

# **EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO PERFIL LEUCOCITÁRIO DE PINGUINS-DE-MAGALHÃES (*SPHENISCUS MAGELLANICUS*) MANTIDOS EX SITU**

**Autor: Fabiana Siqueira de Freitas**

**Colaboradores: Stefanny Christie Monteiro Titon & Fernando Ribeiro Gomes**

**Orientador: Cristiane Schilbach Pizzutto**

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/Universidade de São Paulo

[fabisiqueira@usp.br](mailto:fabisiqueira@usp.br)

## **Objetivos**

O objetivo deste trabalho é avaliar se o estímulo agudo do enriquecimento ambiental é capaz de causar uma imunoestimulação em onze exemplares de pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*), 9 adultos e 2 juvenis, mantidos no Aquário de São Paulo, por meio da análise do perfil leucocitário.

## **Métodos e Procedimentos**

O projeto foi dividido em duas etapas: antes do enriquecimento (Etapa 1), quando os animais foram contidos fisicamente para a realização de punção da veia metatársica e obtenção de uma amostra de sangue; e depois do enriquecimento (Etapa 2), quando foi introduzido um balão em forma de Orca (*Orcinus orca*), o qual permaneceu no recinto por cerca de 30 minutos. Os animais foram contidos em mais três momentos: 24 horas, 10 dias e 20 dias após o estímulo ambiental. Com as amostras sanguíneas foram realizados esfregaços sanguíneos. As lâminas foram fixadas com álcool metílico, coradas com corante de Giemsa (10%) e observadas ao microscópio óptico (objetiva 100X, utilizando imersão em óleo - Nikon E200, 104c). Para contagens diferenciais de leucócitos, são contados 100 leucócitos em cada lâmina que são classificados com base na morfologia como heterófilos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos (CAMPBELL,

2012), obtendo-se o valor percentual dos diferentes tipos de leucócitos. A razão H/L é obtida a partir do número de heterófilos dividido pelo número de linfócitos em cada lâmina.

## **Resultados**

A leitura das lâminas está em andamento e deve ser finalizada em breve.



Figura 1. Lâminas após realização do esfregaço e fixação por álcool metílico.

## **Conclusões Parciais**

Em aves, os parâmetros leucocitários são estudados em resposta a uma variedade de estressores, como migração de longa distância (OWEN & MOORE, 2006), transporte (PARGA, PENDL & FORBES, 2001), infecção parasitária (DAVIS et al., 2004), efeito do enriquecimento ambiental na produção comercial de codornas japonesas (NAZAR & MARIN, 2010), entre outros. Já é sabido que a razão heterófilo/linfócito é uma medida composta para avaliar a resposta ao stress e está relacionada à magnitude do stressor (DAVIS et al., 2008). Portanto, considerando a simulação da presença de um predador natural, espera-se nesta pesquisa a identificação de diferenças no perfil leucocitário dos pinguins entre a Etapa 1 e a Etapa 2.

**Falcons (*Falco peregrinus*).** Journal of Avian Medicine and Surgery, 15, 162– 169.

### Referências Bibliográficas

CAMPBELL, T. W. (2012). **Hematology of birds.** In M. A. Trall (Ed.), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Inc., pp. 238-276.

DAVIS, A. K., MANEY, D. L., & MAERZ, J. C. (2008). **The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates:** A review for ecologists. *Functional Ecology*, 22, 760– 772. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>

DAVIS, A.K., COOK, K.C. & ALTIZER, S. (2004) **Leukocyte profiles in wild House finches with and without mycoplasmal conjunctivitis, a recently emerged bacterial disease.** *EcoHealth*, 1, 362–373.

NAZAR, F. & MARIN, R. (2010). **Chronic stress and environmental enrichment as opposite factors affecting the immune response in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*).** *Stress (Amsterdam, Netherlands)*. 14.166-73.10.3109/10253890.2010.523093.

OWEN, J.C. & MOORE, F.R. (2006) **Seasonal differences in immunological condition of three species of thrushes.** *Condor*, 108, 389–398.

