

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

JORDANA TRES DOS SANTOS

**ANÁLISE DAS RESERVAS ENERGÉTICAS DE *Arctocephalus australis*
(ZIMMERMANN, 1783) (LOBO-MARINHO-SUL-AMERICANO)
ENCONTRADOS AO LONGO DO LITORAL NORTE DO RIO GRANDE
DO SUL, BRASIL**

IMBÉ

2014

JORDANA TRES DOS SANTOS

**ANÁLISE DAS RESERVAS ENERGÉTICAS DE *Arctocephalus australis*
(ZIMMERMANN, 1783) (LOBO-MARINHO-SUL-AMERICANO)
ENCONTRADOS AO LONGO DO LITORAL NORTE DO RIO GRANDE
DO SUL, BRASIL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira pela Universidade Estadual do Rio Grande do Sul em parceria com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Profa. Dra. Márcia Trapp

Co-orientador: Me. Maurício Tavares

IMBÉ

2014

Aos examinadores,

Este trabalho está formatado segundo “SILVA, L.N. *et al.* **Manual de trabalhos acadêmicos e científicos**: orientações práticas à comunidade universitária da UERGS. Porto Alegre: UERGS, 2013. 150 p.”, que segue as normas da associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

CIP - Catalogação na Publicação

DOS SANTOS, JORDANA TRES

Análise das reservas energéticas de *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783) (lobo-marinho-sul-americano) encontrados ao longo do Litoral Norte do Rio Grande do Sul, brasil. / Jordana Tres dos Santos, 2014. 49 f.

Orientadora: MÁRCIA TRAPP.

Coorientadora: MAURÍCIO TAVARES.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Estadual do Rio Grande do Sul em parceria com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Curso de Ciências Biológicas: Biologia Marinha e Costeira, Osório / Imbé, BR - RS, 2014.

1. Metabolismo. 2. Jejum. 3. Mamíferos marinhos. 4. Pinípedes. 5. Condição corporal. I. TRAPP, MÁRCIA, orient. II. TAVARES, MAURÍCIO, coorient. III. Título.

Adaptado do Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

JORDANA TRES DOS SANTOS

**Análise das Reservas Energéticas de *Arctocephalus australis*
(ZIMMERMANN, 1783) (Lobo-marinho-sul-americano) Encontrados ao
Longo do Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira Universidade Estadual do Rio Grande do Sul em parceria com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Profa. Dra. Márcia Trapp
Co-orientador: Me. Maurício Tavares

Aprovado em: / /

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Alessandra Marqueze
Centro Universitário La Salle - UNILASALLE

Prof. Dr. Luiz Carlos Rios Kucharski
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Coordenador da atividade
Trabalho de conclusão II - CBM

Prof. Dr. Paulo Henrique Ott
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul – UERGS

IMBÉ

2014

RESUMO

No litoral do Rio Grande do Sul encontram-se, com grande representatividade, indivíduos de *Arctocephalus australis* (lobo-marinho-sul-americano). Assim como os demais pinípedes, esses animais realizam voluntariamente períodos de jejum prolongado, comprometendo seus estoques de reservas energéticas e por consequência alteram processos que englobam o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas. O objetivo deste trabalho foi gerar estimativas das concentrações de reservas energéticas em indivíduos de *A. australis*, encontrados ao longo do Litoral Norte do Rio Grande do Sul. Foram amostrados 23 animais da espécie *A. australis*, provenientes de monitoramentos semanais, ao longo da área de estudo e do Setor de Reabilitação do CECLIMAR (IB/UFRGS), no período de agosto a dezembro nos anos de 2012 e 2013. Os animais amostrados foram divididos em dois grupos: G1 - animais sem óbito registrado (n= 13) e G2 - animais com óbito registrado (n= 10). Determinou-se a maturação sexual, sexo, massa e medidas morfométricas, para ambos os grupos. O conteúdo estomacal e a espessura do *blubber* foram avaliados para G2. Foram calculados diferentes índices de condição corporal, ICC1= massa/63,88+0,8966*comprimento total (TRISTES; JONKER, 2000), ICC2= massa/comprimento total (ARNOULD, 1995) e ICC3= circunferência axilar/comprimento total (TAVONI *et al.*, 2012). Amostras sanguíneas foram coletadas para ambos os grupos e as concentrações sorológicas de glicose, triacilgliceróis, colesterol, proteínas totais, ácido úrico, lactato, uréia, creatinina e frutossamina glicada foram determinadas com kits comerciais (Labtest®). Amostras de tecido, fígado e *blubber*, foram coletadas para o grupo G2. A partir das amostras de *blubber* foi determinada a concentração de triacilgliceróis e lipídeos totais. Determinaram-se as reservas hepáticas de proteínas, glicogênio, triacilgliceróis e lipídeos totais. Os resultados foram expressos como média \pm EPM, foi utilizado o teste *t* de Student ($P < 0,05$). Os animais amostrados foram classificados como imaturos sexualmente, com predominância de machos. O ICC3 apontou maiores valores para G1 ($0,590 \pm 0,036$) em relação a G2 ($0,547 \pm 0,033$) ($P=0,0394$). O grupo G2 não apresentou conteúdo estomacal e intestinal e a espessura do *blubber* estava reduzida ($1,55 \pm 0,55$ cm). O grupo G1 apresentou maior glicemia ($100,5 \pm 15,26$) que G2 ($12,25 \pm 3,61$) ($P=0,0004$). As concentrações séricas de triacilgliceróis foram maiores para G2 ($147,6 \pm 41,01$) que para G1 ($34,90 \pm 6,99$) ($P=0,0001$), os níveis de creatinina foram maiores para G2 ($1,176 \pm 0,1074$) que para G1 ($0,614 \pm 0,0556$) ($P=0,0006$), a concentração de lactato foi maior para G2 ($119,4 \pm 12,80$) que para G1 ($47,57 \pm 10,93$) ($P=0,0015$) e os níveis de ácido úrico foram maiores em G2 ($6,150 \pm 1,204$) que em G1 ($1,271 \pm 0,1782$) ($P=0,0003$). Os níveis séricos de frutossamina, colesterol total, proteínas totais e uréia não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Em conclusão, para os animais que vieram a óbito (G2), estava ocorrendo à mobilização das reservas energéticas do fígado e do *blubber* e o status nutricional desses animais é compatível com o jejum. O ICC1 e ICC2 são fracos indicadores da condição corporal em *A. australis*, e o ICC3 foi o único índice eficiente para estimar o estado nutricional desta espécie.

Palavras-chave: Metabolismo. Jejum. Mamíferos marinhos. Pinípedes. Condição corporal.

ABSTRACT

In the coast of the Rio Grande do Sul state, there are, with great representativeness, *Arctocephalus australis* (southern fur seal) individuals. Like other pinnipeds, these animals voluntarily undertake great periods of fasting, compromising their energy reserve stocks and consequently altering the processes that involve the metabolism of carbohydrates, lipids and proteins. The aim of this study was to generate estimates of the energy reserve's concentration in *A. australis* individuals found along the Northern Shore of the Rio Grande do Sul state. Were sampled 23 animals of the species *A. australis* and weekly monitorings along the area of study, as well as from the Rehabilitation Section of CECLIMAR (IB/UFRGS), from August to December in the years 2012 and 2013. The sampled animals were divided into two groups: G1 – animals without registered death (n= 13) and G2 – animals with registered death (n= 10). The sexual maturity, sex, body mass, and morphometric measurements were determined for both groups. The stomach content and blubber thickness were evaluated for G2. Different indexes of body condition were calculated: ICC1= $\text{mass}/-63,88+0,8966 \times \text{standard length}$ (TRITES; JONKER, 2000), ICC2= $\text{mass}/ \text{standard length}$ (ARNOULD, 1995) e ICC3= $\text{axillary girth} / \text{standard length}$ (TAVONI et al., 2012). Blood samples were collected for both groups and seric levels of glucose, triglycerides, cholesterol, total protein, uric acid, lactate, urea, creatinine, and glycated fructosamine were determined using commercial kits (Labtest®). Samples of the tissue, liver and blubber were collected for G2. From the blubber samples, the total concentration of triglycerides and lipids were measure. The hepatic reserves of proteins, glycogen, triglycerides and lipids were determined. The results were expressed mean \pm SEM, through Student's t test ($P < 0.05$). Sampled animals were classified as sexually immature, with predominance of males. The ICC3 showed higher values for G1 (0.590 ± 0.036) compared to G2 (0.547 ± 0.033) ($P = 0.0394$). G2 didn't present any stomach or intestin content and the thickness of the blubber was reduced (1.55 ± 0.55 cm). G1 presented higher blood glucose (100.5 ± 15.26) than G2 (12.25 ± 3.61) ($P = 0.0004$). Serum concentrations of triglycerides were higher for G2 (147.6 ± 41.01) compared to G1 (34.9 ± 6.99) ($P = 0.0001$), creatinine levels were higher in G2 (1.176 ± 0.1074) than in G1 (0.614 ± 0.0556) ($P = 0.0006$), lactate concentration was higher in G2 (119.4 ± 12.80) than in G1 (47.57 ± 10.93) ($P = 0.0015$), and uric acid levels were higher in G2 (6.150 ± 1.204) compared to G1 (1.271 ± 0.1782) ($P = 0.0003$). Serum levels of fructosamine, urea, and total cholesterol and proteins did significantly differ between the two groups. In conclusion, in the animals that came death (G2) was occurring mobilization of the liver and blubber energy reserves and the nutritional status of these animals was compatible with fasting. The ICC1 and ICC 2 are poor indicators of body condition for *A. australis*, and the ICC3 the only index that was efficient to estimate the nutritional status of this species.

Keywords: Metabolism. Fasting. Marine mammals. Pinnipeds. Body condition.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	7
1.1	OBJETIVO GERAL.....	8
1.1.1	Objetivos específicos.....	8
2	REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	9
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1	ÁREA DE ESTUDO.....	16
3.2	COLETA DE DADOS.....	18
3.2.1	Avaliações morfométricas dos indivíduos e métodos de necropsia.....	18
3.2.2	Avaliação de condição corporal.....	20
3.2.3	Coletas de sangue e tecidos.....	20
3.2.4	Procedimentos experimentais.....	22
3.2.4.1	<i>Determinação das dosagens séricas.....</i>	22
3.2.4.2	<i>Análises teciduais.....</i>	22
3.2.4.2.1	Triacilgliceróis.....	22
3.2.4.2.2	Lipídeos totais.....	23
3.2.4.2.3	Proteínas totais.....	23
3.2.4.2.4	Glicogênio.....	23
3.3	PROTEÇÃO AO PESQUISADOR.....	24
3.4	TRATAMENTO DE RESÍDUOS.....	24
3.5	ANÁLISE DE DADOS.....	24
4	RESULTADOS.....	25
4.1	PARAMETROS MORFOMÉTRICOS.....	25
4.2	PARAMETROS BIOQUÍMICOS.....	26
4.3	ANÁLISES TECIDUAIS.....	32
5	DISCUSSÃO.....	33
5.1	RESERVAS ENERGÉTICAS DO SORO.....	33
5.2	RESERVAS ENERGÉTICAS TECIDUAIS.....	37
5.3	CONDIÇÃO CORPORAL.....	39
6	CONCLUSÃO.....	41
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

Na costa do Rio Grande do Sul (RS) encontram-se as sete espécies da subordem Pinnipedia descritas para o litoral brasileiro, onde o lobo-marinho-sul-americano, *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783), é a espécie mais comum e abundante, entre o outono e primavera austrais. Os pinípedes estão adaptados para realizar, voluntariamente, longos períodos de jejum em seu ciclo de vida. Assim, esse estado alimentar, em longo prazo, compromete o estoque de reservas energéticas desses animais. Conseqüentemente, para a obtenção de energia nesses períodos deverá ocorrer mobilização de carboidratos, lipídeos e proteínas, a partir do tecido adiposo e das reservas hepáticas. Portanto, para investigar as concentrações de reservas energéticas em indivíduos da espécie *A. australis* encontrados ao longo do Litoral Norte, realizou-se coletas de sangue e amostras de tecido: fígado e *blubber* (tecido adiposo). A partir de amostras sanguíneas se avaliou o perfil bioquímico serológico, e das amostras teciduais foi possível quantificar metabólitos de reserva.

Os pinípedes diferem da maioria dos mamíferos marinhos por ocuparem tanto ambientes aquáticos como terrestres, e para tal necessitam de processos metabólicos diferenciados. Anualmente, nos meses de inverno e primavera, é possível visualizar inúmeros lobos-marinhos da espécie *A. australis* descansando nas areias das praias ao longo da costa do RS, e muitos desses animais acabam vindo a óbito. Existem poucas informações na literatura a respeito da fisiologia desta espécie, o que dificulta a elucidação das possíveis causas de morte.

Uma melhor compreensão do funcionamento do metabolismo destes animais, como estoque e consumo dos substratos energéticos, é uma importante ferramenta para conhecer os processos de mobilização de lipídeos, proteínas e carboidratos, que ocorrem em diferentes estados alimentares. A realização destas estimativas amplia os conhecimentos acerca dos processos fisiológicos existentes em indivíduos de *A. australis*, possibilitando aplicar essas informações na recuperação desses animais quando os mesmos se encontram debilitados Centros de Reabilitação ou Triagem de Animais Silvestres. Tendo em vista os poucos estudos que exibem essa abordagem, a proposta deste trabalho foi investigar as concentrações das reservas energéticas em indivíduos de *A. australis*, visando aumentar o conhecimento básico a respeito do metabolismo intermediário nesta espécie.

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi analisar as reservas energéticas, por meio de amostragem sanguínea e tecidual, de *Arctocephalus australis*, lobo-marinho-sul-americano, encontrados ao longo do Litoral Norte do Rio Grande do Sul.

