



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Carolina Santos Baena

**EFEITOS DAS ALTERAÇÕES CLIMÁTICAS NA
REPRODUÇÃO DE AVES INSECTÍVORAS
NIDIFICANTES EM CAVIDADES**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Ecologia orientada pelo Professor Doutor Jaime Albino Ramos e pela Doutora Ana Cláudia Norte e apresentada ao Departamento de Ciências da Vida da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Julho de 2021

Faculdade de Ciências e Tecnologia
da Universidade de Coimbra

Efeitos das alterações climáticas na reprodução de aves insectívoras nidificantes em cavidades

Carolina Santos Baena

Dissertação de Mestrado no âmbito do Mestrado em Ecologia orientada pelo Professor Doutor Jaime Albino Ramos e pela Doutora Ana Cláudia Norte e apresentada ao Departamento de Ciências da Vida da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Julho de 2021



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Agradecimentos

Quero começar por agradecer aos meus orientadores, o Professor Doutor Jaime Albino Ramos e a Doutora Ana Cláudia Norte. Obrigada Professor Jaime por me ter dado a oportunidade de trabalhar neste projeto, por me ter orientado e me ter ensinado tanta coisa ao longo deste percurso, pela sua disponibilidade e pela motivação que me deu quando me via perdida nas reuniões.

Um especial obrigada à Doutora Cláudia, que foi para mim uma peça fundamental nesta etapa. Obrigada por me teres acompanhado sempre, pela tua disponibilidade, por todas as horas e almoços partilhados no Choupal e, acima de tudo, pelos teus ensinamentos e paciência. Para além de orientadora, foste uma amiga.

Agradeço também a colaboração do Professor Manuel Nunes e à estação agrometeorológica da ESAC por fornecer dados necessários para a realização deste estudo.

Queria agradecer ao Jorge Garrido que, apesar de só ter estado presente este ano, foi uma pessoa imprescindível na realização deste estudo. Obrigada pela tua preocupação, pela tua ajuda e dicas para escrever a tese, pela companhia no Choupal e por teres sido uma pessoa tão incrível!

Um grande e sentido obrigada às minhas melhores amigas, Beatriz Tavares, Raquel Ribeiro, Ana Rute e Catarina Rodrigues e ao meu amigo Carlos Martins. Sem estas 5 pessoas maravilhosas teria dado em louca. Obrigada por me “arrancarem” de casa, por me fazerem rir, por se preocuparem comigo, por todas as conversas e conselhos que me deram, por estarem sempre aí para mim. Não podia pedir melhores amigos do que vocês!

Não posso deixar de agradecer ao Fernando De La Rosa. Obrigada por todas as horas de conversas diárias, pelos teus conselhos, por me fazeres rir nos piores momentos, por todo o teu amor e carinho, por nunca teres deixado de acreditar em mim e, mais importante do que isso, por me teres feito acreditar também.

Por último, mas não menos importante, queria agradecer à minha família por todo o apoio, mas a duas pessoas em particular, os meus pais. Sem eles nada disto seria possível, foram e serão sempre os meus pilares, os que me deram os valores e princípios que tenho hoje em dia, o meu maior apoio ao longo de todos estes anos, mas em especial, deste ano. Obrigada pela paciência com as minhas mudanças de humor, que são tão ou mais prejudiciais do que as alterações climáticas!

Finalmente, gostaria de agradecer às pessoas que me deram todas as bases desta vida, todos os ensinamentos e lições, todo o amor como segundos pais que foram para mim. Hoje sei que vão estar a olhar por mim e que se vão sentir orgulhosos. Dedico então esta dissertação aos meus falecidos avós, Fernanda Saraiva, Sérgio Aço e Manuel Baena e à minha querida avó Lola Reina que, felizmente, ainda poderá ver como me torno Mestre.

Índice

Resumo.....	5
Abstract.....	7
Lista de Abreviações.....	9
Lista de Figuras.....	10
Lista de Tabelas	11
1. Introdução	13
1.1. Influência das alterações climáticas na biologia de reprodução das espécies	14
1.2. Efeitos das alterações climáticas nos parâmetros fisiológicos	16
1.3. Influência das mudanças climáticas em medidas reprodutivas e fisiológicas de aves florestais que se reproduzem em cavidades	19
2. Métodos.....	21
2.1. Local de estudo	22
2.2. Espécies em estudo	22
2.3. Dados fenológicos e reprodutivos.....	22
2.4. Dados fisiológicos.....	24
2.5. Dados meteorológicos	25
2.6. Análise estatística.....	25
3. Resultados.....	27
3.1. Análise descritiva.....	28
3.2. Análise da época de reprodução nos anos 2005, 2006 e 2020.....	32
3.3. Análise estatística do período em que as crias estiveram no ninho (15 dias) em 2005, 2006 e 2020	37
4. Discussão.....	43
Bibliografia	47
Anexo 1.....	54
Anexo 2.....	55

Resumo

Desde a revolução industrial que o clima se tem vindo a alterar, nomeadamente, a variação da temperatura, que sofreu um aumento, em média de 0.6°C no decorrer do século passado, ocorrência de períodos sem congelação, intensas precipitações, assim como a sua escassez. Estas alterações foram identificadas com o auxílio de monitorizações e reconstruções climáticas a longo prazo. As alterações climáticas são uma ameaça presente e futura para a conservação da natureza e é necessário saber de que forma afetam as espécies e ecossistemas e como influenciam as suas respostas, de forma a compreender a sua capacidade de adaptação num ambiente em mudança. O clima é determinante para a floração e, deste modo, pode afetar a disponibilidade de alimento para aves insetívoras, levando a um curto período com condições adequadas para um elevado sucesso reprodutor, sendo então necessário que as aves ajustem a sua data de postura. Para além da data de postura, a temperatura afeta parâmetros reprodutivos, e parâmetros fisiológicos. O objetivo deste estudo passa por avaliar os efeitos das alterações climáticas, principalmente o aumento da temperatura, e das condições meteorológicas, nos parâmetros fenológicos, reprodutores e fisiológicos do chapim-real (*Parus major*) e chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*).

Durante a época de reprodução (Abril-Julho) de 2020, acompanhei e registei a evolução e construção de cada ninho na Mata Nacional do Choupal, para determinar a data de postura, o tamanho da postura, data de eclosão, massa média das crias, média do tarso e condição corporal e, o número de crias emancipadas. Neste processo também anilhei as crias e retirei amostras de sangue da veia braquial. Essas amostras de sangue foram utilizadas para medir a taxa de sedimentação de eritrócitos (ESR), a hemoglobina (Hb), o número de glóbulos brancos (WBC), a o rácio entre heterófilos e linfócitos (H/L), frequência de micronúcleos (MNE), anomalias nucleares (NA) e policromáticos (PCE). Para além destes dados, utilizei também dados relativos ao chapim-real do ano 2005 e 2006 e dados meteorológicos recolhidos entre os anos 2005 e 2020 na estação meteorológica da Escola Agrária de Coimbra.

Detetei diferenças significativas nas variáveis meteorológicas entre os anos de estudo (2005, 2006 e 2020), sendo que a temperatura média em 2020 foi, no geral, mais elevada. Encontrei também diferenças significativas durante a época de reprodução, no tamanho da ninhada, crias emancipadas e sucesso de emancipação que foi menor em 2020 e na média do tarso que foi mais elevada em 2020 e também uma antecipação na data de postura, apesar de não ser significativa. Para além disto, observei que os efeitos das condições meteorológicas tiveram efeitos significativos na morfologia, fisiologia e sucesso de emancipação do chapim-real e chapim-azul, durante os 15 dias que as crias estiveram no ninho para os anos 2005, 2006 e 2020.

A temperatura revelou ser uma variável importante na condição corporal, já que é determinante no crescimento, desenvolvimento e atividade de ectoparasitas. Por esta mesma razão, os elevados níveis de Hb e HMC podem ser justificados com a diminuição da temperatura, e a baixa massa corporal do chapim-azul em 2020, com o seu aumento. A antecipação da data de postura em 2020 também se deve ao facto da temperatura ter tido um aumento significativo no mês de Fevereiro desse mesmo ano. Desta forma, percebi que a temperatura pode ter tido um impacto negativo no sucesso reprodutor, como foi observado com a redução no sucesso de emancipação nas crias de chapim-real, uma vez que pode levar, não só à antecipação do surgimento de alimento, como também a uma curta duração no pico de abundância máximo do mesmo. Por isso, é possível que as aves não tenham conseguido adaptar a sua época de reprodução ao pico de alimento.

Este estudo revelou a complexa interação entre fatores bióticos e abióticos existentes nos ecossistemas. Deste modo, é importante continuar a fazer monitorizações destas populações a longo prazo na Mata Nacional do Choupal para perceber se e como estas aves se estão a adaptar às alterações ambientais, para entender a resistência e resiliência destas populações.

Palavras-chave: Alterações climáticas, Sucesso reprodutor, Data de postura, Temperatura, Condição corporal

Abstract

Since the industrial revolution, the climate has been changing, namely the variation in temperature, which has increased by an average of 0.6°C over the last century, occurrence of periods without freezing, intense rainfall, as well as its scarcity. These changes have been identified with the help of long-term climate monitoring and reconstruction. Climate change is a present and future threat to nature conservation and it is necessary to know how it affects species and ecosystems, and how it influences their responses to understand their ability to adapt in a changing environment. The climate is a determining factor for flowering, affecting food availability for insectivorous birds, leading to a short period with appropriate conditions for high breeding success, requiring the birds to adjust their laying date. In addition to the laying date, temperature also affects reproductive and physiological parameters. The aim of this study is to evaluate the effects of climate change, mainly the increase in temperature and weather conditions, on phenological, reproductive and physiological parameters of the great tit (*Parus major*) and blue tit (*Cyanistes caeruleus*).

During the breeding season (April-July) of 2020, I monitored and recorded the evolution and construction of each nest in the Choupal National Forest, to determine the laying date, laying size, hatching date, average mass of the nestlings, average tarsus and body condition and, the number of fledglings. In this process I also ringed the nestlings and took blood samples from the brachial vein. These blood samples were used to measure the erythrocyte sedimentation rate (ESR), haemoglobin (Hb), white blood cell count (WBC), the ratio of heterophils to lymphocytes (H/L), frequency of micronuclei (MNE), nuclear abnormalities (NA) and polychromatics (PCE). In addition to these data, I also used data regarding the great tit from the year 2005 and 2006 and meteorological data collected between the years 2005 and 2020 at the meteorological station of the Escola Agrária de Coimbra.

I detected significant differences in the meteorological variables between the years of study (2005, 2006 and 2020), and the average temperature in 2020 was, in general, higher. I also found significant differences during the breeding season, in litter size, emancipated offspring and emancipation success which was lower in 2020, in the average tarsus which was higher in 2020, and an anticipation of the laying date, although not significant. Furthermore, I observed that weather effects had significant effects on the morphology, physiology and emancipation success of great tit and blue tit during the 15 days that the nestlings were in the nest for the years 2005, 2006 and 2020.

Temperature proved to be an important variable in body condition, as it is determinant in growth, development, and activity of ectoparasites. For this reason, the high levels of Hb and HMC can be explained by the decrease in temperature, and the low body mass of the blue tit in

2020, explained by its increase. The advance of the laying date in 2020 is also due to the fact that the temperature had a significant increase in February of the same year. Consequently temperature may have had a negative impact on breeding success, as observed with the reduction in emancipation success in great tit nestlings, since it can lead not only to the anticipation of the emergence of food, but also the shorter duration of the peak of maximum food abundance. Therefore, it is possible that the birds have not been able to adapt their breeding season to the peak.

This study revealed the complex interaction between biotic and abiotic factors existing in ecosystems. As a result, it is important to continue monitoring these populations in the long term in the Mata Nacional do Choupal to understand if and how these birds are adapting to environmental changes, and to understand the resistance and resilience of these populations.

Keywords: Climate change, Breeding success, Laying date, Temperature, Body condition

Lista de Abreviações

AN	Anormalidades nucleares
ESR	Taxa de sedimentação de eritrócitos
Hb	Hemoglobina
H/L	Rácio entre Heterófilos/Linfócitos
HMC	Hematócrito
MNE	Micronúcleo
PC	Componente Principal
PCA	Análise de Componentes Principais
PCE	Policromático
WBC	Número de glóbulos brancos

Lista de Figuras

Figura 1. Procedimentos no campo: (A) anilhagem; (B) medição do tarso; (C) pesagem e (D) recolha de sangue.....	24
Figura 2. Temperatura média (\pm desvio padrão) ($^{\circ}$ C) relativa aos meses de Fevereiro a Julho dos anos 2005, 2006 e 2020.....	31
Figura 3. Humidade relativa (\pm desvio padrão) (%) relativa aos meses de Fevereiro a Julho dos anos 2005, 2006 e 2020.....	31
Figura 4. Velocidade do vento (\pm desvio padrão) (km/h) relativa aos meses de Fevereiro a Julho dos anos 2005, 2006 e 2020.....	32
Figura 5. Análise de Componentes Principais (PCA) para 2020 dos parâmetros fenológicos e reprodutivos do chapim-real nos anos 2005, 2006 e 2020 (eixo 1 x eixo 2).	35
Figura 6. Análise de Componentes Principais (PCA) dos parâmetros fenológicos e reprodutivos do chapim-real nos anos 2005, 2006 e 2020 (eixo 1 x eixo 3).	35
Figura 7. Representação gráfica das ninhadas de acordo com os scores obtidos na Análise de Componentes Principais (PCA) dos parâmetros fenológicos e reprodutivos do chapim-real representados na Figura 5.....	36
Figura 8. Representação gráfica das ninhadas de acordo com os scores obtidos na Análise de Componentes Principais (PCA) dos parâmetros fenológicos e reprodutivos do chapim-real representados na Figura 6.....	36

Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Peso médio das crias de chapim-real e de chapim-azul relativamente ao dia de eclosão. (Gosler, A., McCleery, R. and Quinn, J., Unpublished).....23
- Tabela 2.** Comparação entre os valores (média \pm desvio padrão) das variáveis meteorológicas para os meses de Fevereiro e Julho entre os anos 2005, 2006 e 2020.29
- Tabela 3.** Comparação estatística das variáveis meteorológicas dos meses de Fevereiro a Julho, entre os anos 2005, 2006 e 2020. Valores de F correspondentes à ANOVA de 1 via e H ao teste de Kruskal-Wallis. O teste de Tukey revelou os anos entre os quais se registaram diferenças significativas.....30
- Tabela 4.** Valores (média \pm desvio padrão) das variáveis fenológicas e reprodutivas das ninhadas do chapim-real (*Parus major*) dos anos 2005, 2006 e 2020, e valores de F e P obtidos a partir de uma ANOVA de uma via. As diferentes letras (a e b) indicam diferenças significativas entre anos obtidas através do teste de Tukey.33
- Tabela 5.** Valores (média \pm desvio padrão) das variáveis fenológicas e reprodutivas do chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*) em 2020.34
- Tabela 6.** Valores (média \pm desvio padrão) das variáveis fisiológicas das crias de chapim-real (*Parus major*) nos anos 2005 e 2006.38
- Tabela 7.** Valores (média \pm desvio padrão) das variáveis fisiológicas das crias de chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*) no ano 2020.....38
- Tabela 8.** Valores do eigenvalue, percentagem de variância total explicada e score de cada variável meteorológica para cada componente principal, obtido através da Análise de Componentes Principais (PCA), para as ninhadas de chapim-real (*Parus major*) nos anos 2005, 2006 e 2020.39
- Tabela 9.** Valores do eigenvalue, percentagem de variância total explicada e score de cada variável meteorológica para a componente principal 1, obtido através da Análise de Componentes Principais (PCA), para as ninhadas de chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*) em 2020.40

Tabela 10. Efeito das componentes principais, nas variáveis morfológicas, fisiológicas e sucesso de emancipação das ninhadas do chapim-real (*Parus major*) nos anos 2005, 2006 e 2020..... 41

Tabela 11. Efeito das componentes principais, nas variáveis morfológicas, fisiológicas e sucesso de emancipação das ninhadas do chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*) em 2020..... 42

I. Introdução



1.1. Influência das alterações climáticas na biologia de reprodução das espécies

Desde a revolução industrial que o clima se tem vindo a alterar, nomeadamente, a variação da temperatura, que sofreu um aumento, em média de 0.6°C no decorrer do século passado (Walther *et al.* 2002). Para além deste aumento geral, observou-se um aumento significativo das temperaturas mínimas, refletindo-se numa elevada frequência de dias e noites quentes e baixa frequência de dias e noites frias (Mal *et al.* 2018). Estes aumentos de temperatura levaram a períodos sem congelação, em zonas de média e alta latitude, e conseqüentemente, a uma diminuição na cobertura de neve (Walther *et al.* 2002). Também se registou um aumento de intensas precipitações, que deram origem a inundações, bem como, a sua escassez, que resultou em secas (Mal *et al.* 2018). Estas alterações identificadas com o auxílio de monitorizações e reconstruções climáticas a longo prazo, foram provocadas por atividades antropogénicas, nas quais se produziram emissão de gases como o CO₂ (dióxido de carbono) (Shakun *et al.* 2012; Melillo *et al.* 1990).

