








## Valores normais da atividade da colinesterase plasmática em anseriformes, com destaque para *Alopochen aegyptiacus*

### Normal values of plasma cholinesterase activity in anseriformes, with emphasis on *Alopochen aegyptiacus*

Estella Zago BECEGATO<sup>1\*</sup> , Elizabeth Visone Nunes WESTPHALEN<sup>2</sup>, Sansão da Rocha WESTPHALEN<sup>2</sup>, José Eduardo TOLEZANO<sup>2</sup> , Marilena OSHIRO<sup>1</sup> , Cristiani Martinez SALZONE<sup>1</sup>, Natália Coelho Couto de Azevedo FERNANDES<sup>1</sup> , Juliana Mariotti GUERRA<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

#### RESUMO

A inibição da enzima colinesterase plasmática (BChE) pode ser utilizada como biomarcador para os efeitos da intoxicação por organofosforados e carbamatos. Nas aves, esta inibição ocorre de forma mais acentuada que nos mamíferos, porém poucos são os trabalhos publicados nestas espécies. O objetivo do estudo foi a dosagem da BChE em gansos-egípcios (*Alopochen aegyptiacus*) e nos anseriformes domésticos: gansos-domésticos (*Anser anser domesticus*) e marrecos (*Anas platyrhynchos domesticus*), para o estabelecimento de valores de referência normais. O trabalho possui ineditismo com relação à determinação desta enzima nos gansos-egípcios e domésticos. Os gansos e marrecos são mantidos em confinamento com fornecimento de alimentos e água *ad libitum* e em espaço adequado à sua manutenção no Instituto Adolfo Lutz (IAL), com a finalidade de fornecimento de sangue para a alimentação de triatomídeos do insetário de criação no Núcleo de Parasitoses Sistêmicas. Nos *Alopochen aegyptiacus* a média e o desvio padrão da BChE foram de  $1.868 \pm 263,6$  U/L, nos *Anser anser domesticus*  $2.311 \pm 673,2$  U/L e nos *Anas platyrhynchos domesticus*  $4.290 \pm 86,11$  U/L.

**Palavras-chave.** Butirilcolinesterase, Inseticidas, Organofosforados, Carbamatos, Biomarcadores, Gansos.

#### ABSTRACT

The inhibition of the plasma cholinesterase enzyme (BChE) can be used as a biomarker for the effects of intoxication by organophosphates and carbamates. In birds, this inhibition is more pronounced than in mammals, however there are few specific studies were conducted in this field. The aim of this study was to measure BChE in Egyptian geese (*Alopochen aegyptiacus*) and domestic anseriforms: domestic geese (*Anser anser domesticus*) and mallards (*Anas platyrhynchos domesticus*), not exposed to pesticides, for the establishment of normal values. The work is unprecedented regarding the determination of this enzyme in egyptian geese and domestic geese. Geese and mallards are kept in confinement with *ad libitum* food and water supply and in adequate space for their maintenance at the Adolfo Lutz Institute (IAL), for the purpose of supplying blood for the feeding of triatomines from the insectary of the Nucleus of Systemic Parasitoses. In *Alopochen aegyptiacus* the mean and standard deviation of BChE were  $1,868 \pm 263,6$  U/L, in *Anser anser domesticus*  $2,311 \pm 673,2$  U/L and in *Anas platyrhynchos domesticus*  $4,290 \pm 86.11$  U/L.

**Keywords.** Butyrylcholinesterase, Insecticides Organophosphates, Carbamates Biomarkers, Geese.

\*Autor de correspondência/Corresponding author: [estellazbcg@gmail.com](mailto:estellazbcg@gmail.com)

Recebido/Received: 27.11.2020 - Aceito/Accepted: 22.03.2021

## INTRODUÇÃO

Os organofosforados e os carbamatos são utilizados como praguicidas na agricultura e no controle de vetores e pragas sinantrópicas. Seu principal efeito tóxico é causado pela inibição da enzima acetilcolinesterase. Esta inibição também ocorre nas aves e nos mamíferos, que ingerem alimento ou água contaminados, causando alterações muscarínicas, nicotínicas e do sistema nervoso central<sup>1,2</sup>. Em uma intoxicação aguda, pode levar ao óbito, enquanto na exposição subletal provoca alterações bioquímicas, fisiológicas e comportamentais<sup>3,4</sup>. Esses inseticidas são os principais responsáveis pela intoxicação na vida selvagem<sup>5</sup>.