1.1.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos foram:

- a) avaliar as diferenças nas reservas energéticas entre os animais que vieram a óbito e os que sobreviveram após amostragem em campo;
- b) determinar no soro dos animais amostrados, a concentração de glicose, de triacilgliceróis, de colesterol, de proteínas totais, de ácido úrico, de lactato, de uréia, de creatinina e de frutossamina glicada;
- c) avaliar as reservas hepáticas de proteínas, de glicogênio, de triacilgliceróis e de lipídeos totais nos animais que vieram a óbito;
- d) determinar as reservas de triacilgliceróis e de lipídeos totais no tecido adiposo (*blubber*) nos animais que vieram a óbito;
- e) avaliar o estado alimentar dos animais amostrados;
- f) validar os índices de condição corporal, utilizados para pinípedes, para os indivíduos de *A. australis*.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

Dentro da Classe Mammalia, quatro clados de mamíferos desenvolveram, independentemente, adaptações para a vida nos oceanos. Eles são denominados mamíferos marinhos e se dividem atualmente em três ordens: Ordem Cetacea, que inclui botos, baleias e golfinhos, Ordem Sirenia, que é representada pelos peixes-boi e dugongos e a Ordem Carnivora, na qual se encontram os pinípedes (RICE, 2002).

O nome Pinípede tem sua origem no latim, significando “pés em forma de pena”, referindo-se aos membros anteriores e posteriores dos indivíduos pertencentes às famílias Otariidae (lobo-marinho e leão-marinho), Odobenidae (morsas) e Phocidae (focas e elefantes-marinhos) (BERTA *et al.*, 2002). Este grupo evoluiu de antecessores carnívoros pertencentes à infraordem *Arctoidea* (procionídeos, ursídeos e mustelídeos), há aproximadamente 30 milhões de anos, durante o final do período Oligoceno e início do Mioceno. Aparentemente invadiram o oceano em busca dos novos e abundantes recursos alimentares, supostamente ao longo da Europa e América do Norte (RIEDMAN, 1990; BERTA *et al.*, 2006).

Os pinípedes são carnívoros aquáticos altamente especializados que vivem em uma diversidade de habitats marinhos, e alguns de água doce. Uma característica unificadora do grupo é que todos devem retornar a um substrato sólido, como terra ou gelo, para reprodução ou para parir seus filhotes (JEFFERSON *et al.*, 1993). Apresentam o corpo com pelos e em forma de torpedo, orelha externa ou *pinnae* reduzida, cauda pequena, órgãos genitais e glândulas mamárias que se retraem sob a pele, adaptações para mergulho e termoregulação. Anualmente esses animais realizam muda de sua pelagem (BERTA, 2002; GERACI, LOUNSBURY, 2005a).

Segundo Rice (1998), os pinípedes representam 28% da diversidade de mamíferos marinhos. Das 36 espécies existentes, 16 são representadas pelos otarídeos (JEFFERSON *et al.*, 2008). A família Otariidae é dividida em dois subgrupos: Arctocephalinae (lobos-marinhos) e Otariinae (leões-marinhos) (BERTA, 2002). Segundo Arnould (2002), os lobos-marinhos que ocorrem no hemisfério sul compreendem oito espécies e quatro subespécies. O gênero *Arctocephalus* deriva dos termos em latim, *arktos* (urso) e *kephale* (cabeça).

A. australis é encontrado ao longo da costa Atlântica e Pacífica na América do Sul, da ilha Marco (Uruguai) até a Ilha Mayorca (Peru). A maioria da população está concentrada no lado Atlântico da distribuição, especialmente em um grupo de seis ilhas uruguaias, não havendo uniformidade ao longo da sua distribuição (CAMPAGNA, 2008). As populações migratórias de lobos-marinhos podem se estender amplamente no mar durante o inverno,

viajando centenas de quilômetros ao longo da costa, tanto para norte, como para o sul da sua distribuição (VAZ-FERREIRA, 1982). Acredita-se que essas populações ocupam principalmente as plataformas costeiras, continental e águas de encosta, no entanto, já se registrou a ocorrência de *A. australis* a mais de 600 km da costa (JEFFERSON *et al.* 1993).

Arctocephalus australis aparece como a espécie mais frequente de Otariidae para o litoral do Rio Grande do Sul, ocorrendo regularmente durante o inverno e a primavera. Contudo, há aparecimentos tardios de indivíduos ao longo do verão. Esta espécie é representada, no sul do Brasil, por todas as categorias de idade, juvenis, subadultos e adultos (SIMÕES-LOPES *et al.*, 1995).

Os indivíduos de *Arctocephalus australis*, são chamados popularmente de “lobo-marinho-sul-americano”, “lobo-fino” e “lobo-marinho-de-dois-pelos”. Esses animais possuem dupla camada de pelos que compõe sua pelagem, a externa é composta por pelos do tipo guarda escuros, longos, grossos e pouco densos. Já a camada mais interna (*underfur*) é muito densa e constituída por pelos finos, curtos e sedosos (BASTIDA *et al.*, 2007; BONNER, 1981). Liwanag e colaboradores (2012) sugerem que a maior densidade dos pelos em lobos-marinhos está relacionada com a principal função destes, a termoregulação em água.

O corpo de *A. australis* é relativamente robusto, possuem focinho afilado e vibrissas longas. Esses animais apresentam dimorfismo sexual acentuado, machos adultos apresentam pescoço mais desenvolvido com o crescimento de uma densa juba (BASTIDA *et al.*, 2007; JEFFERSON *et al.*, 1993; REEVES *et al.*, 2002). Os machos adultos são aproximadamente 1,3 vezes mais compridos e 3,3 vezes mais pesados que fêmeas adultas (JEFFERSON *et al.*, 2008).

Machos adultos são marrons escuros a pretos, com pelos da juba variando de cinza claro até amarelo. Fêmeas e jovens apresentam o dorso marrom escuro e o focinho, pescoço, peito e ventre com coloração marrom claro ou cinza. Os filhotes são pretos ao nascer e clareiam gradualmente (JEFFERSON *et al.*, 1993; REEVES *et al.*, 2002). (Figura 1).

Indivíduos machos adultos atingem no máximo 1,9 metros e possuem massa corporal entre 120 e 200 kg. Enquanto fêmeas adultas apresentam até 1,42 metros de comprimento e a massa oscila de 40 – 50 kg. Já os neonatos medem até 65 cm e sua massa corporal varia de 3,5 – 5,5 kg (VAZ-FERREIRA, 1982; JEFFERSON *et al.*, 1993; BATISTA *et al.*, 2007; REEVES *et al.*, 2002).

Figura 1 - Indivíduo macho adulto de lobo-marinho-sul-americano, *A. australis*, avistado descansando, em Mostardas, no Litoral Médio Leste do Rio Grande do Sul.



Fonte: foto cedida por Camila Thiesen Rigon (2012).

De acordo com Bastida *et al.*, (2007), o lobo-marinho-sul-americano se alimenta de espécies costeiras e de plataforma continental, e tem se observado o deslocamento de exemplares até o talude continental. Frequentemente, exemplares jovens complementam sua dieta com organismos bentônicos ou de fundo, sendo que, os adultos também o fazem em períodos de escassez alimentar. *A. australis* mergulham em busca de alimento, normalmente de 40-50 metros, e permanecem submersos durante 2 ou 3 minutos, porém há registros de mergulhos que superam 150 metros e os 7 minutos.

Oliveira *et al.*, (2008) realizaram um estudo no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, e constataram que indivíduos de *A. australis* alimentam-se principalmente de peixes teleósteos *Trichinus lepturus* e *Anchoa marinii*, assim como os cefalópodes *Loligo sanpaulensis* e *Argonauta nodosa*.

A natureza anfíbia da vida pinípede exigiu uma ampla gama de adaptações fisiológicas para a vida na água e terra. Durante estágios comportamentais que demandam muita energia, naturalmente os pinípedes se mantêm em jejum prolongado, como em situações de combate, lactação, reprodução e muda (CROKER; COSTA, 2002). Em todos os casos, o tempo de jejum é dependente da quantidade de reservas energéticas disponíveis no início do jejum e a taxa em que as reservas de energia são metabolizadas (TIFT *et al.*, 2011).

Estudos recentes avaliaram alterações no metabolismo em períodos de jejum em pinípedes. Dentre esses estudos os que envolvem indivíduos de elefantes-marinhos da espécie *Mirounga angustirostris* são mais abundantes: Champagne *et al.*, (2013) elaboraram um perfil

do metabolismo de carboidratos para fêmeas lactantes. Soñanez-Organis *et al.*, (2012), concluíram que o jejum prolongado em filhotes desta espécie está associado ao aumento da capacidade de reciclar purinas. Kelso *et al.*, (2012) determinaram, ao longo do jejum, diferenças sexuais no consumo e metabolismo energético. Champagne *et al.*, (2012a), determinaram que ao longo do jejum a gliconeogênese está associada a altas taxas de ácido tricarbóxico e cilaagem de piruvato. Tift *et al.*, (2011), investigaram alterações no perfil lipídico ao longo do jejum em machos adultos. Guinet *et al.*, (2004) avaliaram variações na concentração de cortisol plasmático, ao longo do jejum, em fêmeas lactantes de *Arctocephalus tropicalis*.

De acordo com Cattet *et al.*, (2002), a condição corporal de um indivíduo é um importante determinante da saúde do animal. Mamíferos marinhos, particularmente os pinípedes, podem exibir condição corporal muito variável, relacionada à disponibilidade de alimento, fase específica do ciclo de vida e ciclos anuais (MELLISH *et al.*, 2013).

Segundo Noren *et al.*, (2009), a condição corporal de leões-marinhos influencia a capacidade máxima de duração do jejum, sendo que animais mais gordos, utilizam mais as reservas de gorduras para atender às demandas energéticas perdendo a uma taxa mais lenta a massa corporal, e conseqüentemente são capazes de jejuar por períodos mais longos.

A condição corporal já foi determinada para indivíduos de *Eumetopias jubatus* (leões-marinhos), e já foi relacionada ao jejum (NOREN *et al.*, 2009; TRITES; JONKER, 2000), a química sanguínea (CASTELLINI *et al.*, 1993), ao perfil endócrino de filhotes (KEOGH *et al.*, 2013). Para elefantes-marinhos da espécie *Mirounga angustirostris* a condição corporal já foi associada ao fluxo de lactato ao longo do jejum (TAVONI *et al.*, 2013). Guinet e colaboradores (2004) avaliaram a condição corporal de fêmeas lactantes de lobos-marinhos da espécie *Arctocephalus tropicalis* ao longo do período de jejum. Já Rutishauser *et al.*, (2004) relacionaram a condição corporal de lobos-marinhos, *Arctocephalus gazella*, com a composição corporal e suas capacidades térmicas.

Tavoni e colaboradores (2013) observaram que durante o período de jejum prolongado em *Mirounga angustirostris*, a condição corporal dos animais piorou, porém os níveis de lactato e glicose plasmáticos se mantiveram constantes.

Indivíduos de lobo-marinho, em geral, durante o período de reprodução, tanto machos como fêmeas, podem ficar até 75 dias em jejum prolongado, entretanto a média de duração é de 14 dias. Pinípedes adultos podem perder de 35 – 57% das reservas corporais ao longo de estágios comportamentais que expendem muita energia. Entretanto são capazes de minimizar a depleção de massa corporal magra, com a maior parte das reservas energéticas provenientes

de tecido adiposo, havendo a rápida mobilização de lipídeos provenientes dos adipócitos. Ao decorrer do jejum parecem ter a capacidade de poupar as reservas de proteínas, variando de 1–6% do total da energia utilizada, reduzindo danos em órgãos vitais (CROKER; COSTA, 2002).

Quanto às reservas de lipídeos, o *blubber* é uma camada de tecido adiposo subcutânea, contínua, especializada e reforçada por colágeno e fibras elásticas (PABST *et al.*, 1999). É encontrada apenas em mamíferos marinhos e adaptada para servir como um isolante térmico ajustável. É importante na vida dos mamíferos marinhos devido ao papel fundamental que os lipídios armazenados desempenham na sua ecologia, reprodução e sobrevivência. Em pinípedes adultos a espessura da camada de gordura pode variar de 7 – 10 cm, quando mal alimentados há uma redução na espessura da camada e no teor de lipídeos (IVERSON, 2002). A espessura do *blubber* é normalmente utilizada para avaliar a condição corporal de focas e leões marinhos, devido a suas múltiplas funções (MELLISH *et al.*, 2013). Liwanag *et al.*, (2012) sugerem que para lobos-marinhos o *blubber* tenha principalmente a função de estoque de energia, devido a espessura mínima dessa camada deste tecido e sua natureza homogênea (não havendo estratificação ao longo da camada de gordura) em conjunto com a densa pelagem.

O depósito lipídico é armazenado predominantemente na forma de triglicerídeos, que são constituídos por três ácidos graxos esterificados e uma molécula de glicerol (IVERSON, 2002). Os adipócitos presentes no tecido adiposo atuam em conjunto com o fígado, o tecido muscular esquelético e o coração. Realizam o armazenamento dos triglicerídeos provenientes do fígado e do trato gastrointestinal. Quando necessário os triglicerídeos armazenados são hidrolisados, havendo a liberação de ácidos graxos, os quais passam para a circulação sanguínea e vão para musculatura esquelética e o coração (GONZÁLEZ; DA SILVA, 2006).

