



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO  
LABORATÓRIO DE NEURODEGENERAÇÃO E INFECÇÃO**

**CAMILA MENDES DE LIMA**

**ALTERAÇÃO DIFERENCIAL NOS ASTRÓCITOS RADIAIS DO  
HIPOCÁMPUS E NEUROGÊNESE EM AVES MARINHAS COM  
ROTAS MIGRATÓRIAS CONTRASTANTES**

**BELÉM-PA**

**2019**

**CAMILA MENDES DE LIMA**

**ALTERAÇÃO DIFERENCIAL NOS ASTRÓCITOS RADIAIS DO  
HIPOCAMPO E NEUROGÊNESE EM AVES MARINHAS COM  
ROTAS MIGRATÓRIAS CONTRASTANTES**

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Doutorado em Neurociências e Biologia Celular.

Área de concentração: Neurociências

**Orientador:** Prof. Dr. Cristovam Wanderley Picanço Diniz

**Coorientadora:** Profa. Dra. Nara Gyzely de Moraes Magalhães

BELÉM-PA

2019

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)  
autor(a)**

---

L732a Lima, Camila Mendes de  
Alteração diferencial nos astrócitos radiais do hipocampo e  
neurogênese em aves marinhas com rotas migratórias  
contrastantes / Camila Mendes de Lima. — 2019.  
XIV,81 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Cristovam Wanderley Picanço  
Diniz

Coorientador(a): Prof. Dr. Nara Gyzely de Moraes  
Magalhães

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em  
Neurociências e Biologia Celular, Instituto de Ciências  
Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2019.

1. Astrócitos radiais. 2. Morfometria. 3. Hipocampo.  
4. Neurogênese. 5. Aves marinhas. I. Título.

CDD 571.3

---

CAMILA MENDES DE LIMA

**ALTERAÇÃO DIFERENCIAL NOS ASTRÓCITOS RADIAIS DO  
HIPOCAMPO E NEUROGÊNESE EM AVES MARINHAS COM ROTAS  
MIGRATÓRIAS CONTRASTANTES**

Apresentada em 17 de agosto de 2019

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof. Dr. Cristovam Wanderley Picanço Diniz  
Orientador

---

Profa. Dra. Nara Gyzely de Moraes Magalhães  
Coorientadora

---

Prof. Dr. Cristovam Guerreiro Diniz  
Banca Examinadora (Titular)

---

Profa. Dra. Marcia Consentino Kronka Sosthenes  
Banca Examinadora (Titular)

---

Prof. Dr. Carlos Santos Filho  
Banca Examinadora (Titular)

---

Prof. Dr. Daniel Guerreiro Diniz  
Banca Examinadora (Suplente)

## DEDICATÓRIA

À minha **FAMÍLIA**, a melhor que eu poderia ter, aos meus pais Êmílio (*in memoriam*) e Waldmarina, meu marido Paulo, meus irmãos Leonardo e Bernardo, minhas cunhadas Laura e Smilly e minhas sobrinhas Rebeca e Helena.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos MEUS AMADOS PAIS, Emídio José Veloso de Lima (in memorian) e Waldmarina França Mendes de Lima, por me proporcionarem as condições de crescimento intelectual e me ajudarem a vencer as dificuldades encontradas no caminho, além da compreensão, amor, dedicação e carinho que sempre recebi através de atos e palavras de incentivo em todos os momentos de minha vida. Amo vocês! Obrigada!

Aos MEUS AMADOS IRMÃOS, Leonardo José Mendes de Lima e Bernardo José Mendes de Lima, por todo o apoio, carinho e paciência, me impulsionando para enfrentar as batalhas diárias e, sobretudo, vencê-las durante a minha vida. Vou estar sempre ao lado de vocês.

Ao AMOR DA MINHA VIDA, Paulo Roberto Valente Maranhão, meu companheiro de vida e de sonhos, que tem o melhor de mim, que com seu amor, apoio, companheirismo, carinho e PACIÊNCIA, me incentiva e me faz ser uma pessoa melhor. Sempre juntos! Obrigada, meu amor!

Ao MEU QUERIDO ORIENTADOR, Prof. Dr. Cristovam Wanderlay Picanço Diniz pelo carinho, tempo, atenção, dedicação, competência, orientação e paciência oferecidos ao longo de muitos anos, grande exemplo para mim. Muito obrigada, querido prof.!

Ao Laboratório de Investigação em Neurodegeneração e Infecção – LNI, em especial aos amigos queridos (Dr. Daniel Guerreiro Diniz, Dario Carvalho e Thais Oliveria) sempre dispostos a me ajudar, me incentivando a cada passo. Muito obrigada!

Aos Laboratórios (Laboratório de Biologia Molecular e Neuroecologia - LBN; AFAR – Advanced Facilities for Avian Research, CA da Universidade de Western Ontario) e seus integrantes.

Aos Professores Dr. Cristovam Guerreiro Diniz e Dra. Nara Gysele Moraes Magalhães (minha coorientadora), por me deixarem fazer parte deste projeto, pela ajuda e ensinamentos.

“Se enxerguei mais longe, foi porque me apoiei sobre os ombros de gigantes”

Isaac Newton

## RESUMO

Pouco se sabe sobre as influências ambientais nas células radiais  $\alpha$  semelhantes à glia (astrócitos radiais) e sua relação com a neurogênese. Como a glia radial participa da neurogênese e da astrogênese em adultos, iremos investigar essa questão em duas aves marinhas migratórias que completam sua migração outonal usando rotas migratórias contrastantes. Antes de seus voos para a América do Sul, as aves fazem escala na Baía de Fundy, no Canadá, e a partir daí o maçarico semipalmado (*Calidris pusilla*) atravessa o Oceano Atlântico em um voo sem escalas de 5 dias, enquanto a tarambola semipalmada (*Charadrius semipalmatus*) voa principalmente sobre o continente, com escalas para descanso e alimentação. Usando análise hierárquica de cluster e discriminante de características morfométricas para classificar células reconstruídas tridimensionalmente, encontramos dois morfotipos diferentes de glia radial designados Tipo I e Tipo II. Estas células foram afetadas diferencialmente pelo processo migratório com alterações morfológicas mais intensas no morfotipo Tipo I do que no Tipo II em ambas as espécies. Nós também comparamos o número de neurônios marcados com duplacortina (DCX) com características morfométricas de células semelhantes às glias radiais  $\alpha$  na região V do hipocampo do *C. pusilla* e *C. semipalmatus* antes e depois da migração no outono. Descobrimos que, em comparação com as aves migratórias, a superfície do convex hull dos astrócitos radiais nas aves invernais aumentou significativamente em *C. semipalmatus* e *C. pusilla* e isso parece correlacionado com um aumento do número total de neurônios jovens imunomarcados para DCX em aves invernantes. Apesar das diferenças filogenéticas a diminuição da complexidade morfológica dos astrócitos radiais no maçarico semipalmado e seu aumento na tarambola semipalmada, uma espécie que provavelmente depende mais da informação visuoespacial para a navegação, pode ter implicações funcionais importantes. O voo migratório da tarambola semipalmada, com paradas para alimentação e repouso, versus o voo sem parada do maçarico semipalmado, parece afetar diferencialmente a morfologia e a neurogênese dos astrócitos radiais.

**Palavras-chave:** Astrócitos radiais, Morfometria, Hipocampo, Neurogênese, Aves marinhas.

## ABSTRACT

Little is known about environmental influences on radial glia-like  $\alpha$  cells (radial astrocytes) and their relation to neurogenesis. Because radial glia is involved in adult neurogenesis and astrogenesis, we investigated this association in two migratory shorebird species that complete their autumnal migration using contrasting strategies. Before their flights to South America, the birds stop over at the Bay of Fundy in Canada. From there, the semipalmated sandpiper (*Calidris pusilla*) crosses the Atlantic Ocean in a non-stop 5-day flight, whereas the semipalmated plover (*Charadrius semipalmatus*) flies primarily overland with stopovers for rest and feeding. Using hierarchical cluster and discriminant analysis of morphometric features to classify three-dimensionally (3D) reconstructed cells, we identified two morphotypes of radial glia, designated as Type I and Type II. The migratory process affected these cells differentially, with more intense morphological changes in Type I than in Type II morphotypes in both species. We also compared the number of doublecortin (DCX)-immunolabeled neurons with morphometric features of radial glial-like  $\alpha$  cells in the hippocampal V region between *C. pusilla* and *C. semipalmatus* before and after autumn migration. Compared with migrating birds, the convex hull surface of radial glial-like  $\alpha$  cells of wintering birds significantly increased in both *C. semipalmatus* and *C. pusilla*. This increase correlated with an increase of the total number of DCX-immunolabeled neurons in wintering birds. The decreased radial astrocyte morphological complexity in the semipalmated sandpiper and its increase in the semipalmated plover, a species that probably relies more on visuospatial information for navigation, may be significant, despite phylogenetic and other differences between these taxa. The migratory flight of the semipalmated plover, with stopovers for feeding and rest, versus the non-stop flight of the semipalmated sandpiper may differentially affect radial astrocyte morphology and neurogenesis.

**Key-words:** Radial astrocytes, Morphometry, Hippocampus, Neurogenesis, Shorebirds.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### FIGURAS

- FIGURA 1: Desenho realizado por Rakic em 1972 no estudo do cérebro fetal do macaco Rhesus. Desenho da câmara lucida de uma seção coronal impregnada por Golgi. As fibras radiais são inscritas em linhas ligeiramente mais grossas em B. A área delineada pela faixa branca entre as pontas das setas é desenhada em B com maior ampliação. B - Desenho composto de câmara lucida da parede cerebral na área indicado pela faixa branca em A. C - placa cortical; D - células corticais profundas; I - zona intermediária; M - camada marginal; MN - célula migratória; RF, fibra radial; S - células corticais superficiais; SV - camada subventricular; V - zona ventricular. .... 15
- FIGURA 2: Nichos neurogênicos no giro denteado e ventrículo lateral (em verde). A neurogênese endógena persiste no cérebro de mamíferos adultos em alguns nichos, como a zona subependimária na parede lateral do ventrículo lateral, a zona subgranular no giro denteado e o hipotálamo. As células gliais radiais na zona subependimária do ventrículo lateral se dividem e geram progenitores amplificadores de trânsito em proliferação rápida e neuroblastos que proliferam enquanto migram pela corrente migratória rostral (RMS) para seu destino final, o bulbo olfativo (OB), onde eles podem se diferenciar em diferentes tipos neuronais. .... 16
- FIGURA 3: Desenho esquemático da migração sazonal de milhares de aves do hemisfério Norte em direção ao hemisfério Sul baseado em compilação de numerosos trabalhos dedicados à reconstrução das rotas migratórias ..... 19
- FIGURA 4: Mapa identificando as rotas migratórias das espécies *Calidris pusilla* (em roxo) e *Charadrius semipalmatus* (em azul), a partir das áreas de reprodução em direção às áreas de invernada. A linha contínua representa a migração outonal e a linha pontilhada a volta às áreas reprodutivas. .... 21
- FIGURA 5: Imagens de um exemplar da espécie *Calidris pusilla*. (A) Canadá (B) Brasil. .... 23
- FIGURA 6: Imagens de um exemplar da espécie *Charadrius semipalmatus*. (A) Canadá (B) Brasil. .... 25
- FIGURA 7: Representação esquemática do hipocampo e giro denteado dos mamíferos e das aves para comparação. A – Secção coronal através da formação hipocampal de um mamífero adulto com as subdivisões que incluem o giro denteado e as áreas do corno de Ammon, CA1, CA2 e CA3. B – Secção coronal através da formação hipocampal de uma ave adulta. As diferentes cores e diferentes formas indicam áreas homólogas. Note a região em forma de V do hipocampo de onde foram selecionados os astrócitos radiais para reconstrução tridimensional ..... 26
- FIGURA 8: Circuitos neuronais que colocam o hipocampo como centro de processamento, integração e recuperação de informações sobre mapas e bússolas envolvidas no processo de migração. Modelo esquemático mostrando as vias neurais envolvidas no processamento das bússolas geomagnética e celestial. Abreviaturas: CDL, corticoidea dorsolateral; Ei, entopallium interno; Ep, faixa entopallia; GLd, geniculado lateral dorsal; Ha, hyperpallium apical; HD, hyperpallium dorsolateral; HI, hiperpallium intercalado; IHA, núcleo intersticial do HA; MVL, mesopallium ventrolateral; NFL, nidopallium frontolateral; NIL, nidopallium intermédio lateral; Rt, núcleo rotundus. .... 27
- FIGURA 9: (A) Fotomicrografia de baixo aumento da formação hipocampal de uma secção imunomarcada para DCX para definir os limites da área de interesse e a estratégia de amostragem aleatória e sistemática para contagem de células. A formação hipocampal tem seus limites definidos pelo contorno rosa, a grade cinza estabelece os intervalos entre as caixas de

contagem e as linhas verdes e vermelhas das caixas de contagem definem os limites de contagens permitidas e proibidas (**B-C**). (**D**) Fotomicrografia de baixo aumento na área do V hipocampal de uma secção imunomarcada com GFAP para reconstrução em 3D dos astrócitos radiais. Um único astrócito radial localizado dentro ou próximo de cada caixa amarela (**E-F**) foi selecionado para reconstrução. Barras de escala: **A - C** = 250  $\mu\text{m}$ ; **D - F** = 500  $\mu\text{m}$ ..... 39

FIGURA 10: Fotomicrografias de baixo e médio aumentos da área do V hipocampal (**A, B, C**) e fotomicrografia de grande aumento e sua reconstrução digital correspondente (**D**) de um astrócito radial de um indivíduo *C. semipalmatus*, capturado no Brasil. A área tracejada indica a área contendo o astrócito radial reconstruído. Barras de escala: **A**= 250  $\mu\text{m}$ , **B**= 250  $\mu\text{m}$ , **C**= 125  $\mu\text{m}$ , **D**= 25  $\mu\text{m}$ . ..... 44

FIGURA 11: Representação gráfica da análise hierárquica de agrupamentos de características morfométricas multimodais de astrócitos radiais do V hipocampal de aves em migração (Canadá) da espécie *C. pusilla*. O agrupamento hierárquico e a análise discriminante foram realizados após reconstruções em 3D de astrócitos radiais de 5 indivíduos. (**A**) Agrupamentos de dendrogramas, baseada em características morfométricas multimodais de astrócitos ( $\text{MMI} > 0,55$ ), de 252 astrócitos radiais identificando dois fenótipos morfológicos principais, Tipo I e Tipo II. (**B**) Sumário da análise da função discriminante mostrando que a variável que mais contribuiu para a formação dos grupos foi a complexidade. (**C**) Representação gráfica da análise discriminante onde os astrócitos Tipo I apresentaram maior dispersão x-y do que astrócitos Tipo II. Representações gráficas dos valores médios, desvio e erro padrão correspondentes da da complexidade morfológica (**D**), convex hull superfície (**E**), convex hull volume (**F**), convex hull área (**G**) e comprimento total dos ramos (**H**), (\*) indica diferenças significativas entre Tipo I e Tipo II..... 46

FIGURA 12: Representação gráfica da análise hierárquica de agrupamentos de características morfométricas multimodais de astrócitos radiais do V hipocampal de indivíduos invernantes (Brasil) da espécie *C. pusilla*. O agrupamento hierárquico e a análise discriminante foram realizados após reconstruções em 3D de astrócitos radiais de 5 indivíduos. (**A**) Agrupamentos de dendrogramas, baseada em características morfométricas multimodais de astrócitos ( $\text{MMI} > 0,55$ ), de 242 astrócitos radiais identificando dois fenótipos morfológicos principais, Tipo I e Tipo II. (**B**) Sumário da análise da função discriminante mostrando que a variável que mais contribuiu para a formação dos grupos foi a convex hull superfície. (**C**) Representação gráfica da análise discriminante onde os astrócitos Tipo I apresentaram maior dispersão x-y do que astrócitos Tipo II. Representações gráficas dos valores médios, desvio e erro padrão correspondentes de convex hull superfície (**D**), convex hull área (**E**), comprimento total dos ramos (**F**), convex hull volume (**G**) e complexidade morfológica (**H**), (\*) indica diferenças significativas entre Tipo I e Tipo II. .... 47

FIGURA 13: Representação gráfica da análise hierárquica de agrupamentos de características morfométricas multimodais de astrócitos radiais do V hipocampal de aves em migração (Canadá) da espécie *C. semipalmatus*. O agrupamento hierárquico e a análise discriminante foram realizados após reconstruções em 3D de astrócitos radiais de 5 indivíduos. (**A**) Agrupamentos de dendrogramas, baseada em características morfométricas multimodais de astrócitos ( $\text{MMI} > 0,55$ ), de 235 astrócitos radiais identificando dois fenótipos morfológicos principais, Tipo I e Tipo II. (**B**) Sumário da análise da função discriminante mostrando que a variável que mais contribuiu para a formação dos grupos foi a complexidade. (**C**) Representação gráfica da análise discriminante onde os astrócitos Tipo I apresentaram maior dispersão x-y do que astrócitos Tipo II. Representações gráficas dos valores médios, desvio e erro padrão correspondentes da complexidade morfológica (**D**) e convex hull volume (**E**). (\*) indicam diferença significativa entre os astrócitos radiais Tipo I e Tipo II. .... 50

FIGURA 14: Representação gráfica da análise hierárquica de agrupamentos de características morfométricas multimodais de astrócitos radiais do V hipocampal de indivíduos invernantes (Brasil) da espécie *C. semipalmatus*. O agrupamento hierárquico e a análise discriminante foram realizados após reconstruções em 3D de astrócitos radiais de 5 indivíduos. (A) Agrupamentos de dendrogramas, baseada em características morfométricas multimodais de astrócitos ( $MMI > 0,55$ ), de 339 astrócitos radiais identificando dois fenótipos morfológicos principais, Tipo I e Tipo II. (B) Sumário da análise da função discriminante mostrando as variáveis que mais contribuíram para a formação dos grupos. (C) Representação gráfica da análise discriminante onde os astrócitos Tipo I apresentaram maior dispersão x-y do que astrócitos Tipo II. Representações gráficas dos valores médios, desvio e erro padrão correspondentes de convex hull superfície (D), convex hull volume (E), convex hull área (F) e convex hull perímetro (G); (\*) indica diferença significativa entre os astrócitos Tipo I e Tipo II. .... 51

FIGURA 15: Representações gráficas dos valores médios da complexidade morfológica (A, D e G), convex hull - superfície (B, E e H) e convex hull - volume (C, F e I), com valores médios, desvios e erros padrão correspondentes encontrados em astrócitos radiais do Tipo I, Tipo II e Total, reconstruídos a partir do V hipocampal de *C. pusilla* e *C. semipalmatus*, durante a migração (vermelho) e durante o período de invernada (verde). (J) Representação gráfica do número de neurônios imunomarcados para DCX na formação hipocampal em *C. pusilla* e *C. semipalmatus*. .... 54

FIGURA 16: Reconstruções tridimensionais e dendrogramas correspondentes de astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II da área do V hipocampal de aves migratórias de *C. semipalmatus* e *C. pusilla* (em migração Canadá - vermelho, e invernada Brasil - verde). Os ramos primários do Canadá e do Brasil são mostrados na mesma cor nas diferentes espécies. Os desenhos tridimensionais foram obtidos de astrócitos radiais com características morfométricas mais próximas àquelas da célula “média” representativa de cada grupo. As células 3D escolhidas para ilustrar os tipos de astrócitos radiais médios foram selecionadas da matriz de distância usada para obter a soma das distâncias de cada célula em relação a todas as outras. A célula que melhor representa um grupo é a que exibe a menor soma de distâncias. Barras de escala: 10  $\mu\text{m}$  para dendrogramas e 25  $\mu\text{m}$  para células reconstruídas em 3D. .... 59

FIGURA 17: Representações gráficas da correlação linear de Pearson entre convex hull superfície dos astrócitos radiais da área V do hipocampo e o número de neurônios novos imunomarcados para DCX da formação hipocampal de aves migrantes e invernantes de *C. pusilla* e *C. semipalmatus*. Análise comparativa da correlação linear de Pearson para o Tipo I, Tipo II e Total antes (Canadá - triângulos vermelhos) e depois (Brasil - triângulos verdes). Resultados da análise de correlação: *C. pusilla* (A) Tipo I ( $R^2 = 0.80$   $p = 0.0012$ ); (B) Tipo II ( $R^2 = 0.74$   $p = 0,0031$ ); (C) Total ( $R^2 = 0.78$   $p = 0,0015$ ). *C. semipalmatus* (D) Tipo I ( $R^2 = 0.82$   $p = 0.0003$ ); (E) Tipo II ( $R^2 = 0.91$   $p < 0.0001$ ); (F) Total ( $R^2 = 0.73$   $p = 0.0017$ ). .... 61

## TABELAS

TABELA I: Informações sobre solução, quantidade de imersão, tempo e temperatura das reações imuno-histoquímicas. Todos os passos foram realizados em agitação suave e contínua. .....	35
TABELA II: Variáveis morfométricas avaliadas nos astrócitos radiais.....	42
TABELA III: Valores médios, erros (E.P.) e desvios padrão (D.P.) correspondentes, com indicação das diferenças significativas detectadas pelo teste t ou Mann-Whitney entre os astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II da figura 11.....	48
TABELA IV: Valores médios, erros (E.P.) e desvios padrão (D.P.) correspondentes, com indicação das diferenças significativas detectadas pelo teste t ou Mann-Whitney entre os astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II da figura 12.....	49
TABELA V: Valores médios, erros (E.P.) e desvios padrão (D.P.) correspondentes, com indicação das diferenças significativas detectadas pelo teste t ou Mann-Whitney entre os astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II da figura 13.....	52
Tabela VI: Valores médios, erros (E.P.) e desvios padrão (D.P.) correspondentes, com indicação das diferenças significativas detectadas pelo teste t ou Mann-Whitney entre os astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II da figura 14. ....	52
TABELA VII: Valores médios, erros (E.P.) e desvios padrão (D.P.) correspondentes com indicação das diferenças significativas para as análises morfométricas de astrócitos radiais Tipo I, Tipo II e Total e estereológicas para neurônios imunomarcados para DCX+, entre indivíduos capturados na Baía de Fundy-Canadá e Ilha de Canelas-Brasil em <i>C. pusilla</i> e <i>C. semipalmatus</i> , que compuseram a figura 15.....	55

## SUMÁRIO

<b>1. <u>INTRODUÇÃO</u></b> .....	<b>15</b>
<b>1.1 AS ESPÉCIES <i>CALIDRIS PUSILLA</i> E <i>CHARADRIUS SEMIPALMATUS</i> COMO MODELO DE INVESTIGAÇÃO DE AVES MARINHAS MIGRATÓRIAS</b> .....	<b>17</b>
1.1.1 <i>CALIDRIS PUSILLA</i> .....	21
1.1.2 <i>CHARADRIUS SEMIPALMATUS</i> .....	23
<b>1.2 HIPOCAMPO, NEUROGÊNESE E GLIA RADIAL</b> .....	<b>25</b>
<b>2. <u>OBJETIVOS</u></b> .....	<b>32</b>
<b>2.1 GERAL</b> .....	<b>32</b>
<b>2.2 ESPECÍFICOS</b> .....	<b>32</b>
<b>3. <u>MATERIAIS E MÉTODOS</u></b> .....	<b>33</b>
<b>3.1 PERFUSÃO E HISTOLOGIA</b> .....	<b>33</b>
<b>3.2 PROCEDIMENTOS IMUNO-HISTOQUÍMICOS</b> .....	<b>34</b>
<b>3.3 VOLUMES DA FORMAÇÃO HIPOCAMPAL E DO TELENCEFALO</b> .....	<b>35</b>
<b>3.4 ESTEREOLOGIA: NÚMEROS DE NEURÔNIOS DCX+</b> .....	<b>36</b>
<b>3.5 RECONSTRUÇÃO TRIDIMENSIONAL DE ASTRÓCITOS E MORFOLOGIA QUANTITATIVA</b> .....	<b>39</b>
<b>4. <u>RESULTADOS</u></b> .....	<b>44</b>
<b>4.1 ÁREA, OBJETO DE INTERESSE E ANÁLISE MORFOMÉTRICA</b> .....	<b>44</b>
<b>4.2 DIFERENÇAS MORFOLÓGICAS ENTRE ASTRÓCITOS DO TIPO I E TIPO II</b> .....	<b>45</b>
<b>4.3 ROTAS MIGRATÓRIAS CONTRASTANTES INFLUENCIAM DIFERENCIALMENTE A MORFOLOGIA DOS ASTRÓCITOS DA GLIA RADIAL</b> .....	<b>53</b>
<b>4.4 CONVEX HULL SUPERFÍCIE DOS ASTRÓCITOS RADIAIS E NEUROGÊNESE</b> .....	<b>60</b>
<b>5. <u>DISCUSSÃO</u></b> .....	<b>62</b>
<b>5.1 MIGRAÇÃO, NEUROGÊNESE E MORFOLOGIA DOS ASTRÓCITOS RADIAIS</b> .....	<b>62</b>

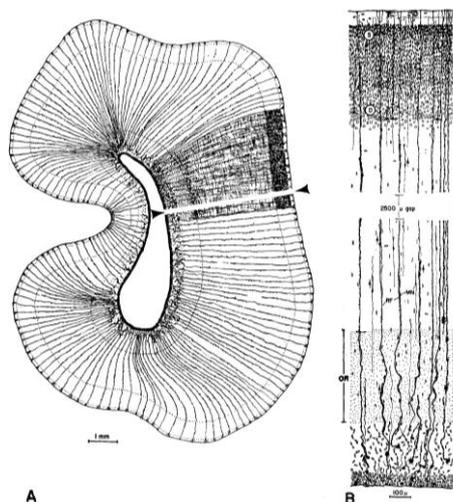
<b>5.2 SEMELHANÇAS E DIFERENÇAS NAS INFLUÊNCIAS AMBIENTAIS MIGRATÓRIAS E INVERNAIS: LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS.....</b>	<b>65</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>69</b>
<b>ANEXO I – TABELAS SUPLEMENTARES.....</b>	<b>81</b>
<b>ANEXO II- AUTORIZAÇÕES DE ÓRGÃOS REGULADORES DO USO DE ANIMAIS SILVESTRES.....</b>	<b>87</b>
<b>LICENÇA DE IMPORTAÇÃO DE ANIMAIS.....</b>	<b>87</b>
<b>ANEXO III – PUBLICAÇÃO INTERNACIONAL.....</b>	<b>96</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A glia radial é reconhecida como um tipo de célula não neuronal da linhagem astrogliar caracterizada por um corpo celular ovóide localizado perto da parede ventricular com ramificações bipolares tipicamente assimétricas. As extremidades mais curtas de seus ramos se estendem em direção à parede ventricular e as extremidades mais longas na direção oposta à pia mater (Parnavelas e Nadarajah, 2001).

O nome glia radial para essas células foi criado por Rakic, quando descreveu o modo de migração neuronal para as camadas superficiais do neocórtex do macaco fetal (Figura 1), sugerindo que as fibras radiais da glia fornecem guias (trilhos) para a migração celular (Rakic, 1972). Outros tipos de migração neuronal durante o desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) e na neurogênese adulta foram descritos mais recentemente. De fato, os neurônios imaturos viajam das zonas germinais até seu destino final usando substratos celulares para sua migração, e isso parece ser guiado não apenas pela glia radial (Marin e Rubenstein, 2003; Rakic, 2003), mas também pelos axônios (Hutchins *et al.*, 2013) e vasos sanguíneos que funcionam como andaimes a serem escalados pelas células migrantes (Segarra *et al.*, 2015).

FIGURA 1: Desenho realizado por Rakic em 1972 no estudo do cérebro fetal do macaco Rhesus. Desenho da câmara lucida de uma seção coronal impregnada por Golgi. As fibras radiais são inscritas em linhas ligeiramente mais grossas em B. A área delimitada pela faixa branca entre as pontas das setas é desenhada em B com maior ampliação. B - Desenho composto de câmara lucida da parede cerebral na área indicado pela faixa branca em A. C - placa cortical; D - células corticais profundas; I - zona intermediária; M - camada marginal; MN - célula migratória; RF, fibra radial; S - células corticais superficiais; SV - camada subventricular; V - zona ventricular.



Fonte: Elaborado por Rakic,  
1972

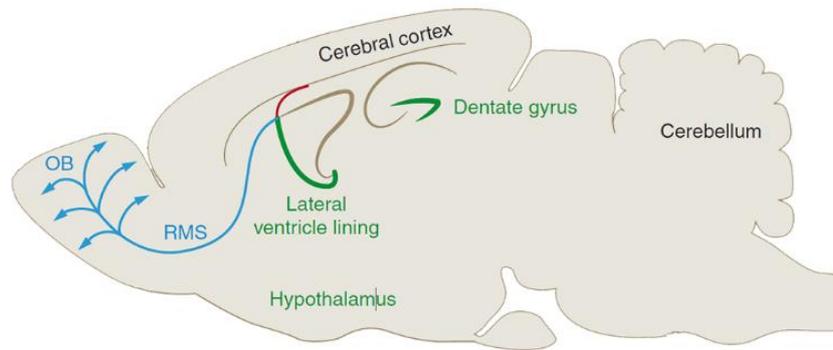
A glia radial verdadeira (primária) parece estar limitada ao cérebro em desenvolvimento, o que levou a uma mudança na sua designação original, passando a ser denominadas no cérebro adulto de astrócitos radiais ou astrócitos semelhantes à glia radial (Verkhatsky e Nedergaard, 2018). Na região subgranular do giro denteado adulto e na zona subventricular, as células radiais semelhantes à glia expressam a proteína ácida fibrilar glial (GFAP) e diferentes estímulos como o exercício físico (rodinha de correr), o enriquecimento ambiental ou a interação vascular, estimulam a proliferação de células radiais semelhantes à glia (Bednarczyk *et al.*, 2011; Kempermann, 2012).

