galináceos por Rettenbacher et al. (2004) e validada em papagaios-verdadeiros por Ferreira et al. (2015). Os coeficientes de variação intra e interensaio foram, respectivamente, 3,15% e 4,96%, e a sensibilidade do ensaio foi de 1,4ng/g de fezes. Todas as amostras foram dosadas em duplicata. As concentrações de MG foram expressas em ng/g de excretas.

Os dados foram analisados pelo programa SAS, versão 2009. Como não apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variância, os valores foram transformados logaritmicamente após a reposição das amostras perdidas por interpolação linear. Um modelo de medidas repetidas foi usado para determinar o efeito de sexo, tratamento (gaiola e viveiro) e tempo. Um termo de interação entre tratamento e momento foi incluído no modelo

para testar a hipótese de que a diferença entre grupos seria dependente do momento analisado. Uma estrutura de covariância auto regressiva foi usada para modelar a correlação entre medições repetidas dentro da mesma ave. O nível de significância considerado para todos os testes foi $P < 0,05$.

RESULTADOS

Apesar das variações individuais (3,5-1006,18ng/g excretas) a análise das concentrações dos MG mensuradas durante 24 horas não evidenciou efeito de sexo ($P=0,5850$), tratamento ($P=0,6805$) ou tempo ($P=0,2293$) (Fig.1). O presente estudo também não evidenciou diferenças significativas nas concentrações de MG entre machos e fêmeas de papagaios-verdadeiros, permitindo o agrupamento dos dados para análise. As fotografias das condições experimentais estão evidenciadas abaixo (Fig.2).

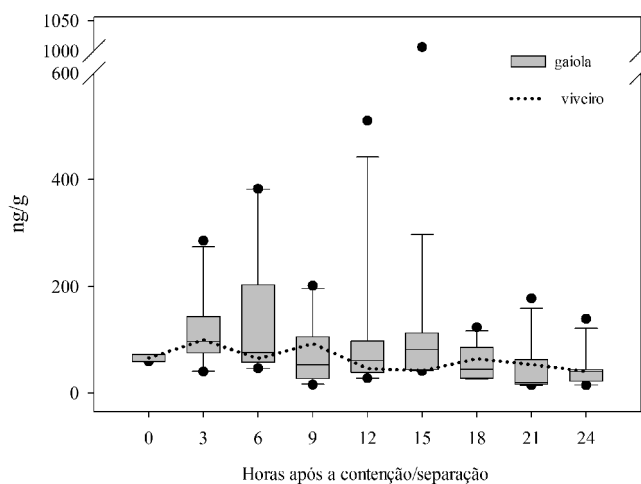


Fig.1. Boxplot dos metabólitos de glicocorticoides (MG, ng/g de excreta) de papagaios-verdadeiros após contenção física seguida de isolamento físico (boxes cinzas, n=11) e valores medianos apresentados pelos animais controle submetidos à contenção seguida de retorno aos viveiros coletivos (linha pontilhada, n=13).



Fig.2. (A) Viveiros adjacentes onde os animais permanecem em grupos, separados por sexo. (B) As gaiolas onde os animais foram isolados (B).

DISCUSSÃO

Os resultados deste experimento expressam pela primeira vez os efeitos da contenção física seguida ou não do isolamento físico sobre as concentrações de MG nas excretas de papagaios-verdadeiros.

De forma similar ao relatado para pássaros (passarinho-do-ártico, *Zonotrichia leucophrys gambelii*) (Astheimer et al. 1994), corujas (Wasser et al. 1997, Wasser &

Hunt 2005), galináceos (Rettenbacher et al. 2004) e mamíferos, como o hamster sírio (Chelini et al. 2010), o presente estudo também não evidenciou diferenças significativas nas concentrações de MG entre machos e fêmeas de papagaios-verdadeiros. Essa resposta adrenocortical semelhante entre os sexos foi também observada por Ferreira et al. (2015) quando avaliaram, fora da estação reprodutiva, as concentrações de metabólitos de glicocorticoides nas excretas de papagaio-verdadeiro ao longo do dia e após desafio com ACTH. Estes achados em conjunto consolidam a informação de que, para esta espécie, durante o período não reprodutivo, as taxas de secreção e metabolização dos glicocorticoides são semelhantes em machos e fêmeas.