As alterações climáticas são consideradas uma ameaça presente e futura para a conservação da natureza (McCarty 2001). Assim, é necessário saber de que forma é que as alterações climáticas afetam espécies e ecossistemas e como influenciam as suas respostas, de maneira, a compreender a sua capacidade de adaptação num ambiente em mudança (Visser *et al.* 2003). Algumas das respostas fenológicas por parte das espécies podem ser: a floração e migrações antecipadas e reprodução e abundância de alimento para animais insetívoros precoce (Walther *et al.* 2002).

O clima é determinante na altura da floração e, deste modo, pode afetar diretamente as aves que se alimentam de folhas, sementes ou frutos ou indiretamente, limitando a disponibilidade de alimento para as presas de aves insectívoras (Englert Duursma *et al.* 2018). Desta forma, existe um curto espaço de tempo que proporciona as condições adequadas para um elevado sucesso reprodutor, sendo então necessário que as aves ajustem a data de postura ao momento de abundância máxima de alimento (Visser *et al.* 2006). Se com o aumento da temperatura na primavera, as aves não tiverem a capacidade para adaptar, de forma flexível, o momento da sua reprodução ao da abundância de alimento, então irá ocorrer um desajuste entre as datas destes dois mecanismos, que poderá levar a uma postura mais reduzida, menor sobrevivência das crias e a impactos no crescimento das mesmas, diminuição no recrutamento, e até a um aumento da mortalidade de adultos no período de migração (Englert Duursma *et al.* 2018; Shave *et al.* 2019; van Noordwijk *et al.* 1995). Por isso, o ideal seria que, em resposta, ao aumento da temperatura, as aves se reproduzissem mais cedo, de forma, a acompanhar a fenologia da sua fonte de alimento e assim, manter a sua aptidão física (Romero-Lankao *et al.* 2014). No entanto, nem todas as aves irão conseguir antecipar a sua data de postura da mesma maneira (Visser *et al.* 2003), e algumas nem registam alterações significativas na mesma como acontece com o chapim-real (*Parus major*) nos Países Baixos (Visser *et al.* 1998). Estas alterações nas datas de postura podem dever-se, principalmente, à variação espacial em grande escala, devido às circunstâncias climáticas e/ou ecológicas dos locais onde habitam as espécies, e

não tanto à variação entre as mesmas, pois é mais provável que haja diferentes respostas por parte de uma mesma espécie que habite zonas com climas díspares, do que quando diferentes espécies habitam o mesmo espaço com as mesmas condições climáticas (Visser *et al.* 2003; Walther *et al.* 2002). Sabe-se que, por exemplo, algumas espécies não migratórias têm a capacidade de acompanhar, em termos fenológicos, o aumento da temperatura na primavera, uma vez que tanto as suas zonas de reprodução, como as de não reprodução se encontram perto umas das outras, o que permite a estas espécies conseguirem responder de forma mais rápida a sinais de aumento das temperaturas na primavera (Pulido & Widmer 2005; Knudsen *et al.* 2011).

O aumento de temperatura, para além de afetar os parâmetros fenológicos, como as datas de postura, também afeta parâmetros reprodutivos, como o tamanho da ninhada, peso dos ovos, massa corporal das crias e a sua sobrevivência (como exposto acima), principalmente quando ocorrem grandes oscilações entre temperaturas mínimas e máximas e com a ocorrência de eventos climáticos extremos, também uma consequência das alterações climáticas.

A antecipação da data de postura, provocada pelo aumento da temperatura, possivelmente resulta num aumento no tamanho da ninhada, isto porque as aves que fazem o seu ninho mais cedo na época de reprodução, também colocam mais ovos do que aqueles que o fazem mais tarde, como foi mostrado em várias espécies de passeriformes (Murphy 1986a). Rowe, Ludwig e Schluter (1994) também afirmaram que os indivíduos que exibem uma boa condição corporal, têm ninhadas mais cedo e maiores e apresentam uma maior aptidão física. Estes autores demonstraram, igualmente, que à medida que avança a época de reprodução, o tamanho da ninhada vai sendo cada vez menor, e dado que a condição das crias será inferior, então para os progenitores não irá compensar pagar os custos reprodutivos mais elevados associados a criar uma ninhada grande. No entanto, Dunn *et al.* (2014) não encontraram evidências de uma relação significativa entre a data de postura e o tamanho da ninhada, acrescentando que na maioria das espécies, a alteração na data de postura ou no número de descendentes teria pouca influência no tamanho da população.

McCarty e Winkler (1999) consideraram que a temperatura ambiente é o melhor indicador de efeitos diretos e indiretos nas alterações da massa corporal de crias. Por conseguinte, o efeito das alterações ambientais no fitness das crias depende também da localização geográfica. Em latitudes mais baixas, como no Kansas, EUA, Murphy (1985) demonstrou que temperaturas mais elevadas levaram a uma perda significativa de massa corporal nas crias, quando expôs diretamente à luz solar, a espécie Suiriri-valente (*Tyrannus tyrannus*), que nidifica em ninhos abertos. Esta diminuição da massa corporal das crias ocorreu, porque os progenitores tiveram de ajustar o seu comportamento, passando a despender mais tempo a cobrir as crias, de forma a evitar o stress térmico, do que a procurar alimento. Por sua vez, em Madrid, Espanha, Salaberria *et al.* (2014) também encontraram evidências de que a elevada temperatura ambiente e a exposição ao calor tinham um impacto negativo na massa corporal do Estorninho-preto (*Sturnus unicolor*), quando observaram que as primeiras posturas, não só, não eram afetadas, como eram beneficiadas pelas elevadas temperaturas que predominavam em Abril e Maio, mas que as

segundas posturas sofriam uma diminuição na sua massa e medidas corporais, devido ao aumento, ainda maior, das temperaturas em Junho e Julho, sugerindo assim que as temperaturas presentes na primeira postura eram consideradas moderadas e, que por isso tinham efeitos positivos nessas ninhadas. No entanto, Dawson *et al.* (2005) encontraram o contrário no Canadá, ao avaliar os efeitos da temperatura na massa corporal da andorinha-das-árvores (*Tachycineta bicolor*), utilizando ninhos com temperatura ambiente (controlo) e ninhos com temperaturas elevadas artificialmente. Nestes últimos, registaram um aumento no crescimento e tamanho das crias, o que pode ser justificado pelo facto de que, na presença de temperaturas mais elevadas os progenitores podem investir mais tempo no forrageamento, ao invés de aquecerem as suas crias. Outra hipótese, é que crias expostas a temperaturas elevadas, investem mais energia no seu crescimento, porque não têm a necessidade de investir tanto na termorregulação. Para além de ajudar no crescimento das crias, este aumento na temperatura, também beneficiou a sua sobrevivência, já que os ninhos aquecidos tiveram mais crias a emancipar-se, com sucesso, relativamente aos ninhos controlo.

Assim como existe uma relação entre a temperatura e o peso das crias, também existe entre a temperatura e o peso dos ovos. Pendlebury e Bryant (2005) provaram isso no seu estudo que decorreu na Escócia, com o chapim-real, observando uma diminuição do peso do ovo quando havia uma elevada variação nas temperaturas durante os 7 dias antes da postura. Isto pode ser explicado, pelo facto de condições com temperaturas mais variáveis estarem associadas a um custo, neste caso, adaptar-se à mudança de temperatura através da termorregulação, levando a que haja um menor investimento na produção dos ovos.

1.2. Efeitos das alterações climáticas nos parâmetros fisiológicos

Outros indicadores considerados importantes para determinar a condição das aves, que também podem ser afetados pelas condições meteorológicas relacionadas com as alterações climáticas, são os parâmetros fisiológicos. Podem ser afetados de forma direta, como mostraram Salaberria *et al.* (2014) quando expuseram, a elevadas temperaturas, crias de estorninho-preto. Esta exposição a altas temperaturas conduziu à sua desidratação e, afetou de forma negativa a sua aptidão física. Para além da desidratação, houve também alterações na sua taxa metabólica, stress oxidativo e na sua capacidade de termorregulação. Por outro lado, Kaliński *et al.* (2019) mostraram que a alteração da fenologia como adaptação às alterações climáticas influenciava positivamente a condição fisiológica das crias de chapim-real, sendo que, as ninhadas que nascem antes possuem níveis de hemoglobina mais elevados, ao contrário do que acontece com as ninhadas que nascem mais tarde. Isto pode estar, principalmente, relacionado com a disponibilidade de alimento que vai diminuindo com o decorrer da época de reprodução, ou então com os elevados níveis de ectoparasitas e parasitas sanguíneos, que vão aumentando ao longo da época de reprodução.

É expectável que o aquecimento global leve a um aumento de doenças transmitidas por vetores, pois tanto a sua abundância, como a sua transmissão estão positivamente relacionadas

com o aumento da temperatura (Lindsay & Birley 1996; Patz & Reisen 2001). Este fator pode, então, ter consequências graves, já que o aumento de parasitismo pode levar a uma redução no crescimento das crias e a uma maior taxa de mortalidade (Van Riper *et al.* 1986; Norte *et al.* 2009; Marzal *et al.* 2005; Donovan *et al.* 2008). Zamora-Vilchis *et al.* (2012) realizaram um estudo com 4 gêneros de parasitas sanguíneos (*Plasmodium*, *Haematoproteus*, *Leucocytozoon* e *Trypanosoma*), presentes em vários passeriformes e, detetaram uma forte relação entre a temperatura e a prevalência de parasitas, mostrando que quando os hospedeiros habitavam zonas com temperaturas mais altas a prevalência de parasitas era mais elevada do que quando os hospedeiros habitavam zonas com temperaturas mais baixas.

A intensidade do parasitismo por este tipo de hemosporídeos está negativamente relacionada com o hematócrito (HMC). O HMC corresponde à percentagem do volume total de sangue ocupado por eritrócitos e é um indicador da capacidade de transporte de oxigénio, estando por isso, positivamente relacionado com a condição de um indivíduo (Dawson & Bortolotti 1997a). A infeção por este tipo de parasitas, que infetam as células sanguíneas do hospedeiro e levam à sua destruição, pode conduzir a uma anemia, comprovada pela redução do HMC. Para além disso, os dípteros, vetores destes parasitas, são hematófagos que consomem sangue dos seus hospedeiros (Merino & Potti 1996).

De um modo geral, o HMC pode ser um indicador de saúde (Hoffman *et al.* 1985; Whitworth & Bennett 1992), não só por estar relacionado com o estado de infeção e parasitismo mas também porque valores elevados indicam a capacidade de transporte de oxigénio no sangue e a capacidade anabólica, geralmente elevada em indivíduos com uma boa condição física e acesso a fonte de alimento adequada, uma vez que a produção de glóbulos vermelhos envolve um custo energético. No entanto, um HMC demasiado elevado pode significar um estado de desidratação (Fair *et al.* 2007; Johnstone *et al.* 2015). Markowski *et al.* (2005) detetaram diferenças nos valores do HMC entre anos no chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*), sendo que o seu valor aumentava em presença de temperaturas baixas, que pode ser explicado pela realização de termogénese, um processo que envolve alterações na capacidade de absorção de oxigénio em organismos expostos a diferentes temperaturas. Na presença de baixas temperaturas, as necessidades de oxigénio aumentam, levando ao aumento do HMC. No entanto, Ardia (2013) encontrou o efeito oposto na andorinha-das-árvores, observando um valor mais elevado do HMC em caixas-ninho com temperaturas mais elevadas do que em caixas-ninho com temperaturas mais baixas. Este estudo foi realizado num prado aberto, pelo que as caixas-ninho estavam mais expostas à luz solar e, por isso, a temperatura aumentou bastante nas caixas-ninho, levando a um estado de desidratação que resultou no aumento do HMC.

A taxa de sedimentação de eritrócitos (ESR) é um indicador importante de elevados níveis de imunoglobinas e proteínas de fase aguda que estão associadas a doenças inflamatórias e infecciosas, podendo ser utilizada como uma medida não específica na monitorização da atividade da doença e no auxílio no diagnóstico de doenças inflamatória (Vennapusa *et al.* 2011; Bleu *et al.* 2017; Heylen and Matthysen 2008). Bleu *et al.* (2017) verificaram uma relação entre a

temperatura e a ESR, através do seu estudo em França com o chapim-real, no qual utilizaram 41 caixas-ninho controlo e 41 caixas-ninho aquecidas artificialmente. Nas ninhadas das caixas-ninho controlo observaram que a ESR era mais elevada quando as ninhadas eclodiam mais tarde do que nas ninhadas que eclodiam mais cedo, mostrando que com o decorrer da época de reprodução a condição fisiológica das crias diminuía. Nas ninhadas das caixas-ninho aquecidas não se verificou esta correlação, porque as fêmeas destas caixas-ninho reduziam o tamanho da ninhada quando realizavam a postura mais tarde, permitindo-lhes criar crias mais saudáveis. Além da temperatura, o parasitismo também pode alterar a ESR, como mostraram Heylen e Matthysen (2008), com o seu estudo realizado na Bélgica, quando testaram os efeitos da carraça *Ixodes ricinus* na saúde do chapim-real. Como já esperavam, Heylen e Matthysen (2008), verificaram um aumento da ESR com o parasitismo desta carraça.