Imagens confocais mostraram recentemente que os astrócitos radiais podem ser divididos em duas classes com base em sua morfologia (Gebara *et al.*, 2016). As células do tipo mais comum, designadas de células  $\alpha$ , exibem processos mais longos e menos ramificados em comparação com as células  $\beta$ , menos prevalente e mais ramificadas. As células do tipo  $\alpha$  originam neurônios e astrócitos, enquanto as células do tipo  $\beta$  não proliferam (Gebara *et al.*, 2016). Embora limitada a áreas restritas, a neurogênese persiste no sistema nervoso central (SNC) adulto de muitas espécies (incluindo peixes, aves e mamíferos), e as células radiais semelhantes à glia são elementos centrais desses nichos neurogênicos (Falk e Gotz, 2017; Augusto-Oliveira *et al.*, 2019; Oppenheim, 2019b).

Em cérebros de mamíferos e aves (Alvarez-Buylla *et al.*, 1987), as células gliais radiais persistem até a idade adulta e coexistem com nichos neurogênicos espacialmente mais restritos, principalmente no prosencéfalo (Dimou e Gotz, 2014). De fato, na zona mais ativa da neurogênese adulta em camundongos, na parede ventricular, a progênie das células gliais radiais em divisão ativa é tão numerosa que forma uma camada distinta, a zona subependimária (SEZ) localizada abaixo do epêndima que reveste o ventrículo (Dimou e Gotz, 2014) (Figura 2).

FIGURA 2: Nichos neurogênicos no giro denteado e ventrículo lateral (em verde). A neurogênese endógena persiste no cérebro de mamíferos adultos em alguns nichos, como a zona subependimária na parede lateral do ventrículo lateral, a zona subgranular no giro dentado e o hipotálamo. As células gliais radiais na zona subependimária do ventrículo lateral se dividem e geram progenitores amplificadores de trânsito em proliferação rápida e neuroblastos que proliferam enquanto migram pela

corrente migratória rostral (RMS) para seu destino final, o bulbo olfativo (OB), onde eles podem se diferenciar em diferentes tipos neuronais.



Fonte: Figura modificada a partir de Dimou e Gotz, 2014

Em fêmeas adultas do mandarim (zebra finch), de canários, codornas e galinhas, as glias radiais foram descritas com seus corpos celulares localizados na parede dos ventrículos laterais do prosencéfalo, com fibras radiais penetrando no parênquima por distâncias de até vários milímetros (Alvarez-Buylla *et al.*, 1987). Entretanto, não há, até o presente momento, nenhum esforço voltado para investigar potenciais relações entre a morfologia da glia radial, a neurogênese e a estratégia de migração. No presente trabalho busca-se investigar essas potenciais alterações da glia radial comparando sua morfologia em espécies de aves marinhas com rotas migratórias contrastantes, que demandam a utilização de diferentes recursos metabólicos, nutricionais e visuoespaciais para consumá-las.

Esse projeto é parte de um programa de investigações maior, intitulado NEUROECOLOGIA DE AVES MIGRATÓRIAS MARINHAS: Padrões Migratórios Contrastantes, Respostas Adaptativas e Mecanismos Neurais Subjacentes financiado pela CAPES através do Programa CIMAR II.

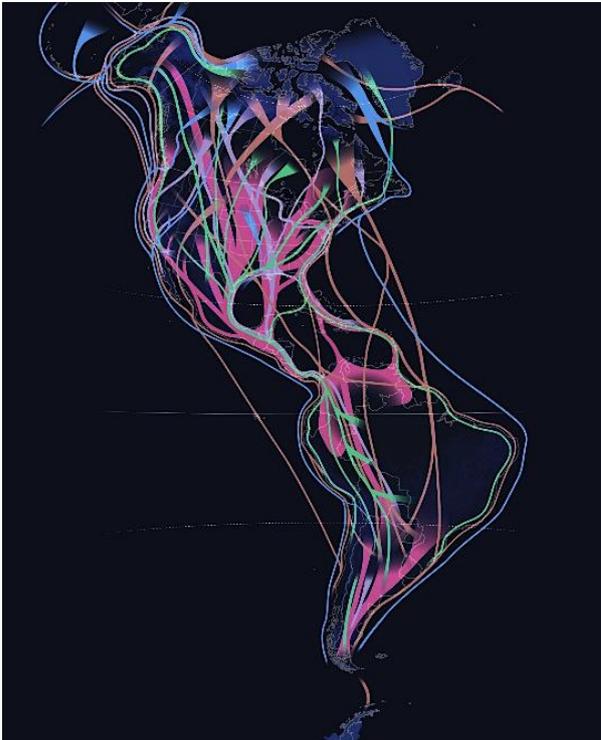
### 1.1 As espécies *Calidris pusilla* e *Charadrius semipalmatus* como modelo de investigação de aves marinhas migratórias

Um dos maiores acontecimentos sazonais do planeta é a migração de bilhões de aves estendendo-se por distâncias variáveis, do Ártico em direção à Antártica

(Louchart, 2008) (Figura 3). Todos os anos elas saem de suas áreas de reprodução no Norte e migram em direção ao Sul, alcançando regiões tropicais e subtropicais incluindo a América do Sul (Barnea, A. e Pravosudov, V., 2011). As condições climáticas e ambientais mudam em larga escala anualmente, e com isso, ocorrem mudanças substantivas na temperatura e na oferta de alimentos induzindo migrações de muitas espécies incluindo as aves marinhas, de especial interesse para o presente trabalho.

Existem algumas hipóteses que tentam entender os motivos que levam aves migratórias a realizarem longas e perigosas jornadas. Uma delas defende que tais aves precisariam realizar migrações sazonais por não possuírem capacidade cognitiva suficiente para encontrar alternativas de sobrevivência quando os recursos se tornam escassos diante de mudanças drásticas de temperatura (Sol *et al.*, 2005). Outra possível explicação está baseada na demonstração de que ninhos de aves migratórias em locais com maiores latitudes apresentam um menor risco de predação (Mckinnon *et al.*, 2010), sendo essa uma forte motivação para a realização de tais jornadas periódicas.

FIGURA 3: Desenho esquemático da migração sazonal de milhares de aves do hemisfério Norte em direção ao hemisfério Sul baseado em compilação de numerosos trabalhos dedicados à reconstrução das rotas migratórias



Fonte: Ver [www.nationalgeographic.com/magazine/2018/03/bird-migration-interactive-maps](http://www.nationalgeographic.com/magazine/2018/03/bird-migration-interactive-maps)

O Brasil apresenta grande diversidade de ambientes aquáticos com oferta abundante de nutrientes que são, periódica ou permanentemente ocupados por aves paludícolas continentais, e por aves limícolas neárticas, como espécies residentes e migratórias. São limícolas as espécies das famílias *Charadriidae* e *Scolopacidae* (Charadriiformes), conhecidas como maçaricos e batuíras (Valente *et al.*, 2011).

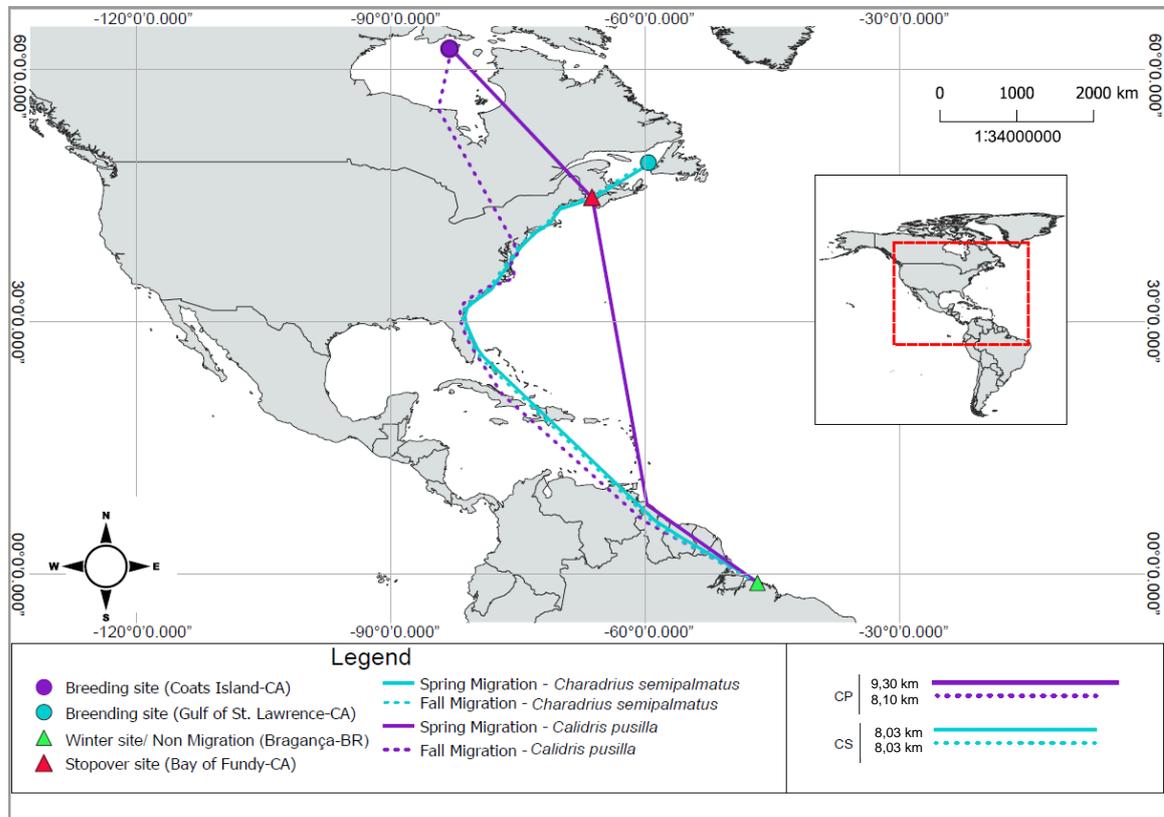
A Região Norte do Brasil é a porta de entrada dos migrantes setentrionais no país (Campos *et al.*, 2010). Dessa forma, a Amazônia e a zona costeira da região Norte e Nordeste são locais com muitos registros de espécies migratórias no hemisfério Norte. Existe uma enorme diversidade de sítios de parada na costa brasileira, desde o estado do Amapá até o Rio Grande do Sul, sendo esses pontos fundamentais para a conservação dessas espécies (Telio-Júnior *et al.*, 2003). Tais pontos de parada selecionados ao longo da migração em direção Sul, são eleitos por suas temperaturas mais amenas, e fonte de alimentos que garantem o acúmulo de

energia necessária ao término da viagem e o acúmulo de gordura em preparação ao retorno aos sítios reprodutivos do hemisfério Norte.

Foram registradas cerca de 40 espécies pertencentes às famílias Jacanidae, Rostratulidae, Haematopodidae, Charadriidae, Scolopacidae, Recurvirostridae, Burhinidae e Laridae (Azevedo-Júnior e Larrazábal, 1994), que vêm à procura de locais de internada (Azevedo-Júnior *et al.*, 2002). Normalmente essas rotas migratórias interconectam pontos de reprodução e internada (Campos *et al.*, 2010). Durante a temporada de reprodução, a espécie migra em direção ao Norte e retorna às regiões Árticas e Subárticas da América do Norte. Nesse período, essas aves se reproduzem em áreas entre o Alasca e Nova Escócia (Sick, 1997b).

A migração ocorre em pequenos ou grandes grupos até alcançarem o Caribe, a América Central e a costa brasileira (Campos, C. E. C. *et al.*, 2008). A península Bragantina, ao nordeste do Estado do Pará, é uma das áreas ocupadas por várias espécies, dentre as quais duas espécies com rotas migratórias contrastantes de longas distâncias (Figura 4), o *Calidris pusilla* e o *Charadrius semipalmatus*, estudadas no presente trabalho.

FIGURA 4: Mapa identificando as rotas migratórias das espécies *Calidris pusilla* (em roxo) e *Charadrius semipalmatus* (em azul), a partir das áreas de reprodução em direção às áreas de invernada. A linha contínua representa a migração outonal e a linha pontilhada a volta às áreas reprodutivas.



Fonte: Desenho elaborado por Diego Miranda

### 1.1.1 *Calidris pusilla*

O maçarico-rasteirinho, como é conhecido o *Calidris pusilla* (Figura 5), tem seu nome científico: do (grego) *kalidris*, *skalidris* = pássaro da orla, cor de cinzas mencionado por Aristóteles; e do (latim) *pusillus* = minúsculo, é portanto o pássaro minúsculo, cinza, da orla (ver o link a seguir para maiores detalhes: <http://passarinhandando.com.br/index.php/component/k2/item/959-macarico-rasteirinho-calidris-pusilla>). Essa espécie pertence a ordem dos Charadriiformes da família Scolopacidae, uma ave limícola, encontrada em áreas costeiras e alagadas, espalhadas por todo o globo. O ciclo de vida do maçarico-rasteirinho envolve uma migração regular entre áreas reprodutivas no Ártico, apenas na tundra no Norte do Canadá e do Alaska, e áreas não reprodutivas (de invernada) em ambientes costeiros

tropicais encontrados quando da sua migração em direção Sul (Sick, 1997b; Piersma *et al.*, 2005; Gratto-Trevor *et al.*, 2012).

Nas áreas reprodutivas, tendem a formar casais monogâmicos (Gratto-Trevor, 1991), alimentando-se de invertebrados aquáticos, de insetos e aranhas (Hicklin e Smith, 1984). A reprodução ocorre no verão boreal, compreendendo o período entre junho a agosto (Ashkenazie e Safriel, 1979; Gratto-Trevor, 1991). No restante do ano os indivíduos encontram-se em deslocamento, ao longo das áreas de invernada. Nas áreas não-reprodutivas, de agosto a maio (Azevedo-Júnior e Larrazábal, 1994), apresentam um comportamento gregário, formando bandos de centenas e milhares de indivíduos (Andres *et al.*, 2012). Nas áreas tropicais, apresentam preferência de forrageamento nos ambientes de substrato lodoso e lamacento, tais como os de estuário e manguezais, onde geralmente alimentam-se de invertebrados (Gils e Wiersma, 1996).

Uma espécie de ave de pequeno porte, com peso e tamanho que varia entre 34 - 37g e 13 - 15cm, de bico e pernas negras (Sick, 1997a), apresentando tamanho corporal com sutil dimorfismo sexual, sendo as fêmeas um pouco maiores (Cartar, 1984; Hayman *et al.*, 1986). Essas aves têm a plumagem monomórfica (Cartar, 1984) que varia com a idade e época do ano, com três tipos de troca de plumagem: reprodução, intermediária e eclipse (Morrison, 1984). Entende-se por plumagem de reprodução aquelas com a predominância de cores escuras, como o marrom e o preto, sendo geralmente adquirida no período próximo à reprodução; por plumagem de eclipse, aquelas onde a cor cinzenta predomina, sendo adquirida nas áreas de invernada após o período reprodutivo, que ocorre entre maio e julho (Hayman *et al.*, 1986) e a plumagem intermediária consiste em uma fase mista entre as duas citadas anteriormente (Azevedo-Júnior *et al.*, 2001).

O *C. pusilla* é um pássaro migratório com grande autonomia de voo, cobrindo longas distâncias com voos contínuos de mais de 5000 km, em busca de seus sítios preferenciais de invernada (Morrison, 1984). Seu voo sobre o Atlântico se estende desde a costa leste da América do Norte até alcançar a costa norte e central da América do Sul (Hicklin e Gratto-Trevor, 2010; Brown, 2014) (ver Figura 4).

FIGURA 5: Imagens de um exemplar da espécie *Calidris pusilla*. (A) Canadá (B) Brasil.



Fonte: Prof. Dr. Cristovam Guerreiro Diniz

Aproximadamente 75% da população mundial de *C. pusilla* faz uma parada durante a migração de outono, na Baía de Fundy, no Canadá, onde se alimentam em grande quantidade com intuito de aumentar suas reservas de gordura, e assim, fornecer a energia necessária durante o voo transatlântico sem escalas (Weber, J.M., 2009).

Em um registro anterior (De Moraes Magalhaes *et al.*, 2017), demonstrou-se que a neurogênese em maçaricos semipalmados (*Calidris pusilla*) migratórios adultos é afetada por sua migração outonal para o litoral sul-americano. De fato, o voo transatlântico contínuo do *C. pusilla*, por 5 dias, foi associado com significativa encolhimento da árvore astrocítica e significativa redução no número de astrócitos, (Carvalho-Paulo, D.; *et al.*, 2017) enquanto que o voo migratório de *C. semipalmatus* não foi associado a essas mudanças (Henrique *et al.*, resultados não publicados).

### 1.1.2 *Charadrius semipalmatus*

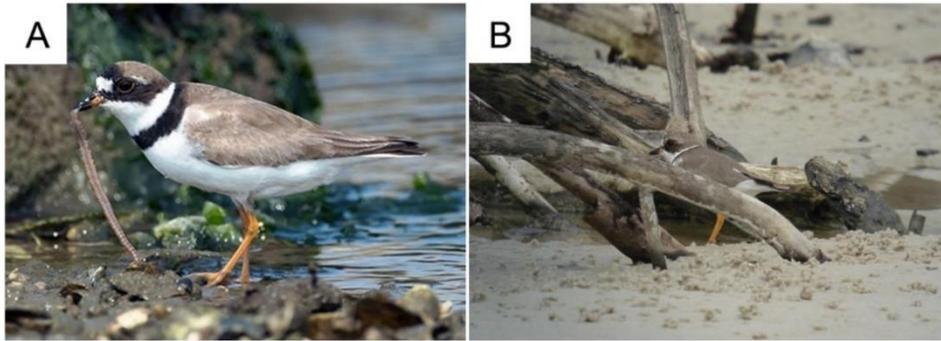
Popularmente conhecido como Batuira-de-Bando, o *Charadrius semipalmatus* (Figura 6) tem seu nome científico do (latim) *charadrius* = pássaro amarelado mencionado na Bíblia Vulgata (final do século 4); e do (latim) *semi* = meio, metade, pequeno; e *palmatus*, palma = palmado; *semipalmatus* = que tem os dedos parcialmente ligados por membrana. Ver para maiores detalhes o link a seguir: <https://www.wikiaves.com.br/wiki/batuira-de-bando>.

Pertence ao grupo Charadriiforme e à família Charadriidae, com peso e tamanho que variam entre 28 - 69g e 17 - 19cm, (Smith e Nol, 2000). É espécie territorialista, geralmente gregária, com dimorfismo sexual bem definido na coloração da plumagem e comprimento das asas. Possuem base do bico e pernas amarelas e nos adultos as plumagens superiores são marrom escuras e as inferiores brancas em ambas as temporadas, de reprodução e de invernada, com as fêmeas ligeiramente maiores do que os machos (Cramp, 1983; Nol e Blanken, 2014). Utiliza camuflagem disruptiva como forma de proteção eficiente contra predadores (Certari, 2008).

Nos seus habitats de reprodução, ocupam áreas abertas em terrenos de areia ou musgosos. Na Baía de Fundy, o primeiro ponto de parada rumo ao litoral brasileiro, seus principais habitats são arenques, salinas e lamas. Já em solos onde passam o período de invernada, seus habitats incluem praias, lagos e baías (Hicklin, 1987; Certari, 2008).

Com o mesmo objetivo do *C. pusilla*, de se proteger do rigoroso inverno nas regiões Árticas, essa espécie viaja até a Baía de Fundy (Canadá), e então até a terra do fogo (Argentina), com vários pontos de parada para descanso (Figura 4). Tais pontos de parada estão distribuídos ao longo da costa dos Estados Unidos e Caribe, alcançando a costa brasileira entre agosto e setembro, permanecendo até março e abril (Belton, 1984; Sick, 1997b; Barbieri *et al.*, 2000). Tal como mencionado anteriormente, existe uma enorme diversidade de sítios de parada na costa brasileira, desde o estado do Amapá até o Rio Grande do Sul, sendo esses pontos fundamentais para a conservação dessas espécies. Todos com temperaturas mais amenas e abundância de alimentos que garantem o acúmulo de energia necessária ao término da viagem (Telio-Júnior *et al.*, 2003).

FIGURA 6: Imagens de um exemplar da espécie *Charadrius semipalmatus*. (A) Canadá (B) Brasil



Fonte: <https://birdsna.org/Species-Account/bna/species/semplo/introduction> e Prof. Dr. Cristovam Guerreiro Diniz

## 1.2 Hipocampo, neurogênese e glia radial

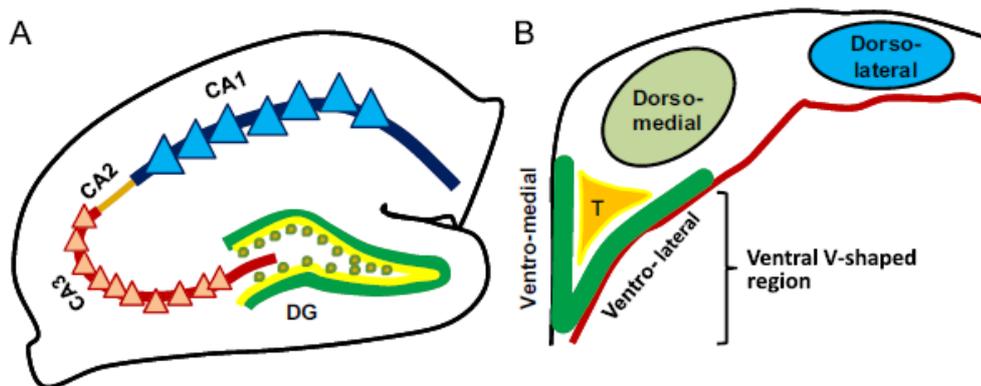
O hipocampo é uma estrutura altamente conservada através das espécies (Manns e Eichenbaum, 2006) e é considerado central no entendimento das bases neurológicas da memória (Moscovitch *et al.*, 2016) e na orientação durante a navegação nas aves (Sherry, D. F. e Vaccarino, A. L. , 1989; Atoji *et al.*, 2002). Aves migratórias podem navegar milhares de quilômetros com enorme precisão, um processo complexo que envolve a integração de muitas fontes de informação sensorial especializadas, provenientes de variadas pistas multissensoriais (Frost e Mouritsen, 2006).

O hipocampo de aves e mamíferos possui a mesma origem embrionária, o que foi comprovado através de estudos de homologia de expressão genética (Puelles, 2001) demonstrando grande similaridade e funções altamente conservadas (Belgard *et al.*, 2013). Atoji e Wild demonstraram, baseado em conectividade anatômica, que a área dorsomedial da formação hipocampal das aves é semelhante ao *subiculum* e cornos de Ammon dos mamíferos, enquanto a camada em forma de V na porção ventromedial é similar ao giro denteado dos mamíferos, e a camada mais lateral e dorsal do hipocampo das aves sendo análoga ao córtex entorrinal (Atoji e Wild, 2006). Da mesma forma, Gupta *et al.*, demonstraram através de estudos envolvendo traçadores retrógrados e anterógrados, expressão gênica e imunomarcagem seletiva, que a região dorsomedial (DM) do hipocampo das aves seria homóloga ao corno de

Ammon e ao *subiculum* dos mamíferos, e a região em forma de V do hipocampo, homóloga ao giro denteado dos mamíferos (Gupta *et al.*, 2012).

Nos maçaricos que nos propusemos a examinar, a formação hipocampal mostra aparência bastante conservada, retendo características anteriormente propostas como sendo homólogas às da formação hipocampal em mamíferos. Com base nessas homologias, selecionamos a área em forma de V da formação hipocampal, que mostra padrões conservados de expressão gênica, semelhantes a do giro denteado de mamíferos (Gupta *et al.*, 2012; Atoji *et al.*, 2016). A Figura 7 ilustra as principais homologias entre à formação hipocampal de aves e mamíferos.

FIGURA 7: Representação esquemática do hipocampo e giro denteado dos mamíferos e das aves para comparação. **A** – Secção coronal através da formação hipocampal de um mamífero adulto com as subdivisões que incluem o giro denteado e as áreas do corno de Ammon, CA1, CA2 e CA3. **B** – Secção coronal através da formação hipocampal de uma ave adulta. As diferentes cores e diferentes formas indicam áreas homólogas. Note a região em forma de V do hipocampo de onde foram selecionados os astrócitos radiais para reconstrução tridimensional



Fonte: Modificado de (Gupta *et al.*, 2012) e baseado em (Atoji e Wild, 2006)

Muitos estudos sugerem que o hipocampo atua como um centro de integração multissensorial, interagindo com estruturas que contêm mapas e bússolas, controlando constantemente as direções e alvos da migração, revisado por (Mouritsen *et al.*, 2016). Uma variedade de sistemas de navegação é combinada com aprendizagem visuoespacial e memória em aves migratórias para manter a orientação durante o voo (Wiltschko *et al.*, 2013; Mouritsen *et al.*, 2016) (Figura 8). A



hormônios gonadais e envelhecimento (Barnea, A. e Pravosudov, V., 2011; Galea, L. A. *et al.*, 2013; Aimone, J. B. *et al.*, 2014; Oomen, C. A. *et al.*, 2014; Cameron, H. A. e Glover, L. R., 2015; Ladage, L. D., 2015). Em trabalho anterior, demonstramos que, em maçaricos-rasteirinhos migrantes adultos (*Calidris pusilla*), a migração de outono em direção ao litoral sul-americano afeta a neurogênese (De Moraes Magalhaes *et al.*, 2017).

Embora o significado da morfologia das células gliais radiais para a neurogênese ainda não seja totalmente compreendida, sua morfologia e extensão radial em todo o parênquima parece sugerir um substrato adequado para migração dos neurônios recém-nascidos (Pinto, L. e Götz, M., 2007). De fato, camundongos mutantes com defeitos na morfologia radial de células gliais radiais também mostram problemas na migração de neurônios (Götz, Magdalena *et al.*, 1998; Pinto, L. A. e Götz, M., 2007). Além do mais, células semelhantes à glia radial  $\alpha$ , são células-tronco envolvidas na astrogênese e na neurogênese, e a migração neuronal radial ao longo das fibras gliais radiais parece ocorrer tanto no cérebro em desenvolvimento quanto no cérebro adulto (Scott *et al.*, 2012; Lever *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2015; Bonaguidi *et al.*, 2016; Gebara *et al.*, 2016; Falk e Gotz, 2017; Berg *et al.*, 2018). Além disso, as células gliais radiais  $\alpha$  também compartilham características moleculares comuns com astrócitos imunomarcados para GFAP (Scott *et al.*, 2012; Renzel *et al.*, 2013; Matsue *et al.*, 2018a).

A distinção fenotípica entre neurônio jovem e as células gliais somente com o método clássico de Golgi era bastante difícil, gerando incerteza quanto à natureza daquelas células (Rakic, 2003). O grande avanço na definição da natureza e função de células radiais gliais veio com a introdução de novos métodos como o microscópio eletrônico, autorradiografia de 3H-timidina (timidina tritiada) e a imuno-marcação cito- e histoquímica, que proporcionaram maior resolução dos fenótipos celulares e permitiu a identificação de classes de células (Levitt e Rakic, 1980; Levitt *et al.*, 1981; De Azevedo *et al.*, 2003; Rakic, 2003).

Os métodos histológicos clássicos indicaram claramente que as células radiais gliais do cérebro em desenvolvimento têm a capacidade de se dividir e servir como

precursoras que direta ou indiretamente dão origem a todas as principais classes de neurônios e astrócitos (Rakic, 2003). Por ter uma estrutura bem definida a organização do citoesqueleto sugere que os astrócitos radiais tem características e funções metabólicas distintas: eles fornecem suporte metabólico às células que desenvolvem contatos com eles, mas também servem ao transporte de substâncias entre diferentes áreas do cérebro adulto e em desenvolvimento (Alvarez-Buylla *et al.*, 2002).

As células da glia radial com propriedades de células-tronco estabelecem uma variedade de contatos com vasos sanguíneos, sinapses e astrócitos. Sabendo-se que os sinais derivados de neurônios, de astrócitos, e dos vasos sanguíneos regulam o processo de neurogênese adulta, a identificação desses contatos fornece um quadro estrutural que pode ser útil para elucidar os mecanismos pelos quais esta regulação ocorre (Moss *et al.*, 2016).

A proliferação cerebral e a neurogênese pós-embriônica é uma característica fundamental que é conservada no cérebro dos vertebrados (Kaslin *et al.*, 2008). Nos mamíferos, a neurogênese adulta ocorre em duas regiões restritas no ventrículo lateral telencefálico: no giro denteado (Altman e Das, 1965; Van Praag *et al.*, 2002) e no bulbo olfatório (Altman, 1969; Lois e Alvarez-Buylla, 1994). Da mesma forma, vertebrados não mamíferos também apresentam neurogênese adulta em áreas telencefálicas equivalentes e suplementares (Kaslin *et al.*, 2008).