No presente estudo, a despeito da ausência de elevação significativa das concentrações de MG nas excretas, os maiores valores foram observados entre três e seis horas após a contenção e separação física das aves, semelhante ao descrito por Ferreira et al. (2015) que observaram a elevação das concentrações de MG nas excretas de papagaio-verdadeiro, a partir de três após desafio com ACTH (25 UI, im).

O gênero *Amazona* é sociável e pode ser encontrado em grupos de, em média, 2 a 4 indivíduos (Gilard & Munn 1998). Stöwe et al. (2009) afirmam que o contexto social pode modular o estresse em aves, tais como o chapim-real (*Parus major*). Contudo, mesmo em aves altamente sociais, o quanto um indivíduo está de fato integrado socialmente em seu grupo pode variar substancialmente (Stocker et al. 2016). Em um estudo realizado por Meehan et al. (2004), observou-se comportamento afiliativo em papagaios-do-mangue (*Amazona amazonica*) e esta característica ajudou os animais a enfrentarem situações estressantes quando isolados do grupo e alojados aos pares. Pouco se sabe sobre como se estabelecem, se mantêm e são valoradas as relações sociais em papagaios-verdadeiros. No presente estudo, as aves que voltaram ao viveiro não apresentaram menores taxas de excreção de MG quando comparadas com aquelas que foram alojadas em gaiolas individuais. O fato das gaiolas individuais terem permanecido no mesmo recinto e do isolamento ter sido apenas físico, com manutenção do contato visual e auditivo entre as aves, pode ter minimizado o efeito da separação, que não potencializou os efeitos da contenção física.

As concentrações de MG nas excretas de papagaio-verdadeiro observadas no presente estudo foram semelhantes às descritas por Ferreira et al. (2015) ao estudar as variações fisiológicas diurnas desses metabólitos. Esse achado sinaliza que os desafios enfrentados pelos animais (contenção e separação) não desencadearam elevações plasmáticas importantes dos glicocorticoides.

A contenção física é considerada um evento estressante em aves (Carsia & Harvey 2000). Contudo, Collette et al. (2000) observaram que papagaios-do-mangue (*Amazona amazonica*), quando submetidos à contenção diária, dos 25 dias de idade até 38 dias depois do empenamento, apresentaram concentrações séricas de corticosterona inferiores as apresentadas pelas aves que experimentaram o manuseio pela primeira vez aos 66 dias de idade. Os autores concluíram que o manuseio neonatal diário permite que os animais sejam contidos posteriormente sem interpretarem

o procedimento como estressante. Ferreira et al. (2015) observaram, em papagaios-verdadeiros adultos, um comportamento semelhante, pois quando papagaios-verdadeiros adultos foram condicionados à contenção e injeção com solução salina (0,9% NaCl, im) não foi observada elevação das concentrações de MG nas excretas desses animais após esses procedimentos. Os achados de Ferreira et al. (2015) juntamente aos do presente estudo ampliam este conceito e sugerem que indivíduos adultos podem ser condicionados à manipulação e contenção física sem que esse evento seja causador de estresse. Além disso, os animais empregados nestes estudo se encontram no CEMPAS há no mínimo dois anos. O fato das aves estarem, de certa forma, familiarizadas com o ambiente e com as pessoas envolvidas no manejo diário (limpeza dos viveiros, alimentação e eventuais contenções), pode ter influenciado os resultados e amenizado o efeito dos tratamentos.

Hennessy (1997) afirma que em aves, a separação de parceiros que exibem sinais de ligação emocional causa uma ativação imediata e persistente do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, enquanto a separação de duplas com comportamento afiliativo, mas sem sinais de vínculo emocional, possui pouco ou nenhum efeito. No nosso estudo, o isolamento físico não potencializou os efeitos da contenção física. Podemos propor que as aves não possuíam fortes vínculos entre si em cativeiro ou que o contato visual e auditivo foi suficiente para amenizar os efeitos do isolamento físico.

Estudos utilizando gansos (Baltic et al. 2005) e corvos (Stöwe et al. 2008, Stocker et al. 2016) afirmam que a organização social influencia o metabolismo e a excreção de glucocorticoides fazendo-os variar entre indivíduos da mesma espécie. Em corvo-comum (*Corvus corax*), aves com maior grau de dominância tendem a apresentar maiores concentrações de MG que os subordinados (Stöwe et al. 2008) e aves com forte interação social podem revelar menores concentrações de MG quando mantidas em grupo (Stocker et al. 2016).