É essencial ter em conta outros parâmetros sanguíneos, como as anomalias nucleares (AN) nos eritrócitos, o número total de glóbulos brancos (WBC) e a relação entre heterófilos/linfócitos (H/L), que fornecem indicadores fisiológicos para avaliar a instabilidade do genoma, o estado imunitário de uma ave, e avaliar respostas de stress fisiológico a alterações no ambiente (Kursa & Bezrukov 2008; Olmastroni 2019). Martínez-Haro *et al.* (2017) avaliaram os efeitos da perturbação antropogénica na frequência de micronúcleos (MNE) e de anomalias nucleares (AN) em eritrócitos, da coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*), em 2 locais do México, Aguascalientes e El Lano. Aguascalientes é considerada uma área urbana com elevadas perturbações antropogénicas, daí que seja uma zona que afeta negativamente a qualidade do habitat, pelo contrário, El Lano é uma área com muitas zonas de pastagem e agrícolas. Tanto as AN como os MNE tiveram uma frequência elevada em Aguascalientes e uma frequência baixa em El Lano, sendo por isso, considerados bioindicadores para estimar danos genotóxicos provocados por agentes físicos, químicos ou biológicos.

A relação H/L é considerada um indicador de stress, uma vez que aumenta quando os indivíduos são submetidos a fatores de stress, como fome ou doenças infecciosas (Gross & Siegel 1983). Sabendo isto, Kilgas *et al.* (2006) realizaram um estudo na Escócia com o chapim-real, no qual observaram que aves com menores taxas de sobrevivência têm valores de H/L mais elevados no fim da época de reprodução, do que aquelas que sobrevivem. Possivelmente, os indivíduos que não sobreviveram fizeram um esforço reprodutivo mais intenso, o que levou a que tivessem níveis de stress mais elevados. Assim como a relação H/L, o WBC também é um importante indicador de stress e essencial para a eficácia do sistema imunitário, sendo que os leucócitos constituem a primeira linha de defesa do sistema imunitário inato, daí que os seus valores variem com infeções ou doenças. As infeções, geralmente, causam aumentos no número total de leucócitos, mas se existir um fator de stress, este pode levar a que o sistema imunitário fique inibido, levando à diminuição do número de leucócitos (Maxwell 1993; Davis *et al.* 2008). Nathan *et al.* (1976) demonstraram isto com o seu estudo em galos (*Gallus gallus domesticus*), quando os sujeitaram, de forma artificial, a uma temperatura de 42°C, primeiro com uma duração de 1 hora, onde observou uma diminuição significativa dos leucócitos durante 4 horas até começarem a retomar

os seus valores normais de maneira gradual. Posteriormente, os galos estiveram sujeitos a essa temperatura durante 2 horas, levando a um efeito ainda mais significativo, com um esgotamento dos linfócitos circulantes durante mais tempo, mostrando assim, que a redução do número de linfócitos constitui uma resposta ao stress.

Outro indicador relevante para determinar o estado de saúde das aves é a proteína total, que foi medida por Norte *et al.* (2008) em crias de chapim-real em 2 locais: Mata do Choupal, em Portugal e na floresta Wytham no Reino Unido. No Choupal detetaram uma diminuição na proteína total nas crias que eclodiam mais tarde e uma diminuição significativa ao longo da época de reprodução. No entanto, na floresta de Wytham a proteína total apenas diminuiu no início da época de reprodução, aumentando novamente, no final da mesma.

1.3. Influência das mudanças climáticas em medidas reprodutivas e fisiológicas de aves florestais que se reproduzem em cavidades

Para este projeto, o grande objetivo é avaliar os efeitos das alterações climáticas, principalmente o aumento da temperatura, e das condições meteorológicas, nos parâmetros fenológicos, reprodutores e fisiológicos do chapim-real e chapim-azul. Esta avaliação é realizada através da comparação dos dados meteorológicos e dados de reprodução obtidos em 2005/2006 com dados atuais (2020), nomeadamente: data de postura, tamanho da ninhada, peso médio dos ovos, sucesso de incubação, peso médio e condição corporal das crias e o sucesso de emancipação na Mata Nacional do Choupal. As condições meteorológicas registadas durante o período em que as crias estavam no ninho, um período crítico para o sucesso reprodutor dos indivíduos, serão relacionadas com parâmetros fisiológicos da ninhada, nomeadamente: proteína total, hematócrito (HMC), hemoglobina (Hb), número total de glóbulos brancos (WBC), o rácio entre heterófilos e linfócitos (H/L), número de micronúcleos (MNE) e de e taxa de sedimentação de eritrócitos (ESR).

É expectável que com o decorrer dos anos tenham existido respostas às alterações climáticas, por parte destas aves insectívoras. Uma destas respostas será a adaptação da data de postura, que se prevê que ocorra mais cedo. No entanto, apesar de esperar uma data de postura mais precoce, isso não implica que esta coincida com o pico de abundância de alimento, podendo levar a uma diminuição da massa corporal das crias e, conseqüentemente, a uma aptidão física mais baixa patente nos parâmetros fisiológicos de saúde que poderia resultar num baixo sucesso de emancipação.

Também se prevê que com a ocorrência de condições meteorológicas mais variáveis e extremas, como precipitações intensas, haja uma condição corporal mais enfraquecida das crias retratada pela diminuição nos níveis de eritrócitos (hematócrito e concentração de hemoglobina) e o aumento de anomalias nos mesmos, aumento do rácio H/L e diminuição dos níveis de proteína total.

Este estudo pretende assim inferir se as tendências observadas na Mata Nacional do Choupal, numa região Mediterrânica, coincidem com o que já foi observado noutras populações

da Europa, para desta forma, melhorar a capacidade de prever o que pode acontecer com este tipo de passeriformes no futuro.

2. Métodos



2.1. Local de estudo

Este estudo foi realizado na Mata Nacional do Choupal (40°13'N, 08°27'E), que constitui o maior parque em Coimbra, rodeado de um dos lados pelo Rio Mondego e com uma área total de 79 hectares. É descrito como tendo uma rua principal que se ramifica em vários caminhos e, caracteriza-se por ser um bosque misto de folhosas, na sua maioria, caducifólias.

Relativamente à sua fauna, o Choupal, é considerado o parque de Coimbra com maior diversidade animal, contando com uma vasta quantidade de espécies de aves que, na sua maioria, estão protegidas por convenções internacionais de protecção de fauna selvagem (<http://www2.icnf.pt/portal/florestas/gf/pgf/publicitacoes/encerradas/dcnf-centr/pgf-mata-nacional-do-choupal>, 20/05/2021).

2.2. Espécies em estudo

As espécies utilizadas para este estudo foram: o chapim-real (*Parus major*) e o chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*). Ambas espécies nidificam em cavidades e possuem uma distribuição muito vasta, habitando zonas como bosques e parques urbanos. Caracterizam-se por serem aves de pequeno porte, sendo que, a massa corporal do chapim-real varia entre 13 e 21 gramas e a do chapim-azul varia entre 9 e 15 gramas. O chapim-real exibe uma plumagem preta e branca na cabeça e amarela na zona do ventre, e o chapim-azul possui uma plumagem azul e branca na cabeça e amarela na zona do ventre. Ambas espécies têm uma ampla dieta à base de insetos, sementes e frutos (Gosler 1993; Stenning 2018).

São espécies cuja biologia é bem conhecida, com inúmeros estudos sobre elas, daí que sejam bons modelos para este estudo (Norte *et al.* 2009; Furness 1993).

2.3. Dados fenológicos e reprodutivos

Para realizar este projeto instalei 99 caixas-ninho nas árvores ao longo da Mata Nacional do Choupal, de forma aleatória. Coloquei-as a cerca de 3 metros do solo e orientadas para Sul ou Este, de forma a terem o máximo de luz possível.

Desde o início de Abril de 2020, visitei cada caixa-ninho, pelo menos, uma vez por semana, de forma a acompanhar e registar a evolução da construção de cada ninho, assim como a ocorrência de ovos. No momento em que detetei ovos nos ninhos, estes foram contados para determinar a data de postura, uma vez que, geralmente, estas espécies colocam um ovo por dia. Se os ovos ainda não estavam a ser incubados, estes foram pesados ($n = 2$ a 3) com o auxílio de uma Pesola (Pesola AG, Schindellegi, Switzerland), e calculei o peso médio de cada ovo por ninho. O tamanho de postura foi considerado o número máximo de ovos incubados.

Após a eclosão dos ovos, pesei as crias e usei o seu peso médio para estimar a sua data de eclosão, com o auxílio de curvas de crescimento calculadas, especificamente, para o chapim-real e para o chapim-azul (Tabela 1). Quando as crias tinham 15 dias de idade (data de eclosão = dia 1), anilhei as crias (Fig. 1A) para identificação individual. Pesei, novamente, as crias com o auxílio da Pesola (Fig. 1C) e medi o seu tarso com uma craveira (Fig. 1B), que me permitiu

calcular o índice de condição corporal. Foi retirada uma amostra de sangue (Fig. 1D) das crias de chapim-azul – a veia braquial foi perfurada com uma agulha e a amostra de sangue (cerca de 75µl) foi recolhida com um microcapilar heparinado. Uma fração deste sangue foi usado para fazer um esfregaço que foi seco ao ar, a outra foi mantida no capilar heparinado, na vertical, a 4°C durante 4 horas para medir a ESR. Finalmente, 18 a 22 dias após a eclosão fui verificar se as crias tinham abandonado o ninho, para assim, calcular o seu sucesso de emancipação.

Tabela 1. Peso médio das crias de chapim-real e de chapim-azul relativamente ao dia de eclosão (Gosler, A., McCleery, R. and Quinn, J., Unpublished).

Idade (dias)	Peso (g)	
	Chapim-real	Chapim-azul
1 (dia de eclosão)	0-2	0.9-1.3
2	2-3	1.3-1.9
3	3-4.3	1.9-2.7
4	4.3-6.0	2.7-3.6
5	6.0-7.7	3.6-4.8
6	7.7-9.4	4.8-5.9
7	9.4-11.2	> 5.9
8	11.2-13.0	
9	13.0-14.6	
10	> 14.6	

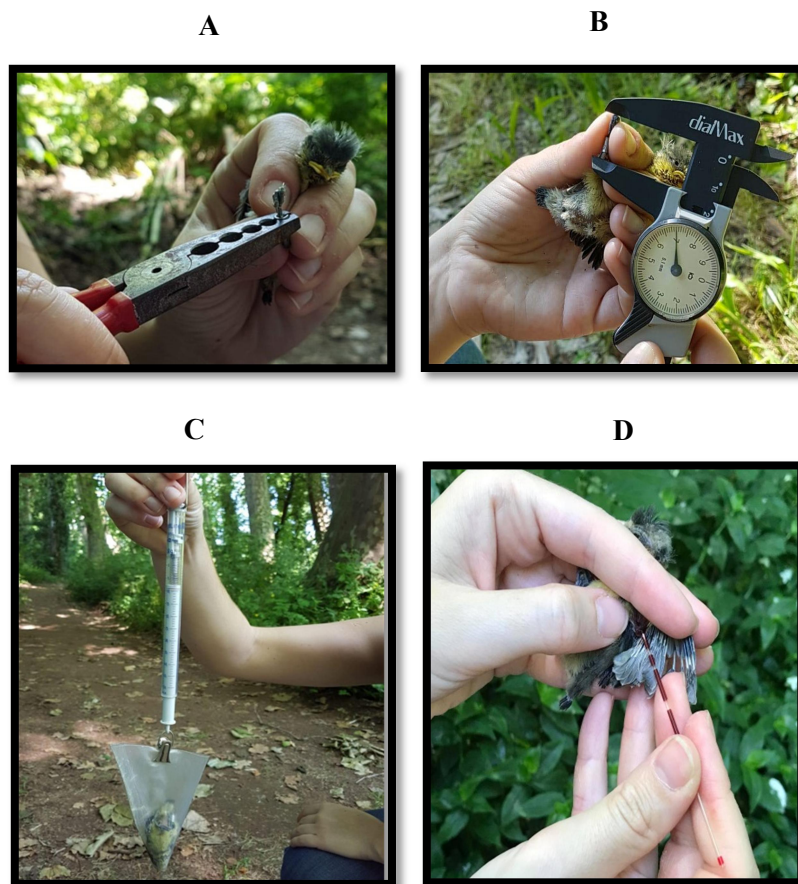


Figura 1. Procedimentos no campo: (A) anilhagem; (B) medição do tarso; (C) pesagem e (D) recolha de sangue.

2.4. Dados fisiológicos

A taxa de sedimentação de eritrócitos foi avaliada através da medição do rácio entre a fração do microcapilar ocupada pelo plasma e a fração ocupada pela totalidade da amostra de sangue no tubo capilar (Bleu et al. 2017). Após esta medição, a amostra de sangue foi transferida para um microtubo e congelada a -20°C para análise de hemoglobina. Para medir a hemoglobina, esta foi medida em sangue total com um kit comercial (número de catálogo MAK115, Sigma Aldrich, Saint Louis, USA).

Os esfregaços foram fixados com metanol durante 7 minutos e corados com Giemsa durante 45 minutos. Foram observados ao Microscópio Óptico Composto (MOC) numa ampliação de 1000x, com o objetivo de contar o número de glóbulos brancos, o número de eritrócitos policromáticos (jovens) e o número de micronúcleos e outras anormalidades nucleares por 10000 eritrócitos totais. Isto foi feito através da observação de 23 campos por lâmina com uma distribuição homogénea e não sobreposta de eritrócitos, onde estimei a presença de 10000 eritrócitos. O rácio entre heterófilos e linfócitos foi estimado através da observação e classificação de 100 glóbulos brancos em linfócitos, heterófilos, eosinófilos, basófilos e monócitos.

As anomalias identificadas nos eritrócitos maduros e jovens, incluíram para além dos “micronucleus” (MNE), “budding nucleus” (BN), “two-lobe nucleus” (TLN), “tailed nucleus” (TN), “notched nucleus” (NN), “binucleated nucleus” (BiN), “kidney shaped nucleus” (KN), “nucleoplasmatic bridges” (NB), “vacuolated nucleus” (VN) e “unknown nuclear malformation” (UNM) (Olmastroni 2019).

2.5. Dados meteorológicos

Neste trabalho irei utilizar dados meteorológicos recolhidos entre os anos 2005 e 2020 na estação meteorológica da Escola Agrária de Coimbra, nomeadamente: médias diárias da temperatura média, máxima e mínima (°C); Humidade relativa (%); Radiação solar global (MJ m⁻² d⁻¹); Velocidade do vento (km/h) e Pluviosidade (mm).

2.6. Análise estatística

Para além dos dados relativos aos parâmetros reprodutivos, fenológicos e de condição corporal do chapim-real e chapim-azul recolhidos em 2020, também utilizei igualmente dados de chapim-real recolhidos em 2005 e 2006 – estes incluem para além de parâmetros reprodutivos e fenológicos, parâmetros de condição corporal, obtida através de uma regressão linear entre o tarso e a massa corporal aos 15 dias, por espécie de ave. Os resíduos dessa regressão foram considerados como índice de condição corporal (Norte *et al.* 2008).