Durante o desenvolvimento embrionário dos vertebrados, diferentes classes de neurônios, glia e células ependimárias são produzidos de forma muito discreta (Alvarez-Buylla *et al.*, 2001). No entanto, o nível de neurogênese adulta diminui significativamente com a filogenia (Kaslin *et al.*, 2008). Importante realçar que o vínculo mais próximo entre neurogênese adulta e a biologia glial reside no fato que as células-tronco em ambas as zonas neurogênicas tem muitas propriedades astrogliais, muitas vezes sendo classificadas como astrócitos (Morrens *et al.*, 2012).

Outros tipos de migração neuronal durante o desenvolvimento do SNC e neurogênese adulta foram encontradas. De fato, os neurônios imaturos viajam das zonas germinais até seu destino final usando substratos celulares para sua migração, e isso parece ser guiado não apenas pela glia radial (Marin e Rubenstein, 2003; Rakic,

2003), mas também pelos axônios neuronais (Hutchins *et al.*, 2013) e por vasos sanguíneos atuando como trilhas (Segarra *et al.*, 2015).

A migração neuronal no cérebro de aves adultas parece única em vários aspectos. As distâncias percorridas pelas células migrantes são relativamente longas quando comparadas com as distâncias observadas no desenvolvimento cerebral. De fato, o tamanho do cérebro adulto permanece fixo durante a migração, a marcação anatômica provavelmente permanece inalterada, e a velocidade na qual as células migratórias se afastam dos ventrículos parece consideravelmente mais rápida do que durante o desenvolvimento. A migração através de regiões ricas ou pobres em fibras de glia radiais permite comparações interessantes entre os fatores que regulam a localização e o percurso em ambas as condições (Alvarez-Buylla e Nottebohm, 1988).

A rota de migração outonal de *C. pusilla* inclui um voo sem escalas sobre o Oceano Atlântico, enquanto a rota de outono de *C. semipalmatus* é em grande parte por terra. Devido a essa diferença em seus caminhos migratórios e nas tarefas de reconhecimento visuo-espacial envolvidas, hipotetizamos que a neurogênese seria diferente durante esses períodos entre essas duas espécies. Dadas as conexões próximas entre os astrócitos radiais e a neurogênese, também procuramos influências potenciais da migração outonal na morfologia astrocitária radial. Para esse fim, contamos o número de neurônios marcados com duplacortina (DCX) na formação hipocampal e reconstruímos microscopicamente em 3D astrócitos radiais na região em forma de V do hipocampo. Essa região apresenta padrões de expressão gênica conservados semelhantes aos de camundongos, confirmando homologia previamente sugerida com o giro denteado de mamíferos (Gupta *et al.*, 2012; Atoji *et al.*, 2016).

Ainda que não haja evidências nas espécies estudadas de que os astrócitos radiais encontrados na região do V hipocampal sirvam efetivamente à neurogênese e à astrogênese adulta, ou ainda que sejam seus ramos utilizados como guia/trilhas para migração dos neurônios novos, nossa expectativa é a de que se isso estiver acontecendo, encontraremos mudanças morfológicas significativas na morfologia dos astrócitos radiais, antes e depois do processo migratório se completar. Esperamos

ainda que essas mudanças sejam acompanhadas de mudanças na taxa de formação de neurônios novos marcados pela duplacortina.

Com base nas evidências de que a glia radial participa do processo de neurogênese servindo de trilho para migração, nós hipotetizamos que a migração contrastante das espécies escolhidas afetaria diferencialmente sua morfologia e isto estaria associado às diferentes taxas de neurogênese.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Investigar nas espécies *Calidris pusilla* e *Charadrius semipalmatus*, durante o período de migração e invernada, a ocorrência de possíveis diferenças morfológicas dos astrócitos radiais na área do V hipocampal em busca de potenciais correlações com a taxa de neurogênese na formação hipocampal.

### 2.2 Específicos

- Classificar morfológicamente os astrócitos radiais do V hipocampal e quantificar a neurogênese da formação hipocampal nas espécies de interesse, antes e após a migração outonal se completar.
- Para detectar potenciais influências das estratégias migratórias contrastantes sobre os astrócitos radiais e a neurogênese, e realizar análise comparativa entre as espécies de indivíduos em migração e em invernada.
- Investigar antes e após a migração outonal a ocorrência de potenciais correlações entre as alterações morfológicas dos astrócitos radiais e a taxa de neurogênese.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas duas janelas de amostragem. Uma para representar indivíduos em plena atividade migratória, contendo 5 espécimes de *Calidris pusilla* e 5 espécimes de *Charadrius semipalmatus* coletados na Baía de Fundy, Canadá (45°50'19.3"N e 64°31'5.39"W) e a outra para representar indivíduos invernantes contendo 5 aves de cada espécie coletados no Brasil, que concluíram a migração sul, na Ilha de Canelas - zona costeira tropical do Norte do Brasil (00°47'09.07"S e 46°43'11.29"W), totalizando 20 indivíduos. As aves em migração (Baía de Fundy, Canadá) foram capturadas em agosto, enquanto as amostras das aves invernantes (Ilha de Canelas, Brasil) apresentaram variabilidades significativas no seu tempo de coleta, que se estendeu entre agosto a maio (ver Tabela 4). Assim, devemos ter em mente que as mudanças ambientais potenciais durante o período de inverno podem impor limitações metodológicas para este estudo.

As aves foram capturadas com a licença N° 44551-2 do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e a Autorização de Captura Científica ST2783 do *Canadian Wildlife Service*. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as recomendações dos Institutos Nacionais de Saúde (EUA) e da regulamentação brasileira para procedimentos científicos em animais e com a aprovação do Subcomitê de Usuários de Animais da Universidade de Western Ontario e da Universidade Federal do Pará. Todos os esforços foram feitos para minimizar o número de animais utilizados, o estresse e desconforto dos mesmos.

#### 3.1 Perfusão e histologia

As aves foram perfundidas sob anestesia profunda com isoflurano, por via transcardíaca, com solução salina tamponada com tampão fosfato a 0,1 M pH 7.2 – 7.4, seguido de fixadores aldeídicos (paraformaldeído a 4%, tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2-7,4). Após a perfusão, foi realizada a craniotomia e remoção dos encéfalos que foram armazenados em solução salina tamponada com fosfato 0,1 M pH 7.2 – 7.4. Em seguida, os cérebros foram cortados com Vibratomo (Leica VT1000S) no plano

coronal em secções de 80 µm (Brasil) e 60 µm (Canadá) de espessura, e coletados de modo a obter séries anatômicas com intervalos de 1:6. As secções foram montadas em lâminas gelatinizadas, secas ao ar em temperatura ambiente, imunomarcadas, desidratadas e cobertas com lamínula.

### 3.2 Procedimentos imuno-histoquímicos

Após a fixação, os cérebros das aves foram processados para imunomarcção (Tabela I) de astrócitos radiais usando anticorpos anti-GFAP e para novos neurónios, anti-duplacortina-DCX (anti-GFAP SC-6170, Santa Cruz Biotecnologia e anti-Doublecortin C-18, sc-8066, Santa Cruz Biotecnologia). Os anticorpos primários foram diluídos em tampão fosfato salina e em solução do detergente Triton a 0,3% (PBST) a 1:500 para facilitar a penetração dos anticorpos.

Secções em flutuação livre foram submetidas à recuperação antigênica, ao bloqueio inespecífico com soro de cavalo à 10%, e incubadas com os anticorpos anti-GFAP ou anti-Doublecortina com agitação suave e contínua durante 3 dias à 4°C incubadas com anticorpo secundário (cavalo anti-cabra BA 9500, 1:400 em PBST 0,3%) durante a noite, seguido de peróxido de hidrogénio a 0,3% (15 minutos), e imersas em solução de complexo avidina-biotina-peroxidase (ABC) por 60 minutos (Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA, 37,5 µl A, 37,5 µl B em 13,12 ml de 0,3% PBST).

As secções foram reagidas para visualizar os neurónios imunomarcados para DCX+ ou para GFAP utilizando o método de níquel-glucose-oxidase-DAB (Shu *et al.*, 1988). A reação foi interrompida após a obtenção de ramos astrocíticos radiais finos (GFAP) e visualização de corpos celulares de neurónios marcados com DCX+ ao microscópio. As secções foram montadas em lâminas gelatinizadas e expostas ao ar em temperatura ambiente, para secar, e em seguida desidratadas e diafanizadas usando uma série de álcoois e xileno e finalmente cobertas com meio de inclusão Entellan (Entellan, Sigma-Aldrich) e lamínulas.

Todas as secções imunomarcadas para DCX+ e GFAP das séries anatômicas dos 5 animais de cada grupo foram utilizadas para a análise. A seleção obedeceu rigorosos critérios de integridade do soma neuronal para estereologia e dos ramos astrocíticos para a reconstrução 3D e posterior análise morfométrica. A especificidade da reação foi confirmada com a ausência de observação de imunomarcção quando da retirada do anticorpo primário (Saper e Sawchenko, 2003).

TABELA I: Informações sobre solução, quantidade de imersão, tempo e temperatura das reações imuno-histoquímicas. Todos os passos foram realizados em agitação suave e contínua.

SOLUÇÃO	IMERSÃO	TEMPO E TEMPERATURA
Ácido bórico 0,2M (pH 9) – Imersão	1x	60min - 70°C
Tampão fosfato salina e triton a 1% (PBST) - Imersão	3x	2min - ambiente
Tampão fosfato salina (PBS) - Imersão	3x	3min – ambiente
Soro normal de cavalo a 10% (S-2000 Vector Laboratories, diluído em PBST 0,3% para DCX e GFAP) - Imersão	1x	12h - 4°C
Anticorpo primário (anti-DCX e anti-GFAP produzido em cabra SC-6170 Santa Cruz Biotechnology, 1:500 em PBST 0,3%) - Imersão	1x	12h - 4°C
PBS - Imersão	3x	2min – ambiente
Anticorpo secundário (DCX e GFAP, Vector Laboratories, Inc. cavalo anti-cabra BA 9500, 1:400 em PBST 0,3%) - Imersão	1x	12h - 4°C
Incubadas no peróxido de hidrogénio a 0,3% - Imersão	1x	15min – ambiente
Tampão fosfato salina (PBS) - Imersão	3x	2min – ambiente
Complexo avidina-biotina-peroxidase (ABC) (Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA; 37,5 µl A, 37,5 µl B em 13, 12ml de 0,3% PBST) - Imersão	1x	60min – ambiente
PBS 0,1M - Imersão	1x	2min – ambiente
Método de glicose-oxidase-DAB-níquel - Imersão	1x	Ambiente
Reação interrompida com tampão fosfato 0,1M (PB)	1x	3min - ambiente
PB 0,1M – Imersão	3x	5min – ambiente

### 3.3 Volumes da formação hipocampal e do telencéfalo

Definimos a formação hipocampal de *C. pusilla* e *C. semipalmatus* como compreendendo o hipocampo propriamente dito e a área parahipocampal (Guerreiro-Diniz, 2013; Carvalho-Paulo, D.; *et al.*, 2017). Para medir os volumes do hipocampo e a razão entre eles, seguimos o método de Cavalieri estimando o volume total do telencéfalo, utilizado previamente (Ladage *et al.*, 2009). O *software* utilizado para tal,

foi o Stereo Investigator, permitindo estimar volumes, previamente mencionado (Gundersen, H. e Jensen, E., 1987).

### **3.4 Estereologia: números de neurônios DCX+**

A principal vantagem da quantificação da neurogênese usando imunomarcção para duplacortina, DCX+ em relação às medidas tradicionais (bromodeoxyuridine e timidina tritiada) é justamente a sua produção endógena. Os outros marcadores tradicionais devem ser injetados nos animais, identificando subseqüentes divisões celulares que ocorrem de forma não específica (neurônios e glia). Isso limita a informação qualitativa e o destino dos neurônios refletindo somente a janela temporal associada ao momento da injeção (Couillard-Despres *et al.*, 2005). Essa limitação não é encontrada quando do uso da duplacortina como marcador de neurogênese.

Após a imunomarcção seletiva de DCX+, determinamos o número de neurônios jovens imunopositivos. Como o fracionador óptico não é afetado por alterações histológicas, retração ou expansão do tecido induzida por dano (West *et al.*, 1991), usamos essa metodologia para estimar o número total de células (West, 2002). Cada contorno do hipocampo de cada hemisfério foi digitalizado diretamente de cada secção usando uma objetiva 4x em um microscópio NIKON Eclipse 80i (Nikon, Japão), equipado com uma platina motorizada (MAC6000, Ludl Electronic Products, Hawthorne, NY, EUA). Imagens em grande aumento foram adquiridas usando uma objetiva de imersão em óleo de alta resolução de 100x (Nikon, NA 1.45, WD = 0.13  $\mu$ m) e o *software* Stereo Investigator (MBF Bioscience Inc., Frederick, MD, EUA).

Em cada local de contagem, a espessura da secção foi cuidadosamente avaliada usando a objetiva de alto ganho e o foco fino do microscópio para definir o desfoque imediato na parte superior e inferior da secção. Tanto a espessura quanto a distribuição dos neurônios nas secções foram desiguais, e assim a estimativa do número total de neurônios foi feita com base na espessura da secção ponderada pelo número de elementos contados. Este valor fornece a estimativa populacional total que

é determinada pela número de secções selecionado para submissão ao fracionador óptico. Todos os neurônios amostrados que entraram em foco dentro da caixa de contagem foram contados e adicionados ao total, desde que os corpos celulares estivessem inteiramente dentro da caixa de contagem ou cruzassem a linha de aceitação sem tocar a linha de rejeição (Gundersen, H. J. A. e Jensen, E. B., 1987).

As caixas de contagem foram colocadas de forma aleatória e sistemática dentro de uma grade amostral previamente definida (Figura 9, **B** e **C**). Os parâmetros experimentais e os resultados de contagem na região de interesse são mostrados para cada indivíduo no Anexo I. As dimensões da grade usada foram adaptadas para atingir um coeficiente de erro aceitável (CE). O cálculo do CE para a contagem total de neurônios DCX+ da formação hipocampal de cada espécime utilizado no presente estudo adotou o procedimento de amostragem sistemática de um estágio (Schaeffer CE) que foi previamente validado (Glaser, E. M. e Wilson, P. D., 1998).

O procedimento de contagem foi iniciado com a geração automática de caixas de contagem pelo programa. Foram marcados os objetos de interesse (elementos celulares) dentro de cada caixa de contagem, sendo que estes geram informações para o programa Stereo Investigator, revelando o número e a posição das células contidas na mesma. Essas informações são coletadas sistematicamente na fração de secções escolhidas e a partir delas são estimados, pelo programa, o número esperado de objetos de interesse para toda a estrutura cujo contorno foi digitalizado.

A unidade de contagem utilizada em nosso protocolo foi o corpo celular e o foco escolhido para posicionar o marcador no eixo Z foi o soma neuronal. Para evitar que o mesmo objeto seja contado repetidas vezes, o procedimento de focalização deve ser efetuado repetidamente nos diferentes planos ao longo do eixo Z em cada caixa, especialmente quando coexistem muitas células na mesma caixa.

As Tabelas de 1 a 6 no Anexo I mostram parâmetros experimentais e resultados médios de contagem do *fracionador óptico* de neurônios imunopositivos para DCX+ e volumes da formação hipocampal de *C. pusilla* e *C. semipalmatus* migrantes e invernantes. O nível de erro aceitável das estimativas estereológicas foi definido pela

razão entre o erro intrínseco introduzido pela metodologia e o coeficiente de variação (Glaser, E. M. e Wilson, P. D., 1998; Slomianka e West, 2005). O CE expressa a precisão das estimativas do número de células, e um valor de Scheaffer  $CE \leq 0,05$  foi adotado porque a variância introduzida pelo procedimento de estimativa contribui pouco para a variância do grupo observado (Slomianka e West, 2005). Os parâmetros experimentais foram estabelecidos em experimentos piloto e aplicados a todos os animais.

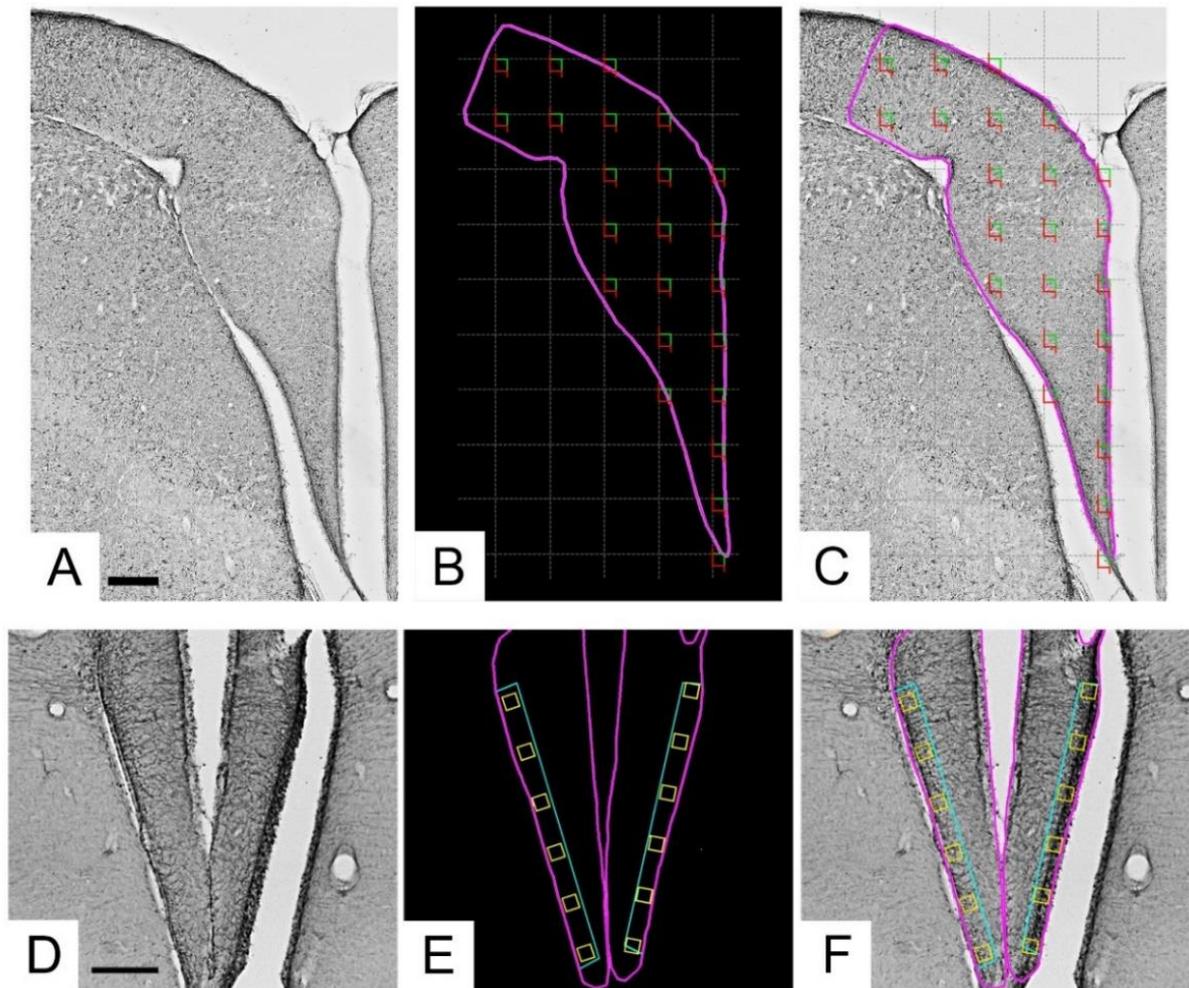
O fracionador óptico determina o número total de células multiplicando o número de objetos identificados dentro de cada caixa de contagem pelos valores de três razões distintas: (I) a razão entre o número de secções contadas e o número total de secções (fração amostral do número de secções, *section sampling fraction* - *ssf*); (II) a razão entre a área da matriz de contagem e a caixa de contagem (fração amostral da área, *area sampling fraction* - *asf*); (III) a relação entre a altura da caixa de contagem e a espessura da seção após os procedimentos histológicos (fração amostral da espessura, *tissue sampling fraction* - *tsf*).

Assim, o número total de células para cada marcador foi obtido pela seguinte equação:

$$N = \Sigma Q * 1 / ssf * 1 / asf * 1 / tsf$$

onde, N é o número total de células e  $\Sigma Q$  é o número de objetos contados (West *et al.*, 1991).

FIGURA 9: (A) Fotomicrografia de baixo aumento da formação hipocampal de uma secção imunomarcada para DCX para definir os limites da área de interesse e a estratégia de amostragem aleatória e sistemática para contagem de células. A formação hipocampal tem seus limites definidos pelo contorno rosa, a grade cinza estabelece os intervalos entre as caixas de contagem e as linhas verdes e vermelhas das caixas de contagem definem os limites de contagens permitidas e proibidas (B-C). (D) Fotomicrografia de baixo aumento na área do V hipocampal de uma secção imunomarcada com GFAP para reconstrução em 3D dos astrócitos radiais. Um único astrócito radial localizado dentro ou próximo de cada caixa amarela (E-F) foi selecionado para reconstrução. Barras de escala: A - C = 250  $\mu\text{m}$ ; D - F = 500  $\mu\text{m}$ .



### 3.5 Reconstrução tridimensional de astrócitos e morfologia quantitativa

Os astrócitos foram reconstruídos com objetiva de 100x de imersão em óleo, de alta resolução (Nikon, NA 1.3, DF = 0.19  $\mu\text{m}$ ). As imagens foram adquiridas com o

*software* Neurolucida e analisadas com o *software* Neurolucida Explorer (Neurolucida 11.03; MBF Bioscience, Williston, VT, EUA).

Os limites da formação hipocampal foram definidos como compreendendo o hipocampo propriamente dito e a área para-hipocampal com base em descrições anteriores (Atoji e Wild, 2006; Diniz, D. G., De Oliveira, M. A., De Lima, C. M., Foro, C. A., *et al.*, 2016). Amostras aleatórias e sistemáticas de cortes coronais foram tiradas de uma série de seções de toda a formação do hipocampo. No entanto, apenas os astrócitos radiais da área V do hipocampo (Figura 9 **D-F**) foram utilizados para a reconstrução tridimensional.

Apenas células com árvores inequivocamente completas foram incluídas na análise 3D. A discussão detalhada da influência de fatores mecânicos associados à secção obtida pelo vibrátomo e ao procedimento de desidratação, na reconstrução microscópica em 3D pode ser encontrada em (Carlo e Stevens, 2011). Foi realizada a reconstrução digital em 3D de 1068 astrócitos radiais que foram selecionados de 5 aves migratórias e 5 invernantes de cada espécie, usando uma abordagem de amostragem aleatória e sistemática (Glaser, E. M. e Wilson, P. D., 1998).

Embora o encolhimento no eixo Z não seja um evento linear, corrigimos tal encolhimento com base em evidências anteriores de sua magnitude que é em média de 75% (Carlo e Stevens, 2011). Sem essa correção, este encolhimento distorceria significativamente as medições de comprimento ao longo desse eixo.

A análise estatística da morfologia dos astrócitos radiais foi baseada em 15 variáveis morfométricas extraídas de reconstruções tridimensionais de astrócitos radiais da região V do hipocampo de 4 grupos experimentais: duas espécies (*C. semipalmatus* e *C. pusilla*) e dois locais de captura (Brasil e Canadá). A captura na Baía de Fundy (Canadá) correspondeu a das aves migratórias e a captura feita em Ilha de Canelas (Brasil) correspondeu às aves no período de invernada. De cada grupo experimental foram reconstruídos os seguintes números de astrócitos radiais: *C. pusilla* (Canadá): 252, *C. pusilla* (Brasil), 242; *C. semipalmatus* (Canadá), 235 e *C. semipalmatus* (Brasil), 339 células.

Esta análise preliminarmente exigiu a detecção de quais das 15 variáveis morfométricas (descritas na Tabela II) de cada grupo experimental apresentaram uma distribuição bi ou multimodal. Para isso, foi estimado o índice de multimodalidade (MMI) para cada uma delas. Estimamos o MMI com base na assimetria e curtose de nossa amostra para cada variável morfométrica empregando a seguinte equação:

$$\text{MMI} = [M3^2 + 1] / [M4 + 3 (n - 1)^2 / (n - 2) (n - 3)]$$

onde M3 é assimetria, M4 é curtose e n é o tamanho da amostra (Schweitzer e Renehan, 1997).

A distorção (assimetria) e curtose descrevem a forma da distribuição amostral, permitindo dizer se a amostra é uni-, bi- ou multimodal. Como previamente recomendado (Schweitzer e Renehan, 1997) utilizamos para análise de agrupamento todas as variáveis morfométricas com índices de multimodalidade maiores que 0,55 incluindo todos os animais de cada grupo. Na análise hierárquica de cluster, as medidas de distância foram geradas usando a distância euclidiana definida como a raiz quadrada da soma dos quadrados das diferenças entre os valores dos elementos, adotando o método de Ward (Ward, 1963). Esse procedimento tem a vantagem de normalizar as medidas sem que suas unidades influenciem os resultados.

Os conjuntos de dados multimodais são essenciais para separar uma população de células em fenótipos celulares morfológicos distintos (Schweitzer e Renehan, 1997). As seguintes variáveis multimodais foram utilizadas para análise de cluster para cada grupo experimental:

- *C. pusilla* (Canadá) - comprimento total dos ramos; segmentos/mm; número de árvores; complexidade; convex hull volume, convex hull superfície, convex hull área e convex hull perímetro;
- *C. pusilla* (Brasil) - comprimento total dos ramos; comprimento médio do ramos; tortuosidade; volume dos ramos; número de segmentos; segmentos/mm; área de superfície; complexidade; convex hull volume, convex hull superfície, convex hull área e convex hull perímetro;

- *C. semipalmatus* (Canadá) - comprimento médio dos ramos; complexidade; convex hull volume, convex hull superfície e convex hull área;
- *C. semipalmatus* (Brasil) - comprimento médio dos ramos; volume dos ramos, área de superfície; complexidade; convex hull volume, convex hull superfície; convex hull área e convex hull perímetro.

Cada um dos 4 conjuntos de dados de características morfométricas multimodais foi submetido à análise hierárquica de clusters. A análise hierárquica de agrupamentos indicou grupos morfológicos, permitindo a classificação dos astrócitos radiais em dois grandes grupos (Tipo I e Tipo II). A identificação de tipos de células usando essa metodologia ajudou, em publicações prévias, a entender a estrutura e a função das células em núcleos e áreas do sistema nervoso central, onde as morfologias celulares não são facilmente distinguíveis (Schweitzer e Renehan, 1997).

TABELA II: Variáveis morfométricas avaliadas nos astrócitos radiais.

Variáveis Morfológicas Avaliadas	
Comprimento total dos ramos ( $\mu\text{m}$ )	= soma do comprimento total dos segmentos utilizados para traçar o ramo de interesse.
Comprimento médio dos ramos ( $\mu\text{m}$ )	= [Comprimento total] / [Número de ramos]
Tortuosidade	= [Comprimento real do segmento] / [Distância entre os pontos finais do segmento]. O menor valor é 1; Isso representa um segmento reto. A tortuosidade permite comparar segmentos de diferentes comprimentos em termos da Complexidade dos caminhos que eles tomam.
Diâmetro da base dos ramos primários ( $\mu\text{m}$ )	= diâmetro da base do 1º segmento.
Área de superfície média dos ramos ( $\mu\text{m}^2$ )	Calculado pela modelagem de cada ramo como um tronco (truncado cone circular reto) dividido pelo número de ramos.
Volume médio dos ramos ( $\mu\text{m}^3$ )	Calculado pela modelagem cada peça de cada ramo como um tronco.
Número de segmentos	= número total de segmentos da árvore.
Segmentos/mm	= nº de segmentos / comprimento total dos segmentos em milímetros.
Área de superfície total das árvores ( $\mu\text{m}^2$ )	= área de superfície 2D da árvore de um astrócito calculado com base na área definida pelas extremidades de todas as árvores.
Complexidade	= [Soma das ordens terminais + Número de terminais] $\times$ [Comprimento total da ramificação / Número de ramos primários]
Convex hull - perímetro ( $\mu\text{m}$ ), área ( $\mu\text{m}^2$ ) 2d, superfície ( $\mu\text{m}^2$ ) e volume ( $\mu\text{m}^3$ ) 3d	Convex hull mede as dimensões do campo envolvido pelos ramos interpretando a estrutura ramificada como um sólido que inclui uma dada quantidade de espaço físico. A

	quantidade de espaço físico é determinada em termos de Convex hull volume, área de superfície, área ou perímetro.
Dimensão fractal (K-dim)	= a forma como a estrutura de interesse preenche o espaço. Diferenças estatísticas significativas em K-dim sugerem dissimilaridades morfológicas.

Usamos o método de Ward com variáveis padronizadas e um dendrograma para ilustrar a classificação morfológica, e utilizamos a análise discriminante para identificar as variáveis morfométricas que proporcionaram a melhor separação entre as classes dos astrócitos radiais sugeridas pela análise de agrupamento. Além disso, calculamos as médias aritméticas, os desvios e os erros padrão para as variáveis multimodais.

O teste t paramétrico e o teste não paramétrico de Mann-Whitney U foram usados para detectar diferenças entre conjuntos de dados mostrando variâncias iguais e desiguais, respectivamente. O teste ANOVA / Kruskal-Wallis para grupos independentes também foi usado para comparar clusters dentro de cada grupo e entre os grupos, e para detectar possíveis diferenças morfológicas entre os valores médios das variáveis morfométricas dos astrócitos radiais do V hipocampal de aves migrantes e invernantes de *C. pusilla* e *C. semipalmatus*.