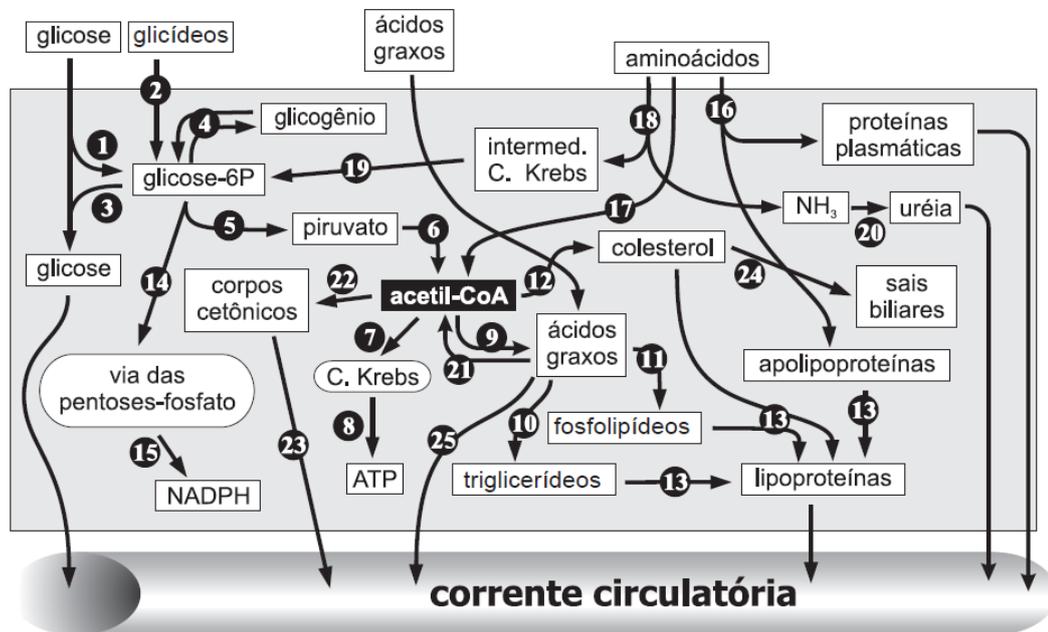
O fígado exerce um papel centralizador no metabolismo, sintetizando e distribuindo nutrientes aos órgãos periféricos pela circulação sanguínea. Durante a digestão, no trato gastrointestinal, as três principais classes de nutrientes (carboidratos, proteínas e lipídios) sofrem hidrólise enzimática e são convertidos em seus monômeros básicos. A glicose é fosforilada e convertida em glicose-6-fosfato pela enzima gliceroquinase. A glicose-6-fosfato pode assumir cinco rotas dos carboidratos no fígado, e quando não há a necessidade de repor a glicose sanguínea é convertida em glicogênio hepático e armazenada. A figura 2 ilustra o metabolismo hepático, de lipídeos, glicídios e proteínas (GONZÁLEZ; DA SILVA, 2006).

O glicogênio é o principal carboidrato de reserva dos animais, servindo como um estoque de glicose. Nos vertebrados é encontrado na forma de diminutos grânulos

intracelulares, principalmente no fígado e nas células musculares. Já a glicose serve como uma fonte de energia quimicamente específica para certos tecidos e processos metabólicos que não podem usar outras fontes de energia (HILL *et al.*, 2012; RANDALL *et al.*, 2000). De acordo com González e Da Silva (2006) o fígado de animais mais jovens apresenta uma maior quantidade de glicogênio, quando comparado a indivíduos adultos, podendo corresponder de 6-8% da massa do fígado.

Quando otarídeos jovens são mal sucedidos em encontrar e consumir presas, eles utilizam suas reservas de energia do corpo para atender às demandas metabólicas, catabolizando glicogênio, gordura e proteína para obter energia durante o jejum. Uma vez que as reservas de glicogênio estão esgotadas no início do período de jejum, os animais normalmente oxidam gordura e proteína parcialmente livre para obtenção de energia. A inanição terminal ocorre quando 30-50% de proteína corporal foi metabolizada. Neste ponto, há a queda na utilização de lipídios e morte pode ocorrer se o jejum prosseguir (CASTELLINI; REA, 1992).

Figura 2 - Esquema simplificado do metabolismo hepático, de lipídeos, de glicídios e de proteínas.



Fonte: González e Da Silva, (2006).

O perfil bioquímico do plasma fornece importante informação a cerca do estado clínico metabólico de um animal, podendo ser um indicativo dos processos adaptativos do

organismo, no metabolismo energético, proteico, e mineral, além de oferecer subsídios na interpretação do funcionamento hepático (GONZÁLEZ; DA SILVA, 2006).

A frutossamina é uma proteína glicada que resulta da ligação irreversível das proteínas séricas com a glicose, não enzimática e não dependente da insulina. A frutossamina é um marcador da glicemia durante a vida útil das proteínas circulantes, que varia de 1 a 3 semanas, de acordo com a proteína (MOONEY; PETERSON, 2009).

Estudos abordando a bioquímica sanguínea em pinípedes são abundantes, já foram realizados em *Leptonychotes weddelli* (SCHUMACHER *et al.*, 1992), *Eumetopias jubatus* (REA *et al.*, 1998), *Mirounga leonina* (ENGELHARD *et al.*, 2002), *Phoca vitulina* (STEPHEN *et al.*, 2006). Todavia para o litoral do RS, existe apenas um trabalho sobre estimativa bioquímica de *A. australis*, realizado na porção sul da costa, onde, os animais foram classificados de acordo com seu estado de saúde. Animais doentes apresentaram menores concentrações sorológicas para triglicerídeos, glicemia, amilase e fósforo (SACCOMANI, 2005).

Erokhina (2007) avaliou os parâmetros bioquímicos no plasma sanguíneo de focas-da-groelândia, *Pagophilus groenlandicus*, para diferentes classes etárias. O nível de vários parâmetros do metabolismo do nitrogênio diminui com a idade dos animais, ou seja, a concentração mínima de glicose é observada em animais recém-nascidos. O nível plasmático de lipídeos totais é mais elevado em animais de até um ano de idade, sendo que essa concentração diminui significativamente com 2 anos e se mantém praticamente inalterada até a fase adulta.

Estudos hormonais envolvendo pinípedes foram realizados em para filhotes de lobo-marinho-australiano (*Arctocephalus pusillus doriferus*), onde a concentração do cortisol plasmático e hormônios tireoidianos foram analisadas (ATKINSON *et al.*, 2011). Já Verrier e colaboradores (2012) caracterizaram as respostas hormonais de cortisol, hormônios tireoidianos, insulina, glucagon e leptina ao jejum extremo de *Arctocephalus tropicalis*. Um estudo desenvolvido por Arnould *et al.*, (2012) avaliou a variação dos níveis de leptina plasmáticos em resposta ao jejum em animais da espécie *Arctocephalus gazella*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

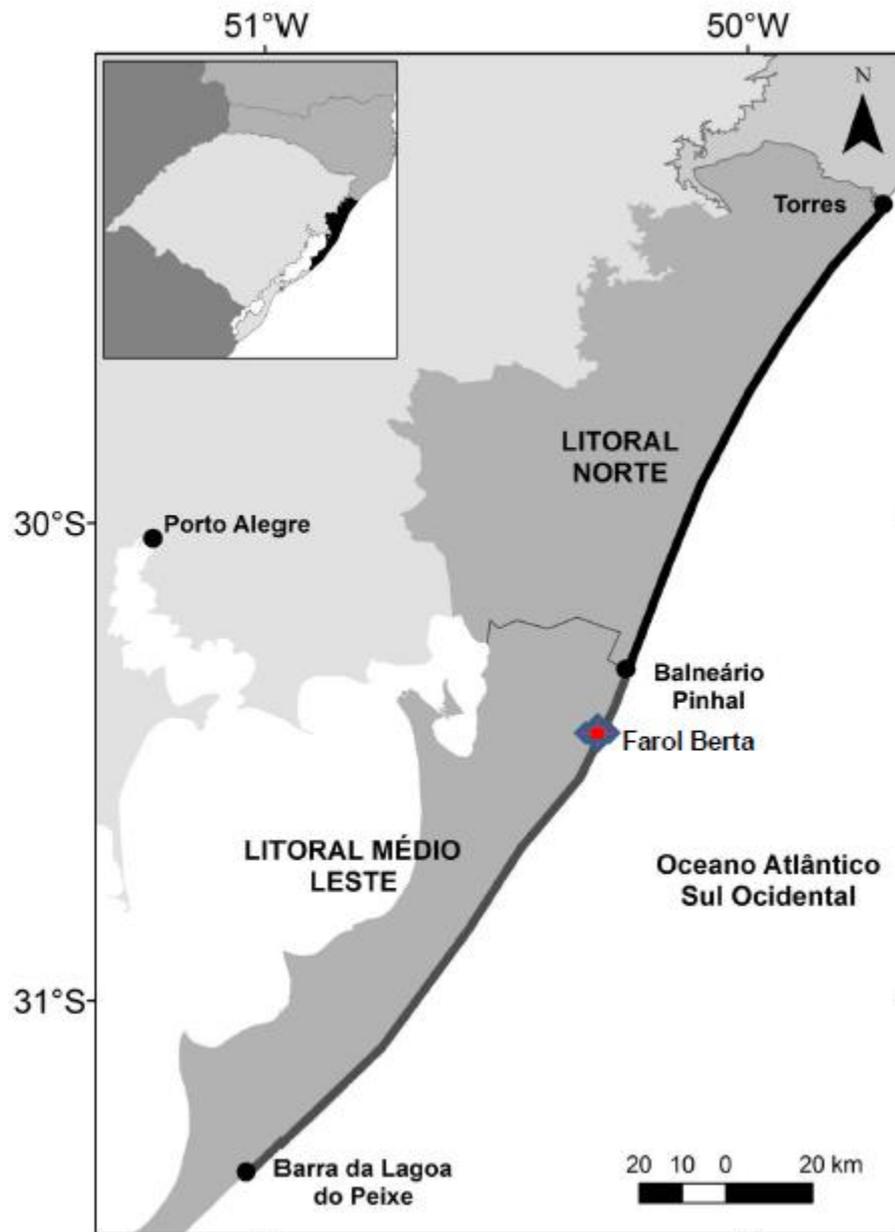
Para a realização deste estudo foram utilizados animais da espécie *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783), as coletas de material biológico foram realizadas a partir de autorização do SISBIO/ICMBio (nº 20185), para atividades com finalidade científica. Os procedimentos adotados estão descritos e detalhados a seguir.

3.1 ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo monitorada neste trabalho se estende desde Torres (29°21'32.75"S, 49°44'9.25"O), no litoral norte, até o Farol Berta em Palmares do Sul, no litoral médio leste (30°23'59.55"S, 50°17'20.32"O), compreendendo aproximadamente 125km de extensão (Figura 3). Essa classificação segue a setorização do litoral proposta pelo Programa de Gerenciamento Costeiro (GERCO) e utilizada pela Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM), que define o litoral norte com a área compreendida entre Torres e o Balneário Pinhal e como litoral médio leste a área compreendida entre Palmares do Sul e São José do Norte, ao leste da Lagoa dos Patos. Essa região encontra-se sob influência de duas correntes marinhas (Malvinas e do Brasil) que confluem aproximadamente entre as latitudes de 32-40°S, originando a Zona da Convergência Subtropical do Atlântico Sul Ocidental, que associada à influência do deságue das lagoas costeiras do litoral do Rio Grande do Sul, tornam a região uma área de alta produtividade biológica na zona entre a planície costeira e o talude, importante para a alimentação e a reprodução de diversos organismos marinhos (SEELIGER *et al.*, 1997).

Entre maio de 2012 e dezembro de 2013 foram realizados 57 monitoramentos de praia pelo Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos, do Instituto de Biociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CECLIMAR/IB/UFRGS), visando à coleta de informações biológicas de tetrápodes marinhos e costeiros.

Figura 3 - Mapa representativo da área de estudo compreendida entre Torres, litoral norte e o Farol Berta, em Palmares do Sul, litoral médio leste do Rio Grande do Sul.



Fonte: cedido por Karina Bohrer do Amaral, adaptação da Autora.

3.2 COLETA DE DADOS

Os animais amostrados foram divididos em dois grupos experimentais: grupo 1 (G1) – animais sem óbito registrado, ou seja, após a coleta de sangue do indivíduo vivo na praia ou no setor de Reabilitação de Animais Silvestres e Marinhos do CECLIMAR (CERAM), a carcaça do mesmo não foi visualizada em monitoramentos posteriores; Grupo 2 (G2) – animais com óbito registrado, após a coleta de sangue do indivíduo vivo na praia ou no CERAM, o animal veio a óbito na praia ou no CERAM. Havendo duas possibilidades para inclusão de indivíduos neste grupo: a) após a coleta de sangue, os animais vieram a óbito e realizou-se a coleta dos tecidos em condições de *rigor mortis*, os animais foram identificados em campo por meio de anilhas; b) os tecidos foram coletados quando o animal foi encontrado sem vida em campo, e sua carcaça estava em *rigor mortis*. O estado de *rigor mortis* da carcaça foi o critério para inclusão dos animais do G2 neste estudo, garantindo que os tecidos ainda estavam viáveis para as análises metabólicas (ver GERACI; LOUNSBURY, 2005a).

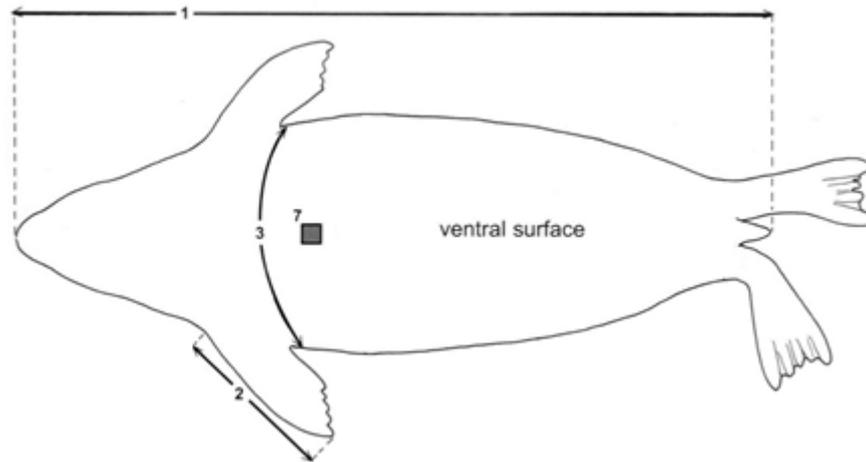
Os indivíduos amostrados foram identificados por meio de características morfológicas diagnósticas: coloração e morfologia do último par de pós-caninos superiores (JEFFERSON *et al.*, 1993; REPPENING *et al.*, 1971). A determinação do sexo foi realizada por meio da avaliação de caracteres morfológicos externos. Para caracterização do sexo feminino observou-se as aberturas, vaginal e anal, que se situam próximas uma da outra, localizadas ventralmente na base da cauda. Já nos indivíduos machos, observaram-se duas aberturas amplamente separadas, com o pênis alguns centímetros atrás da cicatriz umbilical, além da presença do báculo bem desenvolvido (osso peniano interno) (GERACI; LOUNSBURY, 2005b).

Os grupos experimentais não foram separados por gênero, sendo machos e fêmeas analisados conjuntamente.

