

## O uso da técnica de imersão na determinação do estágio de incubação dos ovos de *Ramphocelus bresilius* (Passeriformes: Emberizidae)

Gloria Denise Augusto Castiglioni e Luiz Pedreira Gonzaga

Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Caixa Postal 68033, 21944-970, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. E-mail: gdac@biologia.ufrj.br.

Recebido em 11 de fevereiro de 1999; aceito em 2 de setembro de 1999

**ABSTRACT.** The immersion technique for determining incubation stage of Brazilian Tanager (*Ramphocelus bresilius*) eggs (Passeriformes: Emberizidae). Immersing eggs in a beaker of fresh water at ambient temperature and scoring their flotation degree proved to be an easy and accurate way of predicting hatching dates of Brazilian Tanager eggs (average mass = 3.52 g, N = 20; incubation period = 12.5 days, N = 8). This method increased the data obtained during a study of the breeding biology of this species in southeastern Brazil (1992-1996). Hatching success was not significantly different ( $G_y = 0.013$ ;  $p = 0.908$ ) between eggs that were immersed one or more times (91.9%, N = 34) and those that were not (93.4%, N = 57). Although this technique has apparently not been used for aging eggs of other passerines, it seems to be an advantageous method to be tested for other species.

**KEY WORDS:** breeding biology, egg immersion technique, Emberizidae, incubation, *Ramphocelus bresilius*.

**PALAVRAS-CHAVE:** biologia reprodutiva, Emberizidae, incubação, *Ramphocelus bresilius*, técnica de imersão de ovos.

Em estudos sobre a biologia reprodutiva de uma espécie de ave, a data de eclosão dos ovos freqüentemente é um dado necessário mas difícil de obter nos trabalhos de campo. Quando se presencia o início da postura e se conhece o intervalo com que os ovos são postos, o número de ovos por ninhada e a duração do período de incubação, pode-se prever, com alguma segurança, a época da eclosão. Contudo, para muitas espécies tropicais, essas informações não estão publicadas. Além disso, nem sempre é possível encontrar ninhos em seus estágios iniciais, em construção e antes da postura, sendo muitas vezes encontrados já com ovos em incubação, ou com ninhegos.

Para programar sua coleta de dados, prevendo o dia da eclosão dos ovos em ninhos cuja incubação esteja em curso quando descobertos, o pesquisador precisa de recursos que permitam determinar a idade aproximada do embrião. Entre as técnicas mais usadas, geralmente com não-Passeriformes, encontram-se a do ovoscópio (Hanson 1954, Weller 1956, Hanson e Kossak 1957, Young 1988, Lokemoen e Koford 1996) e a de imersão dos ovos em água (e.g. Hays e LeCroy 1971, Howe 1982, Nol e Blokpoel 1983, Estelle *et al.* 1996).

No ovoscópio, o ovo é colocado contra uma fonte de luz natural ou artificial, para que o grau de desenvolvimento embrionário possa ser estimado através da maior ou menor luminosidade que atravessa a casca. A técnica de imersão consiste em mergulhar o ovo em água e observar sua posição. À medida que o embrião se desenvolve o ovo gradualmente flutua até atingir a superfície.

Essas técnicas variam quanto ao grau de precisão e às dificuldades no manuseio dos ovos e equipamento, existindo opiniões favoráveis e contrárias a ambas. Em geral, os usuários de uma técnica mostram as suas vantagens e procuram ressaltar as desvantagens e imprecisões da outra.

Durante um estudo sobre a reprodução de *Ramphocelus bresilius*, espécie endêmica da costa atlântica do Brasil, usamos a técnica de imersão de ovos em água para estimar o desenvolvimento dos embriões. O objetivo deste trabalho é apresentar os resultados obtidos com a utilização dessa técnica em ovos de uma espécie de passeriforme e sugerir sua aplicação a outras espécies.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho faz parte de um estudo mais amplo sobre a biologia reprodutiva de *R. bresilius*, realizado entre 1992 e 1996 na restinga de Barra de Maricá (22°57'42"S, 42°51'35"W), Município de Maricá, Estado do Rio de Janeiro (Castiglioni 1998).

A cada ano, fizemos uma busca intensiva de ninhos ativos de *R. bresilius* a partir de julho, quando se inicia a estação reprodutiva da maioria dos passeriformes na região (obs. pess.). A partir da data de descoberta dos ninhos, estes foram visitados em intervalos de um a dois dias, até o seu desfecho.