Dentre os animais silvestres, as aves são as espécies mais acometidas acidentalmente pelos agrotóxicos, não só pela facilidade migratória<sup>3</sup> como, também, por serem mais sensíveis à exposição aguda aos pesticidas anticolinesterásicos do que os mamíferos, explicados pelos sistemas enzimáticos diferenciados entre eles<sup>6</sup>. Com essas características as aves tendem a ser um bom indicador de biomonitoramento ambiental, principalmente nas localidades onde há um grande volume de aplicações de inseticidas e uma alta densidade aviária<sup>3</sup>.

A espécie *Alopochen aegyptiacus* ou ganso-egípcio pertence à Ordem Anseriformes, Família Anatidae e Subfamília Tadorninae<sup>7</sup>. É originária do continente africano e habitam pântanos de água doce em campo aberto, reservatórios, represas, lagoas, lagos, rios, obras de esgotos e estuários, normalmente evitam áreas de florestas densas. A espécie é amplamente sedentária em grande parte de sua vida, embora possa fazer movimentos nômades ou dispersivos sazonais relacionados à disponibilidade de água<sup>8,9</sup>. Normalmente realizam migrações anuais pós-reprodução para regiões de lagos e represas. Fora da estação de reprodução, por exemplo, durante a muda, podem ocorrer em bandos constituídos por centenas ou milhares de indivíduos, embora seja mais comum em pares ou pequenos grupos<sup>9</sup>.

A dieta dos gansos-egípcios é composta predominantemente de matéria vegetal, como sementes, folhas e caules de gramíneas e outras plantas terrestres, brotações de culturas, por exemplo, milho, trigo, aveia, lucerna, amendoim e cevada, tubérculos de batata, algas e ervas daninhas aquáticas, bem como algumas matérias animais, vermes, gafanhotos e cupins<sup>8,9</sup>.

As aves das espécies *Anser anser domesticus* (ganso-doméstico) e *Anas platyrhynchos domesticus* (marreco) pertencem à mesma Ordem e Família dos gansos-egípcios. São espécies amplamente domesticadas e de ocorrência comum em parques e fazendas. São migratórias e suas dietas consistem basicamente de partes de plantas. Na alimentação dos marrecos também estão incluídos invertebrados terrestres e aquáticos, como insetos, moluscos, crustáceos, vermes e ocasionalmente anfíbios e peixes<sup>8</sup>.

As espécies aviárias são partes importantes e visíveis do meio ambiente e podem representar verdadeiras sentinelas para avaliar a saúde ambiental em geral<sup>10</sup>. Porém, a falta de valores de referência dos marcadores biológicos nas espécies dificulta o monitoramento ambiental e casos de intoxicações. A dosagem da atividade enzimática da colinesterase é um biomarcador para avaliar intoxicações por organofosforados e carbamatos. Assim, a oportunidade de obtenção dos valores de referência normais da colinesterase plasmática (BChE) dos anseriformes supracitados, foi o objetivo deste trabalho.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais

Em 2012, o Instituto Adolfo Lutz (IAL) recebeu doação de 50 exemplares da espécie *Alopochen aegyptiacus* (gansos-egípcios) (**Figura**), oriundos do parque do Ibirapuera (São Paulo, SP, Brasil). O sangue dos animais é rotineiramente utilizado como insumo para alimentação de barbeiros, insetos utilizados nas pesquisas do setor de Parasitoses Sistêmicas. As outras duas espécies *Anser anser domesticus* (gansos-domésticos) e *Anas platyrhynchos domesticus* (marrecos) também eram utilizadas para esta mesma

finalidade. As três espécies se encontravam mantidas em confinamento com fornecimento de alimentos e água *ad libitum* e em espaço adequado à sua manutenção no Instituto Adolfo Lutz, sem exposição a compostos anticolinesterásicos, apresentavam-se saudáveis diante da avaliação clínica e por dados hematológicos e bioquímicos.

Foram analisados 41 animais da espécie *Alopochen aegyptiacus* (gansos-egípcios), 10 da espécie *Anser anser domesticus* (gansos-domésticos) e 4 *Anas platyrhynchos domesticus* (marrecos).