3.2.1 Avaliações morfométricas dos indivíduos e métodos de necropsia

As medidas morfométricas foram realizadas para ambos os grupos conforme proposto por Geraci e Lounsbury (2005a), em que se mediu o comprimento total (medido da ponta do focinho à ponta da cauda), comprimento da nadadeira anterior e circunferência axilar, com o auxílio de uma trena de fibra de vidro com graduação de 1 mm. A figura 4 representa uma ilustração esquemática das medidas morfométricas que foram realizadas nos indivíduos de *A. australis*.

Figura 4 - Medidas padrão realizadas no presente estudo (1, 2, 3 e 7), em indivíduos de *Arctocephalus australis*.



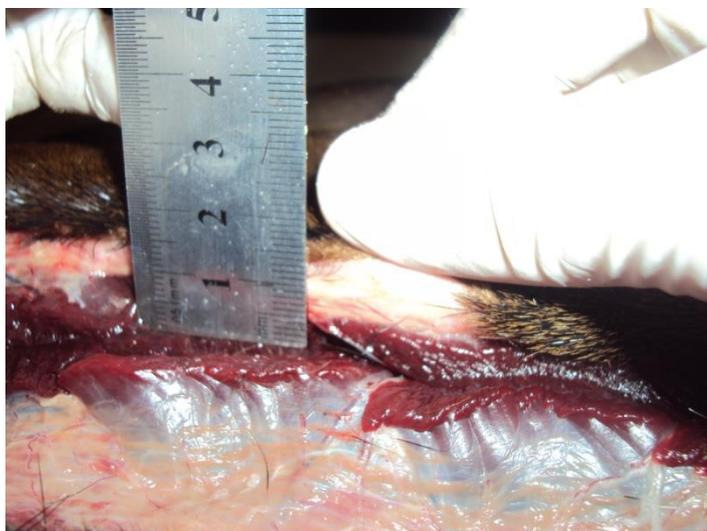
Desenho esquemático em vista ventral, onde 1= comprimento total, desde o extremo do rostró até o extremo da cauda em linha reta; 2= comprimento anterior da nadadeira anterior, desde o ponto de inserção no corpo até seu extremo; 3= circunferência axilar; 7= espessura do *blubber*.

Fonte: Adaptado de GERACI; LOUNSBURY (2005a).

A massa corporal foi determinada com o auxílio de uma balança do tipo pesola, em que foi adaptada uma malha onde o animal era inserido para a verificação da massa.

As necropsias do grupo G2 foram realizadas em laboratórios do CECLIMAR ou em campo. Aferiu-se a presença de conteúdo estomacal e / ou intestinal. Além disso, determinou-se a espessura do *blubber*, na região sobre a extremidade posterior do esterno, realizou-se a medida utilizando régua de alumínio com graduação de 1 mm, metodologia representada na Figura 5 (GERACI; LOUNSBURY, 2005a).

Figura 5 - Determinação da espessura do *blubber* (camada de gordura), na região ventral, para os indivíduos de *Arctocephalus australis* amostrados.



Fonte: a Autora, (2012).

Tipicamente em mamíferos marinhos se utilizam três critérios de maturidade: física, craniana e sexual, sendo que, em geral, a maturidade sexual é atingida primeiro, seguida da craniana e por último a física. Para o lobo-marinho-sul-americano existem estudos que avaliaram o fusionamento das suturas cranianas em conjunto com o comprimento côndilo-basal (CBL) do crânio e consideram três classes etárias: juvenil, subadulto e adulto (SIMÕES-LOPES *et al.*, 1995; DREHMER; FERIGOLO, 1997). Todavia, existe um intervalo de CBL (160-180mm) que é considerado crítico, pois pode englobar tanto espécimes jovens, quanto subadultos. Como, no presente estudo, se utilizou tanto espécimes mortos quanto vivos, aos quais não se poderia determinar a maturidade física do esqueleto e nem craniana, optou-se por estimar a maturidade sexual através do comprimento total dos espécimes. Nesse sentido, para determinação da maturidade sexual pelo tamanho seguiu-se SCS, (2011) categorizando os espécimes como maduros ou imaturos sexualmente, em que se considerou que machos maduros apresentam comprimento total, igual ou maior a 200 cm, e fêmeas, comprimento total igual ou maior a 150 cm.

3.2.2 Índices de condição corporal

Foram calculados diferentes índices de condição corporal conforme proposto por diferentes autores:

Relação proposta por Trites e Jonker (2000), Índice de Condição Corporal 1 (ICC1),
 $ICC = \text{massa} / (-63,88 + 0,8966 * \text{comprimento total})$;

Relação proposta por Arnould (1995), Índice de Condição Corporal 2 (ICC2),
 $ICC = \text{massa} / \text{comprimento total}$;

Relação proposta por Tavoni *et al.*, (2013), Índice de Condição Corporal 3 (ICC3),
 $ICC = \text{circunferência axilar} / \text{comprimento total}$.

3.2.3 Coletas de sangue e tecidos

A coleta de sangue dos animais vivos, em campo ou no CERAM, foi realizada por médico veterinário, juntamente com no mínimo mais dois ajudantes para a contenção adequada dos animais. Para a contenção física utilizou-se puçá e cambão para limitar os movimentos da cabeça, rede para restringir o movimento corporal e pessoas para auxiliar a manter o animal em posição de coleta (Figura 6). Todos os envolvidos na coleta e na

manipulação do animal utilizavam luvas de raspa de couro, máscaras cirúrgicas descartáveis com três filtros e botas de borracha, para proteção pessoal (RUOPOLLO, 2007).

Figura 6 - Equipe do CECLIMAR, realizando contenção em lobo-marinho-sul-americano (*Arctocephalus australis*) para coleta de informações biológicas, durante monitoramento de praia em 20 de julho de 2012.



Fonte: foto cedida pelo CECLIMAR/IB/UFRGS, (2012).

Conforme descrito por Gulland *et al.*, (2001) durante a contenção do animal, o sangue foi coletado da veia glútea caudal, com agulha de 25x8 (21G). O sangue coletado foi inserido em tubos do tipo *vacutainer* com gel separador e ativador de coagulação (COUTINHO; SOUZA, 2005). A coagulação da amostra se deu a temperatura ambiente por, no máximo, duas horas. O isolamento do soro foi realizado em laboratórios do CECLIMAR, sendo que para a obtenção do soro centrifugou-se a amostra a 3.000 rpm durante 15 minutos e posteriormente o soro foi armazenado em *ependorfs*, em quantidades de 500 μ l a uma temperatura de -20°C (GONZÁLEZ; DA SILVA, 2006).

As amostras de fígado foram coletadas dos quatro lóbulos, possuindo o tamanho de 2 cm x 1 cm cada. Já as amostras de *blubber* foram coletadas da região ventral das carcaças (GERACI; LOUNSBURY, 2005a) e a quantidade coletada variou com a disponibilidade de tecido. Ambas as amostras teciduais foram armazenadas em sacos plásticos transparentes a uma temperatura de -20°C.

As amostras sorológicas e os tecidos congelados foram transportados do CECLIMAR ao Laboratório de Metabolismo e Endocrinologia Comparada (LaMEC), em gelo seco, onde foram conservados a -20°C até sua utilização.

3.2.4 Procedimentos experimentais

Todos os procedimentos experimentais referentes às dosagens bioquímicas e análises teciduais foram realizados no LaMEC, situado no Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) da UFRGS.

3.2.4.1 Determinação das dosagens séricas

As concentrações dos triglicerídeos, colesterol total, glicose livre e proteínas totais, uréia, ácido úrico, creatinina, lactato e frutossamina foram determinadas por meio de ensaios colorimétricos com kits comerciais (Labtest® diagnóstica). As dosagens séricas foram realizadas em duplicata e os resultados foram expressos em mg/dL, com exceção da concentração de frutossamina que foi expressa em $\mu\text{mol/L}$.

3.2.4.2 Análises teciduais

Para todas as análises teciduais foram utilizados fígado e *blubber* dos animais amostrados.

3.2.4.2.1 Triacilgliceróis

Para a determinação da concentração de triacilgliceróis (TAG), aproximadamente 400mg de tecido foram homogeneizados com solução salina (0,9%), (homogeneizador tipo *Turrax*- marca Marconi®). A concentração de triacilgliceróis teciduais foi determinada por meio de ensaios colorimétricos com kits comerciais (Labtest® diagnóstica). As dosagens séricas foram realizadas em duplicata e os resultados foram expressos em mg de TAG / g de tecido úmido.

3.2.4.2.2 Lipídios totais

Os lipídios totais foram isolados com clorofórmio-metanol (2:1) conforme Folch *et al.*, (1957). Realizou-se a homogeneização de 500mg de *blubber* com 8 ml clorofórmio-metanol e incubação *overnight* a 10 °C. Após incubação, realizou-se a filtração e, o filtrado foi transferido para novos tubos *falcon*, sendo posteriormente, centrifugado a 3.500 rpm com água destilada. Formaram-se duas fases, sendo que a superior, contendo água e metanol, foi descartada e a inferior, formada pelo clorofórmio e lipídeos, foi centrifugada mais duas vezes com água a 3.500 rpm. A fase lipídica foi vertida em tubos de vidro e o clorofórmio foi retirado por meio de evaporação em capela de exaustão. Os lipídios totais foram dosados por método gravimétrico, e expressos como mg de lipídios / g de tecido e mg%.

3.2.4.2.3 Proteínas totais

Para análise das proteínas totais no fígado, utilizou-se 400mg de tecido que foi homogeneizado (homogeneizador tipo Turrax- marca Marconi®), com solução salina (0,9%). A concentração das proteínas totais foi determinada por método colorimétrico com kit para dosagem de proteínas totais (Labtest® diagnóstica). Os resultados foram expressos em mg de proteína /g de tecido úmido.

3.2.4.2.4 Glicogênio

A extração de glicogênio tecidual foi realizada conforme o método de Van Handel (1965). Utilizou-se cerca de 100 mg de fígado, que foram colocados em tubos tipo *falcon* com fundo cônico e digeridos em 2 ml de KOH 30% em banho-maria a 100 °C, por 60 minutos. Após, foram acrescentadas 5 gotas de sulfato de sódio saturado (NaSO₄) e 2 ml de álcool etílico 92%. Os tubos foram agitados e centrifugados a 2.500 rpm por 10 minutos para precipitar o glicogênio. Após lavagem, o precipitado foi ressuspensionado em água destilada quente (80°C). O glicogênio da amostra foi hidrolisado com HCl 4 N, aquecido a 100°C e neutralizado com carbonato de sódio (Na₂CO₃) 2M. A dosagem de glicose foi realizada por meio do kit colorimétrico de glicose (Labtest® diagnóstica). Uma curva padrão de glicogênio (1mg/ml) foi utilizada como fator de calibração. Os resultados foram expressos como mg de glicogênio/ g de tecido úmido.

3.3 PROTEÇÃO AO PESQUISADOR

Durante a execução das técnicas constantes no presente trabalho os pesquisadores envolvidos usaram luvas de procedimento cirúrgico e vestimentas adequadas para sua própria proteção. Quando necessário também foram utilizados máscara e óculos de proteção. Além destes cuidados, a preparação das soluções voláteis ocorreu dentro da capela de exaustão. O descarte dos resíduos não-tóxicos ocorreu no sistema de esgoto comum e os demais resíduos foram encaminhados para o Centro de Gestão e Tratamento de Resíduos Químicos da UFRGS para procedimento correto de eliminação.

3.4 TRATAMENTO DE RESÍDUOS

Os resíduos de amostras biológicas foram congelados a -20°C até o recolhimento, seguindo o protocolo do Sistema de Gestão Ambiental da UFRGS. Luvas e demais materiais que continham resíduos biológicos, bem como, materiais perfurocortantes, foram devidamente separados, embalados, identificados e posteriormente recolhidos.

3.5 ANÁLISE DE DADOS

Para testar a normalidade dos resultados foi utilizado teste de Levene. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (Média \pm EPM). A comparação dos dados experimentais obtidos foi realizada utilizando o teste *t* de *Student* para dados não pareados. Ambos os testes foram realizados no software SPSS (IBM SPSS Statistics 17 compatível com Windows 2007) e os gráficos foram realizados no software GraphPad Prism 5. As diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando a análise estatística apresentou $P < 0,05$.

4 RESULTADOS

No total foram amostrados 23 indivíduos, sendo vinte machos e três fêmeas. O grupo G1 (animais sem óbito registrado) foi composto 13 indivíduos, já o G2 (animais com óbito registrado) foi composto por 10 indivíduos. O número amostral dos grupos variou dentre as distintas análises.

4.1 PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS

Dos 23 animais amostrados, foram avaliadas as medidas morfométricas em 16 espécimes, englobando os grupos G1 e G2. Os valores médios obtidos para medidas morfométricas, massa corporal e a espessura do *blubber* estão demonstradas na Tabela 1, e não se obteve diferença significativa entre os grupos G1 e G2 para nenhum dos parâmetros.

Tabela 1 - Medidas morfométricas para indivíduos de *Arctocephalus australis* amostrados.

Medidas Morfométricas	G1 (n=7)	G2 (n=9)
M (kg)	15,92 ± 10,78	18,36 ± 14,43
1 (cm)	97,21 ± 14,88	101,3 ± 21,67
2 (cm)	30,89 ± 6,655	31,94 ± 8,692
3 (cm)	57,18 ± 12,81	57,76 ± 15,19
7 (cm)	---	0,7 ± 0,088

G1 (animais sem óbito registrado); G2 (animais com óbito registrado); M = massa corporal; 1= comprimento total, desde o extremo do rostró até o extremo da cauda em linha reta; 2= comprimento anterior da nadadeira anterior, desde o ponto de inserção no corpo até seu extremo e 3= circunferência axilar; EB = espessura do *blubber*; n= número de animais amostrados para cada grupo; (---) parâmetro não determinado.

Nota: dados expressos como média ± EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

A partir da medida 1 (comprimento total), determinamos que os indivíduos amostrados, tanto machos como fêmeas, foram classificados como sexualmente imaturos.

A condição corporal foi estimada a partir das medidas morfométricas e os valores encontrados para os três índices realizados estão descritos na Tabela 2. Para ICC1 e ICC2 não houve diferença significativa entre os grupos G1 e G2. Para ICC3 houve diferença significativa entre os grupos (P=0,0394).

Tabela 2 - Diferentes índices de condição corporal para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos grupos.