PARGA, M.L. & PENDL, H. & FORBES, N.A. (2001) **The effect of transport on hematologic parameters in trained and untrained Harris's Hawks (*Parabuteo unicinctus*) and Peregrine**

# EFFECT OF ENVIRONMENTAL ENRICHMENT ON THE LEUKOCYTE PROFILE OF MAGELLANIC PENGUINS (*SPHENISCUS MAGELLANICUS*) KEPT EX SITU

**Author: Fabiana Siqueira de Freitas**

**Collaborators: Stefanny Christie Monteiro Titon & Fernando Ribeiro Gomes**

**Supervisor: Cristiane Schilbach Pizzutto**

School of Veterinary Medicine and Animal Science/University of Sao Paulo

[fabisiqueira@usp.br](mailto:fabisiqueira@usp.br)

## Objectives

The objective of this work is to evaluate whether the acute stimulus of environmental enrichment is able to cause an immunostimulation in eleven specimens of Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*), 9 adults and 2 juveniles, kept in the Sao Paulo Aquarium, through analysis of the leukocyte profile.

## Materials and Methods

The project was divided into two stages: before enrichment (Step 1), when the animals were physically restrained to puncture the metatarsal vein and obtain a blood sample; and after enrichment (Step 2), when a balloon in the shape of an Orca (*Orcinus orca*) was introduced, which remained in the enclosure for about 30 minutes. The animals were contained in three more moments: 24 hours, 10 days and 20 days after the environmental stimulus. Blood smears were taken with the blood samples. The slides were fixed with methyl alcohol, stained with Giemsa dye (10%) and observed under an optical microscope (100X objective, using oil immersion - Nikon E200, 104c). For differential leukocyte counts, 100 leukocytes are counted in each slide and classified based on morphology as heterophils, lymphocytes, eosinophils, basophils and monocytes (CAMPBELL, 2012), obtaining the percentage value of the different types of leukocytes. The H/L ratio is obtained from the number of heterophils divided by the number of lymphocytes in each slide.

## Results

The analysis of the slides is in progress and should be finished soon.



Figure 1. Slides after smearing and fixation with methyl alcohol.

## Parcial Conclusions

In birds, leukocyte parameters are studied in response to a variety of stressors, such as long-distance migration (OWEN & MOORE, 2006), transport (PARGA, PENDL & FORBES, 2001), parasitic infection (DAVIS et al., 2004), effect of environmental enrichment on the commercial production of Japanese quails (NAZAR & MARIN, 2010), among others. It is already known that the heterophil/lymphocyte ratio is a composite measure to assess the stress response and is related to the magnitude of the stressor (DAVIS et al., 2008). Therefore, considering the simulation of the presence of a

natural predator, this research is expected to identify differences in the leukocyte profile of penguins between Step 1 and Step 2.

## References

CAMPBELL, T. W. (2012). **Hematology of birds**. In M. A. Trall (Ed.), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Inc., pp. 238-276.

DAVIS, A. K., MANEY, D. L., & MAERZ, J. C. (2008). **The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists**. *Functional Ecology*, 22, 760– 772.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>

DAVIS, A.K., COOK, K.C. & ALTIZER, S. (2004) **Leukocyte profiles in wild House finches with and without mycoplasmal conjunctivitis, a recently emerged bacterial disease**. *EcoHealth*, 1, 362–373.

NAZAR, F. & MARIN, R. (2010). **Chronic stress and environmental enrichment as opposite factors affecting the immune response in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*)**. *Stress* (Amsterdam, Netherlands). 14.166-73.10.3109/10253890.2010.523093.

OWEN, J.C. & MOORE, F.R. (2006) **Seasonal differences in immunological condition of three species of thrushes**. *Condor*, 108, 389–398.

PARGA, M.L. & PENDL, H. & FORBES, N.A. (2001) **The effect of transport on hematologic parameters in trained and untrained Harris's Hawks (*Parabuteo unicinctus*) and Peregrine Falcons (*Falco peregrinus*)**. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 15, 162– 169.