*Ramphocelus bresilius*, na área de estudo, faz uma postura de dois a três ovos azuis com manchas negras espalhadas por toda a superfície, às vezes mais concentradas em um dos pólos ou no meio da casca. A massa dos ovos recém-postos variou de 2,8 g a 4,0 g ( $\bar{x} = 3,52$  g, N = 20). A incubação estendeu-se por 12 a 14 dias ( $\bar{x} = 12,5$  dias, N = 8).

Os ovos, marcados individualmente com canetas para retroprojektor, de diferentes cores, foram cuidadosamente colocados, um de cada vez, em um recipiente de plástico transparente com água à temperatura ambiente e o seu posicionamento em relação à superfície da água e sua inclinação foram observados. Em seguida, os ovos foram

retirados da água com o auxílio de uma pequena colher de plástico, colocados em papel absorvente por alguns segundos para secar e devolvidos ao ninho. Só começamos a usar essa técnica no último ninho da estação reprodutiva de 1993. Assim, não submergimos os ovos da maioria dos ninhos encontrados em 1992 (N = 19 ovos; 8 ninhos) e 1993 (N = 32 ovos; 14 ninhos), bem como os ovos de cinco ninhos encontrados em 1994 (N = 8) e um em 1996 (N = 2).

Inicialmente, para a obtenção de um padrão de flutuação dos ovos de acordo com o desenvolvimento e a idade do embrião, submergimos apenas os ovos de ninhos cujas datas de construção e início da postura eram conhecidas (N = 17 ovos; 7 ninhos). A partir do momento em que identificamos um padrão, incluímos na análise ovos com data de postura desconhecida (N = 20 ovos; 9 ninhos).

Para verificar se a imersão teria prejudicado o desenvolvimento do embrião, aplicamos o teste G com correção de Yates para um grau de liberdade, comparando o número de ovos eclodidos e não-eclodidos entre os ovos imersos uma ou mais vezes (1993 a 1996) e os que não foram submersos (1992-1996, grupo controle).

Mesmo ovos não incubados podem sofrer, por evaporação, uma ligeira perda de água e conseqüente modificação da sua posição quando imersos (Westerskov 1950). Portanto, nos ninhos em que não detectamos a presença da fêmea por longos períodos foi preciso verificar se os ovos estavam sendo incubados ou não. Para isso, colocamos uma pequena folha de uma planta qualquer dentro do ninho, voltando após algumas horas para ver se a folha havia sido removida. Esse método foi bastante eficiente porque, como registramos com uma câmara automática de vídeo, a primeira providência da fêmea ao retornar ao ninho foi retirar a folha de seu interior.

## RESULTADOS

*Caracterização dos estágios de incubação.* Definimos oito classes correspondentes a estágios progressivos de desenvolvimento embrionário ou tempo de incubação, segundo a inclinação e a posição dos ovos em relação ao recipiente com água (figura 1):

- no estágio I, os ovos recém-postos ou com menos de 24 horas da postura permaneceram no fundo do recipiente, em posição horizontal.

- no estágio II, com 1-2 dias de incubação, os ovos apresentaram uma leve inclinação (formando seu eixo um ângulo de cerca de 30° com o fundo do recipiente), com o pólo agudo ainda tocando o fundo e o pólo rombo voltado para a superfície.

- no estágio III, com 3-4 dias de incubação, os ovos apresentaram uma inclinação mais acentuada (cerca de 60°).

- no estágio IV, com 5-6 dias de incubação, os ovos ficaram em posição vertical, com o pólo agudo apoiado no fundo do recipiente.

- no estágio V, com 7-8 dias de incubação, os ovos ficaram na posição vertical, com o pólo agudo apenas tocando o fundo

do recipiente como no estágio IV, mas flutuando quando puxados para cima.

- no estágio VI, com 9-10 dias de incubação, os ovos flutuaram com o pólo rombo apenas tocando a superfície da água. Mesmo quando empurrados para baixo eles não afundavam.

- no estágio VII, com 11-12 dias de incubação, os ovos flutuaram com cerca de 60% da área do pólo rombo emersa.