Grupos	n	ICC1	ICC2	ICC3
G 1	7	0,622 ± 0,017	0,129 ± 0,007	0,590 ± 0,036
G 2	9	0,655 ± 0,012	0,123 ± 0,006	*0,547 ± 0,033

G1 (animais sem óbito registrado); G2 (animais com óbito registrado); (n) = número de animais amostrados para cada grupo e dosagem; ICC1 = massa/-63,88+0,8966*comprimento total (TRITES; JONKER, 2000); ICC2 = massa/comprimento total (ARNOULD, 1995); ICC3 = circunferência axilar/comprimento total (TAVONI *et al.*, 2012).

*Diferença significativa para ICC3 (P=0,0394).

Nota: dados expressos como média ±EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

4.2 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Os parâmetros bioquímicos foram avaliados para ambos os grupos, G1 (animais sem óbito registrado) e G2 (animais com óbito registrado). Os valores encontrados para cada análise e para os distintos grupos estão descritos na Tabela 3. Os mesmos dados da Tabela 3 estão representados nas figuras 7 a 16, para facilitar a visualização dos resultados obtidos. A Tabela 3 apresenta também dados da literatura relacionados aos parâmetros avaliados.

Tabela 3 - Dosagens séricas realizadas para os grupos G1 e G2.

Dosagens	G1	G2	Valores para Animais saudáveis	Valores para Animais doentes
Glicemia (mg/dL)	100,5 ± 15,26 (n = 12)	12,25 ± 3,61* (n = 7)	93,7 ± 9,4 ^a (n = 7)	64.0 ± 7.1 ^a (n = 3)
Triacilgliceróis (mg/dL)	34,90 ± 6,99 (n = 12)	147,6 ± 41,01* (n = 7)	51,0 ± 7,8 ^a (n = 7)	31,0 ± 4,6 ^a (n = 3)
Colesterol (mg/dL)	145,3 ± 15,34 (n = 12)	119,8 ± 10,54 (n = 7)	154,7 ± 24,1 ^a (n = 7)	118,3 ± 51,5 ^a (n = 3)
Proteínas totais (mg/dL)	7,142 ± 0,43 (n = 12)	6,918 ± 0,71 (n = 7)	6,9 ± 0,8 ^a (n = 7)	6,3 ± 1,7 ^a (n = 3)
Ácido úrico (mg/dL)	1,271 ± 0,18 (n = 9)	6,150 ± 1,2* (n = 6)	1,6 ± 0,5 ^a (n = 7)	2,5 ± 1,9 ^a (n = 3)
Frutosamina (µmol/L)	177,5 ± 19,37 (n = 9)	174,5 ± 28,92 (n = 6)	225 – 365 ^b	---
Uréia (mg/dL)	133,3 ± 13,01 (n = 13)	180,8 ± 28,94 (n = 7)	80,7 ± 10,3 ^a (n = 7)	89,0 ± 13,1 ^a (n = 3)
Lactato (mg/dL)	47,57 ± 10,93 (n = 9)	119,4 ± 12,80* (n = 5)	---	---
Creatinina (mg/dL)	0,614 ± 0,05 (n = 7)	1,176 ± 0,11* (n = 4)	1,1 ± 0,3 ^a (n = 7)	1,0 ± 0,3 ^a (n = 3)

G1 (animais sem óbito registrado); G2 (animais com óbito registrado); (n) = número de animais amostrados para cada grupo e dosagem; (---) parâmetro não determinado.

^a Adaptado de Saccomani (2005) para *A. australis*; ^b Adaptado de Mooney e Peterson (2009).

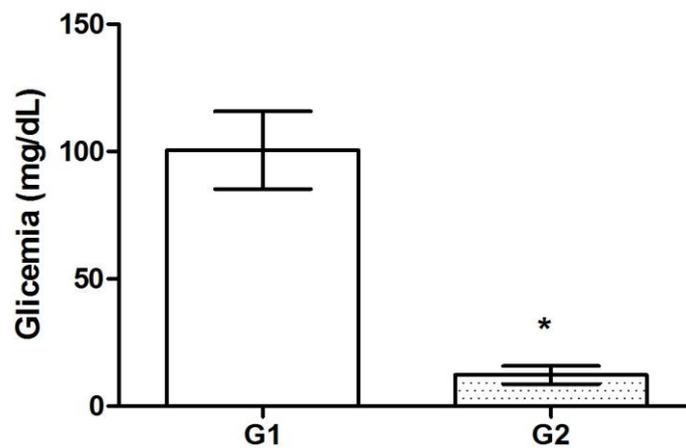
*Diferença significativa (P<0,05) entre os grupos G2 e G1.

Nota: dados expressos como média ±EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

As concentrações séricas de glicose, lactato, creatinina, triacilgliceróis e ácido úrico foram significativamente diferentes entre os grupos amostrais. A concentração de glicose diferiu significativamente ($P= 0,0004$) entre os grupos G1 e G2, sendo aproximadamente 8x mais elevada em G1 em relação a G2. (Figura 7; Tabela 3).

Figura 7 - Concentração de glicose sérica para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos grupos.



G1 (animais sem óbito registrado) (n=12); G2 (animais com óbito registrado) (n=7).

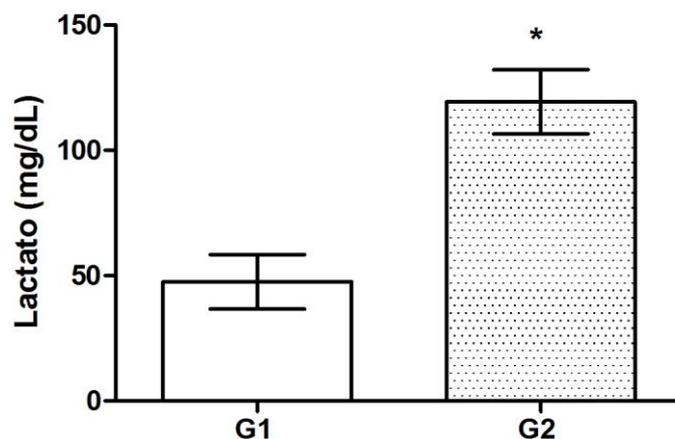
*Diferença significativa ($P=0,0004$) entre os grupos G2 e G1.

Nota: As colunas e barras representam, respectivamente, a média ± EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

A Figura 8 e a Tabela 3 mostram os resultados dos níveis de lactato sérico, sendo que para G2 os níveis de lactato foram 2x maiores em relação a G1 ($P= 0,0015$).

Figura 8. Concentração de lactato sérico para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos grupos.



G1 (animais sem óbito registrado) (n=9); G2 (animais com óbito registrado) (n=5).

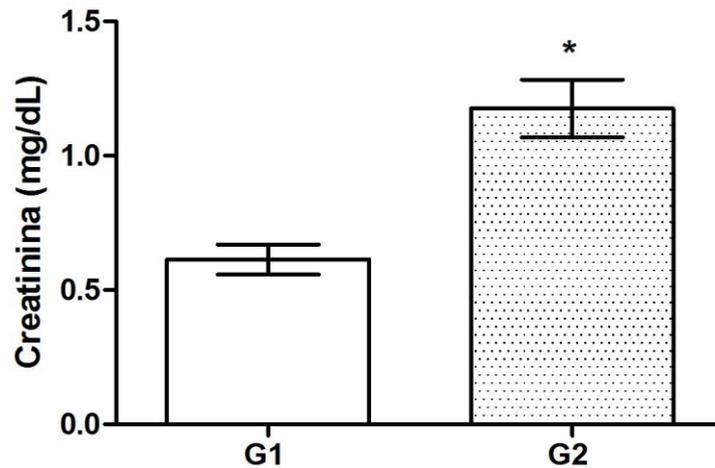
*Diferença significativa ($p=0,0015$) entre os grupos G2 e G1.

Nota: as colunas e barras representam, respectivamente, a média ± EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

Já a concentração de creatinina foi aproximadamente 2x maior para G2 quando comparado com G1. A diferença entre os grupos foi considerada significativa para a concentração de creatinina sérica ($P=0,0006$) (Figura 9; Tabela 3).

Figura 9 - Concentração de creatinina sérica para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos grupos.



G1 (animais sem óbito registrado) (n=7); G2 (animais com óbito registrado) (n=4).

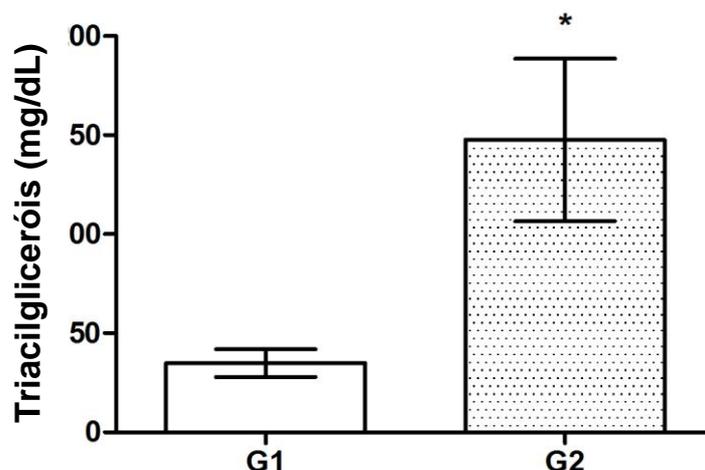
*Diferença significativa ($P=0,0006$) entre os grupos G2 e G1.

Nota: as colunas e barras representam, respectivamente, a média \pm EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

O grupo de animais que vieram a óbito, G2, apresentou níveis de triacilgliceróis séricos 4x maiores do que G1, havendo diferença significativa entre os grupos ($P=0,0001$). (Figura 10; Tabela 3).

Figura 10 - Concentração de triacilgliceróis séricos para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos grupos.



G1 (animais sem óbito registrado) (n=12); G2 (animais com óbito registrado) (n=7).

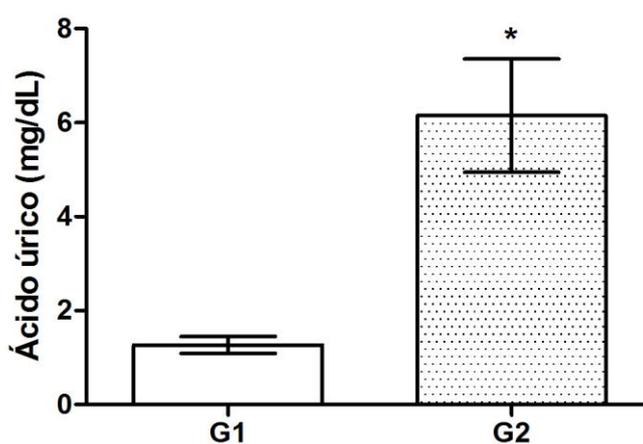
*Diferença significativa (P=0,0001) entre os grupos G2 e G1.

Nota: as colunas e barras representam, respectivamente, a média \pm EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

A Figura 11 e a Tabela 3 mostram que os níveis de ácido úrico foram cerca de 5x maiores para G2 em relação a G1 (P=0,0003).

Figura 11- Concentração de ácido úrico sérico para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos grupos.



G1 (animais sem óbito registrado) (n=9); G2 (animais com óbito registrado) (n=6).

*Diferença significativa (P=0,0003) entre os grupos G2 e G1.

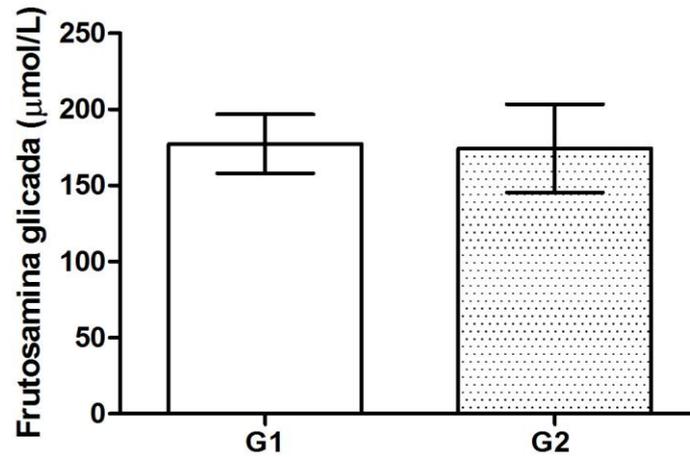
Nota: as colunas e barras representam, respectivamente, a média \pm EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

Os níveis séricos de frutossamina glicada, colesterol total, proteínas totais e uréia não apresentaram diferença significativa entre os grupos e estes resultados estão demonstrados, respectivamente, nas Figuras 12, 13, 14 e 15. Os valores médios encontrados para cada

análise e para os distintos grupos estão descritos na Tabela 3, assim como valores de referências para os parâmetros avaliados.

Figura 12 - Concentração de frutossamina sérica para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos grupos.

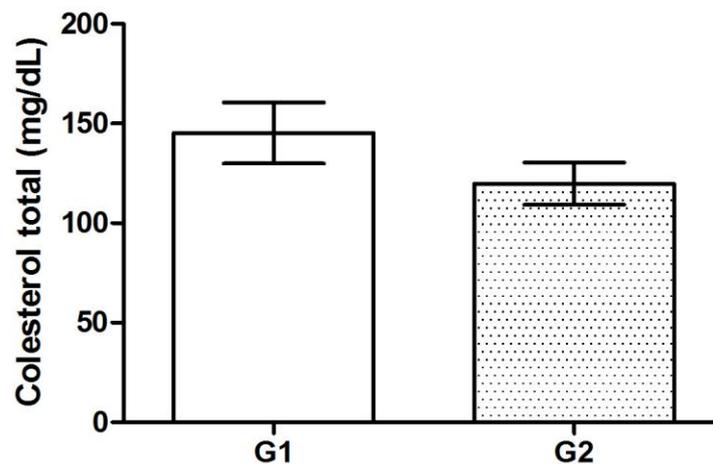


G1 (animais sem óbito registrado) (n=9); G2 (animais com óbito registrado) (n=6).

Nota: as colunas e barras representam, respectivamente, a média \pm EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

Figura 13 - Concentração de colesterol total sérico para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos grupos.