**Figura.** Gansos da espécie *Alopochen aegyptiacus*

### **Determinação da atividade da BChE**

A avaliação da atividade enzimática da colinesterase plasmática foi realizada através de *kit* comercial (Colinesterase DGKC- Diasys Diagnostic Systems) com princípio metodológico baseado na hidrólise dos ésteres da colina pela ação catalítica da colinesterase, liberando a tiocolina, que se liga a um cromógeno alterando a cor da reação. Esta alteração de cor é medida fotometricamente e é diretamente proporcional à atividade enzimática. As reações e as leituras fotométricas foram realizadas no equipamento de bioquímica clínica semi-automatizado (Cobas Mira Plus-Roche).

Os resultados foram expressos em U/L, que corresponde à capacidade da enzima em transformar um micromol de substrato por minuto a 37°C por litro de plasma. As amostras de sangue das aves foram colhidas através da veia jugular em tubo contendo heparina, no período da manhã, de modo a reduzir variações associadas com as mudanças diurnas. O plasma foi separado por centrifugação logo após a colheita do sangue e mantido em temperatura entre 4 e 8°C até o momento das análises, não ultrapassando 48 horas após a coleta. Este prazo foi definido como padronização neste estudo. Segundo a bula do *kit* utilizado, a estabilidade da amostra de soro ou plasma é estável por até duas semanas nas temperaturas entre 2 a 8°C.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos *Alopochen aegyptiacus* a média e o desvio padrão da BChE foi de  $1.868 \pm 263,6$  U/L, nos *Anser anser domesticus*  $2.311 \pm 673,2$  U/L e nos *Anas platyrhynchos domesticus*  $4.290 \pm 86,11$  U/L.

A **Tabela 1** demonstra uma visão mais ampla dos valores apresentados nos grupos das espécies estudadas.

**Tabela 1.** Atividade enzimática da colinesterase plasmática (BChE) de *Alopochen aegyptiacus* (gansos-egípcios), *Anser anser domesticus* (gansos-domésticos) e *Anas platyrhynchos domesticus* (marreco)

Espécie	n	BChE em U/L					Valor mínimo	Valor máximo
		Média	Desvio Padrão	Mediana	1º Quartil	3º Quartil		
<i>Alopochen aegyptiacus</i>	41	1.868	263,6	1.854	1.665	1.985	1.519	2.678
<i>Anser anser domesticus</i>	10	2.311	673,2	2.419	1.810	2.912	1.103	3.114
<i>Anas platyrhynchos domesticus</i>	4	4.290	86,11	4.270	4.225	4.374	4.211	4.408

Dados da determinação da atividade enzimática da BChE nos anseriformes são escassos, sendo que nos *Alopochen aegyptiacus* e nos *Anser anser domesticus* não foi encontrado nenhum relato na literatura. Na **Tabela 2** estão organizados os valores de referência de BChE para 34 espécies diferentes de aves. Nela podemos observar uma variedade de valores não só entre as ordens de classes, como também dentro da própria ordem.

**Tabela 2.** Valores da atividade normal da colinesterase plasmática (BChE) em várias espécies de aves

Ordem	Espécie	Dosagem BChE (mínimo e máximo; média)	Unidade	N	Referência
	<i>Amazona ventralis</i>	90 - 980; 530	U/L	22	Tully et al <sup>24</sup>
	<i>African grey parrots (Psittacus erithacus)</i>	60 - 14600; 6650	U/L	351	Grosset et al <sup>14</sup>
Psittaciformes	<i>Calopsitas (Nymphicus hollandicus)</i>	700 - 4050; 1910	U/L	65	Grosset et al <sup>14</sup>
	<i>Cacatuas</i>	270 - 17200; 2150	U/L	228	Grosset et al <sup>14</sup>
	<i>Lovebirds (Agapornis species)</i>	10 - 2820; 390	U/L	31	Grosset et al <sup>14</sup>
	<i>Araras</i>	10 - 7200; 3210	U/L	120	Grosset et al <sup>14</sup>
	<i>Buteo albicaudatus</i>	642,7 - 739,6; 691,2	U/L	2	Zwarg et al <sup>16</sup>
	<i>Buteo magnirostris</i>	138,8 - 998,1; 442,5	U/L	14	Zwarg et al <sup>16</sup>
	<i>Caracara plancus</i>	391,6 - 832,1; 601,6	U/L	12	Zwarg et al <sup>16</sup>
Falconiformes	<i>Milvagochimachima</i>	547,8 - 804,7; 673	U/L	4	Zwarg et al <sup>16</sup>
	<i>Falco peregrinus</i>	1184.00 ± 74.99 <sup>a</sup>	nmol/min/l	32	Oropesa et al <sup>25</sup>
	<i>Falco tinnunculus</i> - (Fêmea)	123 - 413; 286	U/L	46	Oropesa et al <sup>25</sup>
	<i>Falco tinnunculus</i> - (Macho)	163 - 525; 292	U/L	46	Oropesa et al <sup>25</sup>
	<i>Falco tinnunculus</i> - (Selvagem)	206 - 598; 330	U/L	20	Oropesa et al <sup>25</sup>