Desta forma, a organização social do viveiro é uma das possíveis explicações dos resultados obtidos no presente estudo e sinaliza a importância de se conhecer previamente as relações sociais dos animais para o melhor compreensão dos fenômenos fisiológicos associados à separação nesta espécie.

Finalmente, as aves empregadas no presente estudo apresentavam uma grande diversidade de origens, pois eram oriundas de apreensões, doações, abandonos e possuíam, portanto, histórias diferentes. Experiências anteriores são importantes para papagaios e condicionam os efeitos estressores de determinados procedimentos (Collete et al. 2000, Ferreira et al. 2015). No entanto, a diversidade encontrada no estudo foi uma característica positiva pois refletiu a realidade de zoológicos e outros tipos de cativeiros.

CONCLUSÃO

A contenção, seguida ou não de isolamento físico, em ambientes que permitam a manutenção do contato auditivo e visual entre as aves, não elevou as concentrações de

metabólitos de corticosterona nas excretas de papagaios-verdadeiros. Contudo, mais pesquisas nesta espécie são necessárias para que seja possível entender os efeitos do ambiente e da organização social na resposta a procedimentos de manejo ou situações cotidianas enfrentadas por esses animais.

Agradecimentos.- À FAPESP (Auxílio 2009/05864-8, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) e PROPQ (Pró-Reitora de Pós-Graduação) - Unesp pelo suporte financeiro, à Edith Klobetz Rassam pela assistência técnica nos procedimentos de Enzimaimunoensaio e a todos os funcionários e residentes do CEMPAS pelo apoio e auxílio dados a este projeto de pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Astheimer L.B., Buttemer W.A. & Wingfield J.C. 1994. Gender and seasonal differences in the adrenocortical response to ACTH challenge in an arctic passerine, *Zonotrichia leucophrys gambelii*. Gen. Comp. Endocrinol. 94:33-43.
- Baltic M., Jenni-Eiermann S., Arlettaz R. & Palme R. 2005. A noninvasive technique to evaluate human-generated stress in the Black Grouse. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1046:1-15.
- Carsia R.V. & Harvey S. 2000. Adrenals, p.489-537. In: Whittow G.C. (Ed.), *Sturkie's Avian Physiology*. 5th ed. Academic Press, London.
- Chelini M.M., Otta E., Yamakita C. & Palme R. 2010. Sex differences in the excretion of fecal glucocorticoid metabolites in the Syrian hamster. J. Comp. Physiol. B, Biochem. Syst. Environ. Physiol. 180:919-925.
- Collar N.J. 1997. Family Psittacidae (parrots), p.280-477. In: Van Hoyo J., Elliott A. & Haffer J.H. (Eds), *Handbook of the Birds of the World: sandgrouse to cuckoos*. Vol.4. Lynx Ediciones, Barcelona.
- Collette J.C., Millam J.R., Klasing K.C. & Wakenell P.S. 2000. Neonatal handling of Amazon parrots alters the stress response and immune function. Appl. Anim. Behav. Sci. 6:335-349.
- Ferreira J.C.P., Fujihara C.J., Fruhvald E., Trevisol E., Destro F.C., Teixeira C.R., Pantoja J.C., Schmidt E.M. & Palme R. 2015. Non-invasive measurement of adrenocortical activity in blue-fronted parrots (*Amazona aestiva*, Linnaeus, 1758). PLoS ONE 10(12): e0145909
- Fujihara C.J., Marques Filho W.C., Monteiro A.L.R., Bittencourt R.F., Queiroz C.M., Pereira R.J.G. & Ferreira J.C.P. 2014. Measurement of glucocorticoid and progesterone metabolites in feces of blue fronted parrot (*Amazona aestiva*). Ciênc. Anim. Bras. 15:277-288.
- Gilard J.D. & Munn C.A. 1998. Patterns of activity, flocking and habitat use in parrots of the Peruvian Amazon. Condor 100(4):641-653.
- Goymann W. & Wingfield J.C. 2004. Allostatic load, social status and stress hormones: the costs of social status matter. Anim. Behav. 67:591-602.
- Hennessy M.B. 1997. Hypothalamic-pituitary-adrenal response to brief social separation. Neurosci. Biobehav. Rev. 21(1):11-29
- IUCN 2012. *Amazona aestiva*. BirdLife International 2012, IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. Acesso em 19 de novembro de 2012. Online. Disponível em <www.iucnredlist.org>
- Korte S.M., Koolhaas J.M., Wingfield J.C. & McEwen B.S. 2005. The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. Neurosci. Biobehav. Rev. 29:3-38.
- Lundberg U. 2005. Stress hormones in health and illness: the roles of work and gender. Psychoneuroendocrinology 30:1017-1021.
- McEwen B.S. 2000. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. Brain Res. 886:172-189.
- Meehan C.L., Garner J.P. & Mench J.A. 2003. Isosexual pair housing improves the welfare of young Amazon parrots. Appl. Anim. Behav. Sci. 81:73-88.
- Meehan C.L., Garner J.P. & Mench J.A. 2004. Environmental enrichment and development of cage stereotypy in Orange-winged Amazon Parrots (*Amazona amazonica*). Dev. Psychobiol. 44:209-218.