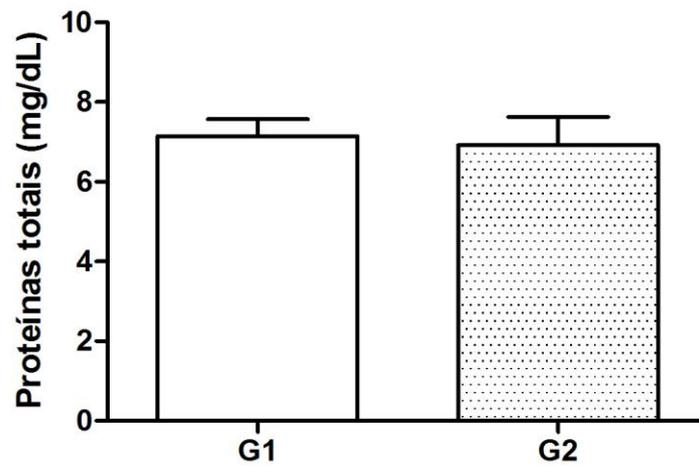


G1 (animais sem óbito registrado) (n=9); G2 (animais com óbito registrado) (n=6).

Nota: as colunas e barras representam, respectivamente, a média \pm EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

Figura 14 - Concentração de proteínas totais séricas para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos grupos.

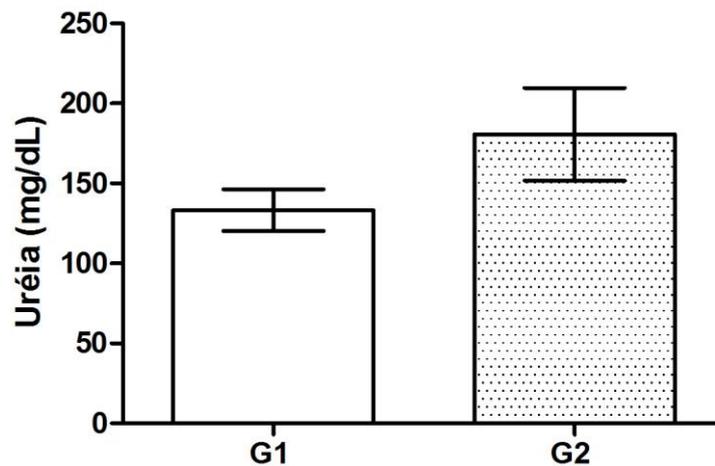


G1 (animais sem óbito registrado) (n=12); G2 (animais com óbito registrado) (n=7).

Nota: as colunas e barras representam, respectivamente, a média ± EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

Figura 15 - Concentração de uréia sérica para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos grupos.



G1 (animais sem óbito registrado) (n=12); G2 (animais com óbito registrado) (n=7).

Nota: as colunas e barras representam, respectivamente, a média ± EPM.

Fonte: a Autora, (2014).

4.5 ANÁLISES TECIDUAIS

Para o grupo de animais que veio a óbito (G2) também foi verificada a presença de conteúdo estomacal e intestinal, onde todos os indivíduos amostrados para este grupo estavam sem conteúdo estomacal e intestinal.

As dosagens teciduais de *blubber* e fígado estão descritas na Tabela 4, onde são comparadas com valores de referências para pinípedes extraídos da literatura.

Tabela 4 - Dosagem das reservas energéticas teciduais para indivíduos de *Arctocephalus australis*, para os distintos tecidos: *blubber* e fígado.

Parâmetro	n	Fígado	<i>Blubber</i>	Fígado Referência	<i>Blubber</i> Referência
TGC (mg/g)	9	17,3 ± 1,7	*31,2 ± 7,9	0,8 ^b (n= 21)	500 ^b (n= 21)
Lipídeos totais (mg/g)	7	18,2 ± 1,7	91,9 ± 26,4	86 ± 33 ^a (n= 8)	316 ± 273 ^a (n=8)
Lipídeos totais (%)	7	1,8%	9,2%	8,6% ^a (n= 8)	31,6% ^a (n= 8)
Proteínas (mg/g)	9	1,5 ± 0,2	---	---	---
Glicogênio (mg/g)	9	0,2 ± 0,1	---	3,5 ^b (n= 21)	---

G1 (animais sem óbito registrado); G2 (animais com óbito registrado); (n) = número de animais amostrados para cada dosagem; (---) parâmetro não determinado.

^a Adaptado de Fillmann *et al.*, (2007) para *Arctocephalus australis*; ^b Adaptado de Bailey *et al.*, (1980) para *Pagophilus groenlandicus* (Foca-da-Groenlândia).

*Diferença significativa (P=0,0003) entre a concentração de triglicerídeos nos tecidos *blubber* e fígado.

Nota: dados expressos como média (±EPM).

Fonte: a Autora, (2014).

5 DISCUSSÃO

5.1 RESERVAS ENERGÉTICAS DO SORO

O perfil bioquímico sanguíneo fornece importante informação sobre o estado clínico e metabólico de um animal (GONZÁLEZ; DA SILVA, 2006). A bioquímica sanguínea variou entre os grupos de animais, o grupo dos animais que vieram a óbito (G2) apresentaram maiores concentrações de triacilgliceróis, ácido úrico, lactato e creatinina, quando comparado aos animais sem óbito registrado (G1). Os animais G2 apresentaram valores de glicemia significativamente mais baixos do que os animais do grupo G1 (Figura 7) e do que animais da mesma espécie classificados como doentes (SACCOMANI, 2005) (Tabela 3). Os demais parâmetros não variaram entre os grupos. Mesmo em animais com hábitos alimentares carnívoros, como em *A. australis*, a manutenção da glicemia é essencial para manter a integridade e o funcionamento principalmente do tecido cerebral (Hill *et al.*, 2012). A diminuição acentuada da glicemia observada nos animais G2 indica que o funcionamento de órgãos vitais, como o cérebro, podem ter sido comprometidos pela alteração deste substrato energético circulante.

A dosagem de frutossamina glicada permite identificar a presença de glicose no sangue até 3 semanas antes da coleta de dados e valores de frutossamina iguais ou inferiores a 300 μ mol/L podem indicar períodos de hipoglicemia em cães (MOONEY; PETERSON, 2009). Neste estudo, as concentrações de frutossamina observada para G1 e G2 (Figura 13; Tabela 3) foram significativamente menores do que valores considerados normais para outros mamíferos, sugerindo que a glicemia destes animais estava alterada nas últimas semanas. Contudo, não existem parâmetros em outros mamíferos marinhos para comparação destes dados.

O lactato é um produto final da degradação da glicose na ausência do oxigênio (glicólise anaeróbia) e é produzido pela redução do piruvato. O músculo esquelético, o cérebro e as hemácias são responsáveis pela maior parte do lactato do organismo (NELSON; COX, 2006). A concentração de lactato sanguíneo depende da taxa de produção e da taxa de metabolização no fígado e rins. Em mamíferos, aproximadamente 30% da produção plasmática basal total de lactato é utilizada pelo fígado, com predominância da gliconeogênese (BURTIS; ASHWOOD, 1998).

Dados a respeito dos níveis plasmáticos de lactato de *A. australis* não foram encontrados na literatura, contudo, muitos estudos já foram realizados com outros mamíferos marinhos durante e após mergulho. Em focas *Weddell*, a concentração de lactato plasmático de animais em repouso foi estimada como sendo próxima de 50mg/dL (KOOYMAN *et al.*, 1980). Valores semelhantes de lactato plasmático foram observados no grupo G1 (Tabela 3). Já os animais do grupo G2 apresentaram concentrações de lactato plasmáticas (Tabela 3) compatíveis com focas que se recuperam de mergulhos mais prolongados. Em focas *Weddell*, após mergulho prolongado - acima de 25 minutos - a concentração de lactato plasmático, medida no período de repouso após mergulho, aumentou em proporção ao tempo de mergulho, chegando a valores máximos de aproximadamente 143mg/dL (KOOYMAN *et al.*, 1980).

Em 1942, Scholander *et al.*, mediram a concentração de lactato sanguíneo e muscular de focas (*Phoca vitulina*) e constataram que a maior parte do lactato plasmático, após mergulho, é proveniente do tecido muscular. Os animais que foram amostrados na praia no presente trabalho provavelmente estavam em repouso após esforço muscular que realizaram forrageando, alternando mergulho e respiração e este lactato plasmático foi proveniente do tecido muscular. O aumento da concentração plasmática de lactato no sangue indica uma diminuição do fluxo sanguíneo para os tecidos, com conseqüente diminuição do fornecimento de oxigênio (BURTIS; ASHWOOD, 1998). A presença de níveis aumentados de lactato no grupo de animais que vieram a óbito em relação ao grupo G1 (Figura 8) sugere a estimulação da glicólise anaeróbia pelos tecidos destes animais.

Outro fator que deve ser levado em consideração é o fato de que, em mamíferos, os níveis de lactato aumentam em resposta ao aumento de adrenalina sérica (BOTTEON, 2012). O contato dos animais amostrados com seres humanos ou outros animais na praia pode ter levado ao estímulo de mecanismos neurais de “luta ou fuga” (HILL *et al.*, 2012), ocasionando aumento de adrenalina na circulação, o que pode ter contribuído também para este aumento de lactato. Contudo, investigações a respeito da concentração destes hormônios na circulação não foram avaliadas neste trabalho e são necessárias para confirmar esta hipótese.

Comparados com resultados anteriores para mesma espécie, para animais saudáveis e doentes (Saccomani, 2005), os níveis de ureia estavam aumentados em ambos os grupos G1 e G2 (Tabela 3). A uréia pode estar elevada devido à dieta hiperproteica, ao catabolismo proteico elevado (na febre ou septicemia) e após hemorragias internas do trato gastrointestinal. A elevação da ureia plasmática também pode indicar insuficiência renal (BURTIS; ASHWOOD, 1998).

A maior concentração de triacilgliceróis observada no grupo G2 (Figura 10; Tabela 3) indica uma mobilização das reservas energéticas para manter a produção de energia, considerando que os lipídios em mamíferos marinhos servem tanto para termorregulação, quanto para manter a produção de ATP. A espessura do *blubber* do G2 foi menor que a média descrita por Bailey *et al.*, (1980) para focas *Pagophilus groenlandicus*. Este dado reforça a utilização deste tecido como substrato energético para a manutenção das funções vitais durante períodos de menor ingesta alimentar no grupo G2.

Numerosas doenças, condições fisiológicas, alterações químicas e fatores ambientais estão associados ao aumento nas concentrações de urato plasmático em mamíferos. O aumento plasmático de urato está positivamente relacionado com insuficiência renal, excesso de lactato e hiperlipidemia (BURTIS; ASHWOOD, 1998; ELIN *et al.*, 1982). Desta forma, a maior concentração de ácido úrico observada no G2 (Figura 11) pode estar relacionada com o aumento da concentração de lactato e de triglicerídeos plasmáticos observados neste grupo. Além disso, estes dados, somados aos valores elevados de creatinina (Figura 9) e de uréia (Tabela 3) observada nos animais que vieram a óbito, sugerem que estes animais já tinham algum comprometimento da função renal quando amostrados.

No presente estudo, os animais encontrados na costa que vieram a óbito (G2) na praia ou após serem encaminhados para o centro de reabilitação (CERAM) não apresentaram nenhum conteúdo estomacal ou intestinal. Em 2008, Oliveira *et al.*, também observaram animais amostrados ao longo do Litoral Norte do Rio Grande do Sul e constataram que 56,7% dos estômagos de *A. australis* estavam vazios.

A falta de conteúdo estomacal e intestinal observada nos animais que vieram a óbito, juntamente com os dados plasmáticos de glicemia e dosagem de frutamina séricas são fortes indícios de que estes animais estavam em jejum. Além disso, a espessura do *blubber* destes animais estava menor do que observado em outras espécies e a concentração de glicogênio hepático estava extremamente baixa (Tabela 4), o que reforça esta suposição.

Acredita-se que a inanição é uma das principais causas de morte em pinípedes. Animais em jejum podem morrer rapidamente por hipotermia e exaustão. Outros morrem depois de um período de doença desencadeada por desnutrição e mediada por fatores como hipotermia, desidratação e desequilíbrio eletrolítico, distúrbios hormonais e infecção por parasitas e patógenos oportunistas (GERACI; LOUNSBURY, 2002). Seguel e colaboradores (2011) determinaram a causa da morte em filhotes *A. australis gracilis*, as principais causas de morte foram enterite bacteriana (28,2%), inanição (23,1%), afogamentos (21,8%) e trauma

(19,2%). Nos filhotes que morreram de inanição a prevalência de colestase e atrofia dos hepatócitos foi significativa.

Muitos fatores determinam quanto tempo um animal pode sobreviver em jejum: a sua idade, as reservas de gordura, taxa metabólica, a demanda de energia e saúde em geral (GERACI; LOUNSBURY, 2002). Numerosas alterações metabólicas, incluindo mudanças no tecido adiposo, proteínas e metabolismo de carboidratos ocorrem com a progressão do jejum em pinípedes. Os mamíferos marinhos tendem a ter grandes reservas de gordura que mudam drasticamente ao longo do curso de jejum, valores específicos de massa do metabolismo podem ser enganosos (CHAMPAGNE *et al.*, 2012b). Durante estágios comportamentais que expendem muita energia, naturalmente os pinípedes se mantêm em jejum prolongado. Diferentemente da maioria dos outros grupos de animais submetidos a jejuns naturais, os níveis de atividade permanecem elevados (CROKER; COSTA, 2002). A adaptação primária, em pinípedes, que permite o jejum prolongado de alta energia, é a capacidade de gerar grande parte do ATP por meio da oxidação de lipídios (CASTELLINI *et al.*, 1987).

Há uma interação entre os sistemas do corpo, cada um complementando o outro, quando um sistema está em desequilíbrio, pode levar a um problema secundário, que, em seguida, torna-se uma ameaça. Por exemplo, o *blubber* é uma fonte de energia, isolamento, reserva de água e fluidez, quando este tecido adiposo está sendo depletado, por falta de ingestão de alimento, o animal pode, eventualmente, ser incapaz de descansar na superfície da água, manter o calor do corpo, forragear, fugir de predadores ou manter-se em grupo. O estresse resultante pode facilitar infecções, reduzindo ainda mais as chances de sobrevivência (GERACI; LOUNSBURY, 2002).