Reunindo estes dados, realizei o teste de Kolmogorov-Smirnov (K-S), para aferir a distribuição dos mesmos, sendo que aqueles que não tiveram uma distribuição normal foram transformados: para o tamanho de postura, tamanho de ninhada, número de crias emancipadas, hematócrito, proteína, hemoglobina, número de glóbulos brancos, diferencial entre heterófilos e linfócitos, taxa de sedimentação de eritrócitos, número de micronúcleos e número de outras anomalias apliquei a transformação raiz quadrada; para o sucesso de emancipação, o sucesso de eclosão apliquei a transformação arcseno e, para a temperatura média, temperatura máxima, temperatura mínima, humidade relativa, radiação solar global, velocidade do vento, pluviosidade e número de policromáticos apliquei a transformação logaritmo.

Após esta análise, testei se existiam diferenças nos dados meteorológicos no período pré-reprodução, mais especificamente, entre os meses de Fevereiro e Julho, entre os anos 2005, 2006, 2020 e 2021, recorrendo a uma ANOVA de uma via. Para avaliar os padrões de variação dos parâmetros de reprodução, fenológicos e de condição corporal, e se estes poderão ser explicados pelas diferenças meteorológicas entre anos, realizei também ANOVAs de uma via. No caso de serem detetadas diferenças, efetuei o teste de Tukey para saber em que anos existiram diferenças significativas. Estas comparações foram complementadas com uma análise multivariada de componentes principais (PCA), através da qual foram verificados padrões de variação tanto nos parâmetros reprodutores, como nos parâmetros meteorológicos entre anos.

Por fim, relacionei os dados meteorológicos registados durante o período em que as crias de chapim-real e chapim-azul estiveram no ninho para os anos 2005, 2006 e 2020, com os

parâmetros de condição corporal e fisiológica das crias aos 15 dias, através de General Linear Models (GLM), no qual selecionei como variáveis explicativas os eixos extraídos da análise de componentes principais com as variáveis meteorológicas, como variável fixa o tamanho da ninhada e como variável dependente os parâmetros de condição corporal e fisiológica.

3. Resultados



3.1. Análise descritiva

A comparação das variáveis meteorológicas (Tabela 2 e 3) durante a época de reprodução do chapim-real e do chapim-azul entre os anos de estudo (2005, 2006 e 2020) revelou que existiram diferenças significativas ($p < 0,05$) na temperatura média para os meses de Fevereiro, Abril, Maio e Junho; na temperatura máxima para os meses de Fevereiro, Abril, Junho e Julho; na temperatura mínima para os meses de Fevereiro, Abril e Maio; na humidade relativa para todos os meses; na radiação solar para os meses de Março, Abril e Julho; na velocidade do vento para todos os meses e, finalmente na pluviosidade para o mês de Março. De realçar que a temperatura média para o mês de Fevereiro aumentou significativamente de 2005 para 2020.

No geral, a temperatura média foi mais elevada em 2020, excepto no mês de Abril, que foi mais elevada em 2006 e no mês de Junho que foi mais elevada em 2005 (Fig. 2). A humidade relativa foi também significativamente maior em 2020 (Fig. 3) e a velocidade do vento, significativamente menor (Fig. 4).

Tabela 2. Comparação entre os valores (média \pm desvio padrão) das variáveis meteorológicas para os meses de Fevereiro e Julho entre os anos 2005, 2006 e 2020.

	Temperatura Média (°C)	Temperatura Máxima (°C)	Temperatura Mínima (°C)	Humidade Relativa (%)	Radiação Solar ($\text{MJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	Velocidade do vento (km/h)	Pluviosidade (mm)
2005							
Fevereiro	7,52 \pm 1,76	15,49 \pm 2,51	0,91 \pm 2,48	70,63 \pm 13,14	11,65 \pm 2,19	4,94 \pm 2,56	0,89 \pm 2,90
Março	12,32 \pm 3,93	19,62 \pm 4,17	6,07 \pm 4,97	69,33 \pm 13,44	12,96 \pm 3,52	5,37 \pm 1,98	1,97 \pm 4,78
Abril	14,10 \pm 2,04	20,69 \pm 3,68	8,14 \pm 2,65	76,03 \pm 10,21	16,48 \pm 5,42	4,48 \pm 1,02	1,98 \pm 4,13
Maiο	17,24 \pm 2,09	24,75 \pm 3,00	10,33 \pm 2,49	70,51 \pm 8,42	20,67 \pm 4,88	4,50 \pm 1,10	0,79 \pm 2,23
Junho	22,23 \pm 2,40	29,17 \pm 4,44	15,29 \pm 1,91	61,50 \pm 8,37	20,97 \pm 4,74	4,52 \pm 0,90	0,09 \pm 0,47
Julho	22,34 \pm 1,78	29,28 \pm 3,21	15,38 \pm 2,82	60,99 \pm 7,29	20,89 \pm 4,29	5,00 \pm 0,94	0,15 \pm 0,62
2006							
Fevereiro	8,64 \pm 2,01	15,81 \pm 2,76	3,11 \pm 2,94	78,55 \pm 7,56	10,19 \pm 3,10	4,16 \pm 1,33	3,46 \pm 6,93
Março	12,44 \pm 2,34	17,47 \pm 3,31	8,00 \pm 3,52	82,19 \pm 6,35	10,14 \pm 4,85	4,96 \pm 2,15	4,28 \pm 7,74
Abril	15,53 \pm 2,03	22,51 \pm 3,67	9,91 \pm 2,31	74,09 \pm 10,04	18,09 \pm 5,19	4,49 \pm 1,45	2,33 \pm 5,17
Maiο	18,13 \pm 3,81	26,20 \pm 5,20	10,47 \pm 3,20	66,58 \pm 10,00	22,50 \pm 4,20	3,97 \pm 0,67	0,29 \pm 0,81
Junho	20,80 \pm 1,92	28,11 \pm 4,06	14,73 \pm 1,63	67,71 \pm 13,01	21,18 \pm 6,18	4,49 \pm 0,77	1,09 \pm 3,75
Julho	22,96 \pm 2,75	31,11 \pm 4,43	16,35 \pm 2,29	68,74 \pm 5,52	22,37 \pm 3,64	4,04 \pm 0,69	0,05 \pm 0,25
2020							
Fevereiro	13,06 \pm 1,68	19,33 \pm 3,00	8,23 \pm 3,24	86,50 \pm 5,89	11,29 \pm 4,35	2,93 \pm 1,10	1,14 \pm 2,61
Março	13,11 \pm 1,89	18,75 \pm 3,51	8,26 \pm 2,58	83,05 \pm 7,61	14,90 \pm 5,54	3,85 \pm 1,84	2,77 \pm 8,08
Abril	14,71 \pm 1,83	19,62 \pm 2,20	10,53 \pm 2,94	86,66 \pm 4,42	14,42 \pm 5,04	3,55 \pm 1,36	3,01 \pm 4,56
Maiο	19,24 \pm 2,94	26,19 \pm 4,58	13,44 \pm 2,14	80,36 \pm 8,12	22,49 \pm 6,18	2,97 \pm 0,77	1,82 \pm 4,03
Junho	19,57 \pm 2,10	25,96 \pm 2,98	13,80 \pm 2,79	77,44 \pm 4,60	23,14 \pm 6,85	3,01 \pm 0,56	0,25 \pm 0,89
Julho	23,69 \pm 2,30	33,43 \pm 3,55	16,28 \pm 2,20	71,00 \pm 6,97	27,14 \pm 2,95	3,01 \pm 0,63	0,20 \pm 1,08

Tabela 3. Comparação estatística das variáveis meteorológicas dos meses de Fevereiro a Julho, entre os anos 2005, 2006 e 2020. Valores de F correspondentes à ANOVA de 1 via e H ao teste de Kruskal-Walis. O teste de Tuckey revelou os anos entre os quais se registaram diferenças significativas.

	Temperatura Média (°C)	Temperatura Máxima (°C)	Temperatura Mínima (°C)	Humidade Relativa (%)	Radiação Solar (MJ m ⁻² d ⁻¹)	Velocidade do vento (km/h)	Pluviosidade (mm)
Fevereiro	F_{2,82} = 74,42 p < 0,001 2020 > 2005, 2006	F_{2,82} = 17,06 p < 0,001 2020 > 2005, 2006	F_{2,82} = 47,83 p < 0,001 2020 > 2006 > 2005	H (2, N = 85) = 29,20; p < 0,001 2020 > 2006 > 2005	H (2, N = 85) = 3,22; p = 0,200	H (2, N = 85) = 25,60; p < 0,001 2020 < 2005, 2006	H (2, N = 85) = 3,94; p = 0,140
Março	H (2, N = 93) = 1,75; p = 0,416	F _{2,90} = 2,68 p = 0,074	H (2, N = 93) = 2,87; p = 0,238	H (2, N = 93) = 23,22; p < 0,001 2005 < 2006, 2020	H (2, N = 93) = 12,28; p = 0,002 2020 > 2006	F_{2,90} = 4,78 p = 0,011 2005 > 2020	F _{2,90} = 0,87 p = 0,424
Abril	F_{2,87} = 3,97 p = 0,022 2006 > 2005	H (2, N = 90) = 9,18; p = 0,010 2006 > 2020	F_{2,87} = 6,59 p = 0,002 2005 < 2006, 2020	H (2, N = 90) = 33,44; p < 0,001 2020 > 2005, 2006	F_{2,87} = 3,72 p = 0,028 2006 > 2020	F_{2,87} = 5,29 p = 0,007 2020 < 2005, 2006	F _{2,87} = 0,38 p = 0,685
Maio	H (2, N = 93) = 7,19; p = 0,027 2020 > 2005	F _{2,90} = 1,02 p = 0,365	F_{2,90} = 13,67 p < 0,001 2020 > 2005, 2006	F_{2,90} = 19,79 p < 0,001 2020 > 2005, 2006	H (2, N = 93) = 3,85; p = 0,146	H (2, N = 93) = 33,56; p < 0,001 2005 > 2006 > 2020	H (2, N = 93) = 2,19; p = 0,335
Junho	F_{2,87} = 11,47 p < 0,001 2005 > 2006, 2020	F_{2,87} = 5,33 p = 0,007 2005 > 2020	H (2, N = 90) = 4,84; p = 0,089	H (2, N = 90) = 44,45; p < 0,001 2020 > 2006 > 2005	H (2, N = 90) = 3,20; p = 0,202	F_{2,87} = 39,02 p < 0,001 2020 < 2005, 2006	H (2, N = 90) = 2,20; p = 0,333
Julho	F _{2,90} = 2,66 p = 0,076	F_{2,90} = 9,46 p < 0,001 2020 > 2005, 2006	F _{2,90} = 1,52 p = 0,225	F_{2,90} = 19,38 p < 0,001 2005 < 2006, 2020	F_{2,90} = 24,66 p < 0,001 2020 > 2005, 2006	F_{2,90} = 52,82 p < 0,001 2005 > 2006 > 2020	H (2, N = 93) = 0,45; p = 0,800

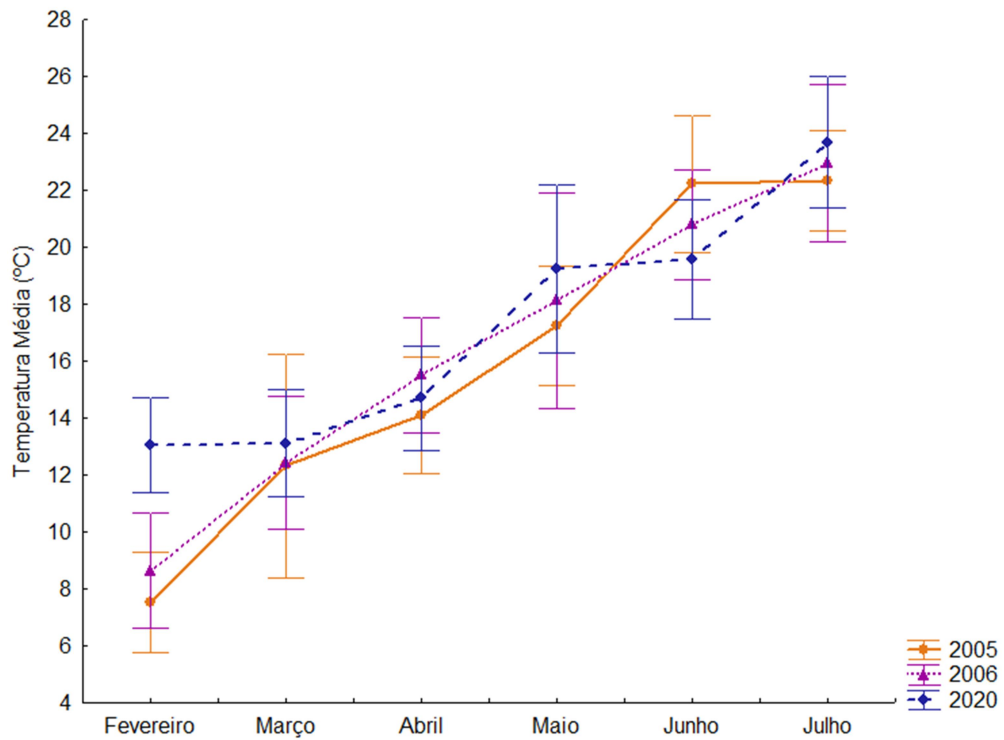


Figura 2. Temperatura média (\pm desvio padrão) ($^{\circ}$ C) relativa aos meses de Fevereiro a Julho dos anos 2005, 2006 e 2020.

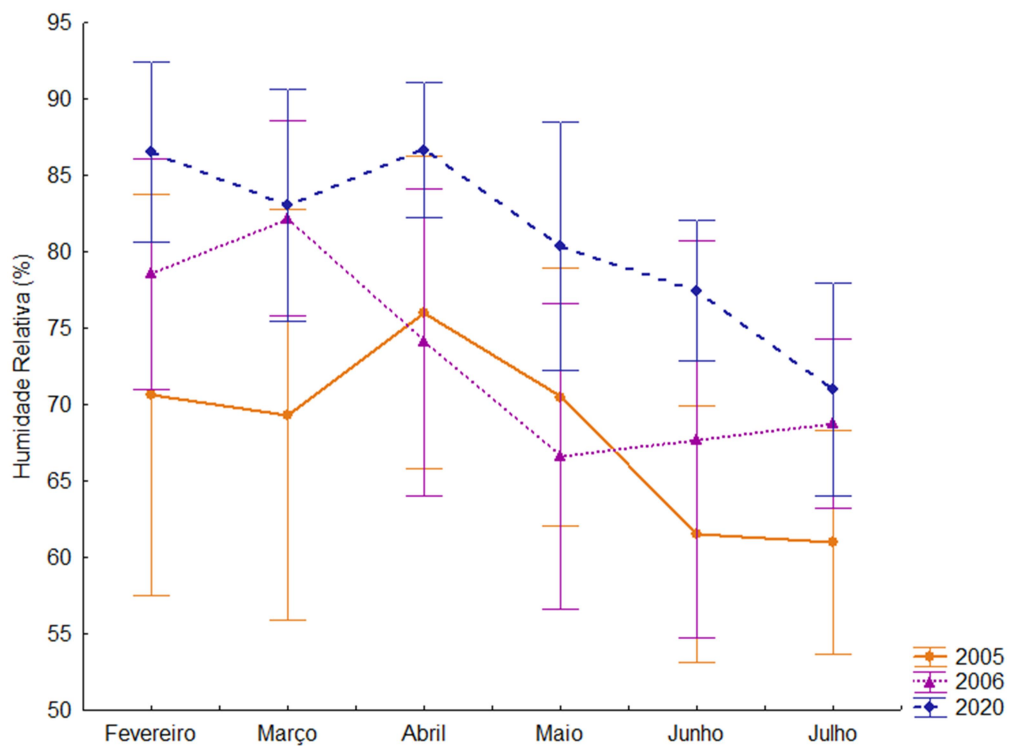


Figura 3. Humidade relativa (\pm desvio padrão) (%) relativa aos meses de Fevereiro a Julho dos anos 2005, 2006 e 2020.