Continua na próxima página



Continuação

	<i>Athene cunicularia</i>	524 - 1900,2; 1156,2	U/L	7	Zwarg et al <sup>16</sup>
	<i>Ciccaba virgata</i>	837,1 - 2088, 6; 1112,5	U/L	5	Zwarg et al <sup>16</sup>
Strigiformes	<i>Megascops choliba</i>	450,5 - 14327; 845,2	U/L	21	Zwarg et al <sup>16</sup>
	<i>Tyto alba</i>	611,9 - 2294; 1076,8	U/L	22	Zwarg et al <sup>16</sup>
	<i>Strix aluco (jovem)</i>	449 - 4821; 2507	U/L	81	Oropesa et al <sup>25</sup>
	<i>Strix aluco (adulto)</i>	1146 - 4324; 3131	U/L	16	Oropesa et al <sup>25</sup>
Anseriformes	<i>Anas platyrhynchos</i>	1045 +55 <sup>a</sup> (gansos com 7 dias) / 744 +32 <sup>a</sup> (gansos de 85 dias)	U/L	26	Benetti e Benetti <sup>17</sup>
	<i>Carpodacus mexicanus</i>	862,29 - 2101,905; 1296	U/L	8	González-Escalante et al <sup>26</sup>
	<i>Passer domesticus</i>	797,94 - 1743,3; 1379	U/L	7	González-Escalante et al <sup>26</sup>
Passeriformes	<i>Zonotrichia capensis</i>	2086.99 ± 89.47 <sup>a</sup>	U/L	35	Quero et al <sup>13</sup>
	<i>Molothrus bonariensis</i>	1691.31 ± 122.56 <sup>a</sup>	U/L	20	Quero et al <sup>13</sup>
	<i>Saltator aurantiirostris</i>	1724.05 ± 142.38 <sup>a</sup>	U/L	11	Quero et al <sup>13</sup>
	<i>Turdus amaurochalinus</i>	1683.24 ± 627.51 <sup>a</sup>	U/L	2	Quero et al <sup>13</sup>
Suliformes	<i>Morus bassanus</i>	360 - 640; 480	U/L	5	Santos et al <sup>15</sup>
Ciconiiformes	<i>Ciconia ciconia</i>	260 - 540; 390	U/L	5	Santos et al <sup>15</sup>
Pelecaniformes	<i>Ardea cinerea</i>	100 - 210; 150	U/L	4	Santos et al <sup>15</sup>
Columbiformes	<i>Columbina picui</i>	943.65 ± 82.91 <sup>a</sup>	U/L	13	Quero et al <sup>13</sup>
	<i>Pseudo gyps africanus</i>	1795.307 ± 9158.23 <sup>a</sup>	U/L	33	Oropesa et al <sup>25</sup>
Accipitriformes	<i>Accipiter nisus (jovem)</i>	999 - 2229; 1509	U/L	20	Oropesa et al <sup>25</sup>
	<i>Accipiter nisus (adulto)</i>	834 - 1951; 1485	U/L	7	Oropesa et al <sup>25</sup>

<sup>a</sup>Média e desvio padrão

Alguns autores já afirmaram a ocorrência dessa grande variação da atividade enzimática dentro do mesmo gênero e até mesmo dentro da mesma espécie<sup>11,12</sup>. Nos anseriformes não foi diferente. A atividade enzimática de BChE na espécie *Alopochen aegyptiacus* revelou-se 23,5% mais baixa em relação ao *Anser anser domesticus* e 130% mais baixa em relação *Anas platyrhynchos domesticus*. E a diferença entre *Anser anser domesticus* e *Anas platyrhynchos domesticus* foi de 85,6%.