Para a escolha da célula representativa de cada grupo, que representa os astrócitos radiais de cada cluster, a matriz de distância foi utilizada para obter a soma das distâncias de cada célula em relação a todas as outras. Pressupomos que a célula que melhor representa cada grupo teria a menor soma de distâncias. As matrizes foram construídas com a combinação de todas as células de um determinado grupo, tomadas em pares, seguida do cálculo ponderado de uma distância euclidiana escalar entre as células, usando todas as variáveis morfométricas.

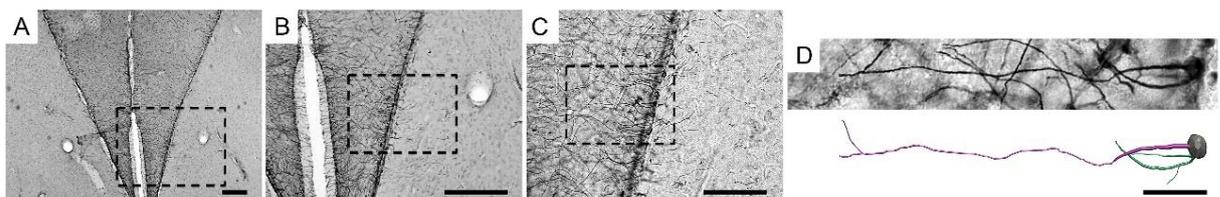
## 4. RESULTADOS

### 4.1 Área, objeto de interesse e análise morfométrica

Nossas amostras reconstruídas em 3D incluíram apenas astrócitos radiais. Com esse intuito, astrócitos radiais individuais foram selecionados usando abordagem amostral aleatória e sistemática. O número de elementos selecionados para reconstrução em 3D foi relativamente grande (1068 no total; 494 em aves em migração e 574 em aves invernantes, aproximadamente 50 células gliais radiais por indivíduo) o que sugere que nenhum viés amostral foi incluído a priori na amostra global.

O astrócito radial lustrado na figura 10 é um tipo celular da linhagem astrogliar, caracterizado por um corpo celular ovóide localizado perto da parede ventricular, mostrando extremidades mais longas na direção oposta. A Figura 10 mostra, sob ampliações diferentes, detalhes de um astrócito radial marcado com GFAP na margem da área do V do hipocampo, perto do ventrículo. Com a objetiva de 100x, de imersão em óleo, todos os detalhes morfológicos e sua localização em 3D foram digitalizados e armazenados como coordenadas x, y e z.

FIGURA 10: Fotomicrografias de baixo e médio aumentos da área do V hipocampal (A, B, C) e fotomicrografia de grande aumento e sua reconstrução digital correspondente (D) de um astrócito radial de um indivíduo *C. semipalmatus*, capturado no Brasil. A área tracejada indica a área contendo o astrócito radial reconstruído. Barras de escala: A= 250  $\mu\text{m}$ , B= 250  $\mu\text{m}$ , C= 125  $\mu\text{m}$ , D= 25  $\mu\text{m}$ .



Baseado em características morfológicas multimodais ( $\text{MMI} > 0.55$ ), procuramos por famílias morfológicas de astrócitos radiais usando análise hierárquica de clusters. Independente da origem da amostra (aves migratórias capturadas na Baía de Fundy, Canadá, ou aves invernantes capturadas na Ilha de Canelas em Bragança, Brasil), os resultados mostraram duas famílias de astrócitos que designamos como

Tipo I e Tipo II respectivamente, em *C. pusilla* (Figuras 11 e 12 e Tabelas III e IV) e *C. semipalmatus* (Figuras 13 e 14 e Tabelas V e VI).

Como as proporções de células reconstruídas foram grandes (1068 no total), elas refletem potencialmente a distribuição espacial quantitativa de astrócitos Tipo I e Tipo II na área V do hipocampo de *C. pusilla* e *C. semipalmatus*.

#### **4.2 Diferenças morfológicas entre astrócitos do Tipo I e Tipo II**

Astrócitos radiais do Tipo I da área V do hipocampo de *C. pusilla* apresentaram maiores valores médios de complexidade morfológica e convex hull superfície, e valores médios menores em segmentos/mm do que os astrócitos do Tipo II em aves migratórias (Canadá) (Figura 11, Tabela III). Eles também apresentaram valores médios mais altos de complexidade, convex hull superfície, convex hull volume, convex hull área e comprimento total dos ramos, do que os astrócitos Tipo II em aves invernantes (Brasil) (Figura 12, Tabela IV). Da mesma forma, os astrócitos radiais do Tipo I de *C. semipalmatus* apresentaram valores médios de complexidade morfológica e convex hull superfície superiores aos dos astrócitos do Tipo II em aves migratórias (Figura 13, Tabela V). Eles também exibiram em aves invernantes valores médios significativamente mais altos de convex hull superfície, convex hull volume, convex hull área e convex hull perímetro do que os do Tipo II (Figura 14, Tabela VI).

FIGURA 11: Representação gráfica da análise hierárquica de agrupamentos de características morfométricas multimodais de astrócitos radiais do V hipocampal de aves em migração (Canadá) da espécie *C. pusilla*. O agrupamento hierárquico e a análise discriminante foram realizados após reconstruções em 3D de astrócitos radiais de 5 indivíduos. **(A)** Agrupamentos de dendrogramas, baseada em características morfométricas multimodais de astrócitos ( $MMI > 0,55$ ), de 252 astrócitos radiais identificando dois fenótipos morfológicos principais, Tipo I e Tipo II. **(B)** Sumário da análise da função discriminante mostrando que a variável que mais contribuiu para a formação dos grupos foi a complexidade. **(C)** Representação gráfica da análise discriminante onde os astrócitos Tipo I apresentaram maior dispersão x-y do que astrócitos Tipo II. Representações gráficas dos valores médios, desvio e erro padrão correspondentes da da complexidade morfológica **(D)**, convex hull superfície **(E)**, convex hull volume **(F)**, convex hull área **(G)** e comprimento total dos ramos **(H)**, (\*) indica diferenças significativas entre Tipo I e Tipo II.

### *Calidris pusilla* - Canadá

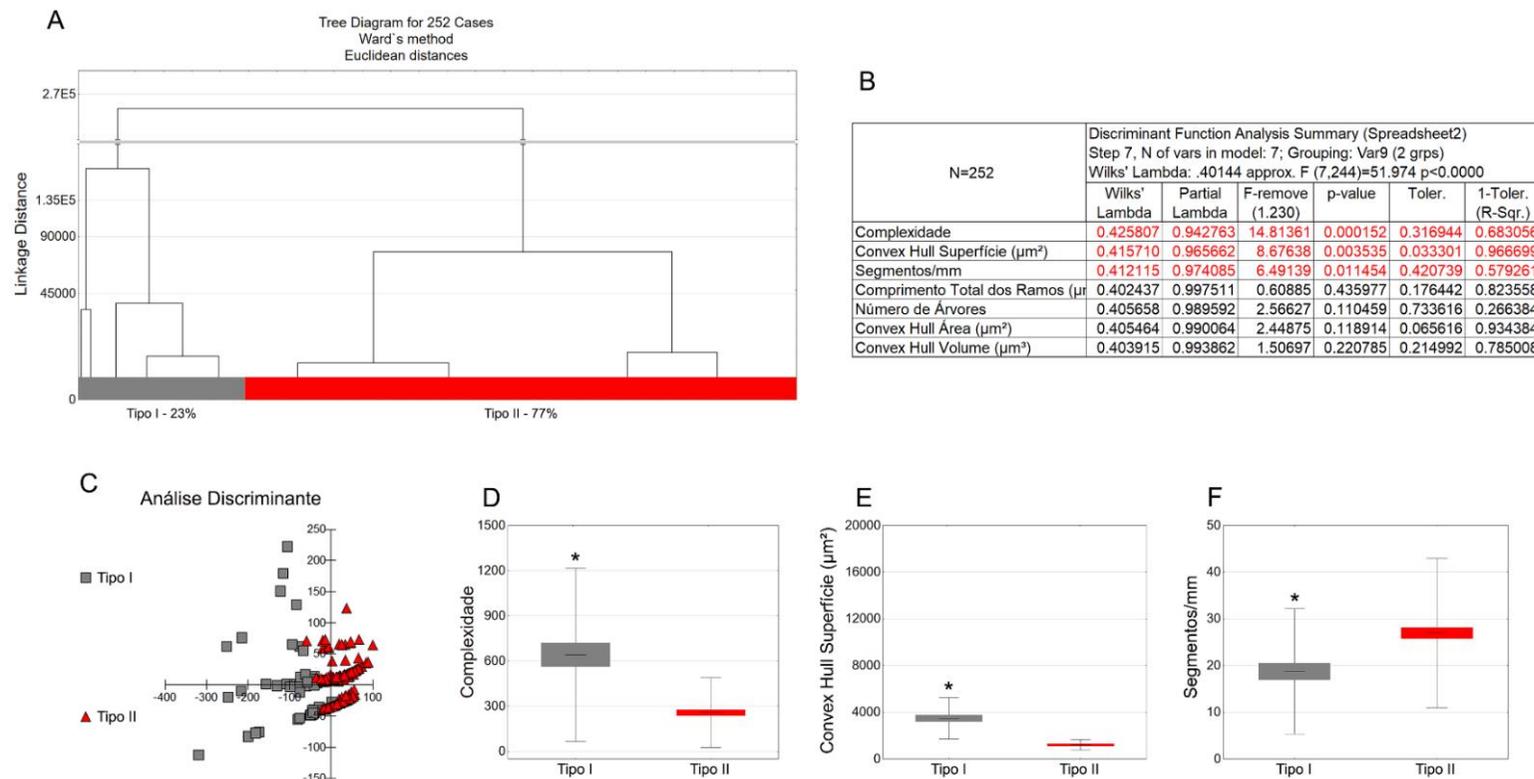


FIGURA 12: Representação gráfica da análise hierárquica de agrupamentos de características morfométricas multimodais de astrócitos radiais do V hipocampal de indivíduos invernantes (Brasil) da espécie *C. pusilla*. O agrupamento hierárquico e a análise discriminante foram realizados após reconstruções em 3D de astrócitos radiais de 5 indivíduos. **(A)** Agrupamentos de dendrogramas, baseada em características morfométricas multimodais de astrócitos ( $MMI > 0,55$ ), de 242 astrócitos radiais identificando dois fenótipos morfológicos principais, Tipo I e Tipo II. **(B)** Sumário da análise da função discriminante mostrando que a variável que mais contribuiu para a formação dos grupos foi a convex hull superfície. **(C)** Representação gráfica da análise discriminante onde os astrócitos Tipo I apresentaram maior dispersão x-y do que astrócitos Tipo II. Representações gráficas dos valores médios, desvio e erro padrão correspondentes de convex hull superfície **(D)**, convex hull área **(E)**, comprimento total dos ramos **(F)**, convex hull volume **(G)** e complexidade morfológica **(H)**, (\*) indica diferenças significativas entre Tipo I e Tipo II.

### *Calidris pusilla* - Brasil

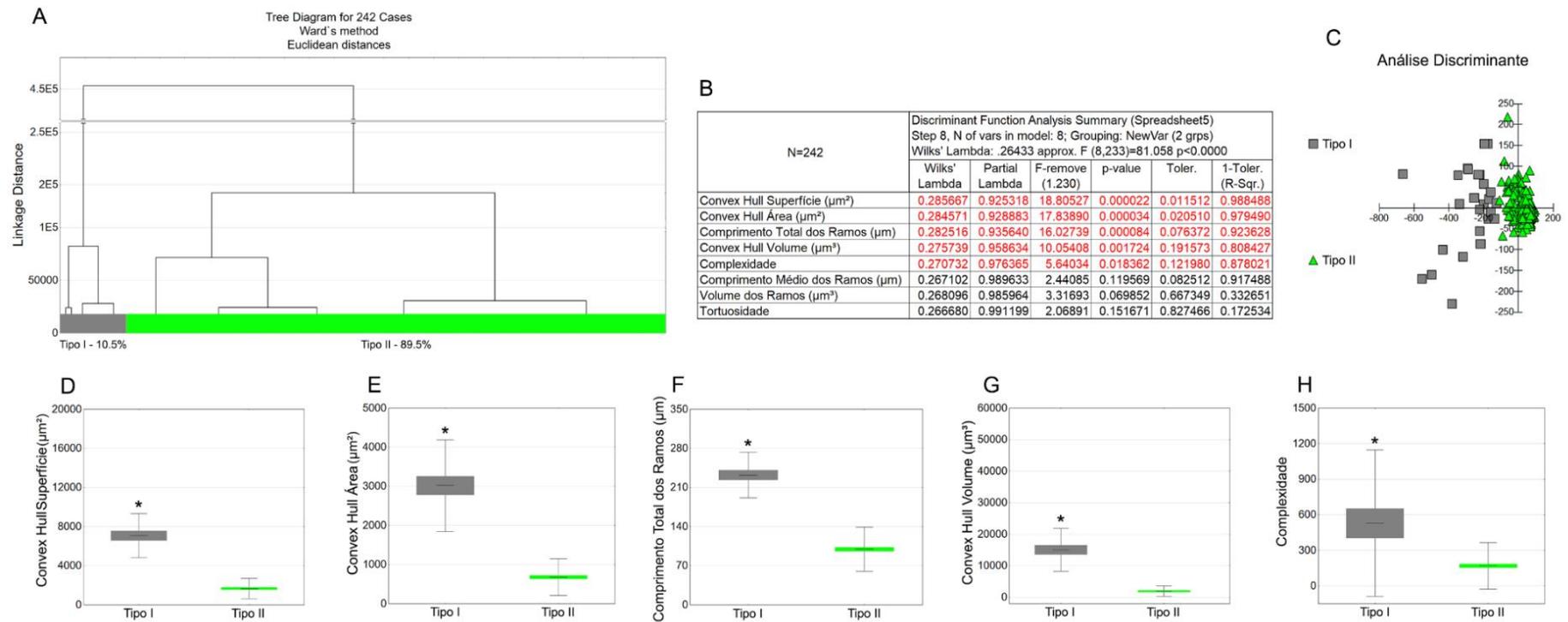


TABELA III: Valores médios, erros (E.P.) e desvios padrão (D.P.) correspondentes, com indicação das diferenças significativas detectadas pelo teste t ou Mann-Whitney entre os astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II da figura 11.

<b>Calidris pusilla - Canadá</b>						
	<b>Complexidade</b>		<b>Convex hull superfície (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>		<b>Segmentos/mm</b>	
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
Média	640.81	257.36	3481.36	1210.62	18.75	26.94
E.P.	75.33	16.60	230.83	31.56	1.76	1.15
D.P.	573.72	231.28	1757.98	439.60	13.43	16.02
Teste	Mann-Whitney Z(U) = 6.4468; $p < 0.0001$		Mann-Whitney Z(U) = 11.2634; $p < 0.0001$		Teste t – t = 3.5409; $p = 0.0006$	
	<b>Comprimento total dos ramos (<math>\mu\text{m}</math>)</b>		<b>Número de árvores</b>		<b>Convex hull volume (<math>\mu\text{m}^3</math>)</b>	
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
Média	162.73	86.34	1.10	1.08	7146.89	1450.35
E.P.	5.64	1.64	0.04	0.02	812.74	51.47
D.P.	42.56	22.77	0.31	0.27	6136.02	715.04
Teste	Mann-Whitney Z(U) = 10.851; $p < 0.0001$		Teste t – t = 0.6297; $p = 0.5301$		Mann-Whitney Z(U) = 11.364; $p < 0.0001$	
	<b>Convex hull área (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>		<b>Convex hull perímetro (<math>\mu\text{m}</math>)</b>			
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II		
Média	1366.12	466.71	229.54	129.00		
E.P.	100.28	13.82	9.67	2.59		
D.P.	757.08	191.97	73.04	35.97		
Teste	Mann-Whitney Z(U) = 10.765; $p < 0.0001$		Mann-Whitney Z(U) = 9.7298; $p < 0.0001$			

TABELA IV: Valores médios, erros (E.P.) e desvios padrão (D.P.) correspondentes, com indicação das diferenças significativas detectadas pelo teste t ou Mann-Whitney entre os astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II da figura 12.

<b>Calidris pusilla - Brasil</b>						
	<b>Convex hull superfície (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>		<b>Convex hull área (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>		<b>Comprimento total dos ramos (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
Média	7076.74	1664.36	3018.86	678.18	232.24	99.50
E.P.	442.39	70.62	230.36	31.98	7.95	2.70
D.P.	2255.77	1040.23	1,174.62	471.08	40.54	39.76
Teste	Mann-Whitney Z(U) = 8.2614; $p < 0.0001$		Mann-Whitney Z(U) = 7.9939; $p < 0.0001$		Test t – t = 16.048; $p < 0.0001$	
	<b>Convex hull volume (<math>\mu\text{m}^3</math>)</b>		<b>Complexidade</b>		<b>Comprimento médio dos ramos (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
Média	15,061.95	1949.59	528.88	169.08	188	86.91
E.P.	1348.01	108.61	121.11	13.29	14.40	2.93
D.P.	6873.50	1599.86	617.53	195.82	71.99	43
Teste	Mann-Whitney Z(U) = 8.3267; $p < 0.0001$		Mann-Whitney Z(U) = 6.4468; $p < 0.0001$		Mann-Whitney Z(U) = 5.8328; $p < 0.0001$	
	<b>Tortuosidade</b>		<b>Volume dos ramos (<math>\mu\text{m}^3</math>)</b>		<b>Convex hull perímetro (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
Média	1.35	1.29	37.74	17.15	345.65	166.01
E.P.	0.04	0.01	3.16	0.73	12.36	4.70
D.P.	0.19	0.20	15.81	10.70	61.78	69.14
Teste	Teste t – t = 1.3551; $p = 0.1778$		Mann-Whitney Z(U) = 6.2717; $p < 0.0001$		Mann-Whitney Z(U) = 7.7366; $p < 0.0001$	
	<b>Segmentos/mm</b>		<b>Área de superfície (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>		<b>Número de segmentos</b>	
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
Média	7.17	15.58	323.75	138.79	1.69	1.34
E.P.	1.08	0.75	14.75	4.20	0.28	0.06
D.P.	5.42	11.04	73.76	61.72	1.38	0.89
Teste	Mann-Whitney Z(U) = 5.8328; $p < 0.0001$		Mann-Whitney Z(U) = 7.7721; $p < 0.0001$		Teste t – t = 1.2618; $p = 0.2177$	

FIGURA 13: Representação gráfica da análise hierárquica de agrupamentos de características morfométricas multimodais de astrócitos radiais do V hipocampal de aves em migração (Canadá) da espécie *C. semipalmatus*. O agrupamento hierárquico e a análise discriminante foram realizados após reconstruções em 3D de astrócitos radiais de 5 indivíduos. (A) Agrupamentos de dendrogramas, baseada em características morfométricas multimodais de astrócitos (MMI > 0,55), de 235 astrócitos radiais identificando dois fenótipos morfológicos principais, Tipo I e Tipo II. (B) Sumário da análise da função discriminante mostrando que a variável que mais contribuiu para a formação dos grupos foi a complexidade. (C) Representação gráfica da análise discriminante onde os astrócitos Tipo I apresentaram maior dispersão x-y do que astrócitos Tipo II. Representações gráficas dos valores médios, desvio e erro padrão correspondentes da complexidade morfológica (D) e convex hull volume (E). (\*) indicam diferença significativa entre os astrócitos radiais Tipo I e Tipo II.

### *Charadrius semipalmatus* - Canadá

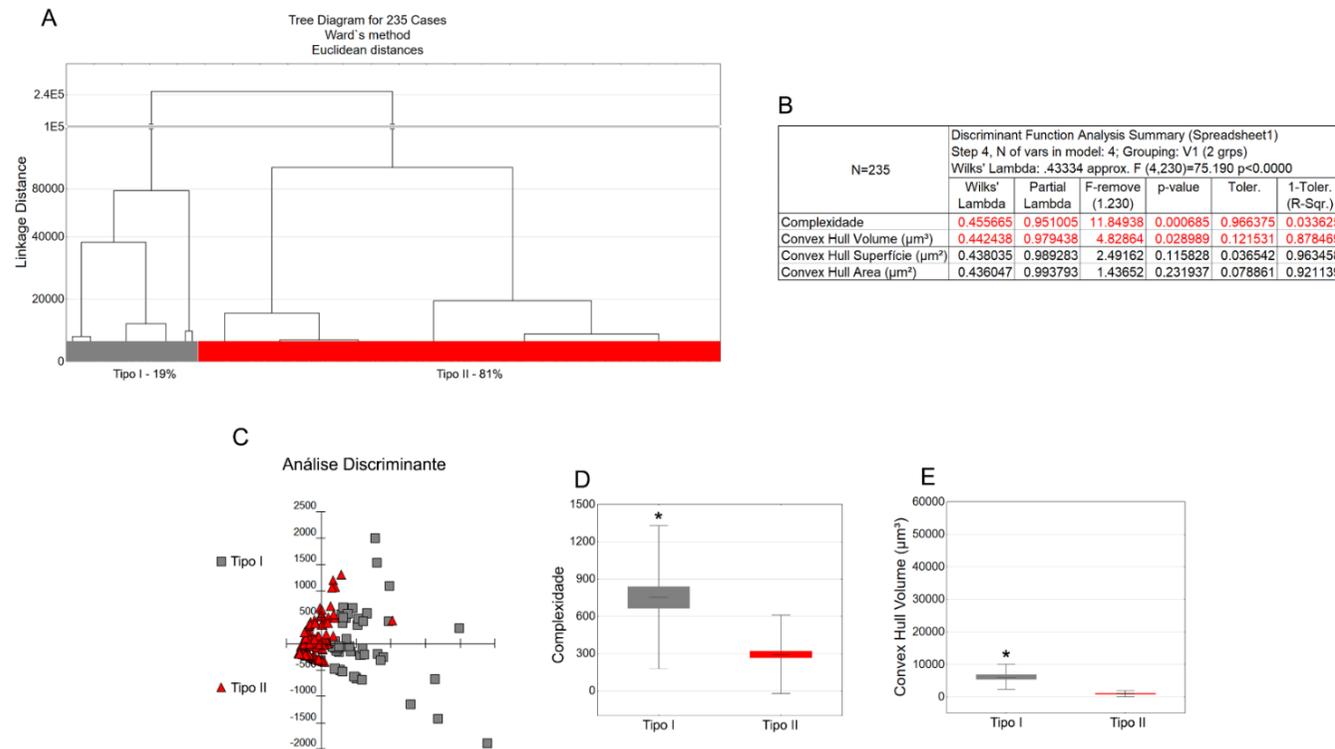


FIGURA 14: Representação gráfica da análise hierárquica de agrupamentos de características morfométricas multimodais de astrócitos radiais do V hipocampal de indivíduos invernantes (Brasil) da espécie *C. semipalmatus*. O agrupamento hierárquico e a análise discriminante foram realizados após reconstruções em 3D de astrócitos radiais de 5 indivíduos. (A) Agrupamentos de dendrogramas, baseada em características morfométricas multimodais de astrócitos (MMI > 0,55), de 339 astrócitos radiais identificando dois fenótipos morfológicos principais, Tipo I e Tipo II. (B) Sumário da análise da função discriminante mostrando as variáveis que mais contribuíram para a formação dos grupos. (C) Representação gráfica da análise discriminante onde os astrócitos Tipo I apresentaram maior dispersão x-y do que astrócitos Tipo II. Representações gráficas dos valores médios, desvio e erro padrão correspondentes de convex hull superfície (D), convex hull volume (E), convex hull área (F) e convex hull perímetro (G); (\*) indica diferença significativa entre os astrócitos Tipo I e Tipo II.

### *Charadrius semipalmatus* - Brasil

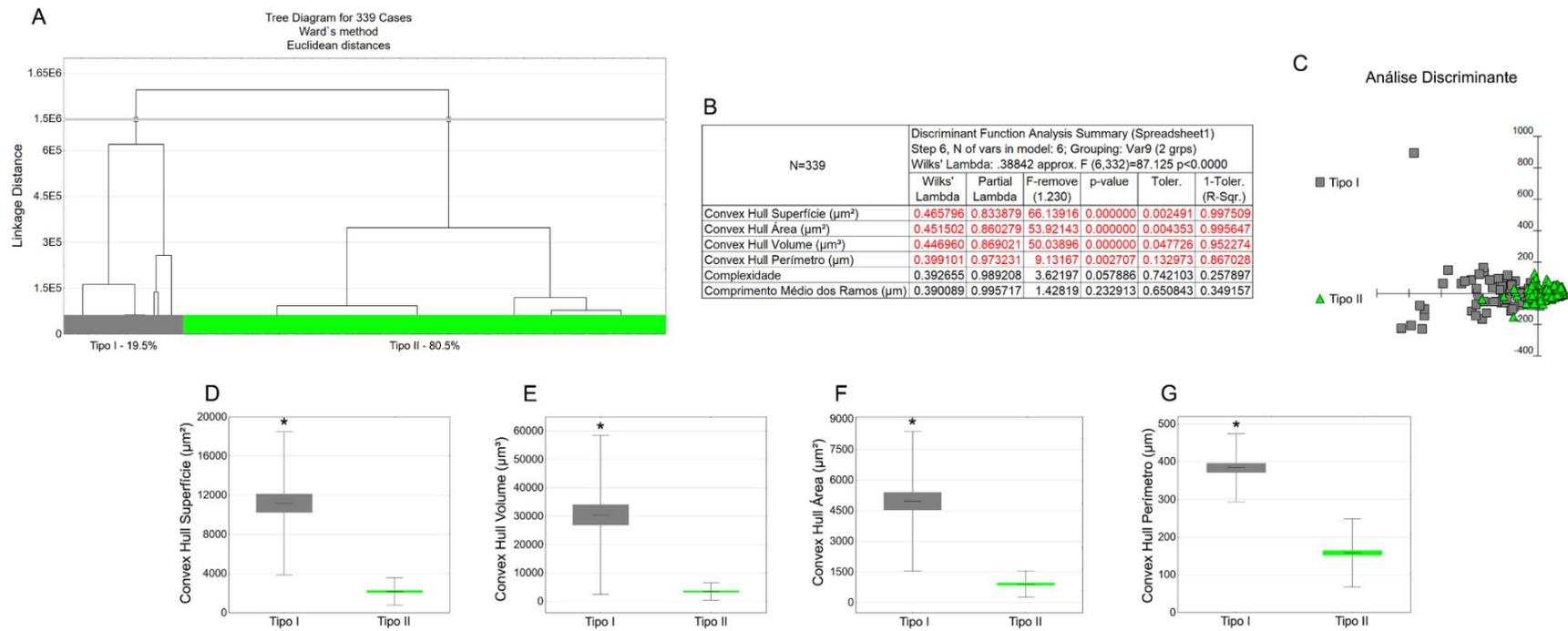


TABELA V: Valores médios, erros (E.P.) e desvios padrão (D.P.) correspondentes, com indicação das diferenças significativas detectadas pelo teste t ou Mann-Whitney entre os astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II da figura 13.

<b>Charadrius semipalmatus – Canadá</b>						
	<b>Complexidade</b>		<b>Convex hull superfície (µm<sup>2</sup>)</b>		<b>Convex hull volume (µm<sup>3</sup>)</b>	
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
Média	751.73	292.40	6134.04	1025.73	6134.04	1025.73
E.P.	83.82	22.95	561.89	68.49	561.89	68.49
D.P.	574.63	314.64	3852.13	939.09	3852.13	939.09
Teste	Mann–Whitney Z(U) = 6.3594; p < 0.0001		Mann–Whitney Z(U) = 10.391; p < 0.0001		Mann–Whitney Z(U) = 10.4831; p < 0.0001	
	<b>Convex hull área (µm<sup>2</sup>)</b>		<b>Comprimento médio dos ramos (µm)</b>			
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II		
Média	1085.40	339.04	63.06	39.31		
E.P.	89.55	14.14	7.37	1.84		
D.P.	613.90	193.91	50.51	25.18		
Teste	Mann–Whitney Z(U) = 9.5847; p < 0.0001		Mann–Whitney Z(U) = 3.6307; p = 0.0003			

Tabela VI: Valores médios, erros (E.P.) e desvios padrão (D.P.) correspondentes, com indicação das diferenças significativas detectadas pelo teste t ou Mann-Whitney entre os astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II da figura 14.