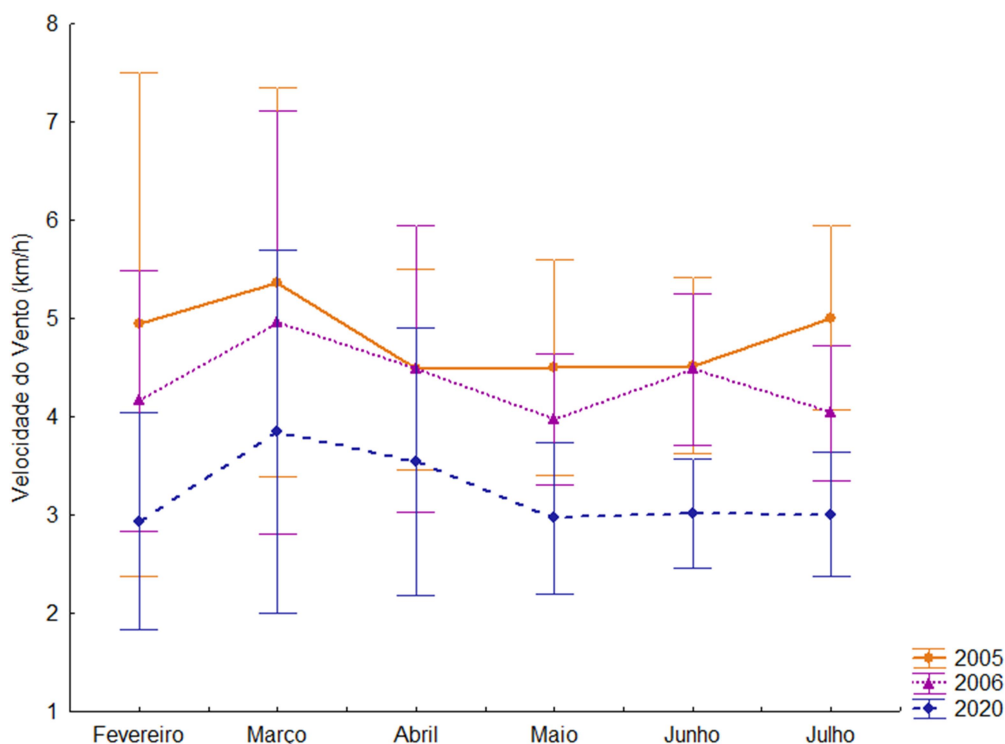


Figura 4. Velocidade do vento (\pm desvio padrão) (km/h) relativa aos meses de Fevereiro a Julho dos anos 2005, 2006 e 2020.

3.2. Análise da época de reprodução nos anos 2005, 2006 e 2020

Na Tabela 4 e 5 estão representados os parâmetros fenológicos e reprodutivos do chapim-real e do chapim-azul, respetivamente, para os anos 2005 e 2006 (chapim-real) e 2020 (chapim-real e chapim-azul). A comparação destas variáveis entre anos para o chapim-real revelou que o tamanho da ninhada diferiu significativamente entre anos, tendo sido menor no ano de 2020 relativamente aos anos de 2005 e 2006. O número de crias que voaram do ninho (emancipadas) foi também significativamente menor no ano de 2020 do que em 2005, refletindo-se num sucesso de emancipação mais baixo neste ano. No entanto, aos 15 dias no ano de 2020, as crias tinham um tarso mais desenvolvido do que no ano de 2005. Para além destas diferenças, pude observar que a data de postura foi antecipada, em quase 4 dias, em 2020 quando comparado com 2006, tal como a data de eclosão, embora estas diferenças não tenham sido significativas.

Tabela 4. Valores (média \pm desvio padrão) das variáveis fenológicas e reprodutivas das ninhadas do chapim-real (*Parus major*) dos anos 2005, 2006 e 2020, e valores de F e P obtidos a partir de uma ANOVA de uma via. As diferentes letras (a e b) indicam diferenças significativas entre anos obtidas através do teste de Tukey.

	2005	2006	2020	Estatística
Data de postura (data juliana ¹)	112,13 \pm 17,98	114,00 \pm 21,83	110,42 \pm 15,93	F _{2,71} = 0,23; p = 0,796
Data de eclosão (data juliana ¹)	131,39 \pm 16,69	132,17 \pm 20,30	128,25 \pm 13,12	F _{2,69} = 0,32; p = 0,729
Tamanho da postura (nº de ovos/ninho)	6,22 \pm 0,90	5,96 \pm 1,43	5,17 \pm 1,52	F _{2,73} = 2,15; p = 0,124
Tamanho da ninhada (nº de crias/ninho)	5,30 \pm 1,15 ^a	5,21 \pm 1,29 ^a	4,25 \pm 1,98 ^b	F_{2,73} = 4,36; p = 0,016
Massa média dos ovos (g)	1,61 \pm 0,13	1,66 \pm 0,16	1,67 \pm 0,15	F _{2,55} = 1,01; p = 0,370
Massa média das crias (g)	15,90 \pm 1,69	16,36 \pm 1,52	15,80 \pm 2,21	F _{2,64} = 0,70; p = 0,502
Média do tarso das crias (mm)	18,49 \pm 0,72 ^b	18,73 \pm 0,75 ^{ab}	19,08 \pm 0,56 ^a	F_{2,65} = 3,34; p = 0,042
Número de crias emancipadas	4,04 \pm 1,80 ^a	4,76 \pm 1,38 ^a	2,82 \pm 2,06 ^b	F_{2,73} = 11,65; p < 0,001
Sucesso de eclosão (nº de ovos eclodidos/tamanho da postura)	0,85 \pm 0,14	0,88 \pm 0,14	0,80 \pm 0,33	F _{2,73} = 0,35; p = 0,703
Sucesso de emancipação (nº de crias emancipadas/tamanho de ninhada)	0,76 \pm 0,29 ^{ab}	0,92 \pm 0,15 ^a	0,54 \pm 0,43 ^b	F_{2,73} = 8,36; p < 0,001
Condição corporal	-0,12 \pm 1,64	0,03 \pm 0,87	0,05 \pm 1,35	F _{2,65} = 0,12; p = 0,883

¹Data Juliana refere-se ao número de dias que passaram após o dia 1 de Janeiro, que é considerado o dia 1.

Tabela 5. Valores (média \pm desvio padrão) das variáveis fenológicas e reprodutivas do chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*) em 2020.

	2020
Data de postura (data juliana ¹)	115,14 \pm 17,33
Data de eclosão (data juliana ¹)	134,33 \pm 16,13
Tamanho da postura (nº de ovos/ninho)	5,68 \pm 1,15
Tamanho da ninhada (nº de crias/ninho)	4,14 \pm 1,98
Massa média dos ovos (g)	1,15 \pm 0,11
Massa média das crias (g)	9,22 \pm 1,18
Média do tarso das crias (mm)	15,56 \pm 0,90
Número de crias emancipadas	2,30 \pm 1,93
Sucesso de eclosão (nº de ovos eclodidos/tamanho da postura)	0,70 \pm 0,34
Sucesso de emancipação (nº de crias emancipadas/tamanho de ninhada)	0,51 \pm 0,40
Condição corporal	-0,02 \pm 0,51

¹Data Juliana refere-se ao número de dias que passaram após o dia 1 de Janeiro, que é considerado o dia 1.

A Análise de Componentes Principais (PCA) representada nas Figuras 5 e 6, com os parâmetros fenológicos e reprodutivos do chapim-real nos 3 anos em estudo, permitiu extrair 3 eixos, com os respectivos eigenvalues de 2,86, 2,19 e 1,95, que explicam 25,97 (%), 19,89 (%) e 17,69 da variância total (%), respetivamente. A Figura 5 mostra que o eixo 1 está relacionado, positivamente, com o número de crias emancipadas (0,81) e com o sucesso de emancipação (0,74) e que está relacionado, negativamente, com a data de postura (-0,52) e com a data de eclosão (-0,49). Por outro lado, o eixo 2 está relacionado, positivamente com a massa média das crias (0,78) e com a média do tarso (0,53). A Figura 6 mostra que o eixo 3 está relacionado, negativamente, com a massa média dos ovos (-0,52).

Através da PCA representei, graficamente, cada ninhada de chapim-real, de acordo com os seus scores em cada eixo. A Fig. 7 mostra que os ninhos de 2005 e 2006 apresentaram uma tendência para um maior sucesso de emancipação relativamente aos ninhos de 2020. Na Fig. 8, observei que os ninhos de 2020 se encontravam, negativamente, relacionados com os eixos 1 e 3, i.e. relacionados negativamente com o sucesso de emancipação e com a massa média dos ovos. Este padrão está, na sua maioria, em concordância com os resultados da análise anterior,

sugerindo o ano de 2020 como sendo um ano fraco em termos de produção de crias emancipadas pelo chapim-real.

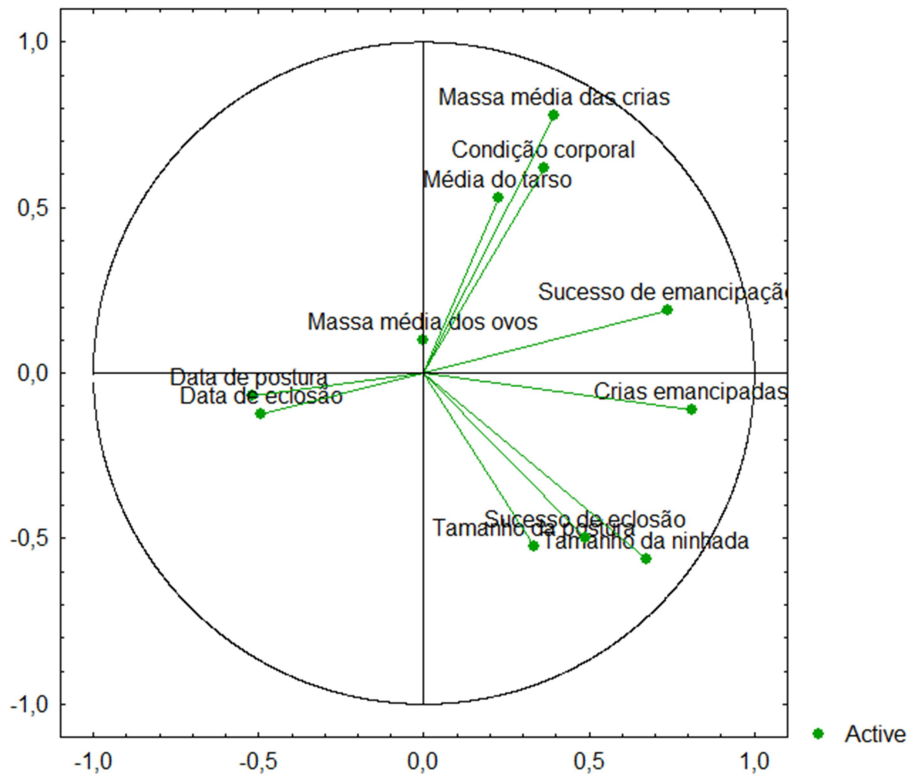


Figura 5. Análise de Componentes Principais (PCA) dos parâmetros fenológicos e reprodutivos do chapim-real nos anos 2005, 2006 e 2020 (eixo 1 x eixo 2).

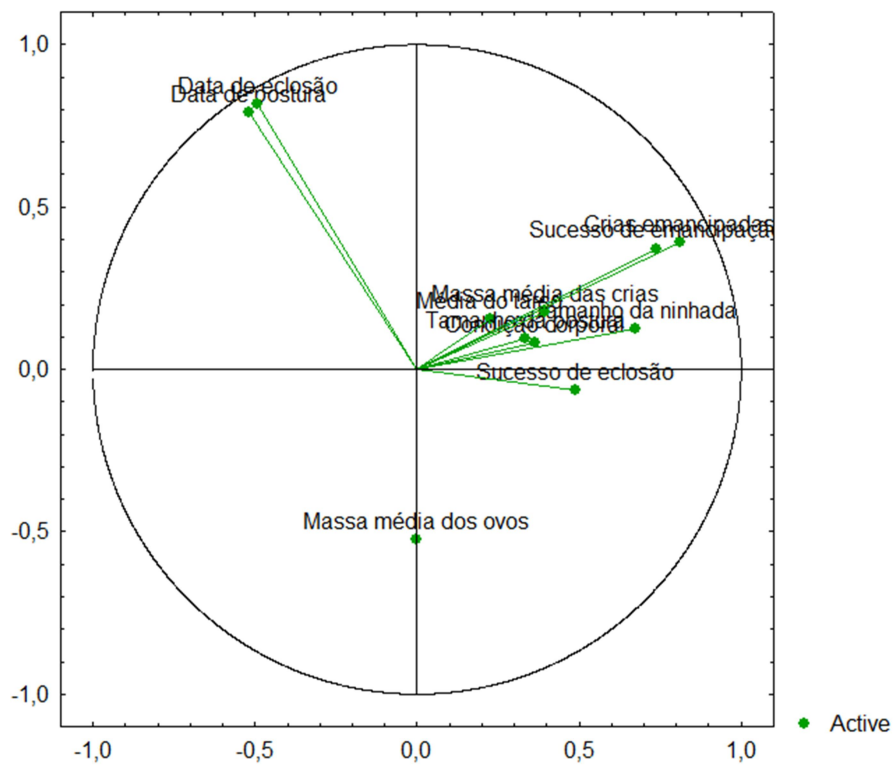


Figura 6. Análise de Componentes Principais (PCA) dos parâmetros fenológicos e reprodutivos do chapim-real nos anos 2005, 2006 e 2020 (eixo 1 x eixo 3).