- no estágio VIII, os ovos flutuaram com acentuada inclinação, expondo o máximo de área do pólo rombo para fora da água. Esse estágio correspondeu aos ovos a menos de 24 horas da eclosão. Quando encostados ao ouvido do observador, era possível ouvir estalidos fracos vindos de dentro dos ovos.

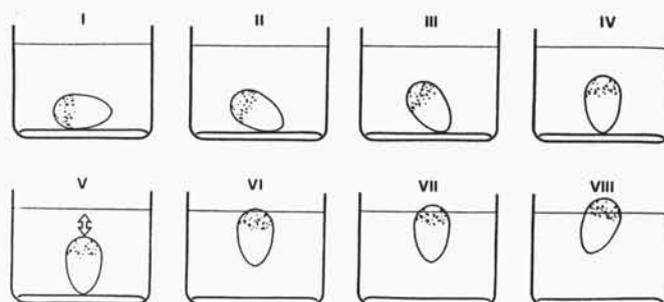


Figura 1. Estágios de incubação dos ovos de *Ramphocelus bresilius*. I. ovos recém-postos ou com menos de 24 horas desde a postura; II. 1-2 dias de incubação; III. 3-4 dias de incubação; IV. 5-6 dias de incubação; V. 7-8 dias de incubação; VI. 9-10 dias de incubação; VII. 11-12 dias de incubação; VIII. ovos a menos de 24 horas da eclosão.

*Efeitos da imersão sobre a eclosão dos ovos.* Não houve diferença significativa quanto ao sucesso do desenvolvimento embrionário entre os ovos que foram imersos uma ou mais vezes e os que não foram (tabela 1,  $G_y = 0,013$ ;  $P = 0,908$ ). Nos dois grupos, mais de 90% de todos os ovos considerados eclodiram dentro do prazo esperado.

Tabela 1. Número (%) de ovos eclodidos e não-eclodidos por grupo de ovos com diferentes tratamentos.

	Número de ovos	
	eclodidos	não-eclodidos
Ovos imersos (N = 37; 16 ninhos)	34 (91,9%)	3 (8,1%)
Ovos não imersos (N = 61; 28 ninhos)	57 (93,4%)	4 (6,6%)
TOTAL	91 (92,9%)	7 (7,1%)

## DISCUSSÃO

A técnica de imersão dos ovos funcionou muito bem no presente estudo, sendo de execução extremamente simples, permitindo uma previsão satisfatória do dia da eclosão de ovos encontrados depois do início da incubação e não prejudicando os embriões. Não foi preciso levar água

aquecida para o campo, como sugerido por Lokemoen e Koford (1996) pois, como a temperatura ambiente era normalmente alta, a água transportada em um cantil conservou-se em temperatura adequada.

Schreiber (1970) argumenta que a imersão em água pode matar alguns embriões e que esse fator de mortalidade necessita de investigação adicional. Contudo, vários fatores, intrínsecos ou extrínsecos, podem levar à não-eclosão de ovos de aves silvestres (Skutch 1985) e conseqüente morte do embrião. A porcentagem média de ovos não-eclodidos, no presente trabalho, foi equivalente à das 24 espécies de passeriformes estudadas por Skutch (1985) na Costa Rica (0%-27,8%,  $\bar{x}$  = 6,0%, N = 1573 ovos). Além disso, não atribuímos esse resultado à técnica de imersão dos ovos porque os ovos que foram imersos em água apresentaram uma alta taxa de sucesso, semelhante à daqueles que não foram imersos.

O uso da técnica de imersão permitiu que prevíssemos, com um ou dois dias de precisão, a eclosão de ovos com datas de postura desconhecidas. Sem isso, um conjunto importante de dados para o estudo da biologia reprodutiva de *R. bresilius* não teria sido obtido. Essa técnica possibilitou a obtenção de uma amostra maior para a construção de uma curva de crescimento de ninhegos, para a determinação do período de permanência dos filhotes no ninho e para a anotação de características dos ninhegos de diversas idades (Castiglioni 1998). Casos de desaparecimento do conteúdo do ninho, quando ovos foram predados em fase inicial ou intermediária de incubação, também puderam ser melhor interpretados. A avaliação do estágio de incubação, nesses casos, permitiu eliminar a hipótese de ter ocorrido eclosão, seguida de predação do ninhego, no intervalo entre nossas visitas.