<b>Charadrius semipalmatus - Brasil</b>						
	<b>Convex hull superfície (µm<sup>2</sup>)</b>		<b>Convex hull área (µm<sup>2</sup>)</b>		<b>Convex hull volume (µm<sup>3</sup>)</b>	
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
Média	11,198.97	2179.08	4972.80	910.29	30,509.48	3518.55
E.P.	900.45	84.47	421.76	38.97	3,446.10	187.31
D.P.	7315.28	1395.66	3426.43	643.97	27,996.24	3094.81
Teste	Mann–Whitney Z(U) = 12.2967; p < 0.0001		Mann–Whitney Z(U) = 12.147; p < 0.0001		Mann–Whitney Z(U) = 12.4759; p < 0.0001	
	<b>Convex hull perímetro (µm)</b>		<b>Complexidade</b>		<b>Volume dos ramos (µm<sup>3</sup>)</b>	
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
Média	384.11	158.35	4969.17	1890.68	79.01	43.45
E.P.	19.65	3.85	627.27	147.04	5.41	1.40
D.P.	159.61	63.69	5095.98	2429.55	43.97	23.09
Teste	Mann–Whitney Z(U) = 11.317; p < 0.0001		Mann–Whitney Z(U) = 6.6032; p < 0.0001		Mann–Whitney Z(U) = 7.6431; p < 0.0001	
	<b>Comprimento médio dos ramos (µm)</b>		<b>Área de superfície (µm<sup>2</sup>)</b>			
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II		
Média	54.46	27.67	534.31	262.68		
E.P.	7.23	1.47	26.38	6.72		
D.P.	58.77	24.27	214.28	111.04		
Teste	Mann–Whitney Z(U) = 6.7943; p < 0.0001		Mann–Whitney Z(U) = 10.408; p < 0.0001			

Devido a estratégia de amostragem aleatória e sistemática, acreditamos que a seleção de astrócitos radiais foi feita sem viés e que o número total reconstruído de cada tipo foi representativo de sua distribuição espacial na área do V hipocampal. Assim, estimamos a proporção de cada tipo de astrócito na amostra e verificamos sua variação antes e após a migração se completar (ver Figuras 11 a 14). Esta análise deixou claro que os astrócitos radiais do Tipo II são menos influenciados pelo processo migratório do que os do Tipo I. De fato, a maior variação no Tipo II em *C. pusilla* ocorreu após a migração estar completa e não alcançou 20%. Os astrócitos Tipo II foram mais frequentes que os astrócitos Tipo I, representando mais de 70% do total de astrócitos reconstruídos tanto em *C. pusilla* quanto em *C. semipalmatus*.

#### **4.3 Rotas migratórias contrastantes influenciam diferencialmente a morfologia dos astrócitos da glia radial**

Como mostrado na Figura 15 e na Tabela VII, astrócitos radiais Tipo I de *C. pusilla* e *C. semipalmatus* de indivíduos capturados na Baía de Fundy, Canadá apresentaram valores médios muito similares de complexidade morfológica, convex hull superfície e convex hull volume (**A - B - C**). No entanto, diferenças significativas foram encontradas em astrócitos radiais Tipo I em convex hull superfície e volume entre aves migratórias e invernantes para *C. pusilla* e *C. semipalmatus* (Figura 15, **B** e **C**, e Tabela VII).

Astrócitos radiais do Tipo II apresentaram alterações diferenciais na complexidade morfológica após a migração: os astrócitos radiais de *C. pusilla* Tipo II diminuíram sua complexidade morfológica, enquanto que em *C. semipalmatus* aumentou significativamente (Figura 15 - **D**). Em ambas as espécies, os astrócitos Tipo II aumentaram na variável convex hull superfície após a migração (Figura 15 - **E**), mas somente *C. semipalmatus* aumentou o convex hull volume (Figura 15 - **F**).

FIGURA 15: Representações gráficas dos valores médios da complexidade morfológica (A, D e G), convex hull - superfície (B, E e H) e convex hull – volume (C, F e I), com valores médios, desvios e erros padrão correspondentes encontrados em astrócitos radiais do Tipo I, Tipo II e Total, reconstruídos a partir do V hipocampal de *C. pusilla* e *C. semipalmatus*, durante a migração (vermelho) e durante o período de invernada (verde). (J) Representação gráfica do número de neurônios imunomarcados para DCX na formação hipocampal em *C. pusilla* e *C. semipalmatus*.

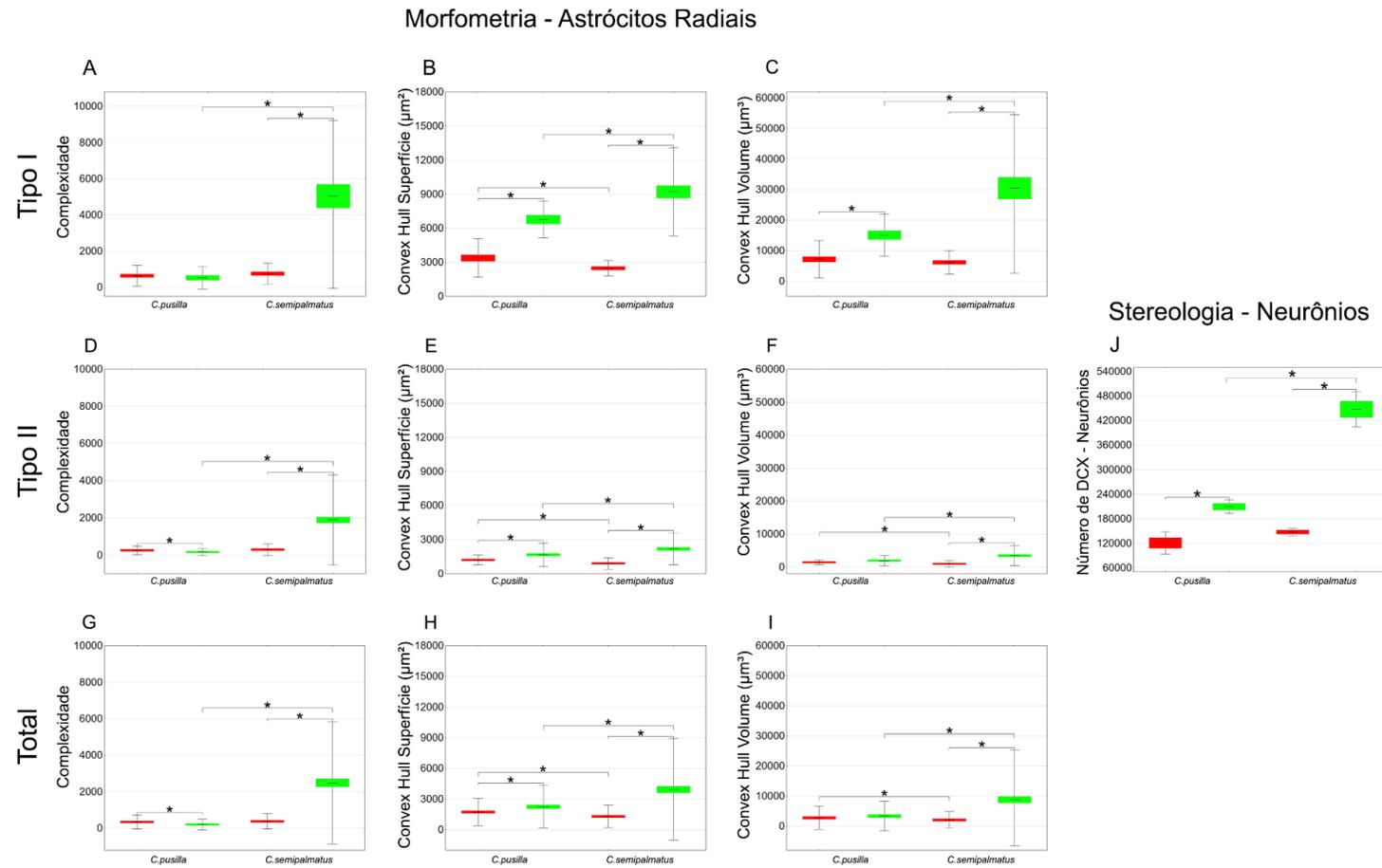


TABELA VII: Valores médios, erros (E.P.) e desvios padrão (D.P.) correspondentes com indicação das diferenças significativas para as análises morfométricas de astrócitos radiais Tipo I, Tipo II e Total e estereológicas para neurônios imunomarcados para DCX+, entre indivíduos capturados na Baía de Fundy-Canadá e Ilha de Canelas-Brasil em *C. pusilla* e *C. semipalmatus*, que compuseram a figura 15.

Tipo I	Complexidade				Convex hull superfície ( $\mu\text{m}^2$ )				Convex hull volume ( $\mu\text{m}^3$ )			
	<i>C. pusilla</i>		<i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i>		<i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i>		<i>C. semipalmatus</i>	
	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil
Média	640.82	528.88	751.73	4969.17	3542.69	6038.19	2480.64	9536.82	7146.89	15061.95	6134.04	30509.48
E.P.	75.33	121.11	83.82	627.27	251.61	378.61	105.92	531.22	805.70	1348.01	561.89	3446.10
D.P.	573.72	617.53	574.63	5095.98	1882.89	1815.73	691.54	3903.66	6136.02	6873.50	3852.13	27996.24
Teste	Kruskal–Wallis H = 9.2401; p = 0.4923		Kruskal–Wallis H = 73.9339; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 45.3742; p = 0.0003		Kruskal–Wallis H = 100.201; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 61.4191; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 98.3798; p < 0.0001	
	Canadá		Brasil		Canadá		Brasil		Canadá		Brasil	
	<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>	
Teste	Kruskal–Wallis H = 10.2223; p = 0.3609		Kruskal–Wallis H = 93.3963; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 25.8929; p = 0.0123		Kruskal–Wallis H = 28.934; p = 0.0218		Kruskal–Wallis H = 5.2847; p = 0.6367		Kruskal–Wallis H = 31.676; p = 0.0164	
Tipo II	Complexidade				Convex hull superfície ( $\mu\text{m}^2$ )				Convex hull volume ( $\mu\text{m}^3$ )			
	<i>C. pusilla</i>		<i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i>		<i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i>		<i>C. semipalmatus</i>	
	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil
Média	257.36	169.08	292.40	1890.68	1210.62	1664.36	903.60	2179.08	1450.35	1949.59	1025.73	3518.55
E.P.	16.60	13.32	22.95	147.04	31.56	70.78	35.97	84.47	51.34	108.86	68.49	187.31
D.P.	231.28	195.82	314.64	2429.55	439.60	1040.23	493.21	1395.66	715.04	1599.86	939.09	3094.81
Teste	Kruskal–Wallis H = 75.6216; p = 0.0024		Kruskal–Wallis H = 321.744; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 85.0756; p = 0.0006		Kruskal–Wallis H = 326.2974; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 38.3014; p = 0.1238		Kruskal–Wallis H = 331.9798; p < 0.0001	
	Canadá		Brasil		Canadá		Brasil		Canadá		Brasil	
	<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>	
Teste	Kruskal–Wallis H = 11.7042; p = 0.6494		Kruskal–Wallis H = 385.662; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 129.6746; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 111.6071; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 128.653; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 165.0255; p < 0.0001	

Total	Complexidade				Convex hull superfície ( $\mu\text{m}^2$ )				Convex hull volume ( $\mu\text{m}^3$ )			
	<i>C. pusilla</i>		<i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i>		<i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i>		<i>C. semipalmatus</i>	
	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil
Média	345.61	207.74	384.26	2490.04	1512.43	1995.36	1303.31	3935.17	2761.46	3358.35	2047.39	8773.42
E.P.	23.74	18.88	27.52	182.04	50.93	101.43	72.140	269.67	241.65	313.21	182.36	897.38
D.P.	376.87	293.65	421.81	3351.78	789.05	1551.53	1105.90	4965.09	3836.14	4872.41	2795.50	16522.54
Teste	Kruskal–Wallis H = 110.6126; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 366.2875; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 52.3052; p = 0.0392		Kruskal–Wallis H = 312.1174; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 0.2206; p = 0.9931		Kruskal–Wallis H = 311.143; p < 0.0001	
	Canadá		Brasil		Canadá		Brasil		Canadá		Brasil	
	<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>	
Teste	Kruskal–Wallis H = 4.9959; p = 0.8458		Kruskal–Wallis H = 471.9043; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 99.6953; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 160.1168; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 110.1917; p < 0.0001		Kruskal–Wallis H = 201.1719; p < 0.0001	

Estereologia	Número de DCX+ (neurônios)			
	<i>C. pusilla</i>		<i>C. semipalmatus</i>	
	Canadá	Brasil	Canadá	Brasil
Média	120874	209585	147312	447567
E.P.	12125	7441	4137	19118
D.P.	27113	16639	9251	42749
Teste	Kruskal–Wallis H = 9; p = 0.0162		Kruskal–Wallis H = 11; p = 0.0033	
	Canadá		Brasil	
	<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>		<i>C. pusilla</i> <i>C. semipalmatus</i>	
Teste	Kruskal–Wallis H = 3; p = 0.4227		Kruskal–Wallis H = 16; p < 0.0001	

Assim, as comparações dos astrócitos radiais Tipo I e Tipo II da região do V do hipocampo entre indivíduos capturados na Baía de Fundy - Canadá e aqueles capturados na Ilha de Canelas - Brasil, mostram que há efeitos diferenciais na morfologia dos astrócitos radiais de aves migratórias e invernais. *C. semipalmatus* tende a apresentar aumentos bastante acentuados na complexidade morfológica dos astrócitos radiais, convex hull superfície e convex hull volume em aves invernantes, enquanto tais mudanças são menores, ausentes ou mesmo invertidas em *C. pusilla*. As diferenças interespecíficas parecem responder por efeitos distintos na morfologia dos astrócitos radiais e isso pode estar relacionado aos padrões migratórios contrastantes. O número de neurônios novos imunomarcados para DCX aumentou após a migração outonal em ambas as espécies, embora em maior extensão em *C. semipalmatus* (Figura 15 - J).

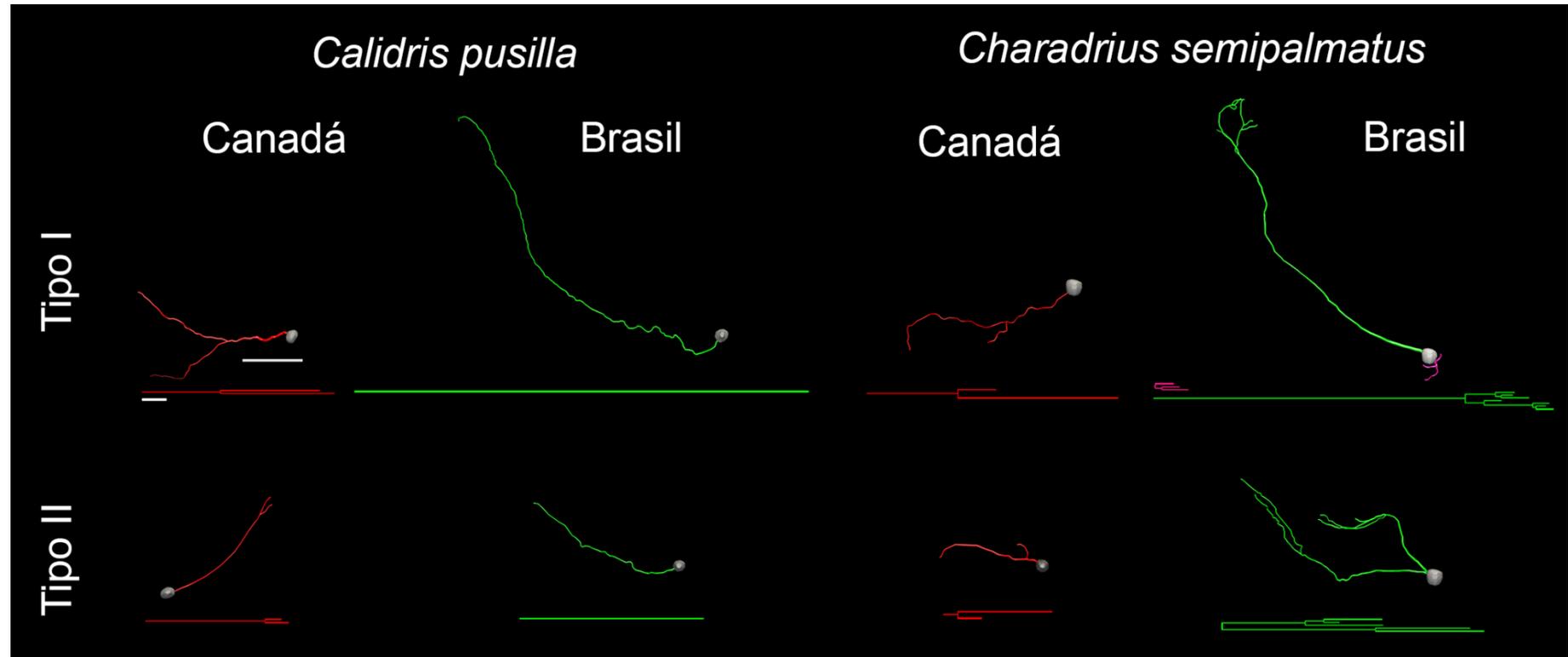
As comparações interespecíficas para o Tipo I mostraram diferenças significativas na complexidade morfológica após a migração (Brasil), mas não antes (Canadá), no convex hull superfície encontrou-se diferenças significativas antes e após a migração e no convex hull volume diferenças significativas somente após a migração. No que concerne ao Tipo II, as comparações entre as espécies mostraram diferenças significativas na complexidade morfológica somente após a migração enquanto que o convex hull superfície e o convex hull volume apresentaram diferenças significativas antes e depois da migração.

Embora não tenha havido diferenças significativas interespecíficas no número de neurônios imunomarcados para DCX antes da migração, foram detectadas diferenças significantes em aves invernantes (ver Figura 15 e Tabela VII). Essas alterações numéricas e morfológicas não foram acompanhadas por aumento significativo no volume da formação hipocampal após a migração em ambas as espécies.

A Figura 16 ilustra reconstruções tridimensionais das células médias representativas dos astrócitos radiais de cada um dos grupos experimentais realçando visualmente as principais diferenças morfológicas entre os astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II em *C. pusilla* e *C. semipalmatus*, em aves migratórias e invernantes. As

alterações morfológicas do astrócito radial Tipo I, após a migração, parecem ser maiores que as do Tipo II tanto em *C. pusilla* quanto em *C. semipalmatus*. Em contraste, os astrócitos radiais do Tipo II de *C. pusilla* exibem menores alterações morfológicas que os de *C. semipalmatus* após a migração outonal.

FIGURA 16: Reconstruções tridimensionais e dendrogramas correspondentes de astrócitos radiais do Tipo I e do Tipo II da área do V hipocampal de aves migratórias de *C. semipalmatus* e *C. pusilla* (em migração Canadá - vermelho, e invernanda Brasil - verde). Os ramos primários do Canadá e do Brasil são mostrados na mesma cor nas diferentes espécies. Os desenhos tridimensionais foram obtidos de astrócitos radiais com características morfológicas mais próximas àquelas da célula “média” representativa de cada grupo. As células 3D escolhidas para ilustrar os tipos de astrócitos radiais médios foram selecionadas da matriz de distância usada para obter a soma das distâncias de cada célula em relação a todas as outras. A célula que melhor representa um grupo é a que exibe a menor soma de distâncias. Barras de escala: 10  $\mu\text{m}$  para dendrogramas e 25  $\mu\text{m}$  para células reconstruídas em 3D.

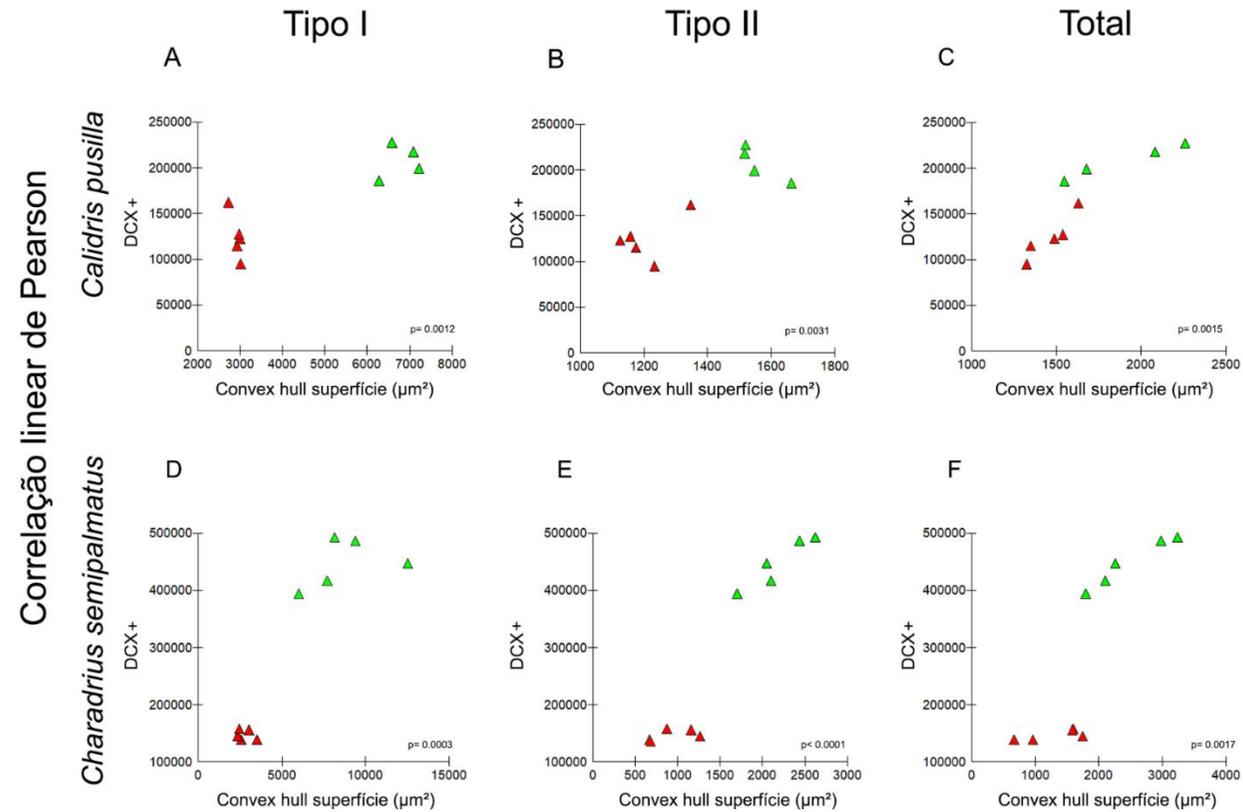


#### 4.4 Convex hull superfície dos astrócitos radiais e neurogênese

A Figura 17 mostra representações gráficas da correlação linear de Pearson entre o número de neurônios novos com imunomarcagem para DCX da formação hipocampal e a superfície do convex hull dos astrócitos radiais da área V do hipocampo de aves migratórias e invernantes das espécies *C. pusilla* e *C. semipalmatus*. A análise comparativa da correlação linear de Pearson para o Tipo I, Tipo II e Total da variável convex hull superfície e do número de neurônios imunomarcados com DCX, antes (Canadá - triângulos vermelhos) e após migração (Brasil - triângulos verdes), revelou resultados significativos para as duas espécies: *C. pusilla* Tipo I ( $R^2 = 0.80$   $p = 0.0012$ ); Tipo II ( $R^2 = 0.74$   $p = 0,0031$ ); Total ( $R^2 = 0.78$   $p = 0,0015$ ). *C. semipalmatus* Tipo I ( $R^2 = 0.82$   $p = 0.0003$ ); Tipo II ( $R^2 = 0.91$   $p < 0.0001$ ); Total ( $R^2 = 0.73$   $p = 0.0017$ ).

No entanto, o principal efeito na neurogênese ocorre após a migração. De fato, o número de neurônios imunomarcados com DCX aumentou após a migração outonal em ambas as espécies, embora em maior escala em *C. semipalmatus*. Tanto em *C. pusilla* ( $R^2 = 0.98$   $p = 0.0099$ ) quanto em *C. semipalmatus* ( $R^2 = 0.95$   $p = 0.0046$ ), a superfície do convex hull dos astrócitos radiais totais (envolvendo tanto os do Tipo I quanto os do Tipo II sem distinção) após a migração, apresentou maiores valores de correlação com a neurogênese. Essas mudanças numéricas e morfológicas não foram acompanhadas por um aumento significativo nos volumes de formação hipocampal após a migração em ambas as espécies.

FIGURA 17: Representações gráficas da correlação linear de Pearson entre convex hull superfície dos astrócitos radiais da área V do hipocampo e o número de neurônios novos imunomarcados para DCX da formação hipocampal de aves migrantes e invernantes de *C. pusilla* e *C. semipalmatus*. Análise comparativa da correlação linear de Pearson para o Tipo I, Tipo II e Total antes (Canadá - triângulos vermelhos) e depois (Brasil - triângulos verdes). Resultados da análise de correlação: *C. pusilla* (A) Tipo I ( $R^2 = 0.80$   $p = 0.0012$ ); (B) Tipo II ( $R^2 = 0.74$   $p = 0,0031$ ); (C) Total ( $R^2 = 0.78$   $p = 0,0015$ ). *C. semipalmatus* (D) Tipo I ( $R^2 = 0.82$   $p = 0.0003$ ); (E) Tipo II ( $R^2 = 0.91$   $p < 0.0001$ ); (F) Total ( $R^2 = 0.73$   $p = 0.0017$ ).



## 5. DISCUSSÃO

Em média, observamos que, em comparação com as aves migrantes, a complexidade morfológica das células radiais semelhantes a glia radial  $\alpha$  de aves invernantes aumentou significativamente em *C. semipalmatus* e diminuiu em *C. pusilla*, embora em proporções diferentes. Essas mudanças foram associadas com aumentos significativos no número total de neurônios jovens (DCX+) em ambas as espécies. Sugere-se que o voo ininterrupto contínuo de *C. pusilla*, e o voo migratório com escalas para alimentação e repouso de *C. semipalmatus*, afetam diferencialmente a morfologia dos astrócitos radiais e a neurogênese.

### 5.1 Migração, neurogênese e morfologia dos astrócitos radiais

Estudos anteriores mostraram que, em cérebros adultos, os astrócitos radiais podem servir como trilhos para a migração de novos neurônios em direção às áreas do SNC, onde deveriam entrar (Marin e Rubenstein, 2003; Rakic, 2003; Falk e Gotz, 2017; Oppenheim, 2019b). Com base nessa evidência, mostramos no presente trabalho que mudanças na morfologia do astrócito radial equivalentes a mudanças na orientação, distribuição e número desses trilhos no parênquima cerebral se refletem em um aumento ou diminuição na neurogênese. Para medir essas mudanças e testar a hipótese de que o processo migratório poderia induzi-las, utilizamos a reconstrução microscópica tridimensional dos ramos dessas células e contamos o número de neurônios novos imunomarcados para DCX antes e depois da migração.

Encontramos uma correlação significativa entre a superfície do convex hull e o número de neurônios jovens em *C. pusilla* e *C. semipalmatus* após a migração de outono. Esperávamos que o voo contínuo de *C. pusilla*, sem paradas, e o voo migratório com paradas para alimentação e repouso de *C. semipalmatus*, pudessem afetar diferencialmente a morfologia e a neurogênese dos astrócitos radiais. Embora nossas descobertas apontem nessa direção, devemos lembrar entretanto que as morfologias gliais e a neurogênese das aves coletadas em agosto na Baía de Fundy e de novembro a março na Ilha de Canelas podem ser diferentes também por outros

motivos. Como as aves passaram pelo menos um mês (setembro a novembro) e talvez até sete meses (agosto a março) no Brasil, devemos considerar outras causas possíveis para as diferenças significativas encontradas na morfologia glial e na neurogênese.

O ambiente através do qual as aves voam muda drasticamente durante o voo migratório e as viagens das aves podem ser enriquecidas espacialmente e podem envolver processos perceptuais envolvidos na navegação celestial, olfativa e geomagnética que não ocorrem fora do período de migração (Biro *et al.*, 2004; Frost e Mouritsen, 2006; Thorup e Holland, 2009; Mouritsen *et al.*, 2016). Assim, sugerimos que a migração pode ser considerada como um tipo de enriquecimento ambiental que pode contribuir para o aumento da complexidade e da superfície do convex-hull dos astrócitos radiais e da neurogênese.

No presente trabalho, demonstramos efeitos diferenciais significativos na morfologia do astrócito radial no V hipocampal de *C. pusilla* e *C. semipalmatus* e na neurogênese após a migração de outono, mas ainda não está claro porque a neurogênese hipocampal e a morfologia dos astrócitos radiais podem diferir entre aves ativamente migratórias e invernantes. No entanto, atividade cognitiva, enriquecimento ambiental, dieta e estresse são conhecidos por afetar os níveis de neurogênese hipocampal. De fato, como indicado anteriormente (De Moraes Magalhaes *et al.*, 2017), uma dieta rica em ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) está associada a uma menor neurogênese no hipocampo do que uma dieta pobre em PUFAs (Hall *et al.*, 2014). Os maçaricos-rasteirinhos e as batuínas-de-bando, durante sua escala na Baía de Fundy, estão expostos a uma dieta extremamente rica em PUFAs (Maillet e Weber, 2007; Weber, J.M., 2009). Como demonstrado anteriormente (Hall *et al.*, 2014), e apontado para *C. pusilla* (De Moraes Magalhaes *et al.*, 2017), durante esta escala a dieta inclui o anfípoda *Corophium volutator* nos quais 45% dos lipídios totais estão na forma de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), que podem, portanto, diminuir a neurogênese do hipocampo durante a escala.