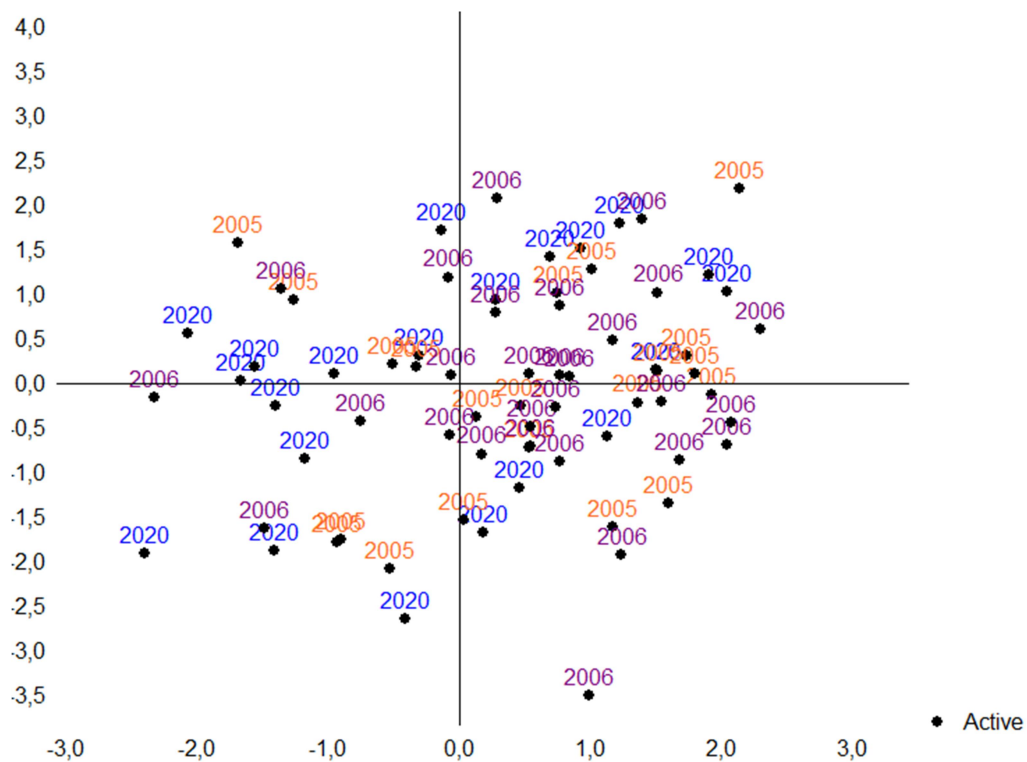


Figura 7. Representação gráfica das ninhadas de acordo com os scores obtidos na Análise de Componentes Principais (PCA) dos parâmetros fenológicos e reprodutivos do chapim-real representados na Figura 5.

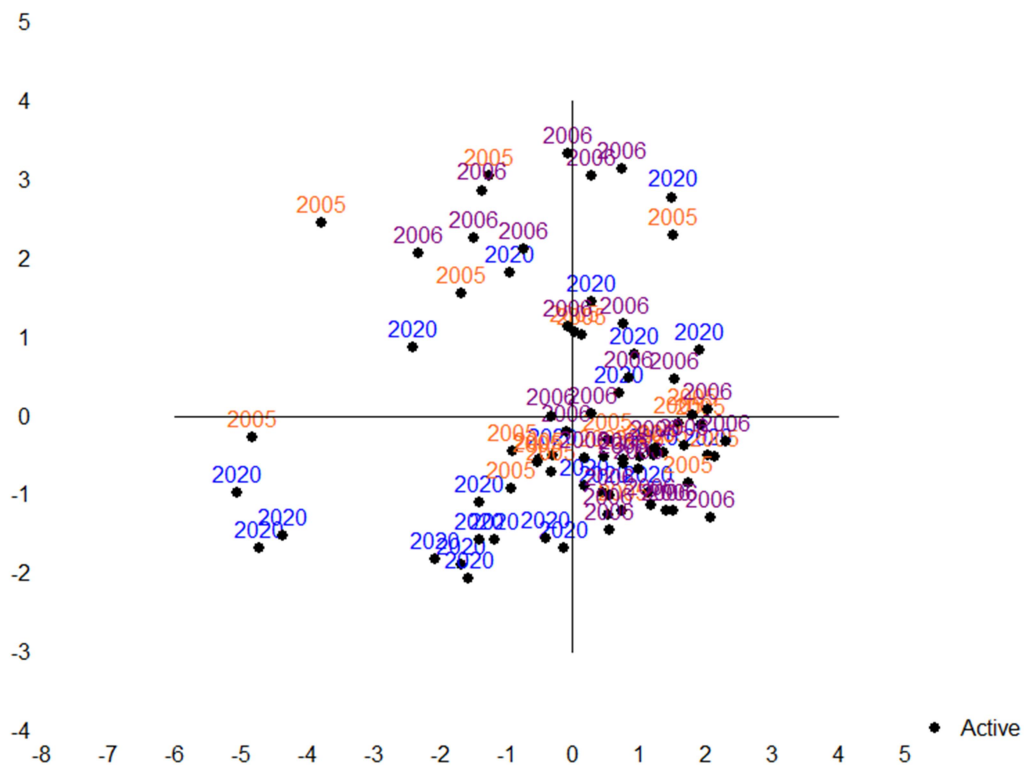


Figura 8. Representação gráfica das ninhadas de acordo com os scores obtidos na Análise de Componentes Principais (PCA) dos parâmetros fenológicos e reprodutivos do chapim-real representados na Figura 6.

3.3. Análise estatística do período em que as crias estiveram no ninho (15 dias) em 2005, 2006 e 2020

Nas Tabelas 6 e 7 estão representadas as médias e desvios padrão dos parâmetros fisiológicos das crias de chapim-real nos anos 2005 e 2006 (Tabela 6) e das crias de chapim-azul no ano 2020 (Tabela 7). Com o intuito de ver os efeitos das condições meteorológicas, durante os 15 dias em que as crias estiveram no ninho, i.e. desde o dia da eclosão até ao dia em que foram anilhadas, na sua morfologia e sucesso de emancipação, as médias das variáveis meteorológicas para cada ninhada durante este período foram utilizadas numa PCA por ano. Obtive, para o chapim-real duas componentes principais para o ano 2005, a PC1 com um eigenvalue de 4,06 e que explica 56,02% da variância total e a PC2 com um eigenvalue de 1,86 e que explica 26,51% da variância total. Para o ano 2006 as duas componentes principais (eigenvalues de 3,94 e 2,12, respetivamente) explicaram 56,32% e 30,28% da variância total. Para o ano 2020 considerei apenas uma componente principal, a PC1 com um eigenvalue de 5,78, já que esta explicou 82,62% da variância total (Tabela 8). Para o chapim-azul obtivemos apenas uma componente principal para o ano 2020, a PC1 com um eigenvalue de 5,83 e que explica 83,30% da variância total (Tabela 9).

Quando os eixos extraídos das PCA's foram utilizados como variáveis explicativas da morfologia e fisiologias das ninhadas de chapins (Tabelas 10 e 11), verifiquei que a proteína total e a hemoglobina das crias do chapim-real do ano de 2005 foram afetadas significativamente pelo PC1: Ninhadas com scores mais elevados na PC1, correspondente a períodos com maior velocidade do vento, humidade relativa e radiação solar (Tabela 8), apresentavam valores mais baixos de proteína total e hemoglobina. No ano 2006 a hemoglobina e o hematócrito foram, significativamente, afetados, de forma positiva, pela PC1, isto sugere que ninhadas criadas durante períodos com menores temperaturas médias e máximas e menor velocidade do vento (Tabela 8) apresentam hemoglobina e hematócrito mais elevados. Neste ano também houve um efeito positivo da PC2, representada pelo aumento da radiação solar e diminuição da humidade relativa e temperatura mínima (Tabela 8), no HMC. Para o ano 2020, apenas o sucesso de emancipação das crias de chapim-real foi afetado, de forma positiva, pela PC1, sendo que ninhadas durante períodos de temperatura média, máxima e mínima e radiação solar mais elevada e menor humidade relativa e pluviosidade (Tabela 8) apresentam um maior sucesso de emancipação.

Para o chapim-azul a massa corporal das crias foi, positivamente, afetada pelo tamanho da ninhada e, negativamente, afetada pela PC1, ou seja, ninhadas maiores apresentam crias mais pesadas e ninhadas que ocorreram durante períodos com temperaturas médias, máximas e mínimas e radiação solar mais elevada e humidade relativa, velocidade do vento e pluviosidade menores (Tabela 9), apresentam crias menos pesadas.

Tabela 6. Valores (média \pm desvio padrão) das variáveis fisiológicas das crias de chapim-real (*Parus major*) nos anos 2005 e 2006.

	2005	2006
Hematócrito (%)	48,75 \pm 6,77	47,72 \pm 3,53
Proteína total (mg/ml)	57,52 \pm 10,35	66,63 \pm 8,33
Hemoglobina (g/L)	16,89 \pm 4,82	23,01 \pm 3,79
WBC (nº de glóbulos brancos/10000 eritrócitos)	16,95 \pm 3,87	17,03 \pm 6,90
H/L (heterófilos/linfócitos)	0,76 \pm 0,75	0,89 \pm 0,75

Tabela 7. Valores (média \pm desvio padrão) das variáveis fisiológicas das crias de chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*) no ano 2020.

	2020
Hemoglobina (g/L)	75,13 \pm 15,64
WBC (nº de glóbulos brancos/10000 eritrócitos)	32,60 \pm 15,72
H/L (heterófilos/linfócitos)	0,90 \pm 0,65
Taxa de sedimentação de eritrócitos (%)	16,77 \pm 6,63
MNE (nº de micronúcleos/10000 eritrócitos)	0,92 \pm 0,84
NA (nº de outras anormalidades nucleares/10000 eritrócitos)	1,52 \pm 1,49
PCE (nº de eritrócitos policromáticos/10000 eritrócitos)	8,49 \pm 6,49

Tabela 8. Valores do eigenvalue, percentagem de variância total explicada e score de cada variável meteorológica para cada componente principal, obtido através da Análise de Componentes Principais (PCA), para as ninhadas de chapim-real (*Parus major*) nos anos 2005, 2006 e 2020.

	2005		2006		2020
	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1
Eigenvalue	4,06	1,86	3,94	2,12	5,78
% Variância Total	58,02	26,51	56,32	30,28	82,62
Temperatura média (°C)	0,082	-0,497	-0,954	-0,239	0,985
Temperatura máxima (°C)	0,095	-0,488	-0,954	0,181	0,984
Temperatura mínima (°C)	0,232	0,040	-0,749	-0,658	0,884
Humidade Relativa (%)	0,240	0,105	0,627	-0,747	-0,954
Radiação Solar (MJ m ⁻² d ⁻¹)	0,241	0,085	-0,426	0,896	0,959
Velocidade do vento (km/h)	0,240	0,098	-0,823	-0,464	-0,765
Pluviosidade (mm)	0,055	0,158	0,556	-0,144	-0,801

Tabela 9. Valores do eigenvalue, percentagem de variância total explicada e score de cada variável meteorológica para a componente principal 1, obtido através da Análise de Componentes Principais (PCA), para as ninhadas de chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*) em 2020.

	2020
	PC1
Eigenvalue	5,83
% Variância Total	83,30
Temperatura média (°C)	0,985
Temperatura máxima (°C)	0,985
Temperatura mínima (°C)	0,857
Humidade Relativa (%)	-0,967
Radiação Solar (MJ m ⁻² d ⁻¹)	0,908
Velocidade do vento (km/h)	-0,825
Pluviosidade (mm)	-0,845

Tabela 10. Efeito das componentes principais, nas variáveis morfológicas, fisiológicas e sucesso de emancipação das ninhadas do chapim-real (*Parus major*) nos anos 2005, 2006 e 2020.

	2005			2006			2020	
	PC1	PC2	Tamanho da ninhada	PC1	PC2	Tamanho da ninhada	PC1	Tamanho da ninhada
Massa média das crias (g)	F _{1,20} = 1,23 p = 0,281	F _{1,20} = 1,65 p = 0,214	F _{2,20} = 0,88 p = 0,430	F _{1,31} = 0,51 p = 0,482	F _{1,31} = 0,01 p = 0,924	F _{2,31} = 0,03 p = 0,967	F _{1,22} = 0,18 p = 0,680	F _{2,22} = 0,41 p = 0,671
Média do tarso das crias (mm)	F _{1,21} = 0,02 p = 0,893	F _{1,21} = 0,27 p = 0,606	F _{2,21} = 0,33 p = 0,723	F _{1,31} = 1,10 p = 0,303	F _{1,31} = 0,03 p = 0,858	F _{2,31} = 0,66 p = 0,523	F _{1,22} = 0,33 p = 0,571	F _{2,22} = 2,00 p = 0,159
Sucesso de emancipação (nº de crias emancipadas/tamanho de ninhada)	F _{1,21} = 1,17 p = 0,292	F _{1,21} = 3,36 p = 0,081	F _{2,21} = 1,18 p = 0,326	F _{1,31} = 0,01 p = 0,928	F _{1,31} = 3,65 p = 0,065	F _{2,31} = 0,27 p = 0,768	F_{1,26} = 5,84 p = 0,023	F _{2,26} = 1,72 p = 0,200
Condição corporal	F _{1,21} = 2,05 p = 0,167	F _{1,21} = 3,67 p = 0,070	F _{2,21} = 0,20 p = 0,823	F _{1,31} = 0,18 p = 0,675	F _{1,31} = 1,19 p = 0,283	F _{2,31} = 0,45 p = 0,641	F _{1,22} = 1,28 p = 0,270	F _{2,22} = 1,64 p = 0,217
Hematócrito (%)	F _{1,20} = 2,35 p = 0,141	F _{1,20} = 1,60 p = 0,220	F _{2,20} = 1,61 p = 0,225	F_{1,31} = 4,34 p = 0,046	F_{1,31} = 5,23 p = 0,029	F _{2,31} = 1,40 p = 0,261		
Proteína total (mg/ml)	F_{1,21} = 4,39 p = 0,049	F _{1,21} = 0,64 p = 0,433	F _{2,21} = 0,14 p = 0,870	F _{1,31} = 0,31 p = 0,580	F _{1,31} = 0,54 p = 0,469	F _{2,31} = 0,94 p = 0,402		
Hemoglobina (g/L)	F_{1,21} = 5,64 p = 0,027	F _{1,21} = 0,86 p = 0,364	F _{2,21} = 0,12 p = 0,889	F_{1,31} = 4,36 p = 0,045	F _{1,31} = 0,30 p = 0,589	F _{2,31} = 0,64 p = 0,535		
WBC (nº de glóbulos brancos/10000 eritrócitos)	F _{1,21} = 2,54 p = 0,126	F _{1,21} = 1,48 p = 0,238	F _{2,21} = 1,25 p = 0,306	F _{1,31} = 1,45 p = 0,237	F _{1,31} = 3,90 p = 0,057	F _{2,31} = 0,06 p = 0,943		
H/L (heterófilos/linfócitos)	F _{1,21} = 0,80 p = 0,380	F _{1,21} = 0,05 p = 0,821	F _{2,21} = 0,19 p = 0,826	F _{1,31} = 2,26 p = 0,143	F _{1,31} = 0,24 p = 0,630	F _{2,31} = 0,19 p = 0,829		

Tabela 11. Efeito das componentes principais, nas variáveis morfológicas, fisiológicas e sucesso de emancipação das ninhadas do chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*) em 2020.