A possibilidade de estimativa do estágio de incubação de ovos com casca muito pigmentada ou espessa, que não podem ser avaliados com o ovoscópio (Westerskov 1950, Weller 1956, Lokemoen e Koford 1996), parece-nos uma vantagem imediata da técnica de imersão sobre este último. Porém, não sabemos se mesmo uma rápida imersão em água pode resfriar excessivamente ovos menores (com superfície proporcionalmente maior) do que os de *R. bresilius*, a ponto de prejudicar seu desenvolvimento. Mesmo nesse caso, contudo, o uso de água ligeiramente aquecida ao sol ou mantida num cantil térmico poderia solucionar o problema.

Sugerimos que a técnica de imersão seja testada com outras espécies, especialmente de passeriformes, para verificar sua adequação a uma maior variedade de tipos e tamanhos de ovos e, assim como sugeriu Schreiber (1970), se é possível generalizar uma escala de flutuação aplicável a ovos com diferentes períodos de incubação.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Ana Luiza F. S. Lima, Arianna R. Camardella, Carlos Frederico da Rocha, Cecília A. de Freitas,

Francisco Mallet-Rodrigues, Gilson Evaristo Ximenes, Henrique B. Rajão, Jandyra P. Gonzaga, Luiz de Gonzaga, Maria Alice dos S. Alves, Myrna F. Landim e principalmente a Larissa S. T. da Cunha, pela colaboração que viabilizou a coleta de dados no campo. A Francisco Mallet-Rodrigues e aos revisores anônimos pelas críticas e sugestões ao manuscrito.

L. P. G. tomou conhecimento da técnica discutida neste trabalho em uma demonstração feita por Marshall Howe em 1985, durante o "III International Migratory Bird Workshop", de que participou com o apoio do U. S. Fish and Wildlife Service e Bird Banding Laboratory, em Maryland, E.U.A.

#### REFERÊNCIAS

- Castiglioni, G. D. A. (1998) *Biologia reprodutiva e organização social de Ramphocelus bresilius (Passeriformes: Emberizidae) na restinga de Barra de Maricá, Estado do Rio de Janeiro*. Tese de mestrado. Campinas: Univ. Estadual Campinas.
- Estelle, V. B., T. J. Mabee e A. H. Farmer (1996) Effectiveness of predator exclosures for Pectoral Sandpiper in Alaska. *J. Field Ornith.* 67:447-452.
- Hanson, H. C. (1954) Criteria of age of incubated Mallard, Wood Duck, and Bob-white Quail eggs. *Auk* 71:267-272.
- \_\_\_\_\_ e C. W. Kossak (1957) Methods and criteria for aging incubated eggs and nestlings of the Mourning Dove. *Wilson Bull.* 69:91-101.
- Hays, H. e M. LeCroy (1971) Field criteria for determining incubation stage in eggs of the Common Tern. *Wilson Bull.* 83:425-429.
- Howe, M. A. (1982) Social organization in a nesting population of Eastern Willets (*Catoptrophorus semipalmatus*). *Auk* 99:88-102.
- Lokemoen, J. T. e R. R. Koford (1996) Using candlers to determine the incubation stage of passerine eggs. *J. Field Ornith.* 67:660-668.
- Nol, E. e H. Blokpoel (1983) Incubation period of Ring-billed Gulls and the egg immersion technique. *Wilson Bull.* 95:283-286.
- Schreiber, R. W. (1970) Breeding biology of Western Gulls (*Larus occidentalis*) on San Nicolas Island, California, 1968. *Condor* 72:133-140.
- Skutch, A. F. (1985) Clutch size, nesting success, and predation on nests of Neotropical birds, reviewed, p. 575-594. In: P. A. Buckley, M. S. Foster, E. S. Morton, R. S. Ridgely e F. G. Buckley (orgs.) *Neotropical Ornithol.* Washington, D. C.: American Ornithologists' Union (Ornithological Monographs no. 36).
- Weller, M. W. (1956) A simple field candler for waterfowl eggs. *J. Wildl. Manage.* 20:111-113.
- Westerskov, K. (1950) Methods for determining the age of game bird eggs. *J. Wildl. Manage.* 14:56-67.
- Young, A. D. (1988) A portable candler for bird's eggs. *J. Field Ornith.* 59:266-268.