A atividade enzimática de BChE na espécie *Alopochen aegyptiacus* se mostrou mais próxima dos valores de algumas espécies de passeriformes e das calopsitas (*Nymphicus hollandicus*). *Anser anser domesticus* apresentou valores próximos ao passeriforme tico-tico (*Zonotrichia capensis*). Quero et al (2019)<sup>13</sup> relatam que espécies de aves granívoras e insetívoras, dieta semelhante à Ordem dos Anseriformes, apresentam atividades mais altas.

O maior valor, considerando a média e não o valor máximo, de atividade enzimática da **Tabela 2**, foi identificado por Grosset et al (2014)<sup>14</sup> em *Psittacus erithacus* com BChE de 6.650 U/L. *Anas platyrhynchos domesticus* foi o que apresentou o maior valor (4.290 U/L) entre os anseriformes estudados. Os menores valores de BChE, e mais distantes dos anseriformes, foram identificados nas aves da Ordem Pelecaniformes<sup>15</sup>. Alguns autores correlacionaram a variabilidade de valores da atividade enzimática a fatores filogenéticos, como sugerido em aves de rapina<sup>14</sup>, ao sexo, como relatado em pequenas corujas, e a idade do animal. Os animais mais jovens apresentam atividade de BChE mais elevada<sup>16</sup>, estes valores podem estabilizar na fase adulta e diminuir na fase senil<sup>17</sup>.

Com exceção da espécie *Anas platyrhynchos domesticus*, os gansos deste estudo apresentaram valores de médias de BChE relativamente próximos aos relatados em 1991, por Bennett e Bennett<sup>17</sup>, os quais utilizaram aves da espécie *Anas* sp. com idades entre 7 a 85 dias. Entretanto estes autores mantiveram as amostras congeladas à -75°C, até a execução da análise, que foi realizada através do cálculo entre a dosagem da atividade da colinesterase total e a acetilcolinesterase. Neste trabalho de 1991<sup>17</sup>, houve decréscimo da atividade enzimática com o aumento da idade das aves. No presente estudo a faixa etária dos animais não foi definida, impossibilitando a verificação do efeito da idade sobre a atividade enzimática.

No trabalho realizado por Fairbrother e Bennet<sup>11</sup>, utilizando o método de Ellman com modificações, foram verificados valores da atividade de BChE nas aves controles da espécie *Anas platyrhynchos*, próximos aos encontrados para os anseriformes supracitados. Porém a espécie *Anas platyrhynchos domesticus* apresentou atividades enzimáticas próximas às encontradas pelos autores em algumas fêmeas durante a fase de postura. Estes autores<sup>11</sup> levantaram a hipótese de que pode haver uma conexão entre a atividade desta enzima e os níveis de hormônio luteinizante, com um pico da atividade enzimática na oviposição ou próximo a ela. Nos gansos domésticos do estudo atual nenhuma explicação biológica pode ser dada para o elevado valor da enzima, já que a fase reprodutiva das aves não foi relatada.

Além da variação interespecífica, e a idade das aves, já relatadas, é importante salientar a diferença dos valores da atividade enzimática da colinesterase que ocorre para espécies criadas em cativeiro como verificado nos Strigiformes<sup>16</sup>, alterações dos níveis de higidez, massa corporal, prenhez, hepatopatas, estação climática e condições ambientais<sup>17-20</sup>.

A inibição da atividade enzimática cerebral em mais de 20% é considerada para efeito de exposição aos inseticidas em aves, valor que pode ser extrapolado para a inibição de BChE em gansos da espécie *Anas platyrhynchos*, visto que nos animais da espécie expostos à baixa taxa de pulverização com carbofurano, inseticida carbamato, a inibição enzimática de BChE foi cerca de 30%<sup>21</sup>. Entretanto, nenhum outro trabalho sobre a porcentagem da inibição nas espécies *Alopochen aegyptiacuse Anser anser domesticus* foi encontrado na literatura. Para comparação, em codornas tratadas com dieta exposta ao paration, inseticida organofosforado, a atividade média da BChE diminuiu de forma constante em 12 a 24 horas, e estabilizou em cerca de 30% do normal<sup>22</sup>. A inibição também pode ser detectada nos indivíduos que apresentarem diminuição da atividade enzimática equivalente a duas vezes o desvio padrão da média obtida de todos os animais avaliados<sup>23</sup>. É importante a compreensão de que a identificação de intoxicação é realizada através da correlação da dosagem enzimática com a clínica do paciente, frente à variação que ocorre dentro de uma mesma espécie.