	2020	
	PC1	Tamanho da ninhada
Massa média das crias (g)	F_{1,26} = 6,61 p = 0,016	F_{2,26} = 3,74 p = 0,037
Média do tarso (mm)	F _{1,27} = 2,05 p = 0,163	F _{2,27} = 2,80 p = 0,079
Sucesso de emancipação (nº de crias emancipadas/tamanho da ninhada)	F _{1,37} = 3,48 p = 0,070	F _{2,37} = 2,30 p = 0,114
Condição corporal	F _{1,26} = 1,95 p = 0,174	F _{2,26} = 0,04 p = 0,962
Hemoglobina (g/L)	F _{1,37} = 1,53 p = 0,224	F _{2,37} = 0,53 p = 0,591
WBC (nº de glóbulos brancos/10000 eritrócitos)	F _{1,37} = 0,18 p = 0,672	F _{2,37} = 0,15 p = 0,861
H/L (heterófilos/linfócitos)	F _{1,37} = 0,23 p = 0,636	F _{2,37} = 0,41 p = 0,665
Taxa de sedimentação de eritrócitos (%)	F _{1,37} = 2,13 p = 0,153	F _{2,37} = 0,71 p = 0,500
MNE (nº de micronúcleos/10000 eritrócitos)	F _{1,37} = 1,18 p = 0,284	F _{2,37} = 0,125 p = 0,883
NA (nº de outras anormalidades nucleares/10000 eritrócitos)	F _{1,37} = 0,52 p = 0,474	F _{2,37} = 0,16 p = 0,855
PCE (nº de eritrócitos policromáticos/10000 eritrócitos)	F _{1,22} = 0,33 p = 0,574	F _{2,22} = 1,04 p = 0,371

4. Discussão



Neste estudo mostro como as condições meteorológicas relacionadas com as alterações climáticas afetaram, não só a fenologia, mas também os parâmetros reprodutores e fisiológicos do chapim-real e do chapim-azul.

Há uma forte relação entre a velocidade do vento e o suprimento alimentar das crias. De forma direta, a velocidade do vento tem um efeito negativo na abundância de alimento, como observou McCarty e Winkler (1999) ao avaliar os efeitos da variação ambiental, nomeadamente a pluviosidade, a temperatura ambiente e a velocidade do vento, no crescimento de andorinhas-das-árvores e detetou efeitos desta última na abundância de insetos aéreos, cujo número diminuiu em dias mais ventosos, ou, de uma forma indireta, quando o efeito da velocidade do vento influencia a atividade de entradas e saídas do ninho por parte dos progenitores prejudicando, assim, a sua eficiência na procura e entrega de alimento (Finlay 1976). Embora os chapins não tenham uma dieta à base de insetos voadores como as andorinhas-das-árvores, esta variável pode ter afetado igualmente a quantidade de alimento disponível, uma vez que pode prejudicar os insetos que se encontram nas folhas, ou o tempo de forrageamento das aves, tornando-se uma possível razão para os baixos níveis de hemoglobina e de proteína total do chapim-real, registados no ano 2005 e para o elevado nível de hemoglobina em 2006, já que a abundância de alimento se traduz numa boa condição corporal e, conseqüentemente, num bom estado fisiológico (Kaliński *et al.* 2009; Kaliński *et al.* 2015).

A temperatura também tem um papel relevante na condição corporal, uma vez que é considerada determinante no crescimento, desenvolvimento e atividade de alguns ectoparasitas, e que promove a transmissão de doenças por vetores (Marshall 1981; Lindsay & Birley 1996; Patz & Reisen 2001). Esta evidência foi encontrada por Merino e Potti (1996), em Espanha, na espécie papa-moscas-preto (*Ficedula hypoleuca*), para os quais obtiveram elevados níveis de ectoparasitas nos anos em que a temperatura foi mais elevada. No entanto, observaram que houve uma elevada mortalidade nos anos em que a temperatura foi mais baixa e a precipitação mais elevada. Isto aconteceu porque condições de elevada humidade são mais favoráveis para as pulgas, que prejudicam gravemente as crias nos seus primeiros dias de vida, pois precisam de sangue para formar os seus ovos. Assim, outro factor que está associado à abundância de ectoparasitas nos ninhos é a humidade (Heeb *et al.* 2000; Castaño-Vázquez *et al.* 2018). Desta forma, os baixos níveis de hemoglobina e proteína no ano 2005 podem também ser justificados pela maior humidade relativa e, em contraste, o elevado sucesso de emancipação das crias de chapim-real em 2020, pode ser explicado pela diminuição da humidade relativa já que, como referido anteriormente, os ectoparasitas hematófagos, se desenvolvem melhor na presença de elevada humidade e afetam o número e qualidade das crias emancipadas (Richner *et al.* 1993). Em 2006 verifiquei uma relação da temperatura com o hematócrito e a hemoglobina das crias de chapim-real, que sofreram um ligeiro aumento com a diminuição da mesma. Este aumento pode ser justificado pelo facto de que o hematócrito está diretamente relacionado com a condição corporal, uma vez que sofre alterações com a variação de abundância alimentar e cargas de

ectoparasitas, assim como a massa corporal (Thomas *et al.* 2007). Os resultados que obtive em 2020 com o chapim-azul vão de encontro com esta mesma conclusão, uma vez que a massa corporal das crias de chapim-azul em 2020 esteve negativamente relacionada com a temperatura.

Para além da velocidade do vento, a radiação solar também tem efeito na procura de alimento, sendo que o seu aumento se traduz numa maior iluminação, que leva a que os progenitores possam procurar alimento de maneira mais eficiente. Villén-Pérez *et al.* (2014) provaram isto mesmo, quando detetaram uma preferência, por parte das aves, por zonas com elevada radiação solar. Esta variável também pode ser uma possível explicação para o aumento do hematócrito em 2006.

De uma forma geral, neste estudo, que avaliou as condições durante épocas de reprodução dos chapins espaçadas por 15 anos, uma das diferenças meteorológicas mais relevantes foi o aumento da temperatura média no mês de Fevereiro em 2020 que, como prevíamos, indica que a temperatura começa a aumentar cada vez mais cedo, levando a que o alimento surja mais cedo na época de reprodução e que, conseqüentemente, induza estas aves a antecipar a sua data de postura, antecipando-a Matthysen *et al.* (2011) encontraram a mesma evidência, quando identificaram uma antecipação de 14 a 15 dias, na média das datas de postura das primeiras ninhadas destas mesmas espécies, devido às elevadas temperaturas primaveris. Para além da antecipação na data de postura, embora não significativa e de apenas 4 dias, observei uma diminuição no tamanho da ninhada, ao igual que Higgot *et al.* 2020 no seu estudo com o chapim-rabilongo (*Aegithalos caudatus*), no qual observaram que tamanhos de postura mais pequenos resultavam, conseqüentemente em tamanhos de ninhada menores e que eram mais afetados pela pluviosidade, isto porque, maiores posturas conseguem atenuar os efeitos da chuva. Observaram ainda que, com o aumento da temperatura ambiente, aumentava o tempo de incubação, que era maior em posturas mais pequenas e resultava num menor sucesso de eclosão. Também houve uma diminuição no sucesso de emancipação, e por outro lado, o aumento do tamanho médio do tarso das crias de chapim-real. Estas alterações podem ter sido causadas pelo ligeiro aumento de temperatura no mês de Maio, da precipitação nos meses de Abril e Maio, que corresponde ao período em que a maioria das crias estão no ninho, ao significativo aumento da humidade relativa e à significativa diminuição da velocidade do vento durante toda a época de reprodução.

O aumento da temperatura pode ter tido um impacto negativo no sucesso reprodutor, como observado com a redução do sucesso de emancipação nas crias do chapim-real, porque pode levar, não só à antecipação do surgimento de alimento para aves insetívoras, como também pode levar a uma curta duração no pico de abundância máximo de alimento, refletindo uma janela temporal reduzida para o forrageamento feito pelos progenitores e, conseqüentemente, uma baixa abundância de alimento, o que limita o desenvolvimento das crias (Buse *et al.* 1999). Por isso, é possível que as aves não tenham ajustado eficientemente a sua época de reprodução ao pico de alimento, que pode ter sido alterado devido ao potencial impacto do aumento de temperatura no início da primavera na fenologia das espécies vegetais e, conseqüentemente, fonte de alimento para estas aves.

Estudos que avaliem a disponibilidade alimentar nesta área ao longo da época de reprodução seriam fundamentais para melhor perceber o eventual desajuste destas aves ao seu pico de alimento preferencial. A monitorização destas populações a longo prazo nesta mata será muito importante para perceber se e como estas aves se estão a adaptar às alterações ambientais, para perceber a resistência e resiliência destas populações. A zona mediterrânica é, particularmente, susceptível a alterações climáticas, devido ao aumento da sua aridez e vulnerabilidade a secas (https://ec.europa.eu/clima/change/consequences_pt, 14/07/21), sendo que estudos acerca do impacto destas alterações nesta área geográfica são especialmente importantes. Para além disso, nesta área de distribuição, as aves insetívoras nidificantes em cavidades têm características particulares na sua estratégia reprodutiva, como por exemplo a maior frequência de ocorrência de segundas posturas (Husby *et al.* 2009), que pode implicar que as suas estratégias de adaptação à flutuação das condições meteorológicas e de abundância de alimento sejam diferentes de outras populações do Norte da Europa. Esta componente das segundas posturas não foi avaliada neste estudo, devido ao tamanho reduzido da amostra.

Este estudo revelou a complexa interação entre fatores bióticos e abióticos existentes nos ecossistemas, demonstrando que nenhuma variável é totalmente independente, podendo sofrer efeitos potenciadores ou atenuadores por parte de outras variáveis, o que leva a que haja diferentes respostas por parte dos chapins, dependendo do local de estudo, das suas características e condições meteorológicas. Considero assim, que é de extrema importância estudar e divulgar o impacto das alterações climáticas nas espécies e ecossistemas, através de monitorizações anuais, de forma a obter dados mais consistentes.

Bibliografia

- A. C. NORTE, J. A. RAMOS, P. M. ARAÚJO, J. P. SOUSA, B. C. SHELDON (2008). Health-State Variables and Enzymatic Biomarkers as Survival Predictors in Nestling Great Tits (*Parus Major*): Effects of Environmental Conditions, *The Auk*, Volume 125, Issue 4, Pages 943–952.
- ARDIA, D.R. (2013). The effects of nestbox thermal environment on fledging success and haematocrit in Tree Swallows. *J. Avian Biol.*, 6, 99–103.
- BLEU J., AGOSTINI S., BIARD C. (2017). Nest-box temperature affects clutch size, incubation initiation, and nestling health in great tits. *Behavioral Ecology*, 28: 793–802.
- BUSE A, DURY SJ, WOODBURN RJW et al. (1999). Effects of elevated temperature on multi-species interactions: the case of Pedunculate Oak, Winter Moth and Tits. *Journal of Functional Ecology*, 13 (Suppl. 1), 74–82.
- CASTAÑO-VÁZQUEZ, F., MARTINEZ, J., MERINO, S. and LOZANO, M. (2018). Experimental manipulation of temperature reduce ectoparasites in nests of blue tits *Cyanistes caeruleus*. *J. Avian Biol.* 49, e01695.
- DAVIS, A.K., MANEY, D.L. & MAERZ, J.C. (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*, 22, 760– 772.
- DAWSON, R.D. & BORTOLOTTI, G.R. (1997a). Are avian hematocrits indicative of condition? American kestrel as a model. *J. Wildl. Manage.* 61: 1297– 1306.
- DAWSON, R. D., C. C. LAWRIE, AND E. L. O'BRIEN (2005). The importance of microclimate variation in determining size, growth and survival of avian offspring: experimental evidence from a cavity nesting passerine. *Oecologia* 144: 499– 507.

- DONOVAN TA, SCHRENZEL M, TUCKER TA, PESSIER AP, STALLS IH (2008). Hepatic hemorrhage, hemocoelom, and sudden death due to *Haemoproteus* infection in passerine birds: eleven cases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 20: 304–313.
- DUNN PO, MOLLER AP (2014). Changes in breeding phenology and population size of birds. *Journal of Animal Ecology* 83: 729–739.
- ENGLERT DUURSMA, D., GALLAGHER, R. V., and GRIFFITH, S. C. (2018). Variation in the timing of avian egg-laying in relation to climate. *Ecography* 42, 565–577.
- FAIR J, WHITAKER S, PEARSON B (2007). Sources of variation in haematocrit in birds. *Ibis* 149:535–552.
- FINLAY, J. C. (1976). Some effects of weather on Purple Martin activity. *The Auk*. 93:231-244.
- FURNESS RW (1993). *Birds as monitors of environmental change*. Chapman & Hall, London.
- GOSLER, A.G. (1993). *The Great Tit*. Paul Hamlyn, London.
- W.B. GROSS, H.S. SIEGEL (1983). Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens *Avian Dis.*, 27, pp. 972-978.
- HEEB, P., KOLIKER, M., and RICHNER, H. (2000). Bird-Ectoparasite interactions, nest humidity, and ectoparasite community structure. – *Ecology* 81: 958–968.
- HEYLEN D, MATTHYSEN E (2008). Effect of tick parasitism on the health status of a passerine bird. *Funct Ecol* 22:1099–1107.
- HIGGOTT, C. G., EVANS, K. L., & HATCHWELL, B. J. (2020). Incubation in a temperate passerine: Do environmental conditions affect incubation period duration and hatching success? *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8, 318.
- HOFFMAN DJ, FRANSON JC, PATTEE OH, BUNCK CM, MURRAY HC. (1985). Biochemical and hematological effects of lead ingestion in nestling American kestrels. *Comp Biochem Physiol C* 80: 431– 439.

https://ec.europa.eu/clima/change/consequences_pt Acesso: 14 de Julho de 2021

<http://www2.icnf.pt/portal/florestas/gf/pgf/publicitacoes/encerradas/dcnf-centr/pgf-mata-nacional-do-choupal> Acesso: 20 de maio de 2021

HUSBY, A., L. E. B. KRUIK, and M. E. VISSER (2009). Decline in the frequency and benefits of multiple brooding in great tits as a consequence of a changing environment. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 276: 1845– 1854.

JOHNSTONE, C. , LILL, A. and REINA, R. (2015). Use of erythrocyte indicators of health and condition in vertebrate ecophysiology: a review and appraisal. *Biol. Rev.*, 92, 150–168.

KALINSKI, A., BANBURA, M., GILADALSKI, M. *et al.* (2019). Physiological condition of nestling great tits (*Parus major*) declines with the date of brood initiation: a long term study of first clutches. *Sci Rep* 9, 9843.

KALINSKI A, BANBURA M, GLADALSKI M, MARKOWSKI M, SKWARSKA J, WAWRZYNIAK J, ZIELINSKI P, CYZEWSKA I, BANBURA J (2015) Long-term variation in haemoglobin concentration in nestling great tits *Parus major*. *Comp Biochem Physiol A* 185:9–15

KALINSKI, A. , WAWRZYNIAK, J. , BANBURA, M. , SKWARSKA, J. , ZIELINSKI, P. , and BANBURA, J. (2009) Haemoglobin concentration and body condition of nestlings Great Tits *Parus major*: a comparison of first and second broods in two contrasting seasons. *Ibis*, 151, 667–676.

KILGAS P, TILGAR V, MAND R. (2006). Hematological health state indices predict local survival in a small passerine bird, the great tit (*Parus major*). *Physiol Biochem Zool.* 79(3):565-72.

E. KNUDSEN, A. LINDEN, C. BOTH, N. JONZEN, F. PULIDO, N. SAINO, W.J. SUTHERLAND, L.A. BACH, T. COPPACK, T. ERGON, *et al.* (2011). Challenging claims in the study of migratory birds and climate change *Biological Reviews*, 86, pp. 928-946.