Os mamíferos marinhos frequentemente entram em balanço energético negativo devido ao jejum prolongado durante migração, reprodução ou muda (COSTA, 2002). Sendo assim, os animais do grupo G2, provavelmente, acabaram desenvolvendo alterações nas suas reservas energéticas devido a sua condição nutricional ruim, o que pode ter levado ao desenvolvimento de enfermidades que os levaram a óbito. Segundo estudo virológico realizado por Chiappetta (2014), indivíduos de *A. australis*, amostrados ao longo do Litoral Norte do RS, apresentavam adenovírus em suas fezes. Os principais sinais clínicos apresentados por animais encalhados ou em reabilitação são franqueza, emaciação, fotofobia, polidipsia, diarreia sanguinolenta, entumescimento abdominal, linfopenia e monocitose. A presença de condições patológicas como esta poderia justificar a ausência de conteúdo alimentar e intestinal, além da baixa glicemia e dos altos níveis de ureia no soro dos animais G2.

5.2 RESERVAS ENERGÉTICAS TECIDUAIS

As reservas do *blubber* desempenham um papel importante na regulação térmica e a depleção deste tecido para as necessidades energéticas é limitada pela necessidade de termorregulação (CROKER; COSTA, 2002). Segundo Jonker e Trites (2000) a quantidade de gordura subcutânea (*blubber*) de um pinípedes, teoricamente, deveria refletir o seu estado nutricional, a não ser que o animal esteja doente ou fortemente infestado de parasitas. Animais com grossas camadas de gordura em relação ao seu comprimento ou massa, presumivelmente estão melhor alimentados do que animais da mesma idade, com pouca ou nenhuma gordura.

De acordo com o estudo de Liwanag e colaboradores (2012), a espessura do *blubber* para indivíduos adultos, para as espécies, *Arctocephalus gazella* e *Arctocephalus pusillus pusillus*, variam entre 0,64 a 2,5 cm. Sendo assim, a espessura da camada de gordura dos animais amostrados apresenta valores inferiores ao descrito para lobos-marinhos, uma vez que a espessura variou de 0,5 a 1,1cm. (Tabela 1).

Conforme descrito por Worthy e Lavigne (1983), a quantidade de *blubber* representa menos de 6% da massa corporal em focas recém-nascidas (*Pagophilus groenlandicus*). Sendo assim, a pouca quantidade de gordura subcutânea dos lobos-marinhos estudados, pode estar relacionada com a categoria de idade desses animais, uma vez que a maioria é sexualmente imaturo (jovem). Por outro lado, em um estudo realizado com focas fêmeas (*Phoca vitulina*), adultas e lactantes, durante o período de 24 dias de jejum a espessura do *blubber* variou de 3,8 cm para 1,4 cm de espessura (BOWEN *et al.*, 1992). Portanto, a pouca quantidade de gordura subcutânea nos indivíduos amostrados também pode estar associada ao estado nutricional dos animais.

Há evidências de que os pinípedes possam utilizar seletivamente reservas a partir de diferentes partes do corpo, ou seja, as reservas de gordura (*blubber*) x tecidos centrais, durante diferentes fases do jejum (CROKER; COSTA, 2002). Embora o *blubber* seja uma camada de tecido adiposo reforçada por colágeno e fibras elásticas (PABST *et al.*, 1999), o *blubber* dos pinípedes possui cerca de 52% de conteúdo lipídico (LIWANAG *et al.*, 2012). Fillmann e colaboradores (2007) realizaram um estudo ao longo do Litoral Sul do RS, em que lobos-marinhos jovens, mal alimentados, da espécie *A. australis*, apresentaram cerca de 31% de lipídeos totais (316 ± 273 mg/g) neste tecido adiposo. Nos animais do grupo G2 a concentração de lipídeos totais no *blubber* representou 9,2% da composição deste tecido ($91,94 \pm 26,4$ mg/g). O *blubber* de focas adultas (*Pagophilus groenlandicus*) alimentadas

apresenta a concentração de 500 mg/g de triacilgliceróis (BAILEY *et al.*, 1980). Já a concentração de triacilgliceróis no *blubber* dos animais estudados foi de $31,25 \pm 7,891$ mg/g. Desta forma, fica evidente que ocorreu mobilização das reservas energéticas do *blubber* nos animais que vieram a óbito.

O fígado exerce um papel centralizador no metabolismo, sintetizando e distribuindo nutrientes aos órgãos periféricos pela circulação sanguínea (GONZÁLEZ; DA SILVA, 2006). Bailey *et al.*, (1980), determinaram a concentração de 0,8 mg/g de triacilgliceróis no fígado de focas adultas (*Pagophilus groenlandicus*) e alimentadas. A concentração de triacilgliceróis hepática para os indivíduos de *A. australis* amostrados foi de $17,28 \pm 1,751$ mg/g. Indivíduos jovens de *A. australis* mal alimentados e amostrados no RS, apresentaram cerca de 8% de lipídeos totais (86 ± 33 mg/g) no fígado (FILLMANN *et al.*, 2007). Os animais G2 apresentaram aproximadamente 1,8 % de lipídeos totais ($18,22 \pm 1,7$ mg/g) no fígado. Sendo assim, a maior parte das reservas lipídicas no fígado era constituída de triglicerídeos.

Bailey e colaboradores (1980), determinaram que focas adultas, alimentadas da espécie *Pagophilus groenlandicus* tinham 3,5 mg/g de glicogênio hepático. A concentração encontrada nos animais amostrados foi de $0,2069 \pm 0,122$ mg/g de glicogênio hepático. Este dado demonstra que as reservas de carboidratos do tecido hepático estavam praticamente depletadas e está de acordo com a baixa glicemia observada neste grupo.

O fígado dos mamíferos pode servir como um importante estoque de carboidratos e reservas lipídicas. Entretanto, a quantidade absoluta de reserva disponível para a produção de energia é insuficiente para suprir as necessidades totais de energia (BAILEY *et al.*, 1980). Em animais em jejum de longo prazo, os glicocorticóides têm um efeito sobre o catabolismo das proteínas, com aminoácidos sendo transformados em glicose no fígado para manter um nível suficiente de glicose circulante (GUINET *et al.*, 2004). Estoques de carboidratos, principalmente na forma de glicogênio, são suficientes apenas para fornecer glicose durante alguns dias de jejum (CHAMPAGNE *et al.*, 2012b). De acordo com Bailey e colaboradores (1980) filhotes de foca da espécie *Pagophilus groenlandicus*, possivelmente utilizem as concentrações de proteína muscular como fonte primária de energia no jejum.

Analisando os valores dos parâmetros bioquímicos serológicos avaliados (triacilgliceróis, colesterol e glicemia) juntamente com as análises teciduais, pode-se observar que estava havendo mobilização das reservas de energia dos tecidos para a corrente sanguínea. A baixa glicemia e a alta concentração de triacilgliceróis séricos observadas nos animais G2 indica que as reservas de triacilgliceróis do *blubber* estavam sendo mobilizadas para o sangue e utilizadas pelo fígado para a produção de energia. A redução acentuada no

blubber destes animais evidencia esta mobilização. A baixa concentração de glicogênio no fígado está de acordo com o hábito alimentar, carnívoro, destes animais, e com o estado nutricional compatível com jejum. Provavelmente o fígado está utilizando substratos não glicídicos, através da gliconeogênese, para manter a glicemia e a produção de energia pelo fígado.

5.3 CONDIÇÃO CORPORAL

Massa corporal, comprimento total, e circunferência axilar são rotineiramente usados para determinar os índices de condição corporal em mamíferos marinhos (REA *et al.*, 1998). Índices de condição são um meio útil de comparação da média da condição corporal, ao longo do tempo, ou entre locais (TRITES; JONKER, 2000). Devido a sua simplicidade, esses índices nem sempre refletem adequadamente a condição corporal em alguns mamíferos (KREBS; SINGLETON, 1993).

Métodos de avaliação de condição corporal, para mamíferos marinhos, mais precisos e não invasivos já foram desenvolvidos por Mellish e colaboradores (2013). Os autores determinaram a espessura do *blubber* e a condição corporal de focas (*Phoca vitulina*) e leões-marinhos (*Eumetopias jubatus*) por meio de um sistema de termografia infravermelha e imagem de ultrassom, a partir desta metodologia foi possível determinar a saúde, a condição e estado metabólico dos animais. Este método permitiu uma avaliação mais precisa da condição corporal em campo. Contudo, esta tecnologia ainda não está disponível no Brasil e é mais dispendiosa do que os métodos que utilizam dados morfométricos. Desta forma a validação dos índices de condição corporal para cada espécie estudada ainda são as ferramentas mais utilizadas para identificar a condição corporal em campo.

Utilizando índice de condição corporal que relaciona circunferência axilar e comprimento total (ICC3), Tavoni e colaboradores (2012), estimaram a variação da condição corporal em leões marinhos (*Mirounga angustirostris*) ao longo do jejum. O índice de condição corporal variou de $0,82 \pm 0,04$ no início do jejum para $0,69 \pm 0,03$ ao longo do período do jejum prolongado. Para os indivíduos de *A. australis* estudados, foi observada diferença significativa entre os grupos G1 e G2 para ICC3 (Tabela 2), entretanto os valores encontrados foram inferiores ao mínimo descrito por Tavoni *et al.*, (2012).

A partir das análises da bioquímica sérica foi possível identificar que havia diferenças entre as reservas energéticas dos animais que sobreviveram e dos animais que vieram a óbito. Contudo, os índices de condição corporal ICC1 e ICC2 não diferiram entre G1 e G2. Apenas

o índice ICC3 foi capaz de detectar diferenças nas condições corporais entre os grupos que refletem as diferenças metabólicas encontradas a partir da análise das reservas energéticas.

6 CONCLUSÃO

Com este trabalho foi possível fornecer dados a respeito das reservas energéticas de *A. australis* encontrados em monitoramentos na costa do Litoral Norte do RS entre 2012 e 2013. Estes dados poderão ser usados por outros pesquisadores para fins de comparação e avaliação em campo e poderão ser úteis para o manejo de animais em centros de reabilitação;

Constatamos que os animais com óbito registrado, após serem encontrados no campo, estavam com as reservas energéticas de carboidratos e lipídios reduzidas e sua condição corporal foi compatível com jejum. O estado de inanição possivelmente foi a provável causa de morte destes animais.

Além disso, a partir dos dados obtidos evidenciou-se que os índices de condição corporal ICC1 e ICC2 não são adequados para estimar a condição corporal que esses animais apresentam em campo, pois não detectaram diferenças metabólicas entre os grupos G1 e G2. O índice de condição corporal ICC3 foi o único índice que refletiu as alterações metabólicas observadas entre G1 e G2, sendo mais indicado para determinar a condição corporal em *A. australis* e em lobos-marinhos em campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNOULD, J.P.Y. Indexes of body condition and body-composition in female Antarctic fur seals (*Arctocephalus gazella*). **Marine Mammal Science**, Lawrence, v. 11, p. 301 - 313, 1995.
- ARNOULD, J.P.Y. Southern Fur Seals. In: PERRIN, W.F.; WÜRSING, B.; THEWISSEN, J.G.M. (Ed.) **Encyclopedia of marine mammals**. California: Academic Press, 2002. p.1146 – 1151.
- ARNOULD, J.P.Y. *et al.* Variation in plasma leptin levels in response to fasting in Antarctic fur seal (*Arctocephalus gazella*). **Journal of Comparative Physiology B**, New York, v. 172, p. 27 - 34, 2012.
- ATKINSON, S.; ARNOULD, J.P.Y.; MASHBURN, K.L. Plasma cortisol and thyroid hormone concentrations in pre-weaning Australian fur seal pups. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 172, p. 277 – 281, 2011.
- BAILEY, B.A.; DOWNER, R.G.H.; LAVIGNE, D.M. Neonatal changes in tissue levels of carbohydrate and lipid in the harp seal *Pagophilus groenlandicus*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Comparative Biochemistry**, Oxford, v. 67 B, p.179 - 182, 1980.
- BASTIDA, R. *et al.* **Mamíferos Acuáticos de Sudamérica y Antártida**. 1ª edición. Buenos Aires: Vázquez Mazzini Editores, 2007.
- BERTA, A. Pinnipedia, Overview. In: PERRIN, W.F.; WÜRSING, B.; THEWISSEN, J.G.M. (Ed.) **Encyclopedia of marine mammals**. California: Academic Press, 2002. p. 903 – 911.
- BERTA, A.; SUMICH, J.L.; KOVACS, K.M. **Marine Mammals: evolutionary biology**. 2. ed. San Diego, CA: Academic Press, 2006. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=4sWbuL0hM1kC&printsec=frontcover&hl=ptBR#v=onepage&q&f=false> Acesso em: 31 mai. 2014.
- BONNER, W.N. Southern fur Seals. In: RIDGWAY, S.H.; HARRISON, R.J. **Handbook of Marine Mammals**. v. 1 The Walrus, Sea lions, fur Seals and Sea Otter. London: Academic Press, 1981. p. 161 – 208.
- BOTTEON, P.T.L. Lactato na medicina veterinária: atualização conceitual. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 4, p. 283 – 287, 2012.

BOWEN, W.D.; OFTEDAL, O.T.; BONESS, D.J. Mass and energy transfer during lactation in a small phocid, the harbor seal (*Phoca vitulina*). **Physiological Zoology**, Chicago, v. 65, p. 844 - 866, 1992.

BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. **Tietz Textbook of Clinical Chemistry**. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994.

CAMPAGNA, C. *Arctocephalus australis*. In: IUCN 2014. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.1., 2008. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em 16 abr. 2014.

CASTELLINI, M.A.; COSTA, D.P.; HUNTLEY, A.C. Fatty acid metabolism in fasting elephant seal pups. **Journal of Comparative Physiology B**, New York, v. 157, p. 445 – 449, 1987.

CASTELLINI, M.A. *et al.* Blood chemistries and body condition of Steller sea lion pups at Marmot Island, Alaska.). **Marine Mammal Science**, Lawrence, v. 9, p. 202 - 208, 1993.

CASTELLINI, M.A., REA, L.D. The biochemistry of natural fasting at its limits. **Experientia**, Basel, v. 48, p. 575 – 582, 1992.