Mais pesquisas abordando os potenciais efeitos ambientais dos pesticidas anticolinesterásicos em aves e em outras espécies seriam bem-vindas no Brasil e em outros países da América do Sul, considerando o uso extensivo e às vezes inadequado de tais agentes na região. Acreditamos que a falta de tais estudos resulta na falsa interpretação de que esses envenenamentos são menos comuns do que realmente o são<sup>16</sup>.

## CONCLUSÃO

Diante dos fatos, concluímos que a atividade da colinesterase difere entre as espécies aviárias, inclusive com variação intraespecífica. A espécie *Alopochen aegyptiacus* revelou níveis distintos dos anseriformes domésticos estudados, a maior atividade da colinesterase plasmática foi encontrada na espécie *Anas platyrhynchos domesticus*.

Vale ressaltar que os valores da atividade enzimática da BChE podem variar conforme o kit empregado na dosagem pelo laboratório. Assim, para que esses valores aqui publicados sejam utilizados como de referência normal, é recomendado atentar-se ao kit utilizado.

#### CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

#### FINANCIAMENTO

Não declarado.

#### AGRADECIMENTO

Não declarado.

#### REFERÊNCIAS

1. Alias AS, Al-Zubaidy MHI, Mousa YJ, Mohammad FK. Plasma and whole brain cholinesterase activities in three wild bird species in Mosul, IRAQ: *In vitro* inhibition by insecticides. Interdiscip Toxicol. 2011;4(3):144-8.  
<https://doi.org/10.2478/v10102-011-0022-x>
2. Horowitz IH, Yanco EG, Landau S, Nadler-Valency R, Anglister N, Bueller-Rosenzweig A et al. Whole blood cholinesterase activity in 20 species of wild birds. J Avian Med Surg. 2016;30(2):122-6.  
<https://doi.org/10.1647/2014-044>
3. Fildes K, Szabo JK, Hooper MJ, Buttemer WA, Astheimer LB. Plasma cholinesterase characteristics in native Australian birds: significance for monitoring avian species for pesticide exposure. Emu-Austral Ornithology 2009;109(1):41-7.  
<https://doi.org/10.1071/MU08027>
4. Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu Rev Entomol. 2007;52:81-106.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>
5. Bertero A, Fossati P, Caloni F. Indoor poisoning of companion animals by chemicals. Sci Total Environ. 2020;733:139366.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139366>
6. Franson JC, Smith MR. Poisoning of wild birds from exposure to anticholinesterase compounds and lead: Diagnostic methods and selected cases. Semin Avian Exot Pet Med. 1999;8(1):3-11.  
[https://doi.org/10.1016/S1055-937X\(99\)80030-9](https://doi.org/10.1016/S1055-937X(99)80030-9)
7. Oropesa AL, Sánchez S, Soler F. Characterization of plasma cholinesterase activity in the Eurasian Griffon Vulture *Gyps fulvus* and its *in vitro* inhibition by carbamate pesticides. Ibis. 2017;159(3):510-8.  
<https://doi.org/10.1111/ibi.12476>
8. Del Hoyo, J Elliot, A Sargatal, J, editors. Handbook of the Birds of the World: Ostrich to Ducks. vol.1, 1. ed. Barcelona, Spain: Lynx Edicions; 1992. 696.p.
9. Kear, J, edithor. Ducks, geese and swans. Part I: general chapters; Part II: species accounts (Anhima to Salvadorina). Oxford. U.K.: Oxford University Press; 2005a.
10. Gyimesi A, Lensink R. Egyptian goose *Alopochen aegyptiaca*: an introduced species spreading in and from the Netherlands. Wildfowl. 2012;62:126-43.
11. Fairbrother A, Bennett RS, Bennett JK. Sequential sampling of plasma cholinesterase in mallards (*Anas platyrhynchos*) as an indicator of exposure to cholinesterase inhibitors. Environ Toxicol Chem. 1989;8(2):117-22.  
<https://doi.org/10.1002/etc.5620080202>