Da mesma forma, o estresse e os níveis elevados de glicocorticóides reduzem a neurogênese do hipocampo (Barnea, A. e Pravosudov, V., 2011; Aimone, J. B. *et*

*al.*, 2014; Cameron, H. A. e Glover, L. R., 2015; Ladage, L. D., 2015). O hormônio glicocorticoide corticosterona é elevado em migrantes de longa distância que está em preparação para a migração, acumulando reservas de gordura, e durante as escalas de reabastecimento (Piersma, T.; *et al.*, 2000; O'reilly, K. M. A. e Wingfield, J. C., 2003; Eikenaar, Klinner e Stowe, 2014). O aumento do processamento espacial também está associado ao aumento do número de novos neurônios no hipocampo (Gould, E. *et al.*, 1999; Ambrogini, P. *et al.*, 2000; Dobrossy *et al.*, 2003; Hairston, I. S. *et al.*, 2005; Ladage, L. D. *et al.*, 2010) e o comportamento das aves durante a migração é consistente com elevadas demandas de aprendizagem e memória espacial (Ladage *et al.*, 2011). Além disso, estudos em ratos e camundongos mostraram que o enriquecimento ambiental está associado com neurogênese elevada e recrutamento neuronal no giro denteado (Kempermann *et al.*, 2010; Bednarczyk *et al.*, 2011; Mustroph *et al.*, 2012; Bechara, R. G. e Kelly, A. M., 2013; Birch *et al.*, 2013; Grégoire *et al.*, 2014).

Está claro na Figura 15 que o número de novos neurônios imunomarcados para DCX após a migração, é maior em *C. semipalmatus* do que em *C. pusilla*. Sugerimos que o exercício extenuante induzindo níveis elevados de glicocorticóides e o ambiente menos visualmente enriquecido durante o voo transatlântico ininterrupto pode ser responsável pelos níveis mais baixos de neurogênese no hipocampo encontrados em maçaricos semipalmados coletados na Ilha de Canelas - Brasil. Em contraste, os indivíduos *C. semipalmatus* que voaram por terra com múltiplas escalas para descanso e alimentação, sofreram a influência de mudanças ambientais frequentes ao longo da jornada e não foram submetidos ao exercício extenuante associado ao voo transatlântico mostraram maior neurogênese do que *C. pusilla* após a migração.

Como o voo longo afetou diferencialmente os astrócitos do Tipo I em comparação com Tipo II em *C. pusilla* e *C. semipalmatus*, sugerimos que essas células possam ter papéis fisiológicos distintos. Pelo menos em achados anteriores de *C. pusilla* (Carvalho-Paulo, D.; *et al.*, 2017) sugerem que uma maior porcentagem de astrócitos Tipo II (72,5%) interagem com os vasos sanguíneos quando comparados aos astrócitos Tipo I (27,5%), tanto nas aves em migração quanto nas aves invernantes. Devido a essa interação sugerir maior contribuição relativa desse tipo de

astrócitos estrelar à unidade neurovascular, os autores supuseram que os astrócitos do Tipo II tem maior contribuição para a manutenção da barreira hemato-encefálica do que os do tipo I.

## **5.2 Semelhanças e diferenças nas influências ambientais migratórias e invernais: limitações metodológicas**

Embora tenhamos enfatizado os voos migratórios contrastantes como o fator mais relevante para as alterações morfológicas observadas na glia radial, é necessário lembrar que a captura das aves na Baía de Fundy ocorreu em agosto e que as aves no período de invernada foram capturado na Ilha de Canelas entre agosto e maio. Assim, para algumas aves capturadas, o voo transatlântico pode ter ocorrido pelo menos 9 meses antes e durante esse tempo vários outros fatores podem ter contribuído para as mudanças morfológicas.

Listamos 7 fatores diferentes que podem regular a neurogênese para cima ou para baixo ao mesmo tempo que podem alterar a morfologia dos astrócitos radiais: 1) Voo transatlântico ininterrupto de longa distância versus voo terrestre com descanso e alimentação; 2) Tempo das janelas de captura (aves coletadas em agosto na Baía de Fundy e Agosto a Maio na Ilha de Canelas) claramente diferentes; 3) Diferenças ambientais ao longo do percurso e nutrientes disponíveis na Baía de Fundy e Ilha de Canelas; 4) Condições fisiológicas pós-reprodutiva no Canadá versus invernada, ou mesmo condição fisiológica pré-reprodutiva no Brasil, 6) Dias muito longos no verão Ártico versus dias de 12 horas no Equador; 7) Estímulos visuais contrastantes nos ambientes na Baía de Fundy e na Ilha de Canelas.

Como as duas espécies tinham dietas semelhantes na Baía de Fundy e em áreas de invernada, compartilhavam condições fisiológicas pré e pós-reprodutivas semelhantes no Canadá e no Brasil, foram expostas ciclos claro-escuro (extensão do período iluminado) tanto no verão Ártico quanto no Equador e compartilharam estímulos visuais semelhantes tanto na Baía de Fundy (Canadá) quanto na Ilha de Canelas (Brasil), não é razoável esperar que esses parâmetros possam causar alterações morfológicas contrastantes nas árvores dos astrócitos radiais e

neurogênese dessas espécies. Assim, as evidências sugerem que, distinções filogenéticas à parte, é uma hipótese razoável associar essas diferenças aos voos migratórios contrastantes: sobre o continente e interrompido para descanso e alimentação em comparação com voo transatlântico ininterrupto de 5 dias.

Assim, a atividade cognitiva, o enriquecimento ambiental, a dieta e as alterações metabólicas impostas pelos voos contrastantes podem afetar diferencialmente a morfofisiologia dos astrócitos. De fato, como as espécies investigadas foram expostas a essas variáveis diferencialmente é razoável sugerir que esses fatores possam ter contribuído significativamente para os efeitos diferenciais. De acordo com essa visão, estudos anteriores em ratos e camundongos demonstram influência significativa das mudanças ambientais na plasticidade morfológica e no número de astrócitos do hipocampo (Soffie *et al.*, 1999; Viola *et al.*, 2009a; Diniz *et al.*, 2010; Rodriguez *et al.*, 2014; Sampedro-Piquero *et al.*, 2014; Yeh *et al.*, 2015; Diniz, D. G., De Oliveira, M. A., De Lima, C. M., Foro, C. A., *et al.*, 2016; Salois e Smith, 2016; Tsai *et al.*, 2016; Verkhatsky *et al.*, 2016).

Além disso, é esperado o uso menos intenso do hipocampo durante a via transatlântica de *C. pusilla* na migração outonal, sugerindo que a migração de outono sobre o Oceano Atlântico dessa espécie pode depender mais de sua capacidade de usar as bússolas geomagnéticas e o compasso estelar e menos do processamento das características espaciais do ambiente. Isso estaria associado a menos estímulos espaciais visuais e menor reconhecimento de marcos de referência com consequente redução das demandas de memória espacial na rota transatlântica em comparação com a rota continental com múltiplas escalas. Assim no processo migratório da espécie *C.pusilla* haveria menor utilização da memória visuo-espacial hipocampo-dependente e em associação a isso, menor neurogênese.

Assim, como discutimos anteriormente (De Moraes Magalhaes *et al.*, 2017), se a migração de longa distância age para regular positivamente a neurogênese, seus efeitos sobre o *C. pusilla* não são vistos durante a migração, mas durante o período de invernada que se segue. Em contraste, em *C. semipalmatus*, onde os níveis de estresse parecem ser menos intensos e o enriquecimento ambiental parece ser mais

alto do que o de *C. pusilla*, a migração de longa distância pode imediatamente suprarregular a neurogênese.

Como discutimos anteriormente (Carvalho-Paulo, D.; *et al.*, 2017), não há informação na literatura sobre a potencial influência do sexo e da idade na morfologia dos astrócitos radiais do hipocampo em aves migratórias de longa distância, e nós não medimos a idade ou detectamos o sexo dos indivíduos em nossa amostra por razões técnicas e operacionais. Assim é difícil discutir essas possíveis influências em detalhes no presente trabalho. Entretanto, é útil lembrar para estudos futuros que alguns relatos anteriores já demonstraram a influência da experiência (idade) e do sexo nas tarefas hipocampo dependentes em aves (Astie *et al.*, 2015; Rensel *et al.*, 2015; Guigueno *et al.*, 2016; Bingman e Macdougall-Shackleton, 2017), e que o comportamento migratório é acompanhado por alterações morfológicas do hipocampo, incluindo volume e neurogênese (Barkan *et al.*, 2016; Barkan *et al.*, 2017; De Moraes Magalhaes *et al.*, 2017).

## 6. CONCLUSÃO

Apesar de que as espécies *C. pusilla* e *C. semipalmatus* diferem filogeneticamente e de outras maneiras, é razoável propor que o comportamento migratório contrastante entre as espécies gera alterações diferenciais na morfologia dos astrócitos radiais no hipocampo, além de um aumento no número de neurônios jovens.

Como múltiplos fatores ambientais estão associados à migração e à neurogênese, seria importante no futuro, comparar mais grupos de aves em diferentes estágios de seu período de invernada. Essa abordagem documentando a neurogênese e as mudanças morfológicas da glia radial, entre o tempo de partida do hemisfério norte e as diferentes janelas temporais do período de invernada no hemisfério sul, pode contribuir para o esclarecimento dos efeitos desses fatores sobre a astrogênese e a neurogênese em muitas espécies. As diferenças claras que observamos entre aves migratórias e invernantes, indicam que as aves marinhas migratórias de longa distância podem fornecer uma oportunidade única para investigar muitas questões relacionadas à fisiologia da migração.

## REFERÊNCIAS

- AIMONE, J. B. et al. Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition. **Physiol Rev**, v. 94, n. 4, p. 991-1026, Oct 2014. ISSN 1522-1210 (Electronic) 0031-9333 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25287858> >.
- ALTMAN, J. Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. **J Comp Neurol**, v. 137, n. 4, p. 433-57, Dec 1969. ISSN 0021-9967 (Print) 0021-9967 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5361244> >.
- ALTMAN, J. A.; DAS, G. D. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. **J Comp Neurol**, v. 124, n. 3, p. 319-35, Jun 1965. ISSN 0021-9967 (Print) 0021-9967 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5861717> >.
- ALVAREZ-BUYLLA, A.; BUSKIRK, D. R.; NOTTEBOHM, F. Monoclonal antibody reveals radial glia in adult avian brain. **J Comp Neurol**, v. 264, n. 2, p. 159-70, Oct 1987. ISSN 0021-9967. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2445794> >.
- ALVAREZ-BUYLLA, A.; GARCIA-VERDUGO, J. M.; TRAMONTIN, A. D. A unified hypothesis on the lineage of neural stem cells. **Nat Rev Neurosci**, v. 2, n. 4, p. 287-93, Apr 2001. ISSN 1471-003X (Print) 1471-003X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11283751> >.
- ALVAREZ-BUYLLA, A.; NOTTEBOHM, F. Migration of young neurons in adult avian brain. **Nature**, v. 335, n. 6188, p. 353, 1988. ISSN 1476-4687.
- ALVAREZ-BUYLLA, A.; SERI, B.; DOETSCH, F. Identification of neural stem cells in the adult vertebrate brain. **Brain research bulletin**, v. 57, n. 6, p. 751-758, 2002. ISSN 0361-9230.
- AMBROGINI, P. et al. Spatial learning affects immature granule cell survival in adult rat dentate gyrus. **Neurosci Lett**, v. 286, n. 1, p. 21-4, May 26 2000. ISSN 0304-3940 (Print) 0304-3940 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10822143> >.
- ANDRES, B. A. et al. Population estimates of North American shorebirds. **Wader Study Group Bulletin**, v. 119, n. 3, p. 178-194, 2012.
- ASHKENAZIE, S. A.; SAFRIEL, U. N. Time-Energy Budget of the Semipalmated Sandpiper *Calidris Pusilla* at Barrow, Alaska. **Ecology** v. 60, n. 4, p. 793-799, 1979.
- ASTIE, A. A. et al. Sex differences in retention after a visual or a spatial discrimination learning task in brood parasitic shiny cowbirds. **Behav Processes**, v. 119, p. 99-104, Oct 2015. ISSN 1872-8308 (Electronic) 0376-6357 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26248015> >.
- ATOJI, Y.; SARKAR, S.; WILD, J. M. Proposed homology of the dorsomedial subdivision and V-shaped layer of the avian hippocampus to Ammon's horn and dentate gyrus, respectively. **Hippocampus**, v. 26, n. 12, p. 1608-1617, Dec 2016. ISSN 1098-1063 (Electronic)

1050-9631 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27657725> >.

ATOJI, Y.; WILD, J. M. Anatomy of the avian hippocampal formation. **Rev Neurosci**, v. 17, n. 1-2, p. 3-15, 2006. ISSN 0334-1763 (Print)

0334-1763 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16703939> >.

ATOJI, Y. et al. Intratelencephalic connections of the hippocampus in pigeons (*Columba livia*). **J Comp Neurol**, v. 447, n. 2, p. 177-99, May 27 2002. ISSN 0021-9967 (Print)

0021-9967 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11977120> >.

AUGUSTO-OLIVEIRA, M. et al. Adult Hippocampal Neurogenesis in Different Taxonomic Groups: Possible Functional Similarities and Striking Controversies. **Cells**, v. 8, n. 2, Feb 5 2019. ISSN 2073-4409 (Print)

2073-4409 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30764477> >.

AZEVEDO-JÚNIOR, S.; LARRAZÁBAL, M. Censo de aves limícolas na Coroa do Avião, Pernambuco, Brasil, informações de 1991 a 1992. **Revista Nordestina de Zoologia**, v. 1, n. 1, p. 263-277, 1994.

AZEVEDO-JÚNIOR, S. M. et al. Capacidade de vôo de quatro espécies de Charadriiformes (Aves) capturadas em Pernambuco, Brasil **Revta bras. Zool**, v. 19, p. 183-189, 2002.

AZEVEDO-JÚNIOR, S. M.; DIAS FILHO, M. M. A.; LARRAZÁBAL, M. E. Plumagens e mudas de Charadriiformes (Aves) no litoral de Pernambuco, Brasil. **Revta bras. Zool**, v. 18, n. 3, p. 657-672, 2001.

BARBIERI, E.; MENDONÇA, T. J.; XAVIER, S. C. Importância da Ilha Comprida (Litoral sul do Estado de São Paulo) para a migração do maçarico-branco (*Calidris alba*). . **Anais do Simpósio Brasileiro sobre Praias Arenosas** p. 258-259, 2000.

BARKAN, S. et al. Possible linkage between neuronal recruitment and flight distance in migratory birds. **Sci Rep**, v. 6, p. 21983, Feb 24 2016. ISSN 2045-2322 (Electronic)

2045-2322 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26905978> >.

BARKAN, S.; YOM-TOV, Y.; BARNEA, A. Exploring the Relationship between Brain Plasticity, Migratory Lifestyle, and Social Structure in Birds. **Front Neurosci**, v. 11, p. 139, 2017. ISSN 1662-4548 (Print)

1662-453X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28396621> >.

BARNEA, A.; PRAVOSUDOV, V. Birds as a model to study adult neurogenesis: bridging evolutionary, comparative and neuroethological approaches. **European Journal of Neuroscience**, v. 34, n. 6, p. 884-907, 2011. ISSN 1460-9568.

BECHARA, R. G.; KELLY, A. M. Exercise improves object recognition memory and induces BDNF expression and cell proliferation in cognitively enriched rats. **Behav Brain Res**, v. 245, p. 96-100, May 15 2013. ISSN 1872-7549 (Electronic)

0166-4328 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23439217> >.

BEDNARCZYK, M. R. et al. Distinct stages of adult hippocampal neurogenesis are regulated by running and the running environment. **Hippocampus**, v. 21, n. 12, p. 1334-47, Dec 2011. ISSN 1098-1063 (Electronic)

1050-9631 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20623741> >.

BELGARD, T. G. et al. Adult pallium transcriptomes surprise in not reflecting predicted homologies across diverse chicken and mouse pallial sectors. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 110, n. 32, p. 13150-13155, 2013.

BELTON, W. Birds of Rio Grande do Sul, Brasil. Part I. Rheidae through Furnariidae. **Bull. Amer. Mus. Nat. Hist**, v. 178, p. 389-636, 1984.

BERG, D. A. et al. Radial glial cells in the adult dentate gyrus: what are they and where do they come from? **F1000Res**, v. 7, p. 277, 2018. ISSN 2046-1402 (Print)  
2046-1402 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29568500> >.

BINGMAN, V. P.; MACDOUGALL-SHACKLETON, S. A. The avian hippocampus and the hypothetical maps used by navigating migratory birds (with some reflection on compasses and migratory restlessness). **J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol**, v. 203, n. 6-7, p. 465-474, Jul 2017. ISSN 1432-1351 (Electronic)  
0340-7594 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28299428> >.

BIRCH, A. M.; MCGARRY, N. B.; KELLY, A. M. Short-term environmental enrichment, in the absence of exercise, improves memory, and increases NGF concentration, early neuronal survival, and synaptogenesis in the dentate gyrus in a time-dependent manner. **Hippocampus**, v. 23, n. 6, p. 437-50, Jun 2013. ISSN 1098-1063 (Electronic)  
1050-9631 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23460346> >.

BIRO, D.; MEADE, J.; GUILFORD, T. Familiar route loyalty implies visual pilotage in the homing pigeon. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 101, n. 50, p. 17440-3, Dec 14 2004. ISSN 0027-8424 (Print)  
0027-8424 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15572457> >.

BONAGUIDI, M. A. et al. Diversity of Neural Precursors in the Adult Mammalian Brain. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, v. 8, n. 4, p. a018838, Apr 1 2016. ISSN 1943-0264 (Electronic)  
1943-0264 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26988967> >.

BROWN, S. The Remarkable Odyssey of a Semipalmated Sandpiper. 2014. Disponível em: < <http://shorebirdscience.org/coats-2014-06/>  
<http://shorebirdscience.org/2014> >.

CAMERON, H. A.; GLOVER, L. R. Adult neurogenesis: beyond learning and memory. **Annu Rev Psychol**, v. 66, p. 53-81, Jan 3 2015. ISSN 1545-2085 (Electronic)  
0066-4308 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25251485> >.

CAMPOS, C. E. C.; NAIFF, R. H.; ARAUJO, A. S. Censo de aves migratórias (Charadriidae e Scolopacidae) da Porção Norte da Bacia Amazônica, Macapá, Amapá, Brasil. **Ornitologia**, v. 3, p. 38-46, 2008.

CAMPOS, E.; RH, N.; AS, D. A. Censo de aves migratórias (Charadriidae e Scolopacidae) da Porção Norte da Bacia Amazônica, Macapá, Amapá, Brasil. **Ornithologia**, v. 3, n. 1, p. 38-46, 2010.

CARLO, C. N.; STEVENS, C. F. Analysis of differential shrinkage in frozen brain sections and its implications for the use of guard zones in stereology. **J Comp Neurol**, v. 519, n. 14, p. 2803-10, Oct 1 2011. ISSN 1096-9861 (Electronic)

0021-9967 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21491430> >.

CARTAR, R. V. A Morphometric Comparison of Western and Semipalmated Sandpipers **Wilson Ornithological Society**, v. 96, n. 2, p. 277-286, 1984.

CARVALHO-PAULO, D. et al. Hippocampal astrocytes in migrating and wintering semipalmated sandpiper *Calidris pusilla*. **Frontiers in Neuroanatomy**, v. 11, 2017.

CERTARI, C. Registro de comportamento para camuflagem disruptiva de *Charadrius semipalmatus* (Charadriidae) em uma paisagem alterada artificialmente na região costeira do Sudeste do Brasil. **Atualidades Ornitológicas On-line**, n. 142, 2008. Disponível em: < [www.ao.com.br](http://www.ao.com.br) >.

COUILLARD-DESPRES, S. et al. Doublecortin expression levels in adult brain reflect neurogenesis. **European Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 1, p. 1-14, 2005. ISSN 1460-9568.

CRAMP, S. K. S. Handbook of the birds of Europe, the Middle East, and North Africa. **Waders to Gulls. Oxford, Oxford Univ. Press**, v. 3, p. 230, 1983.

DE AZEVEDO, L. C. et al. Cortical radial glial cells in human fetuses: depth-correlated transformation into astrocytes. **Developmental Neurobiology**, v. 55, n. 3, p. 288-298, 2003. ISSN 1097-4695.

DE MORAIS MAGALHAES, N. G. et al. Hippocampal neurogenesis and volume in migrating and wintering semipalmated sandpipers (*Calidris pusilla*). **PLoS One**, v. 12, n. 6, p. e0179134, 2017. ISSN 1932-6203 (Electronic)  
1932-6203 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28591201> >.

DIMOU, L.; GOTZ, M. Glial cells as progenitors and stem cells: new roles in the healthy and diseased brain. **Physiol Rev**, v. 94, n. 3, p. 709-37, Jul 2014. ISSN 1522-1210 (Electronic)  
0031-9333 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24987003> >.

DINIZ, D. G. et al. Age, environment, object recognition and morphological diversity of GFAP-immunolabeled astrocytes. **Behav Brain Funct**, v. 12, n. 1, p. 28, Oct 10 2016. ISSN 1744-9081 (Electronic)  
1744-9081 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27719674> >.

DINIZ, D. G. et al. Environmental impoverishment and aging alter object recognition, spatial learning, and dentate gyrus astrocytes. **Eur J Neurosci**, v. 32, n. 3, p. 509-19, Aug 2010. ISSN 1460-9568 (Electronic)  
0953-816X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20704596> >.

DOBROSSY, M. D. et al. Differential effects of learning on neurogenesis: learning increases or decreases the number of newly born cells depending on their birth date. **Mol Psychiatry**, v. 8, n. 12, p. 974-82, Nov 2003. ISSN 1359-4184 (Print)  
1359-4184 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14647395> >.

DOETSCH, F.; HEN, R. Young and excitable: the function of new neurons in the adult mammalian brain. **Curr Opin Neurobiol**, v. 15, n. 1, p. 121-8, Feb 2005. ISSN 0959-4388 (Print)  
0959-4388 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15721754> >.

- EIKENAAR, C.; KLINNER, T.; STOWE, M. Corticosterone predicts nocturnal restlessness in a long-distance migrant. **Horm Behav**, v. 66, n. 2, p. 324-9, Jul 2014. ISSN 1095-6867 (Electronic) 0018-506X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24956025> >.
- FALK, S.; GOTZ, M. Glial control of neurogenesis. **Curr Opin Neurobiol**, v. 47, p. 188-195, Dec 2017. ISSN 1873-6882 (Electronic) 0959-4388 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29145015> >.
- FRANKLAND, P. W.; KOHLER, S.; JOSSELYN, S. A. Hippocampal neurogenesis and forgetting. **Trends Neurosci**, v. 36, n. 9, p. 497-503, Sep 2013. ISSN 1878-108X (Electronic) 0166-2236 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23768770> >.
- FROST, B. J.; MOURITSEN, H. The neural mechanisms of long distance animal navigation. **Curr Opin Neurobiol**, v. 16, n. 4, p. 481-8, Aug 2006. ISSN 0959-4388 (Print) 0959-4388 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16839758> >.
- FUSANI, L. et al. Cryptochrome expression in the eye of migratory birds depends on their migratory status. **J Exp Biol**, v. 217, n. Pt 6, p. 918-23, Mar 15 2014. ISSN 1477-9145 (Electronic) 0022-0949 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24622895> >.
- GALEA, L. A. et al. Sex, hormones and neurogenesis in the hippocampus: hormonal modulation of neurogenesis and potential functional implications. **J Neuroendocrinol**, v. 25, n. 11, p. 1039-61, Nov 2013. ISSN 1365-2826 (Electronic) 0953-8194 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23822747> >.
- GEBARA, E. et al. Heterogeneity of Radial Glia-Like Cells in the Adult Hippocampus. **Stem Cells**, v. 34, n. 4, p. 997-1010, Apr 2016. ISSN 1549-4918 (Electronic) 1066-5099 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26729510> >.
- GILS, J. A.; WIERSMA, P. Family Scolopacidae, species account., v. 3, p. 821, 1996.
- GLASER, E. M.; WILSON, P. D. The coefficient of error of optical fractionator population size estimates: a computer simulation comparing three estimators. **J Microsc**, v. 192, n. Pt 2, p. 163-71, Nov 1998. ISSN 0022-2720 (Print) 0022-2720 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9853373> >.
- GÖTZ, M.; STOYKOVA, A.; GRUSS, P. Pax6 controls radial glia differentiation in the cerebral cortex. **Neuron**, v. 21, n. 5, p. 1031-1044, 1998. ISSN 0896-6273.
- GOULD, E. et al. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. **Nat Neurosci**, v. 2, n. 3, p. 260-5, Mar 1999. ISSN 1097-6256 (Print) 1097-6256 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10195219> >.
- GRATTO-TREVOR, C. L. Parental care in Semipalmated Sandpipers *Calidris pusilla*: brood desertion by females. **IBIS**, v. 133, n. 4, p. 394-399, 1991.
- GRATTO-TREVOR, C. L. et al. Migratory Connectivity of Semipalmated Sandpipers: Winter Distribution and Migration Routes of Breeding Populations. **Waterbirds**, v. 35, n. 1, p. 83-95, 2012.

GRÉGOIRE, C. A. et al. Untangling the influences of voluntary running, environmental complexity, social housing and stress on adult hippocampal neurogenesis. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e86237, 2014.

GUERREIRO-DINIZ, C. ENSAIOS ESTEREOLÓGICOS E MORFOLOGIA TRIDIMENSIONAL NA FORMAÇÃO HIPOCAMPAL DE AVES MIGRATÓRIAS MARINHAS: Análise quantitativa da imunomarcção seletiva de neurônios e micróglia em *Calidris pusilla* e *Actitis macularia*. 2013.

GUIGUENO, M. F.; MACDOUGALL-SHACKLETON, S. A.; SHERRY, D. F. Sex and seasonal differences in hippocampal volume and neurogenesis in brood-parasitic brown-headed cowbirds (*Molothrus ater*). **Dev Neurobiol**, v. 76, n. 11, p. 1275-1290, Nov 2016. ISSN 1932-846X (Electronic) 1932-8451 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27455512> >.

GUNDERSEN, H.; JENSEN, E. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. **J Microsc**, v. 147, p. 229–263, 1987.

GUNDERSEN, H. J. A.; JENSEN, E. B. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. **J Microsc**, v. 147, n. Pt 3, p. 229-63, Sep 1987. ISSN 0022-2720 (Print) 0022-2720 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3430576> >.

GUPTA, S. et al. Defining structural homology between the mammalian and avian hippocampus through conserved gene expression patterns observed in the chick embryo. **Dev Biol**, v. 366, n. 2, p. 125-41, Jun 15 2012. ISSN 1095-564X (Electronic) 0012-1606 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22537492> >.

HAIRSTON, I. S. et al. Sleep restriction suppresses neurogenesis induced by hippocampus-dependent learning. **J Neurophysiol**, v. 94, n. 6, p. 4224-33, Dec 2005. ISSN 0022-3077 (Print) 0022-3077 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16014798> >.

HALL, Z. J. et al. Site-specific regulation of adult neurogenesis by dietary fatty acid content, vitamin E and flight exercise in European starlings. **Eur J Neurosci**, v. 39, n. 6, p. 875-82, Mar 2014. ISSN 1460-9568 (Electronic) 0953-816X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24372878> >.

HAYMAN, P.; MARCHANT, J. H. A.; PRATER, A. J. **Shorebirds: An identification Guide to the Waders of the World**  
Shorebirds  
Houghton Mifflin Harcourt 1986.

HICKLIN, P.; GRATTO-TREVOR, C. L. Semipalmated Sandpiper (*Calidris pusilla*). In *The Birds of North America* ( P. G. Rodewald, Editor). **Cornell Lab of Ornithology**, 2010.

HICKLIN, P. W. The migration of shorebirds in the Bay of Fundy. **Wilson Bull**, v. 99, n. 540-570, 1987.

HICKLIN, P. W. A.; SMITH, P. C. Selection of foraging sites and invertebrate prey by migrant Semipalmated Sandpipers, *Calidris pusilla* (Pallas), in Minas Basin, Bay of Fundy. **Canadian Journal of Zoology**, v. 62, n. 11, p. 2201-2210, 1984.

HUTCHINS, B. I.; KLENKE, U.; WRAY, S. Calcium release-dependent actin flow in the leading process mediates axophilic migration. **J Neurosci**, v. 33, n. 28, p. 11361-71, Jul 10 2013. ISSN 1529-2401 (Electronic) 0270-6474 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23843509> >.

KASLIN, J.; GANZ, J.; BRAND, M. Proliferation, neurogenesis and regeneration in the non-mammalian vertebrate brain. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 363, n. 1489, p. 101-122, 2008. ISSN 0962-8436.

KEMPERMANN, G. New neurons for 'survival of the fittest'. **Nat Rev Neurosci**, v. 13, n. 10, p. 727-36, Oct 2012. ISSN 1471-0048 (Electronic) 1471-003X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22948073> >.

KEMPERMANN, G. et al. Why and how physical activity promotes experience-induced brain plasticity. **Front Neurosci**, v. 4, p. 189, 2010. ISSN 1662-453X (Electronic) 1662-453X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21151782> >.

LADAGE, L. D. Environmental Change, the Stress Response, and Neurogenesis. **Integr Comp Biol**, v. 55, n. 3, p. 372-83, Sep 2015. ISSN 1557-7023 (Electronic) 1540-7063 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25980567> >.

LADAGE, L. D. et al. Effects of captivity and memory-based experiences on the hippocampus in mountain chickadees. **Behavioral neuroscience**, v. 123, n. 2, p. 284, 2009. ISSN 1939-0084.

LADAGE, L. D. et al. Ecologically relevant spatial memory use modulates hippocampal neurogenesis. **Proc Biol Sci**, v. 277, n. 1684, p. 1071-9, Apr 7 2010. ISSN 1471-2954 (Electronic) 0962-8452 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19939840> >.