CATTET, M.R.L. *et al.* A body-condition index for ursids.: **Canadian Journal Zoology**, Canada, v. 80, p. 1156 – 1161, 2002.

CHAMPAGNE, C.D. *et al.* Gluconeogenesis is associated with high rates of tricarboxylic acid and pyruvate cycling in fasting northern elephant seals. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 303, p. 340 - 352, 2012a.

CHAMPAGNE, C.D. *et al.* Fasting physiology of the pinnipeds: the challenges of fasting while maintaining high energy expenditure and nutrient delivery for lactation. In: McCUE, M. D. (Ed.) **Comparative Physiology of Fasting, Starvation, and Food Limitation**. Heidelberg: Springer, 2012b, p. 309 – 336.

CHAMPAGNE, C.D. *et al.* A profile of carbohydrate metabolites in the fasting northern elephant seal. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part D: Genomic & Proteomics**, Amsterdam, v. 8, p. 141 – 151, 2013.

CHIAPPETTA, C.M. **Detecção de fragmentos de genomas virais em fezes de lobo marinho**. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária – Programa de Pós Graduação em Ciência veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande. Porto Alegre, 2014.

COSTA, D.P. Energetics. In: PERRIN, W.F.; WÜRSING, B.; THEWISSEN, J.G.M. (Ed.) **Encyclopedia of marine mammals**. California: Academic Press, 2002. p. 387 – 394.

COUTINHO, J.F.V; SOUZA, K.J. Hematologia. In: **Protocolo de conduta para o encalhe de mamíferos aquáticos**. Recife: IBAMA, 2005. Disponível em: <[http://www.biopesca.org.br/pdfs/2005/Protocolo de conduta encalhe de Mam Aq REM ANE IBAMA.pdf](http://www.biopesca.org.br/pdfs/2005/Protocolo%20de%20conduta%20encalhe%20de%20Mam%20Aq%20REM%20ANE%20IBAMA.pdf)> Acesso em: 02 nov. 2011.

CROKER, D.E.; COSTA, D.P. Pinniped Physiology. In: PERRIN, W.F.; WÜRSING, B.; THEWISSEN, J.G.M. (Ed.) **Encyclopedia of marine mammals**. California: Academic Press, 2002. p. 934 – 939.

DREHMER, C.J.; FERIGOLO, J. Osteologia craniana comparada entre *Arctocephalus australis* e *A. tropicalis* (Pinnipedia, Otariidae). **Iheringia Série Zoologia**, Porto Alegre, n. 83, p. 137 - 149, 1997.

ELIN R.J.; JOHNSON E.; CHESLER R. Four methods for determining uric acid compared with a candidate reference method. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 28, p. 2089 - 2100, 1982.

ENGELHARD, G.H. *et al.* Blood chemistry in southern elephant seal mothers and pups during lactation reveals no effect of handling. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Comparative Physiology**, Oxford, v. 133, p. 367 – 378, 2002.

EROKHINA, I. A. Biochemical Parameters of Blood Plasma of the Harp Seal *Pagophilus groenlandicus* Erxleben, 1777 (Pinnipedia, Prociidae) of Various Ages. **Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology**, New York, v. 43, n. 3, p. 305 - 309, 2007.

FILLMANN, G. *et al.* Accumulation patterns of organochlorines in juveniles of *Arctocephalus australis* found stranded along the coast of Southern Brazil. **Environmental Pollution**, Barking, v. 146, p. 262 – 267, 2007.

FOLCH, J., LESS, M., STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, Bathesda, v. 226, n.1, p. 497 – 509, 1957.

GERACI, J.R.; LOUNSBURY, V.J. Health. In: PERRIN, W.F.; WÜRSING, B.; THEWISSEN, J.G.M. (Ed.) **Encyclopedia of marine mammals**. California: Academic Press, 2002. p. 562 – 570.

GERACI, J.R.; LOUNSBURY, V.J. Specimen and data collection In: _____. **Marine mammals ashore: a field guide for strandings**. Baltimore: National Aquarium in Baltimore, 2005 a. p. 231 – 240.

GERACI, J.R.; LOUNSBURY, V.J. Pinnipeds. In: _____. **Marine mammals ashore: a field guide for strandings**. Baltimore: National Aquarium in Baltimore, 2005 b. p. 49 – 73.

GONZÁLEZ, F.H.D.; DA SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006.

GUINET, C. *et al.* Change in plasma cortisol and metabolites during the attendance period ashore in fasting lactating subantarctic fur seals. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Comparative Physiology**, Oxford, v. 137, p. 523 – 531, 2004.

GULLAND, F.M.; HAULENA, M.; DIERAUF, L. Seals and sea lions. In: DIERAUF, L.; GULLAND, F.M. **CRC Handbook of Marine Mammal Medicine**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. p. 907 – 922.

HILL, R.W.; WISE, G.A.; ANDERSON, M. Nutrição, alimentação e digestão. In: _____. **Fisiologia animal**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. p. 109 – 143.

IVERSON, S.J. Blubber. In: PERRIN, W.F.; WÜRSING, B.; THEWISSEN, J.G.M. (Ed.) **Encyclopedia of marine mammals**. California: Academic Press, 2002. p. 107 – 111.

JEFERSON, T.A.; LEATHERWOOD, S.; WEBBER, M.A. *Arctocephalus australis* (ZIMMERMAN, 1783). In: _____. **Marine mammals of the world**. Rome: FAO, 1993. p. 246 – 247. (FAO species identification guide)

JEFERSON, T.A.; WEBBER, M.A.; PITMAN, R.L. Taxonomic Groupings Above the Species Level. In: _____. **Marine mammals of the world**. A comprehensive Guide to their Identification. London: Academic Press, 2008. p. 17 – 21.

JONKER, R.H.; TRITES, A.W.; The reliability of skinfold-calipers for measuring blubber thickness of Steller sea lion pups (*Eumetopias jubatus*). **Marine Mammal Science**, Lawrence, v. 76, p. 757 - 766, 2000.

KELSO, E.J. *et al.* Sex differences in fuel use and metabolism during development in fasting juvenile northern elephant seals. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 215, p. 2637 - 2645, 2012.

KEOGH, M.J.; ATKINSON, S.; MANISCALCO, J.M. Body condition and endocrine profiles of Steller sea lion (*Eumetopias jubatus*) pups during the early postnatal period. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 184, p. 42 – 50, 2013.

KOOYMAN, G.L. *et al.* Aerobic and Anaerobic Metabolism During Voluntary Diving in Weddell Seals: Evidence of Preferred Pathways from Blood Chemistry and Behavior **Journal of Comparative Physiology B**, New York, v. 138, p. 335 - 346, 1980.

KREBS, C.J.; SINGLETON, G.R. Indices of condition for small mammals. **Australian Journal of Zoology**, Victoria, v. 41, p. 317 - 323, 1993.

LIWANAG, H.E.M. *et al.* Morphological and thermal properties of mammalian insulation: the evolutionary transition to blubber in pinnipeds. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 107, p. 774 – 787, 2012.

MELLISH, J. *et al.* Beneath the sur face: Profiling blubber depth in pinnipeds with infrared imaging. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 38, p.10 – 13, 2013.

MOONEY, C.T.; PETERSON, M.E. **Manual da endocrinologia canina e felina**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2009.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger Princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

NOREN, D.P.; REA, L.D.; LOUGHLIN, T.R. A model to predict fasting capacities and utilization of body energy stores in weaned Steller sea lions (*Eumetopias jubatus*) during periods of reduced prey availability. Canada: **Canadian Journal Zoology**, Ottawa, v. 87, p. 852 – 864, 2009.

OLIVEIRA, L.R.; OTT, P.H.; MALABARBA, L.R. Ecologia alimentar dos pinípedes do sul do Brasil e uma avaliação de suas interações com atividades pesqueiras. In: REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; SANTOS, G.A.S.D. **Ecologia de mamíferos**. Londrina: Technical Books, 2008. p. 93 – 112.

PABST, D.A.; ROMMEL, S.A.; MCLELLAN, W.A. The functional morphology of marine mammals. In: REYNOLDS, J.E.; ROMMEL, S.A. (Ed.) **Biology of marine mammals**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1999. p. 15–72.

RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. Moléculas biológicas. In: RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. **Fisiologia animal mecanismos e adaptações**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2000. p. 49 – 55.

REA, L.D. *et al.* Health status of young Alaska Steller sea lion pups (*Eumetopias jubatus*) as indicated by blood chemistry and hematology. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Comparative Physiology**, Oxford, v.120, p. 617 – 623, 1998.

REEVES, R.R. *et al.* South American Fur Seal. In: _____. **National Audubon Society Guide to marine mammals of the world**. New York: A.A. Knopf, 2002. p. 79 – 81.

REPENNING, C.A.; PETERSON, R.S.; HUBBS, C.L. Contributions to the systematics of the southern fur seals, with particular reference to the Juan Fernández and Guadalupe species. In: W.H. BURT. (Ed.) **Antarctic Pinnipedia**, Washington: v. 18, American Geophysical Union, 1971. (Antarctic Research Series)

RICE, D. W. **Marine Mammals of the World: Systematics and Distribution**. Kansas: Allen Press, 1998. (Special Publication 4, Society of Marine Mammalogy).

RICE, D.W. Classification. In: PERRIN, W.F.; WÜRSING, B.; THEWISSEN, J.G.M. (Ed.) **Encyclopedia of marine mammals**. California: Academic Press, 2002. p. 231 – 234.

RIEDMAN, M. **The Pinnipeds: seals, sea lions and walruses**. Oxford: University of California Press, 1990. Disponível em:
<http://books.google.com.br/books?id=McNEUgU8Q58C&printsec=frontcover&dq=FRIEDMAN,+M.+The+Pinnipeds:+seals,+sea+lions+and+walruses.+University+of+California+Press,+1990.&hl=ptBR&sa=X&ei=8n2DU52uFIWGqgarq4GoBA&redir_esc=y#v=onepage&q&f=true> Acesso em: 02 jun. 2014.

RUOPOLLO, V. Pinnipedia (lobo-marinho, Leão-marinho, Foca, Morsa). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 683 – 700.

RUTISHAUSER, M.R. *et al.* Ecological implications of body composition and thermal capabilities in young antarctic fur seals (*Arctocephalus gazella*). **Physiological and Biochemical Zoology**, Chicago, v. 77, p. 669 – 681, 2004.

SACCOMANI, C.R. **Hematologia e bioquímica sanguínea de macho juvenis de lobo-marinho-do-sul *Arctocephalus australis* ZIMMERMANN, 1783 (Mammalia, Otariidae) no litoral sul do Rio Grande do Sul.** 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Instituto de Fisiologia Comparada, Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, 2005.

SCHUMACHER, U. *et al.* Basic biochemical data on blood from Antarctic weddell seals (*Leptonychotes weddelli*): Ions, lipids, enzymes, serum proteins and thyroid hormones. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 102 A, n. 3, p. 449 - 451, 1992.

SEGUEL, M. *et al.* Pathological Findings in South American Fur Seal Pups (*Arctocephalus australis gracilis*) found Dead at Guafo Island, Chile. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 145, p. 308 - 317, 2011.

SEELIGER, U.; ODERBRECHT, C.; CASTELLO, J.P. **Subtropical convergence environments: The coast and sea in the southwestern Atlantic.** Berlin: Springer-Verlag, 1997.

SCHOLANDER, P.F.; IRVING, L.; GRINNELL, S.W. Aerobic and anaerobic changes in seal muscles during diving. **Journal of Biological Chemistry**, Bathesda, v. 142, p. 431 – 440, 1942.

SCS. **Species information: Seal lions / fur seals.** Seals Conservation Society. 2011. Disponível em: <<http://www.pinnipeds.org/seal-information/species-information-pages/sealions-and-fur-seals/south-american-fur-seal>> Acesso em: 26 set. 2013.

SIMÕES-LOPES, P.C. *et al.* Nota sobre os otariidae e phocidae (Mammalia: Carnívora) da costa norte do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil. **Biociências**, Porto Alegre, v.3, n.1, 1995. p. 173 - 181.

SOÑANEZ-ORGANIS, J.G. *et al.* Prolonged fasting increases purine recycling in post-weaned northern elephant seals. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 215, p.1448 - 1455, 2012.

STEPHEN J. *et al.* Dietary and seasonal influences on blood chemistry and hematology in captive harbor seals. **Marine Mammal Science**, Lawrence, v. 22, p. 104 – 123, 2006.

TAVONI, S.K. *et al.* Lactate flux and gluconeogenesis in fasting, weaned northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*). **Journal of Comparative Physiology B**, New York, v. 183, p. 537 – 546, 2013.

TIFT, M.S.; HOUSER, D.S.; CROCKER, D.E. High-density lipoprotein remains elevated despite reductions in total cholesterol in fasting adult male elephant seals (*Mirounga angustirostris*). **Comparative Biochemistry and Physiology B**, New York, v. 159, p. 214 – 219, 2011.

TRITES, A.W.; JONKER, R.A.H. Morphometric measurements and body condition of healthy and starveling Steller sea lion pups (*Eumetopias jubatus*). **Aquatic Mammals**, v. 26, n. 2, p.151–157, 2000.

VAN HANDEL, E. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. **Analytical Biochemistry**, Bethesda, v. 11, p. 256 – 265, 1965.

VAZ-FERREIRA, R. *Arctocephalus australis* Zimmerman, South American fur seal. In: **Mammals in the seas: small cetaceans, seals, sirenians and otters**. Rome: FAO, 1982. v. 4, p. 497-508. (FAO Fisheries series, n. 5) Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=jJe25qovO8C&printsec=frontcover&dq=inauthor:%22Food+and+Agriculture+Organization+of+the+United+Nations.+Working+Party+on+Marine+Mammals%22&hl=pt-PT&sa=X&ei=viiRUKC4OtGA0AGPoCIBQ&ved=0CDAQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false> Acesso em: 31 out. 2012.

VERRIER, D. *et al.* Hormonal responses to extreme fasting in subantarctic fur seal (*Arctocephalus tropicalis*) pups. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 302, p. R929 – R940, 2012.

WORTHY, G. A. J.; LAVIGNE, D. M. Changes in energy stores during postnatal development of the harp seal, *Phoca groenlandica*. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 64, p. 89 - 96, 1983.