12. Hill EF. Brain cholinesterase activity of apparently normal wild birds. J Wildl Dis. 1988;24(1):51-61.  
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-24.1.51>
13. Quero AÁM, Zarco A, Landa FB, Gorla NBM. Plasma cholinesterase activity in wild birds from undisturbed woodlands in the Central Monte Desert. Environ Toxicol Chem. 2019;38(8):1692-700.  
<https://doi.org/10.1002/etc.4458>
14. Grosset C, Bougerol C, Sanchez-Migallon Guzman D. Plasma butyrylcholinesterase concentrations in psittacine birds: reference values, factors of variation and association with feather-damaging behavior. J Avian Med Surg. 2014;28(1):6-15.  
<https://doi.org/10.1647/1082-6742-28.1.6>
15. Santos CSA, Monteiro MS, Soares AMVM, Loureiro S. Characterization of cholinesterases in plasma of three Portuguese native bird species: application to biomonitoring. PLoS One. 2012;7(3):e33975.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033975>
16. Zwarg T, Prioste F, Vanstreels RET, Santos RJ, Matushima ER. Normal plasma cholinesterase activity of neotropical falconiformes and strigiformes. J Raptor Res. 2012;46(2):201-7.  
<https://doi.org/10.3356/JRR-11-50.1>
17. Bennett RS, Bennett JK. Age-dependent changes in activity of mallard cholinesterases. J Wildl Dis. 1991;27(1):166-8.  
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-27.1.116>
18. Lanzarot MP, Barahona MV, San Andrés MI, Fernández-García M, Rodríguez C. Hematologic, protein electrophoresis, biochemistry, and cholinesterase values of free-living black stork nestlings (*Ciconia nigra*). J Wildl Dis. 2005;41(2):379-86.  
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-41.2.379>
19. Strum KM, Alfaro M, Haase B, Hooper MJ, Johnson KA, Lanctot RB et al. Plasma cholinesterases for monitoring pesticide exposure in nearctic-neotropical migratory shorebirds. Ornitol Neotrop. 2008;19(Suppl.):641-51.
20. Coraiola AM. Indicadores clínicos, hematológicos, bioquímicos e toxicológicos na pré e pós-reabilitação de Pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) no sul do Brasil [dissertação de mestrado]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2012. Disponível em:  
<https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/27613?show=full>
21. Martin PA, Solomon KR, Forsyth DJ, Boermans HJ, Westcott ND. Effects of exposure to carbofuran-sprayed vegetation on the behavior, cholinesterase activity and growth of mallard ducklings (*Anas platyrhynchos*). Environ Toxicol Chem. 1991;10(7):901-9.  
<https://doi.org/10.1002/etc.5620100706>
22. Ludke JL, Hill EF, Dieter MP. Cholinesterase (ChE) response and related mortality among birds fed ChE inhibitors. Arch Environ Contam Toxicol. 1975; 3(1):1-21.  
<https://doi.org/10.1007/BF02221128>
23. Fonseca LA, Fagundes V, Girardi FM, Maia NL, Pimentel FG, Braga FR et al. Atividade da colinesterase plasmática como biomarcador de impacto ambiental em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) no litoral do Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco. Pesqu Vet Bras. 2015;35(4):385-9.  
<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015000400012>



24. Tully TN, Osofsky A, Jowett PLH, Hosgood G. Acetylcholinesterase concentrations in heparinized blood of hispaniolan amazon parrots (*Amazona ventralis*). J Zoo Wildl Med. 2003;34(4):411-3.  
<https://doi.org/10.1638/02-004>

25. Oropesa AL, Gravato C, Sánchez S, Soler F. Characterization of plasma cholinesterase from the White stork (*Ciconia ciconia*) and its *in vitro* inhibition by anticholinesterase pesticides. Ecotoxicol Environ Saf. 2013;97:131-8.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.07.022>

26. González-Escalante L, Mercado-Hernández R, González-Rojas JI, Bermúdez De León M. Plasma cholinesterase activity in the house finch, *Carpodacus mexicanus*, and the house sparrow, *Passer domesticus*, collected from pesticide-exposed agricultural land. Bull Environ Contam Toxicol. 2013;90(1):9-11.  
<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00128-012-0864-8>