- KURSA, M. and BEZRUKOV, V. (2007). Health status in an Antarctic top predator: micronuclei frequency and white blood cell differentials in the South Polar Skua (*Catharacta maccormicki*). *Polarforschung*, 77, 1–5.
- LINDSAY SW, BIRLEY MH (1996). Climate change and malaria transmission. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 90: 573–588.
- MAL S., SINGH R.B., HUGGEL C., GROVER A. (2018). Introducing Linkages Between Climate Change, Extreme Events, and Disaster Risk Reduction. In: Mal S., Singh R., Huggel C. (eds) *Climate Change, Extreme Events and Disaster Risk Reduction. Sustainable Development Goals Series*. Springer, Cham.
- MARTINEZ-HARO M, BALDERAS-PLATA MA, PEREDA-SOLIS ME, ARELLANO-AGUILAR RO, HERNÁNDEZ-MILLÁN CL (2017). Anthropogenic influence on blood biomarkers of stress and genotoxicity of the burrowing owl (*Athene Cunicularia*). *Biodiversity & Endangered Species Journal* 5: 1–4.
- MARKOWSKI, M., BANBURA, M., GLADALSKI, M., KALINSKI, A., SKWARSKA, J., WAWRZYNIAK, J., ZIELINSKI, P. and BANBURA, J. (2015). Variation in haematocrit of nestling Blue Tits (*Cyanistes caeruleus*) in central Poland. *Avi. Biol. Res.*, 8, 179–184
- MARSHALL, A. G. (1981). *The ecology of ectoparasitic insects*. - Academic Press, London.
- MARZAL A, de LOPE F, NAVARRO C, MOLLER AP (2005). Malarial parasites decrease reproductive success: an experimental study in a passerine bird. *Oecologia* 142: 541–545.
- MAXWELL, M. H. (1993). Avian blood leucocyte responses to stress. *World's Poultry Science Journal* 49:34–43.
- MCCARTY, J. P. (2001). Ecological consequences of recent climate change. *Conserv. Biol.* 15(2), 320–331
- MCCARTY JP, WINKLER DW (1999). Relative importance of environmental variables in determining the growth of nestling tree swallows *Tachycineta bicolor*. *Ibis* 141:286–296
- MELILLO J, CALLAGHAN TV, WOODWARD FI, SALATI E, SINHA SK. (1990). Effects on ecosystems. In *Climate Change: The IPCC Scientific Assessment*, ed. JT Houghton, GJ Jenkins, JJ Ephraums, pp. 283–310. Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press

- MERINO, S. and POTTI, I. (1996). Weather dependent effects of nest ectoparasites on their bird hosts. - *Ecography* 19: 107-113.
- MURPHY MT (1985). Nestling eastern kingbird growth: effects of initial size and ambient temperature. *Ecology* 66:162–170.
- MURPHY, M. T. (1986a). Temporal components of reproductive variability in eastern kingbirds (*Tyrannus tyrannus*). *Ecology* 67:1483-1492.
- NATHAN DB, HELLER ED, PEREK M. (1976). The effect of short heat stress upon leucocyte count, plasma corticosterone level, plasma and leucocyte ascorbic acid content. *Br Poult Sci.* 17(5), 481-5.
- NORTE AC, ARAUJO PM, SAMPAIO HL, SOUSA JP, RAMOS JA (2009). Haematozoa infections in a Great Tit *Parus major* population in Central Portugal: relationships with breeding effort and health. *Ibis* 151: 677–688.
- OLMANOSTRI, S., POMPEO, G., JHA, A.N. *et al.* (2019). Erythrocytes nuclear abnormalities and leukocyte profile of the immune system of Adélie penguins (*Pygoscelis adeliae*) breeding at Edmonson Point, Ross Sea, Antarctica. *Polar Biol* 42, 1343–1352.
- PATZ JA, REISEN WK (2001). Immunology, climate change and vector-borne diseases. *Trends in Immunology* 22: 171–172.
- PENDLEBURY, C.J. & BRYANT, D.M. (2005). Effects of temperature variability on egg mass and clutch size in great tits. *Condor*, 107, 710– 714.
- PULIDO, F. & WIDMER, M. (2005). Are long-distance migrants constrained in their evolutionary response to environmental change? Causes of variation in the timing of autumn migration in a blackcap (*S. atricapilla*) and two garden warbler (*Sylvia borin*) populations. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1046, 228– 241.
- RICHNER, H., OPPLIGER, A., CHRISTE, Ph. (1993). Effect of an ectoparasite on reproduction in great tits. *Journal of Animal Ecology*, 62, 703 710.
- ROMERO-LANKAO, P., J. B. SMITH, D. J. DAVIDSON, N. S. DIFFENBAUGH, P. L. KINNEY, P. KIRSHEN, P. KOVACS, and L. VILLERS RUIZ. (2014). North America. Pages 1439–1498 in V. R. Barros, C. B. Field, D. J. Dokken, M. D. Mastrandrea, J. Mach, T. E.

Bilir, M. Chatterjee, K. L. Ebi, Y. O. Estrada, R. C. Genova, B. Girma, E. S. Kissel, A. N. Levy, S. MacCracken, P. R. Mastrandrea, and L. L. White, editors. Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability. Part B: regional aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge.

ROWE, L., LUDWIG, D., SCHLUTER, D. (1994). Time, condition and the seasonal decline of avian clutch size. *American Naturalist*, 143, 698–722.

SALABERRIA, C., CELIS, P., LOPEZ-RULL, I. & GIL, D. (2014). Effects of temperature and nest heat exposure on nestling growth, dehydration and survival in a Mediterranean hole-nesting passerine. *Ibis* 156: 265–275.

SHAKUN, J. D. *et al.* (2012). Global warming preceded by increasing carbon dioxide concentrations during the last deglaciation. *Nature* 484, 49–54.

SHAVE, A., GARROWAY, C. J., SIEGRIST, J., and FRASER, K. C. (2019). Timing to temperature: egg-laying dates respond to temperature and are under stronger selection at northern latitudes. *Ecosphere* 10:e02974.

STENNING M (2018). *The Blue Tit*. T & AD Poyser, London.

THOMAS, D. W., SHIPLEY, B., BLONDEL, J., PERRET, P., SIMON, A. & LAMBRECHTS, M. M. (2007). Common paths link food abundance and ectoparasite loads to physiological performance and recruitment in nestling blue tits. *Functional Ecology*, 21, 947–955.

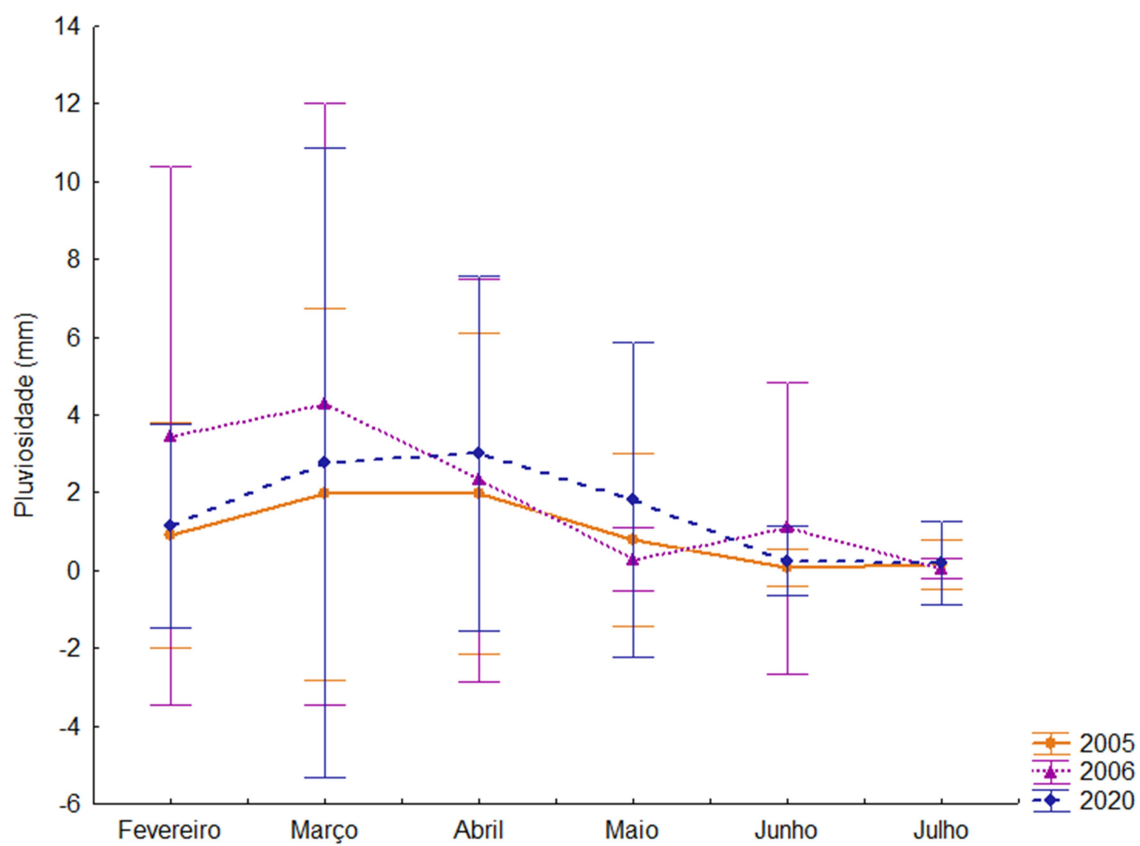
VAN NOORDWIJK, A. J., R. H. MCCLEERY, and C. M. PERRINS. (1995). Selection for timing of great tit breeding in relation to caterpillar growth and temperature. *Journal of Animal Ecology* 64:451–458.

VAN RIPER C, III, VAN RIPER SG, GOFF ML, LAIRD M (1986). The epizootiology and ecological significance of malaria in hawaiian USA land birds. *Ecological Monographs* 56: 327–344.

VENNAPUSA B, DE LA CRUZ L, SHAH H, MICHALSKI V, ZHANG QY (2011). Erythrocyte sedimentation rate (ESR) measured by the Streck ESR-Auto Plus is higher than with the Sediplast Westergren method: a validation study. *Am J Clin*; 135: 386- 390.

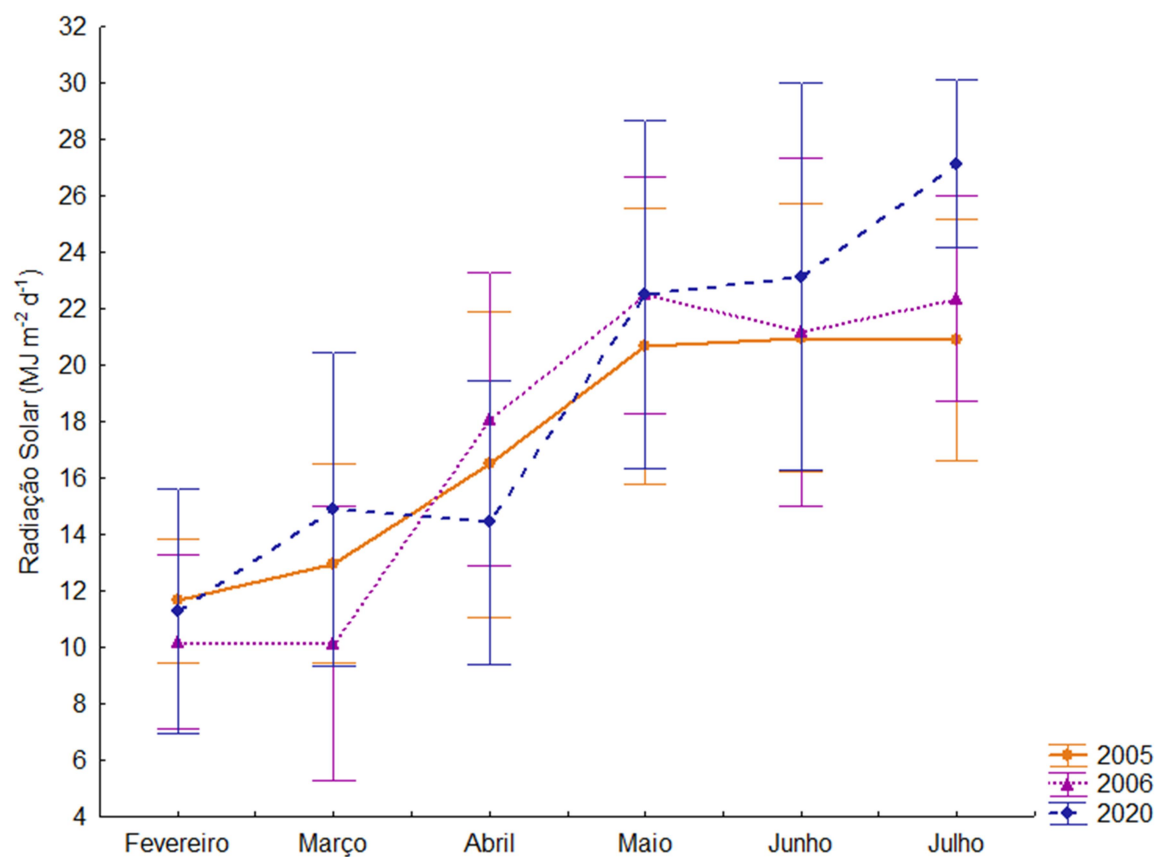
- VILLÉN-PÉREZ, S., CARRASCAL, L. M., & GORDO, O. (2014). Wintering forest birds roost in areas of higher sun radiation. *European Journal of Wildlife Research*, 60, 59–67
- VISSER, M. E. *et al.* (2003). Variable responses to large-scale climate change in European *Parus* populations. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270, 367–372.
- VISSER, M.E., HOLLEMAN, L.J.M. & GIENAPP, P. (2006). Shifts in caterpillar biomass phenology due to climate change and its impact on the breeding biology of an insectivorous bird. *Oecologia* 147, 164–172.
- VISSER ME, NOORDWIJK A J VAN, TINBERGEN JM, LESSELLS CM (1998). Warmer springs lead to mistimed reproduction in great tits (*Parus major*) *Proc Biol Sci*; 265(1408): 1867–1870.
- WALTHER, G.-R., POST, E., CONVEY, P., MENZEL, A., PARMESAN, C., BEEBEE, T. J. C., FROMENTIC, J.-M., HOEGH-GULDBERG, O. & BAIRLEIN, F. (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416, 389–395.
- WHITWORTH, T.W. & BENNETT, G.F. (1992). Pathogenicity of larval *Protocalliphora* (Diptera: Calliphoridae) parasitizing nestling birds. *Can. J. Zool.* 70: 2184 - 2191.
- ZAMORA VILCHIS, S.E. WILLIAMS, C.N. JOHNSON (2012). Environmental temperature affects prevalence of blood parasites of birds on an elevation gradie.

Anexo I



Pluviosidade (\pm desvio padrão) (mm) relativa aos meses de Fevereiro a Julho dos anos 2005, 2006 e 2020.

Anexo 2



Radiação solar (\pm desvio padrão) ($\text{MJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$) relativa aos meses de Fevereiro a Julho dos anos 2005, 2006 e 2020.