- Möstl E., Rettenbacher S. & Palme R. 2005. Measurement of corticosterone in bird's droppings: an analytical approach. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1046:17-34.
- Palme R. 2012. Monitoring stress hormone metabolites as a useful, non-invasive tool for welfare assessment in farm animals. *Anim. Welf.* 21:331-337.
- Peixoto J.E. & Tischer M.C. 2004. Avaliação da reprodução de papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) em zoológicos brasileiros durante o período 1966/2001. Anais Congresso sociedade paulista de zoológicos, Leme, SP. Disponível em <<http://spzoo.org.br/0104.htm>> Acesso em 15 abr. 2012.
- RENTAS 2002. Animais Silvestres: vida à venda. Renctas, Brasília.
- Rettenbacher S., Möstl E., Hackl R., Ghareeb K. & Palme R. 2004. Measurement of corticosterone metabolites in chicken droppings. *Brit. Poult. Sci.* 45:704-711.
- Romero M.L. & Reed J.M. 2005. Collecting baseline corticosterone samples in the field: is under 3 min good enough? *Comp. Biochem. Physiol.* 140:73-79.
- Sick H. 2001. Ornitologia Brasileira: uma introdução. 3ª ed. Editora Nova Fronteira, Rio de Janeiro. 912p.
- Stocker M., Munteanu A., Stöwe M., Schwab C., Palme R. & Bugnyar T. 2016. Loner or socializer? Ravens' adrenocortical response to individual separation depends on social integration. *Horm. Behav.* 78:194-199.
- Stothart M.R., Bobbie C.B., Schulte-Hostedde A.I., Boonstra R., Palme R., Mykytczuk N.C.S. & Newman A.E.M. 2016. Stress and the microbiome: linking glucocorticoids to bacterial community dynamics in wild red squirrels. *Biol. Lett.* 12(1):20150875.
- Stöwe M., Bugnyar T., Schloegl C., Heinrich B., Kotrschal K. & Möstl E. 2008. Corticosterone excretion patterns and affiliative behavior over development in ravens (*Corvus corax*). *Horm. Behav.* 53:208-216.
- Stöwe M., Drent P. & Möstl E. 2009. Social context and with-in pair behavior may modulate hormonal stress response in Great tits (*Parus major*), p.159-178. In: Heatherton A.T. & Walcott V.A. (Eds), *Handbook of Social Interactions in the 21st Century*. Nova Science Publishers, Hauppauge.
- Van Hoek C.S. & Ten Cate C. 1998. Abnormal behavior in caged birds kept as pets. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.* 1(1):51-64
- Van Zeeland Y.R.A., Spruit B.M., Rodenburg T.B., Riedstra B., Van Hierden Y.M., Buitenhuis B., Korte S.M. & Lumeij J.T. 2009. Feather damaging behaviour in parrots: a review with consideration of comparative aspects. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 121:75-95.
- Wasser S.K. & Hunt K.E. 2005. Noninvasive measures of reproductive function and disturbance in the barred owl, great horned owl and northern spotted owl. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1046:1-29.
- Wasser S.K., Bevis K., King G. & Hanson E. 1997. Noninvasive physiological measures of disturbance in the northern spotted owl. *Conserv. Biol.* 11(4):1019-1022.