LADAGE, L. D.; ROTH, T. C.; PRAVOSUDOV, V. V. Hippocampal neurogenesis is associated with migratory behaviour in adult but not juvenile sparrows (*Zonotrichia leucophrys* ssp.). **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 278, n. 1702, p. 138-143, 2011. ISSN 0962-8452.

LAU, J. C.; RODGERS, C. T.; HORE, P. J. Compass magnetoreception in birds arising from photo-induced radical pairs in rotationally disordered cryptochromes. **J R Soc Interface**, v. 9, n. 77, p. 3329-37, Dec 7 2012. ISSN 1742-5662 (Electronic) 1742-5662 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22977104> >.

LEVER, M.; BRAND-SABERI, B.; THEISS, C. Neurogenesis, gliogenesis and the developing chicken optic tectum: an immunohistochemical and ultrastructural analysis. **Brain Struct Funct**, v. 219, n. 3, p. 1009-24, May 2014. ISSN 1863-2661 (Electronic) 1863-2653 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23568458> >.

LEVITT, P.; COOPER, M. L.; RAKIC, P. Coexistence of neuronal and glial precursor cells in the cerebral ventricular zone of the fetal monkey: an ultrastructural immunoperoxidase analysis. **Journal of Neuroscience**, v. 1, n. 1, p. 27-39, 1981. ISSN 0270-6474.

LEVITT, P. A.; RAKIC, P. Immunoperoxidase localization of glial fibrillary acidic protein in radial glial cells and astrocytes of the developing rhesus monkey brain. **Journal of Comparative Neurology**, v. 193, n. 3, p. 815-840, 1980. ISSN 1096-9861.

- LOIS, C.; ALVAREZ-BUYLLA, A. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. **Science**, v. 264, n. 5162, p. 1145-8, May 20 1994. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8178174> >.
- LOUCHART, A. Emergence of long distance bird migrations: a new model integrating global climate changes. **Naturwissenschaften**, v. 95, n. 12, p. 1109-19, Dec 2008. ISSN 0028-1042 (Print) 0028-1042 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18712337> >.
- MAILLET, D.; WEBER, J. M. Relationship between n-3 PUFA content and energy metabolism in the flight muscles of a migrating shorebird: evidence for natural doping. **J Exp Biol**, v. 210, n. Pt 3, p. 413-20, Feb 2007. ISSN 0022-0949 (Print) 0022-0949 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17234610> >.
- MANNS, J. R.; EICHENBAUM, H. Evolution of declarative memory. **Hippocampus**, v. 16, n. 9, p. 795-808, 2006. ISSN 1050-9631 (Print) 1050-9631 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16881079> >.
- MARIN, O.; RUBENSTEIN, J. L. Cell migration in the forebrain. **Annu Rev Neurosci**, v. 26, p. 441-83, 2003. ISSN 0147-006X (Print) 0147-006X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12626695> >.
- MATSUE, K. et al. Correction to: Dentate granule progenitor cell properties are rapidly altered soon after birth. **Brain Struct Funct**, v. 223, n. 2, p. 1049, Mar 2018. ISSN 1863-2661 (Electronic) 1863-2653 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29372323> >.
- MCKINNON, L. et al. Lower predation risk for migratory birds at high latitudes. **Science**, v. 327, n. 5963, p. 326-7, Jan 15 2010. ISSN 1095-9203 (Electronic) 0036-8075 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20075251> >.
- MORRENS, J.; VAN DEN BROECK, W.; KEMPERMANN, G. Glial cells in adult neurogenesis. **Glia**, v. 60, n. 2, p. 159-74, Feb 2012. ISSN 1098-1136 (Electronic) 0894-1491 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22076934> >.
- MORRISON, R. I. G. Migration Systems of Some New World Shorebirds. . **Behavior of Marine Animals: Current Perspectives in Research**, v. 6, p. 125-202, 1984.
- MOSCOVITCH, M. et al. Episodic Memory and Beyond: The Hippocampus and Neocortex in Transformation. **Annu Rev Psychol**, v. 67, p. 105-34, 2016. ISSN 1545-2085 (Electronic) 0066-4308 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26726963> >.
- MOSS, J. et al. Fine processes of Nestin-GFP–positive radial glia-like stem cells in the adult dentate gyrus ensheath local synapses and vasculature. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 18, p. E2536-E2545, 2016. ISSN 0027-8424.
- MOURITSEN, H.; HEYERS, D. A.; GUNTURKUN, O. The Neural Basis of Long-Distance Navigation in Birds. **Annu Rev Physiol**, v. 78, p. 133-54, 2016. ISSN 1545-1585 (Electronic) 0066-4278 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26527184> >.

MUSTROPH, M. L. et al. Aerobic exercise is the critical variable in an enriched environment that increases hippocampal neurogenesis and water maze learning in male C57BL/6J mice. **Neuroscience**, v. 219, p. 62-71, Sep 6 2012. ISSN 1873-7544 (Electronic) 0306-4522 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22698691> >.

NOL, E. A.; BLANKEN, M. S. Semipalmated Plover (*Charadrius semipalmatus*). **American Ornithological Society**, 2014.

NOTTEBOHM, F. Why are some neurons replaced in adult brain? **J Neurosci**, v. 22, n. 3, p. 624-8, Feb 1 2002. ISSN 1529-2401 (Electronic) 0270-6474 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11826090> >.

O'REILLY, K. M. A.; WINGFIELD, J. C. Seasonal, age, and sex differences in weight, fat reserves, and plasma corticosterone in Western sandpipers. **Condor**, v. 105, p. 13-26, 2003.

OOMEN, C. A. et al. Adult hippocampal neurogenesis and its role in cognition. **Wiley Interdiscip Rev Cogn Sci**, v. 5, n. 5, p. 573-587, Sep 2014. ISSN 1939-5086 (Electronic) 1939-5078 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26308746> >.

OPPENHEIM, R. W. Adult Hippocampal Neurogenesis in Mammals (and Humans): The Death of a Central Dogma in Neuroscience and its Replacement by a New Dogma. **Dev Neurobiol**, v. 79, n. 3, p. 268-280, Mar 2019. ISSN 1932-846X (Electronic) 1932-8451 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30916471> >.

PARNAVELAS, J. G.; NADARAJAH, B. Radial glial cells. are they really glia? **Neuron**, v. 31, n. 6, p. 881-4, Sep 27 2001. ISSN 0896-6273 (Print) 0896-6273 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11580889> >.

PIERSMA, T.; RENEERKENS, J. A.; RAMENOFSKY, M. Baseline corticosterone peaks in shorebirds with maximal energy stores for migration: a general preparatory mechanism for rapid behavioral and metabolic transitions? **General and comparative endocrinology**, v. 120, n. 1, p. 118-126, 2000.

PIERSMA, T. et al. Fuel storage rates before northward flights in Red Knots worldwide. **Birds of Two Worlds: the ecology and evolution of migration**, p. 262-273, 2005.

PINTO, L.; GÖTZ, M. Radial glial cell heterogeneity--the source of diverse progeny in the CNS. **Prog Neurobiol**, v. 83, n. 1, p. 2-23, Sep 2007. ISSN 0301-0082. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17580100> >.

PINTO, L. A.; GÖTZ, M. Radial Glial cell heterogeneity—the source of diverse progeny in the CNS. **Progress in neurobiology**, v. 83, n. 1, p. 2-23, 2007. ISSN 0301-0082.

PUELLES, L. Thoughts on the development, structure and evolution of the mammalian and avian telencephalic pallium. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 356, n. 1414, p. 1583-98, Oct 29 2001. ISSN 0962-8436 (Print) 0962-8436 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11604125> >.

RAKIC, P. Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. **J Comp Neurol**, v. 145, n. 1, p. 61-83, May 1972. ISSN 0021-9967 (Print)

0021-9967 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4624784> >.

\_\_\_\_\_. Elusive radial glial cells: historical and evolutionary perspective. **Glia**, v. 43, n. 1, p. 19-32, 2003. ISSN 1098-1136.

RENSEL, M. A. et al. Sex, estradiol, and spatial memory in a food-caching corvid. **Horm Behav**, v. 75, p. 45-54, Sep 2015. ISSN 1095-6867 (Electronic) 0018-506X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26232613> >.

RENZEL, R. et al. Polarized distribution of AMPA, but not GABAA , receptors in radial glia-like cells of the adult dentate gyrus. **Glia**, v. 61, n. 7, p. 1146-54, Jul 2013. ISSN 1098-1136 (Electronic) 0894-1491 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23633386> >.

RODRIGUEZ, J. J. et al. Complex and region-specific changes in astroglial markers in the aging brain. **Neurobiol Aging**, v. 35, n. 1, p. 15-23, Jan 2014. ISSN 1558-1497 (Electronic) 0197-4580 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23969179> >.

SALOIS, G.; SMITH, J. S. Housing Complexity Alters GFAP-Immunoreactive Astrocyte Morphology in the Rat Dentate Gyrus. **Neural Plast**, v. 2016, p. 3928726, 2016. ISSN 1687-5443 (Electronic) 1687-5443 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26989515> >.

SAMPEDRO-PIQUERO, P. et al. Astrocytic plasticity as a possible mediator of the cognitive improvements after environmental enrichment in aged rats. **Neurobiol Learn Mem**, v. 114, p. 16-25, Oct 2014. ISSN 1095-9564 (Electronic) 1074-7427 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24727294> >.

SAPER, C. B.; SAWCHENKO, P. E. Magic peptides, magic antibodies: guidelines for appropriate controls for immunohistochemistry. **J Comp Neurol**, v. 465, n. 2, p. 161-3, Oct 13 2003. ISSN 0021-9967 (Print) 0021-9967 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12949777> >.

SCHWEITZER, L.; RENEHAN, W. E. The use of cluster analysis for cell typing. **Brain Res Brain Res Protoc**, v. 1, n. 1, p. 100-8, Feb 1997. ISSN 1385-299X (Print) 1385-299X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9385054> >.

SCOTT, B. B. et al. Wandering neuronal migration in the postnatal vertebrate forebrain. **J Neurosci**, v. 32, n. 4, p. 1436-46, Jan 25 2012. ISSN 1529-2401 (Electronic) 0270-6474 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22279228> >.

SEGARRA, M.; KIRCHMAIER, B. C.; ACKER-PALMER, A. A vascular perspective on neuronal migration. **Mech Dev**, v. 138 Pt 1, p. 17-25, Nov 2015. ISSN 1872-6356 (Electronic) 0925-4773 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26192337> >.

SHERRY, D. F.; VACCARINO, A. L. Hippocampus and memory for food caches in black-capped chickadees. **Behavioral Neuroscience**, v. 103, p. 308-18, 1989.

SHU, S. Y.; JU, G.; FAN, L. Z. The glucose oxidase-DAB-nickel method in peroxidase histochemistry of the nervous system. **Neurosci Lett**, v. 85, n. 2, p. 169-71, Feb 29 1988. ISSN 0304-3940 (Print) 0304-3940 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3374833> >.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997a.

\_\_\_\_\_. **Ornitologia brasileira**. Editora Nova Fronteira, p. 868, 1997b.

SLOMIANKA, L.; WEST, M. J. Estimators of the precision of stereological estimates: an example based on the CA1 pyramidal cell layer of rats. **Neuroscience**, v. 136, n. 3, p. 757-67, 2005. ISSN 0306-4522 (Print)

0306-4522 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16344149> >.

SMITH, A. C.; NOL, E. Winter foraging behavior and prey selection of the Semipalmated Plover on coastal Venezuela. **Wilson Bull**, v. 112, n. 4, p. 467-72, 2000.

SOFFIE, M. et al. Behavioural and glial changes in old rats following environmental enrichment. **Behav Brain Res**, v. 101, n. 1, p. 37-49, May 1999. ISSN 0166-4328 (Print)

0166-4328 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10342398> >.

SOL, D.; LEFEBVRE, L. A.; RODRIGUEZ-TEIJEIRO, J. D. Brain size, innovative propensity and migratory behaviour in temperate Palaearctic birds. **Proc Biol Sci**, v. 272, n. 1571, p. 1433-1441, 2005.

SUN, G. J. et al. Tangential migration of neuronal precursors of glutamatergic neurons in the adult mammalian brain. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 112, n. 30, p. 9484-9, Jul 28 2015. ISSN 1091-6490 (Electronic)

0027-8424 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26170290> >.

TELIO-JÚNIOR, W. R.; AZEVEDO-JÚNIOR, S. M. D.; LYRA-NEVES, R. M. D. Census of shorebirds and Seabirds (Charadriidae, Scolopacidae and Laridae) in the Coroa do Avião, Igarassu, Pernambuco State, Brazil. . **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 3, p. 451-456, 2003. ISSN 0101-8175.

THORUP, K.; HOLLAND, R. A. The bird GPS - long-range navigation in migrants. **J Exp Biol**, v. 212, n. Pt 22, p. 3597-604, Nov 2009. ISSN 1477-9145 (Electronic)

0022-0949 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19880719> >.

TSAI, S. F. et al. Exercise Counteracts Aging-Related Memory Impairment: A Potential Role for the Astrocytic Metabolic Shuttle. **Front Aging Neurosci**, v. 8, p. 57, 2016. ISSN 1663-4365 (Print)

1663-4365 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27047373> >.

VALENTE, R. M. et al. **Conservação de Aves Migratórias Neárticas no Brasil**. 2011. ISBN 978-85-98830-15-5.

VAN PRAAG, H. et al. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. **Nature**, v. 415, n. 6875, p. 1030-4, Feb 28 2002. ISSN 0028-0836 (Print)

0028-0836 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11875571> >.

VERKHRATSKY, A. et al. Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion. **EMBO J**, v. 35, n. 3, p. 239-57, Feb 1 2016. ISSN 1460-2075 (Electronic)

0261-4189 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26758544> >.

VERKHRATSKY, A.; NEDERGAARD, M. Physiology of Astroglia. **Physiol Rev**, v. 98, n. 1, p. 239-389, Jan 1 2018. ISSN 1522-1210 (Electronic)

0031-9333 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29351512> >.

VIOLA, G. G. et al. Morphological changes in hippocampal astrocytes induced by environmental enrichment in mice. **Brain Res**, v. 1274, p. 47-54, Jun 5 2009. ISSN 1872-6240 (Electronic) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19374889> >.

WARD, J. H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. **J. Am. Stat. Assoc.**, v. 58, p. 236-244, 1963.

WEBER, J. M. The physiology of long-distance migration: extending the limits of endurance metabolism. **Journal of Experimental Biology**, v. 212, n. 5, p. 593-597, 2009.

WEST, M. J. Design-based stereological methods for counting neurons. **Prog Brain Res**, v. 135, p. 43-51, 2002. ISSN 0079-6123 (Print) 0079-6123 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12143362> >.

WEST, M. J.; SLOMIANKA, L.; GUNDERSEN, H. J. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. **Anat Rec**, v. 231, n. 4, p. 482-97, Dec 1991. ISSN 0003-276X (Print) 0003-276X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1793176> >.

WILTSCHKO, R. et al. Interactions between the visual and the magnetoreception system: different effects of bichromatic light regimes on the directional behavior of migratory birds. **J Physiol Paris**, v. 107, n. 1-2, p. 137-46, Jan-Apr 2013. ISSN 1769-7115 (Electronic) 0928-4257 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22504660> >.

YEH, C. W. et al. Impaired cognition and cerebral glucose regulation are associated with astrocyte activation in the parenchyma of metabolically stressed APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> mice. **Neurobiol Aging**, v. 36, n. 11, p. 2984-2994, Nov 2015. ISSN 1558-1497 (Electronic) 0197-4580 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26264859> >.

## ANEXO I – Tabelas Suplementares

**Tabela 1:** Parâmetros estereológicos para neurônios DCX+ nos hemisférios direito e esquerdo da formação hipocampal de *Calidris pusilla*.  $\Sigma Q$ -= Número total de objetos de interesses contados usando o dissecor óptico, **SSF**= Section Sampling Fraction, **ASF**= Area Sampling Fraction, **TSF**= Thickness Sampling Fraction, **a (frame)**= tamanho da caixa de contagem, **A (x, y step)** = tamanho da grade ( $\mu\text{m}$ ).

Canadá	a (frame) ( $\mu\text{m}$ )	A (x, y step) ( $\mu\text{m}$ )	N° secções	N° caixa de contagem	ASF	SSF	TSF	$\Sigma Q$ -
Formação Hipocampal Direita								
<i>C. pusilla</i> A	65 x 65	300 x 300	10	118	0.0469	0.166	0.60	291
<i>C. pusilla</i> B	65 x 65	300 x 300	10	115	0.0469	0.166	0.60	286
<i>C. pusilla</i> C	65 x 65	300 x 300	10	85	0.0469	0.166	0.63	238
<i>C. pusilla</i> D	65 x 65	300 x 300	10	141	0.0469	0.166	0.63	274
<i>C. pusilla</i> E	65 x 65	300 x 300	10	103	0.0469	0.166	0.68	300
Formação Hipocampal Esquerda								
<i>C. pusilla</i> A	65 x 65	300 x 300	10	111	0.0469	0.166	0.56	306
<i>C. pusilla</i> B	65 x 65	300 x 300	10	114	0.0469	0.166	0.60	281
<i>C. pusilla</i> C	65 x 65	300 x 300	10	79	0.0469	0.166	0.62	213
<i>C. pusilla</i> D	65 x 65	300 x 300	10	153	0.0469	0.166	0.66	297
<i>C. pusilla</i> E	65 x 65	300 x 300	10	123	0.0469	0.166	0.69	368
Brasil	a (frame) ( $\mu\text{m}$ )	A (x, y step) ( $\mu\text{m}$ )	N° secções	N° caixa de contagem	ASF	SSF	TSF	$\Sigma Q$ -
Formação Hipocampal Direita								
<i>C. pusilla</i> F	65 x 65	250 x 250	10	130	0.0676	0.166	0.45	449
<i>C. pusilla</i> G	65 x 65	300 x 300	10	117	0.0469	0.166	0.47	348
<i>C. pusilla</i> H	65 x 65	250 x 250	10	186	0.0676	0.166	0.51	560
<i>C. pusilla</i> I	65 x 65	300 x 300	10	146	0.0469	0.166	0.48	479
<i>C. pusilla</i> J	65 x 65	300 x 300	10	143	0.0469	0.166	0.58	377
Formação Hipocampal Esquerda								
<i>C. pusilla</i> F	65 x 65	250 x 250	10	149	0.0676	0.166	0.45	578
<i>C. pusilla</i> G	65 x 65	300 x 300	10	131	0.0469	0.166	0.49	440
<i>C. pusilla</i> H	65 x 65	250 x 250	10	170	0.0676	0.166	0.50	529
<i>C. pusilla</i> I	65 x 65	300 x 300	10	113	0.0469	0.166	0.48	374
<i>C. pusilla</i> J	65 x 65	300 x 300	10	140	0.0469	0.166	0.58	461

**Tabela 2:** Parâmetros estereológicos para neurônios DCX+ nos hemisférios direito e esquerdo da formação hipocampal de *Charadrius semipalmatus*.  $\Sigma Q$ = Número total de objetos de interesses contados usando o disector óptico, **SSF**= Section Sampling Fraction, **ASF**= Area Sampling Fraction, **TSF**= Thickness Sampling Fraction, **a (frame)**= tamanho da caixa de contagem, **A (x, y step)** = tamanho da grade ( $\mu\text{m}$ ).

Canadá	a (frame) ( $\mu\text{m}$ )	A (x, y step) ( $\mu\text{m}$ )	N° secções	N° caixa de contagem	ASF	SSF	TSF	$\Sigma Q$ -
Formação Hipocampal Direita								
<i>C. semipalmatus</i> A	65 x 65	300 x 300	10	156	0.0469	0.166	0.65	366
<i>C. semipalmatus</i> B	65 x 65	300 x 300	10	200	0.0469	0.166	0.64	354
<i>C. semipalmatus</i> C	65 x 65	300 x 300	10	197	0.0469	0.166	0.67	362
<i>C. semipalmatus</i> D	65 x 65	300 x 300	10	215	0.0469	0.166	0.62	414
<i>C. semipalmatus</i> E	65 x 65	300 x 300	10	175	0.0469	0.166	0.66	394
Formação Hipocampal Esquerda								
<i>C. semipalmatus</i> A	65 x 65	300 x 300	10	163	0.0469	0.166	0.65	322
<i>C. semipalmatus</i> B	65 x 65	300 x 300	10	207	0.0469	0.166	0.64	319
<i>C. semipalmatus</i> C	65 x 65	300 x 300	10	215	0.0469	0.166	0.67	374
<i>C. semipalmatus</i> D	65 x 65	300 x 300	10	195	0.0469	0.166	0.63	339
<i>C. semipalmatus</i> E	65 x 65	300 x 300	10	202	0.0469	0.166	0.67	394
Brasil	a (frame) ( $\mu\text{m}$ )	A (x, y step) ( $\mu\text{m}$ )	N° secções	N° caixa de contagem	ASF	SSF	TSF	$\Sigma Q$ -
Formação Hipocampal Direita								
<i>C. semipalmatus</i> F	75 x 75	200 x 200	10	633	0.1406	0.166	0.58	2721
<i>C. semipalmatus</i> G	75 x 75	300 x 300	10	270	0.0625	0.166	0.64	1738
<i>C. semipalmatus</i> H	75 x 75	300 x 300	10	308	0.0625	0.166	0.70	1587
<i>C. semipalmatus</i> I	75 x 75	300 x 300	10	275	0.0625	0.166	0.63	1496
<i>C. semipalmatus</i> J	65 x 65	425 x 425	10	105	0.0233	0.166	0.62	534
Formação Hipocampal Esquerda								
<i>C. semipalmatus</i> F	75 x 75	200 x 200	10	605	0.1406	0.166	0.58	2583
<i>C. semipalmatus</i> G	75 x 75	300 x 300	10	255	0.0625	0.166	0.71	1530
<i>C. semipalmatus</i> H	75 x 75	300 x 300	10	300	0.0625	0.166	0.69	1577
<i>C. semipalmatus</i> I	75 x 75	300 x 300	10	258	0.0625	0.166	0.64	1637
<i>C. semipalmatus</i> J	65 x 65	425 x 425	10	95	0.0233	0.166	0.63	476

**Tabela 3:** Resultados esterológicos de neurônios DCX-positivos na formação hipocampal dos hemisférios direito e esquerdo do *Calidris pusilla*. **CE Scheaffer** = Coeficiente de erro Scheaffer, **D.P.**= Desvio padrão.

Canadá	Data da Captura	N° de DCX	CE Scheaffer	Espessura (µm)	DCX /mm <sup>3</sup>	N° de DCX	CE Scheaffer	Espessura (µm)	DCX /mm <sup>3</sup>
		Formação Hipocampal Direita				Formação Hipocampal Esquerda			
<i>C. pusilla</i> A	04/Ago/2012	68054	0.051	26.60	12816	71037	0.051	26.80	13714
<i>C. pusilla</i> B	04/Ago/2012	62038	0.050	25.27	17427	60708	0.050	25.10	16958
<i>C. pusilla</i> C	12/Ago/2012	49679	0.049	24.24	13143	45219	0.049	24.61	11685
<i>C. pusilla</i> D	07/Ago/2012	56397	0.047	24.06	10951	58654	0.047	23.14	12723
<i>C. pusilla</i> E	07/Ago/2012	58099	0.048	22.16	11392	69190	0.050	21.97	13567
<b>Média</b>		<b>58853</b>	<b>0.049</b>	<b>24.47</b>	<b>13146</b>	<b>60962</b>	<b>0.049</b>	<b>24.32</b>	<b>13729</b>
<b>D.P.</b>		<b>6811</b>	<b>0.002</b>	<b>1.64</b>	<b>2565</b>	<b>10277</b>	<b>0.002</b>	<b>1.85</b>	<b>1977</b>
CV <sup>2</sup>		0.01339				0.02842			
CE <sup>2</sup>		0.00240				0.00244			
CE <sup>2</sup> /CV <sup>2</sup>		0.17928				0.08587			
CV <sup>2</sup> -CE <sup>2</sup>		0.01099				0.02598			
CVB <sup>2</sup> (%CV <sup>2</sup> )		82.07				91.41			
Brasil	Data da Captura	N° de DCX	CE Scheaffer	Espessura (µm)	DCX /mm <sup>3</sup>	N° de DCX	CE Scheaffer	Espessura (µm)	DCX /mm <sup>3</sup>
		Formação Hipocampal Direita				Formação Hipocampal Esquerda			
<i>C. pusilla</i> F	14/Jan/2014	97723	0.047	34.52	15293	126596	0.042	34.39	19008
<i>C. pusilla</i> G	10/Nov/2014	99105	0.054	32.48	18770	118437	0.048	31.02	18362
<i>C. pusilla</i> H	10/Nov/2014	101195	0.042	30.24	18844	98213	0.043	31.04	15739
<i>C. pusilla</i> I	10/Nov/2014	130530	0.046	31.44	24863	104407	0.052	31.95	16652
<i>C. pusilla</i> J	12/Set/2015	81415	0.052	25.65	21038	104544	0.047	26.57	20221
<b>Média</b>		<b>101994</b>	<b>0.048</b>	<b>30.87</b>	<b>19762</b>	<b>110440</b>	<b>0.046</b>	<b>30.99</b>	<b>17997</b>
<b>D.P.</b>		<b>17783</b>	<b>0.005</b>	<b>3.31</b>	<b>3516</b>	<b>11680</b>	<b>0.004</b>	<b>2.83</b>	<b>1803</b>
CV <sup>2</sup>		0.03040				0.01118			
CE <sup>2</sup>		0.00232				0.00215			
CVB <sup>2</sup>		0.07642				0.19250			
CVB <sup>2</sup> /CV <sup>2</sup>		0.02808				0.00903			
CVB <sup>2</sup> (%CV <sup>2</sup> )		92.36				80.75			

**Tabela 4:** Resultados esterológicos de neurônios Dcx positivos na formação hipocampal dos hemisférios direito e esquerdo do *Charadrius semipalmatus*. **CE Scheaffer** = Coeficiente de Erro Scheaffer, **D.P.**= Desvio Padrão.

Canadá	Data da Captura	N° de DCX	CE Scheaffer	Espessura (µm)	DCX /mm <sup>3</sup>	N° de DCX	CE Scheaffer	Espessura (µm)	DCX /mm <sup>3</sup>
		Formação Hipocampal Direita				Formação Hipocampal Esquerda			
<i>C. semipalmatus</i> A	03/Ago/2012	73836	0.044	23.43	6652	64291	0.043	23.24	6042
<i>C. semipalmatus</i> B	03/Ago/2012	72682	0.049	23.63	5701	66457	0.044	23.86	4993
<i>C. semipalmatus</i> C	03/Ago/2012	70524	0.050	22.45	7038	74381	0.043	22.60	7813
<i>C. semipalmatus</i> D	04/Ago/2012	87466	0.045	24.38	6199	70720	0.045	24.17	5147
<i>C. semipalmatus</i> E	07/Ago/2012	77914	0.041	22.94	5771	77952	0.040	22.70	5941
<b>Média</b>		<b>76484</b>	<b>0.046</b>	<b>23.37</b>	<b>6272</b>	<b>70760</b>	<b>0.043</b>	<b>23.31</b>	<b>5987</b>
<b>D.P.</b>		<b>6701</b>	<b>0.004</b>	<b>0.73</b>	<b>573.19</b>	<b>5594.75</b>	<b>0.002</b>	<b>0.69</b>	<b>1121.78</b>
CV		0.00768				0.00625			
CV <sup>2</sup>		0.00210				0.00185			
CE <sup>2</sup>		0.27323				0.29577			
CE <sup>2</sup> /CV <sup>2</sup>		0.00558				0.00440			
CV <sup>2</sup> -CE <sup>2</sup>		72.68				70.42			
Brasil	Data da Captura	N° de DCX	CE Scheaffer	Espessura (µm)	DCX /mm <sup>3</sup>	N° de DCX	CE Scheaffer	Espessura (µm)	DCX /mm <sup>3</sup>
		Formação Hipocampal Direita				Formação Hipocampal Esquerda			
<i>C. semipalmatus</i> F	20/Mai/2015	202865	0.023	30.33	16793	191612	0.025	30.24	16252
<i>C. semipalmatus</i> G	17/Jun/2015	266793	0.028	28.40	24818	226694	0.035	26.24	21903
<i>C. semipalmatus</i> H	15/Ago/2015	224257	0.032	26.84	18534	223179	0.031	29.45	19206
<i>C. semipalmatus</i> I	15/Ago/2015	234154	0.034	30.58	18823	252365	0.029	32.14	20635
<i>C. semipalmatus</i> J	13/Out/2015	223487	0.043	31.45	17667	193283	0.046	30.45	12843
<b>Média</b>		<b>230311</b>	<b>0.032</b>	<b>29.52</b>	<b>19327</b>	<b>217427</b>	<b>0.033</b>	<b>29.70</b>	<b>18168</b>
<b>D.P.</b>		<b>23357</b>	<b>0.007</b>	<b>1.87</b>	<b>3171</b>	<b>25441</b>	<b>0.008</b>	<b>2.17</b>	<b>3645</b>
CV <sup>2</sup>		0.01028				0.01369			
CE <sup>2</sup>		0.00102				0.00110			
CVB <sup>2</sup>		0.09956				0.08051			
CVB <sup>2</sup> /CV <sup>2</sup>		0.00926				0.01259			
CVB <sup>2</sup> (%CV <sup>2</sup> )		90.04				91.95			

**Tabela 5:** Estimativas de Volumes dos hemisférios direito e esquerdo da formação hipocampal e do telencéalo e a razão entre eles para as aves *Calidris pusilla* no Canadá e no Brasil. **CE Gundersen**= Coeficiente de Erro Gundersen  $m=1$ . **Vol.**= Volume. **FHD**= Formação Hipocampal Direta. **FHE**= Formação Hipocampal Esquerda. **TD**= Tefencéalo Direito. **TE**= Tefencéalo Esquerdo.

Canadá	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Vol.	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Vol.
	FHD		TD		FHD/TD	FHE		TE		FHE/TE
<i>C. pusilla</i> A	5.31	0.022	89.10	0.006	0.060	5.18	0.022	84.6	0.008	0.061
<i>C. pusilla</i> B	3.56	0.030	77.30	0.008	0.046	3.58	0.030	80.4	0.009	0.045
<i>C. pusilla</i> C	3.78	0.027	71.40	0.008	0.053	3.87	0.026	82.7	0.007	0.047
<i>C. pusilla</i> D	5.15	0.021	79.60	0.006	0.065	4.61	0.022	88.9	0.007	0.052
<i>C. pusilla</i> E	5.10	0.019	97.90	0.004	0.052	5.10	0.020	105.0	0.005	0.049
<b>Média</b>	<b>4.58</b>	<b>0.024</b>	<b>83.06</b>	<b>0.006</b>	<b>0.055</b>	<b>4.47</b>	<b>0.024</b>	<b>88.32</b>	<b>0.007</b>	<b>0.051</b>
<b>D.P.</b>	<b>0.84</b>	<b>0.004</b>	<b>10.46</b>	<b>0.002</b>	<b>0.007</b>	<b>0.72</b>	<b>0.004</b>	<b>9.83</b>	<b>0.001</b>	<b>0.007</b>
Brasil	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Vol.	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Vol.
	FHD		TD		FHD/TD	FHE		TE		FHE/TE
<i>C. pusilla</i> F	6.39	0.019	111.00	0.007	0.058	6.66	0.022	108.00	0.008	0.061
<i>C. pusilla</i> G	5.28	0.025	99.20	0.006	0.053	6.45	0.024	95.30	0.005	0.067
<i>C. pusilla</i> H	5.37	0.029	120.00	0.006	0.045	6.24	0.026	117.00	0.006	0.053
<i>C. pusilla</i> I	5.25	0.025	83.10	0.011	0.063	6.27	0.023	81.90	0.011	0.076
<i>C. pusilla</i> J	3.87	0.016	88.98	0.006	0.043	5.17	0.013	97.42	0.005	0.053
<b>Média</b>	<b>5.23</b>	<b>0.025</b>	<b>100.46</b>	<b>0.008</b>	<b>0.052</b>	<b>6.41</b>	<b>0.024</b>	<b>100.55</b>	<b>0.008</b>	<b>0.064</b>
<b>D.P.</b>	<b>0.90</b>	<b>0.004</b>	<b>15.23</b>	<b>0.002</b>	<b>0.008</b>	<b>0.19</b>	<b>0.002</b>	<b>15.29</b>	<b>0.003</b>	<b>0.010</b>

**Tabela 6:** Estimativas de Volumes dos hemisférios direito e esquerdo da formação hipocampal e do telencéalo e a razão entre eles para as aves *Charadrius semipalmatus* no Canadá e no Brasil. **CE Gundersen**= Coeficiente de Erro Gundersen  $m=1$ . **Vol.**= Volume. **FHD**= Formação Hipocampal Direta. **FHE**= Formação Hipocampal Esquerda. **TD**= Telencéalo Direito. **TE**= Telencéalo Esquerdo.

Canadá	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Vol.	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Vol.
	FHD		TD		FHD/TD	FHE		TE		FHE/TE
<i>C. semipalmatus</i>	11.10	0.011	155.65	0.005	0.071	10.12	0.013	126.92	0.005	0.080
<i>C. semipalmatus</i>	12.75	0.009	167.67	0.003	0.076	12.25	0.010	178.86	0.008	0.068
<i>C. semipalmatus</i>	10.02	0.012	135.55	0.003	0.074	10.15	0.012	134.48	0.003	0.075
<i>C. semipalmatus</i>	14.11	0.012	166.18	0.005	0.085	14.58	0.009	171.74	0.007	0.085
<i>C. semipalmatus</i>	13.50	0.009	160.78	0.004	0.084	13.50	0.010	158.98	0.002	0.085
<b>Média</b>	<b>12.30</b>	<b>0.011</b>	<b>157.17</b>	<b>0.004</b>	<b>0.078</b>	<b>12.12</b>	<b>0.011</b>	<b>154.20</b>	<b>0.005</b>	<b>0.079</b>
<b>D.P.</b>	<b>1.70</b>	<b>0.002</b>	<b>12.99</b>	<b>0.001</b>	<b>0.006</b>	<b>1.99</b>	<b>0.002</b>	<b>22.76</b>	<b>0.003</b>	<b>0.007</b>
Brasil	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Vol.	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Estimativa do vol. (mm <sup>3</sup> )	CE Gundersen	Vol.
	FHD		TD		FHD/TD	FHE		TE		FHE/TE
<i>C. semipalmatus</i>	12.08	0.015	175.99	0.009	0.069	11.79	0.014	154.77	0.007	0.076
<i>C. semipalmatus</i>	10.75	0.013	167.99	0.010	0.064	10.35	0.011	165.31	0.010	0.063
<i>C. semipalmatus</i>	12.10	0.014	163.70	0.006	0.074	11.62	0.013	175.10	0.008	0.066
<i>C. semipalmatus</i>	12.44	0.012	165.62	0.007	0.075	12.23	0.012	155.21	0.008	0.079
<i>C. semipalmatus</i>	12.65	0.014	188.01	0.009	0.067	15.05	0.012	194.36	0.005	0.077
<b>Média</b>	<b>12.00</b>	<b>0.014</b>	<b>172.26</b>	<b>0.008</b>	<b>0.070</b>	<b>12.21</b>	<b>0.012</b>	<b>168.95</b>	<b>0.008</b>	<b>0.072</b>
<b>D.P.</b>	<b>0.74</b>	<b>0.001</b>	<b>9.97</b>	<b>0.002</b>	<b>0.005</b>	<b>1.74</b>	<b>0.001</b>	<b>16.48</b>	<b>0.002</b>	<b>0.007</b>

# ANEXO II- Autorizações de Órgãos Reguladores do Uso de Animais Silvestres

## Licença de Importação de Animais

 <b>REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL</b> MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA RENOVAVEIS - IBAMA SCEN Traccho 2 - Ed. Sede - Caixa Postal nº 59070 - CEP 70818-900 - Brasília-DF		 <b>INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE</b> E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA		1) Pag. Nº 1/1 2) Data Emissão/Issuing Date: 20/06/2016 3) Válido Até/Valid Until: 20/12/2016																																	
4) Licença n°/Permit n°: <b>16BR020816/DF</b>		6) Selo n°/Stamp n°: ***** 7) Selo/Stamp *****		8) Controle/Check #: H4DWY7ARWX3Y84J 9) Autoridade Adm. Emitente/Issuing Management Authority  Assinatura/Signature																																	
5) Licença de/Permit for <b>Importação/Import</b>		10) Importador/Importer CRISTOVAM GUERREIRO DINIZ PASS. URBUTA 001 BRAGANCA - 68600000 fone: 9191777092 - cristovam.diniz@gmail.com Brasil - BR		11) Exportador(Re-exportador)/Exporter(Re-exporter) David Francis Sherry 69 Lonedale Drive London Ontario - N6G 1T4 fone: - Canada - CA <b>Maria Izabel Soares Gomes</b> CITES Management Authority																																	
12) País Importador/Country of Import Brasil - BR		13) País Exportador(Re-exportador)/Country of Export(Re-export) Canada - CA																																			
14) Objetivo da Operação/Purpose of the transaction S - Científico/For scientific...																																					
15) Condições Especiais/Special Conditions For live animals, this permit or certificate is only valid if the transport conditions conform to the Guidelines for Transport and preparation for shipment of live wild animals and plants or, in the case of air transport, to the IATA Live Animals Regulations.																																					
16) Dados do Transporte/Transportation Data Local/Place: ALF/Al Belém Data Provável/Probable Date: 15/08/2016 ESTA LICENÇA É VÁLIDA SOMENTE PARA UMA OPERAÇÃO THIS PERMIT OR CERTIFICATE IS ONLY VALID FOR ONE SHIPMENT.																																					
17) Item		21) Anexo/Origem Appendix/Source		18) Produto/Product 22) Descrição: Parte Quantidade-Unidade-Marcação Description: Part Quantity-Unit-Mark																																	
20) Espécie: nome científico nome vulgar/ Species: scientific name common name		23) Cód. País de Origem-Comprovante-Data Country of Origin-Permit-Date 24) Cód. País de reexportador-Certificado-Data Country reexportation-Certificate-Date		19) Quantidade-Unidade Medida/Quantity Unit																																	
20) 1. Calidris pusilla Magalhães-rastafreinho Sempalmated-sandpiper		21) NC W		18) CEREBROBRAIN 22) cerebrobrain 10,00 UN -																																	
				19) -- 10,00 UN -- 23) -- 24) --																																	
<b>Fim dos Itens/Items End</b>																																					
25) Endosso da Aduana/Customs Endorsement <table border="1"> <thead> <tr> <th>Item</th> <th>Qty./Qty.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="16" style="height: 50px;"> <div style="text-align: center;"> <b>ASSINATURAS/SIGNATURE</b> </div> </td> </tr> </tbody> </table>						Item	Qty./Qty.	<div style="text-align: center;"> <b>ASSINATURAS/SIGNATURE</b> </div>																													
Item	Qty./Qty.	Item	Qty./Qty.	Item	Qty./Qty.	Item	Qty./Qty.	Item	Qty./Qty.	Item	Qty./Qty.	Item	Qty./Qty.	Item	Qty./Qty.																						
<div style="text-align: center;"> <b>ASSINATURAS/SIGNATURE</b> </div>																																					
1 Verificar/Verify: <a href="http://ibama.gov.br/cites/verificar">http://ibama.gov.br/cites/verificar</a> E-mail: <a href="mailto:cites.sede@ibama.gov.br">cites.sede@ibama.gov.br</a> 1ª Via - Original - Importador   Exportador - Brasil   Importer   Exporter - Brazil 2ª Via - Exportador   Importador - Estrangeiro   Exporter   Importer - Other Country																																					

Instruções e explicações (Os números das instruções correspondem aos do formulário)	Instructions and Explanations (The listing numbers are equivalent to the forms)
<p>1- Número da página / número de páginas.</p> <p>2- Data de Emissão.</p> <p>3- Data de Validade: O prazo de validade de uma licença não deve exceder 6 meses. Passado o último dia do prazo de validade, o documento torna-se nulo e sem qualquer valor jurídico, e o original e todas as cópias devem ser devolvidos pelo titular, à Autoridade Administrativa emissora. Uma licença de importação não é válida se o correspondente documento CITES do país de exportação/reexportação tiver sido utilizado para a (re)exportação após o último dia do respectivo prazo de validade.</p> <p>4- Número único do documento atribuído pela Autoridade Administrativa emitente.</p> <p>5- Tipo de documento expedido (licença de importação, de exportação, de reexportação ou outro).</p> <p>6- Número do Selo de Segurança.</p> <p>7- Selo de segurança deve ser validado com a rubrica da Autoridade Administrativa emitente. O número do selo deve estar claramente legível.</p> <p>8- Código da Segurança. Este código juntamente com o número da licença permite verificar, via Internet (<a href="http://verificar.ibama.gov.br/cites">http://verificar.ibama.gov.br/cites</a>), a validade do documento.</p> <p>9- Dados e assinatura da Autoridade Administrativa responsável pela emissão da licença.</p> <p>10- Nome e endereço completos do importador, inclusive o país.</p> <p>11- Nome e endereço completos do exportador/reexportador, inclusive o país.</p> <p>12- Nome completo do país importador.</p> <p>13- Nome completo do país exportador.</p> <p>14- Finalidade da operação, utilizar um dos seguintes códigos para indicar:  <b>B</b> Criação em cativeiro ou reprodução artificial;  <b>E</b> Fins educacionais;  <b>G</b> Jardim botânico;  <b>H</b> Troféu de caça;  <b>M</b> Pesquisa biomédica;  <b>N</b> Reintrodução ou introdução no meio silvestre;  <b>P</b> Uso pessoal;  <b>Q</b> Circo ou exposição itinerante;  <b>S</b> Fins científicos;  <b>T</b> Fins comerciais;  <b>Z</b> Jardim zoológico.</p> <p>15- As condições especiais podem referir-se à legislação brasileira ou condições especiais determinadas pela Autoridade Administrativa emitente. Este campo pode ser utilizado para justificar a omissão/falta de informações.</p> <p>16- Data e local prováveis de entrada/saída no Brasil. Esta licença é válida somente para uma operação.</p> <p>17- Numeração sequencial dos itens que serão importados/exportados/reexportados.</p> <p>18- Tipo de produto (por exemplo: luva, animal vivo, mobiliário, acessórios).</p> <p>19- Quantidade do produto e Unidade de medida. Não sendo possível determinar a quantidade deve-se especificar a unidade de medida utilizada, por exemplo o peso.</p> <p>20- Nome científico (gênero, espécie e eventualmente sub-espécie) do animal ou planta tal como consta nos Anexos da Convenção ou nas listas de referência aprovadas na Conferência das Partes / Nome comum da espécie utilizado no Brasil.</p> <p>21- Anexo (I, II ou III) no qual está incluída a espécie e Origem da espécie, utilizar os seguintes códigos:  <b>A</b> - Planta reproduzida artificialmente (Art.VII, 5 e Res. Conf. 11.11)  <b>C</b> - Animal reproduzido em cativeiro  <b>D</b> - Espécime do Anexo I reproduzido em cativeiro ou artificialmente com finalidade comercial (Art. VII, 4 e Res. Conf. 12.10).  <b>F</b> - Animal nascido em cativeiro (F1 ou gerações posteriores)  <b>O</b> - Espécime pré-convenção  <b>R</b> - Espécime de criadouro com manejo semi-extensivo (ranching)  <b>U</b> - Espécime com origem desconhecida  <b>W</b> - Espécime com origem silvestre (coletado no meio silvestre)</p> <p>22- Descrição mais exata possível da parte dos espécimes objeto do comércio (animal vivo, peles, planta, cartelas, sapatos, etc.), quantidade, unidade de medida, a marcação individual dos espécimes (tacetes, anilhas, micro-chip), fração da cola de exportação (por exemplo: 500P1000) e se possível o sexo e a idade dos animais vivos.</p> <p>23- País de origem em que o espécime foi retirado na natureza, reproduzido em cativeiro ou artificialmente. Informar o país de origem e o número da licença de exportação ou certificado de origem (tipo, número e data).</p> <p>24- País da última reexportação, é o país de onde vem o espécime antes de entrar no país de destino deste documento. Informar o país de reexportador e o número de licença de reexportação (tipo, número e data). Para espécimes de espécies incluídas no Anexo I criados em cativeiro ou reproduzidos artificialmente deverá ser informado o número da operação. Para os espécimes pré-convenção deverá ser informado o certificado pré-convenção</p> <p>25- Este campo deverá ser preenchido pelo funcionário da alfândega que inspeciona a remessa no momento da exportação/reexportação/importação, que deve anotar as quantidades efetivamente exportadas/reexportadas e anular os campos não utilizados.</p>	<p>1- Page Number/Number of pages</p> <p>2- Issuing Date</p> <p>3- Expiring date. The expiring date of the document should not exceed 6 months. After the expiring date the document is no longer valid, therefore, without any legal force, and the original document and all its copies must be returned by the holder to the Management Authority that issued the document. An Import CITES Permit is not valid if the corresponding document of the exporting country had been used for re-exportation after the expiring date.</p> <p>4- Unique number issued by the Management Authority</p> <p>5- Type of document issued (export permit, re-export certificate, import permit or other).</p> <p>6- Number of the security stamp.</p> <p>7- Security stamp - must be validated with the signature of the Management Authority Officer issuing the document. The security stamp must be clearly legible.</p> <p>8- Security code. This code and the number of permit allow to check it at internet (<a href="http://verificar.ibama.gov.br/cites">http://verificar.ibama.gov.br/cites</a>).</p> <p>9- Management Authority information and signature.</p> <p>10- Complete name and address of the importer, including the country.</p> <p>11- Complete name and address of the exporter/re-exporter, including the country.</p> <p>12- Complete name of the importer country.</p> <p>13- Complete name of the exporter country.</p> <p>14- Purpose of the transaction Codes  <b>B</b> - Bred in captivity or artificial reproduction;  <b>E</b> - Education purposes;  <b>G</b> - Botanical Garden;  <b>H</b> - Hunting trophy;  <b>M</b> - Medical research;  <b>N</b> - Reintroduction in the wild;  <b>P</b> - Personal;  <b>Q</b> - Circus or itinerary exhibition;  <b>S</b> - Scientific purposes;  <b>T</b> - Commercial purposes;  <b>Z</b> - Zoo</p> <p>15- The special conditions may refer to the Brazilian Legislation or to the conditions established by the issuing management authority. This space can be used to justify the omission/lack of information.</p> <p>16- Probable date and local of transportation in Brazil.</p> <p>17- Sequential numbers of the items that will be imported/exported/re-exported. This permit or certificate is only valid for one trade.</p> <p>18- Product (for example: glove, live animal, furniture, garment)</p> <p>19- Quantity of the product and Unit; if it is not possible to estimate the quantity it should be specified the unit of measurement used, for example, the weight.</p> <p>20- Scientific name (genre, species, and casually subspecies) of the animal or plant just as in the Appendices of the Convention or in the lists used of reference approved by the Convention of the Parties / Species' common name used in Brazil.</p> <p>21- Appendix (I, II or III) in which is included the species and origin the species, it is used the following codes:  <b>A</b> - Plant artificially reproduced (Art. VII, 5 and Res. Conf. 11.11)  <b>C</b> - Animal bred in captivity  <b>D</b> - Species of Appendix I, reproduced in captivity or artificially with commercial purposes (Art. VII 4 and Res. Conf. 12.10)  <b>F</b> - Animal bred in captivity (F1 or later offspring)  <b>O</b> - Species pre-Convention  <b>R</b> - Ranching species  <b>U</b> - Unknown origin  <b>W</b> - Wild origin (collected in wild)</p> <p>22- Description of the part of the specimens that will be commercialised (live animal, furs, plants, wallets, shoes, etc.), quantity, unit, the individual mark of the specimens (sea, leg band, microchip, etc), the current annual quota (for example 500P1000), and if possible the sex and age of the live animals.</p> <p>23- Country of origin is the country in which the specimens were taken from the wild, bred in captivity or artificially propagated. Indicate the country of origin and the number of the permit or certificate of the exporting country and the date of issuance. This block must only be completed in case of re-exports;</p> <p>24- Country of last re-export is the country from which the specimens were re-exported before entering the country in which the present document is issued. Indicate the country of last re-export and the number of the re-export certificate of the country of last re-export and its date of issuance. This block must only be completed in case of re-export of specimens previously re-exported</p> <p>25- To be completed by the official who inspects the shipment at the time of import / export / re-export. Enter the quantities of specimens actually. Strike out the unused blocks.</p>

## Licença Ambiental para Captura e Sacrifício dos Animais



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número: 16086-3</b>	<b>Data da Emissão: 30/08/2010 09:51</b>
<b>Dados do titular</b>	
Nome: Cristovam Guerreiro Diniz	CPF: 518.352.742-34
Título do Projeto: PLASTICIDADE DA FORMAÇÃO HIPOCAMPAL DE AVES MIGRATÓRIAS: ESTUDOS ARQUITETÔNICOS, IMUNOHISTOQUÍMICOS E ESTEREOLÓGICOS NO MAÇARICO ( <i>Calidris pusilla</i> & <i>Calidris minutilla</i> ).	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ	CNPJ: 34.821.748/0001-23

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Captura, Perfusão e Processamento Histológico	03/2008	03/2009
2	Captura, Perfusão e Processamento Histológico	03/2009	03/2010
3	Análise Estereológica	03/2010	03/2011
4	Redação de Artigos, Qualificação e Red. Manuscrito	03/2011	03/2012

De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto.

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização não exime o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para Importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte <a href="http://www.icmbio.gov.br/sisbio">www.icmbio.gov.br/sisbio</a> - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constantes de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexploradas ou ameaçadas de sobreexploração.

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		PA	Prata de Ajuruteua	Fora de UC
2		PA	Ilha de Canela	Fora de UC

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	<i>Calidris minutilla</i> , <i>Calidris pusilla</i>
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	<i>Calidris minutilla</i> , <i>Calidris pusilla</i>
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	<i>Calidris minutilla</i> (*Qtde: 20), <i>Calidris pusilla</i> (*Qtde: 20)
4	Marcação de animais silvestres in situ	<i>Calidris minutilla</i> , <i>Calidris pusilla</i>
5	Observação e gravação de imagem ou som	<i>Calidris minutilla</i> , <i>Calidris pusilla</i>

\* Qtde. de indivíduos por espécie/localidade/unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

#### Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Animal morto ou partes (carcaça/osso/pele, Fragmento de tecido/órgão)
---	----------------------------	---

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 56266259



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número: 16086-3</b>	<b>Data da Emissão: 30/08/2010 09:51</b>
<b>Dados do titular</b>	
Nome: Cristovam Guerreiro Diniz	CPF: 518.352.742-34
Título do Projeto: PLASTICIDADE DA FORMAÇÃO HIPOCAMPAL DE AVES MIGRATÓRIAS: ESTUDOS ARQUITETÔNICOS, IMUNOHISTOQUÍMICOS E ESTEREOLÓGICOS NO MAÇARICO ( <i>Calidris pusilla</i> & <i>Calidris minutilla</i> ).	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ	CNPJ: 34.621.748/0001-23
2   Método de captura/coleta (Aves)	Bioacústica, Rede de neblina

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ	colecção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 56266259



Página 2/3





Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 44551-1	Data da Emissão: 03/07/2014 08:55	Data para Revalidação*: 02/08/2015
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular	
Nome: CRISTOVAM GUERREIRO DINIZ	CPF: 518.352.742-34
Título do Projeto: NEUROECOLOGIA DE AVES MIGRATORIAS MARINHAS: Padrões Migratórios Contrastantes, Respostas Adaptativas e Mecanismos Neurais Subjacentes.	
Nome da Instituição: Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Pará	CNPJ: 09.021.003/0001-86

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta dos espécimes e de sangue, assim como marcação dos mesmos.	08/2014	08/2015

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA n° 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para Importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença e autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos, e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falta de descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/icgen">www.mma.gov.br/icgen</a> .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

#### Outras ressalvas

1	(1) Comunicar ida a campo com antecedência mínima de 15 dias ( <a href="mailto:paulo.oliveira@icmbio.gov.br">paulo.oliveira@icmbio.gov.br</a> / (91) 3425.4642); (2) para a coleta, fazer-se acompanhar por extrativista indicado pela Chefia da UC e AUREMAT; (3) apresentar a proposta de pesquisa e os seus resultados para as comunidades que vivem na área onde haverá a coleta de material, além do Conselho Deliberativo da Resex Marinha de Tracuateua; e, (4) disponibilizar cópia dos produtos da pesquisa para a administração da Resex Marinha de Tracuateua
2	A quantidade máxima de sangue coletado de um indivíduo não deve ultrapassar 1% de seu peso corporal.
3	Comunicar por email: <a href="mailto:resexcaete@icmbio.gov.br">resexcaete@icmbio.gov.br</a> , ou pelo tel: (91)34251514, ou pessoalmente em nosso escritório em Bragança, as datas de coleta de fauna e flora no interior da UC, ou nos estuários do rio Caeté e Taperaçu com certa antecedência; Disponibilizar cópia dos resultados e produtos gerados com os dados coletados no interior da Unidade; Disponibilizar um membro da equipe para esclarecimento do projeto, caso seja necessário, junto ao Conselho Deliberativo, ou em alguma comunidade específica da RESEX que possa ter interesse nos resultados da pesquisa desenvolvida.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 17785834



Página 1/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 44551-1	Data da Emissão: 03/07/2014 08:55	Data para Revalidação*: 02/08/2015
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular	
Nome: CRISTOVAM GUERREIRO DINIZ	CPF: 518.352.742-34
Título do Projeto: NEUROECOLOGIA DE AVES MIGRATORIAS MARINHAS: Padrões Migratórios Contrastantes, Respostas Adaptativas e Mecanismos Neurais Subjacentes.	
Nome da Instituição: Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Pará	CNPJ: 09.021.003/0001-86

4	Comunicar por email: claudia.alves@icmbio.gov.br, ou pelo tel: (91)34251574, ou pessoalmente em nosso escritório em Bragança, as datas de coleta de fauna e flora no interior da UC, ou nos estuários do rio Gurupi e Piriá com certa antecedência; Disponibilizar cópia dos resultados e produtos gerados com os dados coletados no interior da Unidade; Disponibilizar um membro da equipe para esclarecimento do projeto, caso seja necessário, junto ao Conselho Deliberativo, ou em alguma comunidade específica da RESEX que possa ter interesse nos resultados da pesquisa desenvolvida.
---	---

#### Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Nara Gyzely de Moraes Magalhães	Pesquisadora	802.988.772-87	4252689 SEGUP-PA	Brasileira
2	Cristovam Wanderley Picanço Diniz	Pesquisador	019.498.962-34	5525405 SEGUP-PA	Brasileira
3	Mauro André Damasceno de Melo	Pesquisador	634.232.192-20	3266810 SEGUP-PA	Brasileira
4	Dario Carvalho Paulo	Pesquisador	957.481.132-87	4309560 P. Civil-PA	Brasileira
5	Patrick Douglas Corrêa Perera	Aluno Graduação	019.588.352-64	6503286 SSP-PA	Brasileira

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		PA	RESERVA EXTRATIVISTA MARINHA DE CAETE-TAPERACU	UC Federal
2		PA	RESERVA EXTRATIVISTA MARINHA DE GURUPI-PIRIÁ	UC Federal
3		PA	RESERVA EXTRATIVISTA MARINHA DE TRACUATEUA	UC Federal

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Actitis macularia, Charadrius wilsonia, Charadrius semipalmatus, Charadrius collaris, Calidris pusilla
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Charadrius semipalmatus, Calidris pusilla, Actitis macularia, Charadrius wilsonia, Charadrius collaris
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Actitis macularia (Qtde: 5), Charadrius semipalmatus (Qtde: 5), Calidris pusilla (Qtde: 2), Charadrius collaris (Qtde: 5)
4	Observação e gravação de imagem ou som	Calidris pusilla, Actitis macularia, Charadrius collaris, Charadrius semipalmatus, Charadrius wilsonia

\* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

#### Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Sangue, Fezes, Regurgitação/conteúdo estomacal, Fragmento de tecido/orgão
2	Método de captura/coleta (Aves)	Rede de neblina, Outros métodos de captura/coleta/Procura com lanterna. (Night-Lighting)

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Pará	coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 17785834



Página 2/4





Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 44551-1	Data da Emissão: 03/07/2014 08:55	Data para Revalidação*: 02/08/2015
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: CRISTOVAM GUERREIRO DINIZ	CPF: 518.352.742-34
Título do Projeto: NEUROECOLOGIA DE AVES MIGRATORIAS MARINHAS: Padrões Migratórios Contrastantes, Respostas Adaptativas e Mecanismos Neurais Subjacentes.	
Nome da Instituição : Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Para	CNPJ: 09.021.003/0001-66

\* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.Icmbio.gov.br/sisbio](http://www.Icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 17785834



Página 4/4

## ANEXO III – Publicação Internacional

Impact Factor 2.923 | CiteScore 3.13  
[More on impact >](#)



**frontiers**  
 in Neuroanatomy

---

JOURNAL
ABOUT
ARTICLES
RESEARCH TOPICS
FOR AUTHORS
EDITORIAL BOARD
ARTICLE ALERTS

< Articles

THIS ARTICLE IS PART OF THE RESEARCH TOPIC  
**Anatomical and Functional Heterogeneity of the Basal Ganglia** [View all Articles >](#)

**ORIGINAL RESEARCH ARTICLE** Provisionally accepted The full-text will be published soon. [Notify me](#)

Front. Neuroanat. | doi: 10.3389/fnana.2019.00082

## Differential change in hippocampal radial astrocytes and neurogenesis in shorebirds with contrasting migratory routes

 Camila M. Lima<sup>1</sup>,  Patrick D. Pereira<sup>2</sup>,  Ediely P. Henrique<sup>2</sup>,  Marcus A. Oliveira<sup>1</sup>,  Dario C. Paulo<sup>1</sup>,  
 Lucas S. Siqueira<sup>2</sup>,  Diego d. Miranda<sup>2</sup>,  Mauro A. Melo<sup>2</sup>,  Nara G. Magalhães<sup>2</sup>,  Cristovam G. Diniz<sup>2</sup>,  
 Daniel G. Diniz<sup>1</sup>,  David F. Sherry<sup>3</sup> and  Cristovam W. Picanço Diniz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Neurodegeneration and Infection, Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Brazil  
<sup>2</sup>Laboratory of Molecular Biology and Neuroecology, Federal Institute of Pará (IFPA), Brazil  
<sup>3</sup>Advanced Facility for Avian Research, Faculty of Social Science, University of Western Ontario, Canada

72

TOTAL VIEWS


score
/ 0

View Article Impact



Want to win \$100,000 to host your own conference?