

PAOLA ALMEIDA DE ARAÚJO GÓES

Características reprodutivas de emas machos (*Rhea americana*) criadas em cativeiro no Estado de São Paulo

São Paulo

2004

PAOLA ALMEIDA DE ARAÚJO GÓES

Características reprodutivas de emas machos (*Rhea americana*) criadas em cativeiro no Estado de São Paulo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de mestre em Medicina Veterinária.

Departamento:

Reprodução Animal

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientadora:

Profa. Dra. Valquíria Hyppólito Barnabe

São Paulo

2004

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1345 Góes, Paola Almeida de Araújo
FMVZ Características reprodutivas de emas machos (*Rhea americana*)
criadas em cativeiro no Estado de São Paulo / Paola Almeida de
Araújo Góes. – São Paulo : P. A. A. Góes, 2004.
79 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade
de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução
Animal, 2003.

Programa de Pós-graduação: Reprodução Animal.
Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Profa. Dra. Valquíria Hyppólito Barnabé.

1. Sêmen animal [coleta]. 2. Emas. 3. Animais de cativeiro.
I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: GÓES, Paola Almeida de Araújo

Título: Características reprodutivas de emas machos (*Rhea americana*) criadas em cativeiro no Estado de São Paulo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais: Raimundo e Eliana;
Geraldo (*in memoriam*) e Rejane por
sempre me darem colinho quando
eu preciso. Eu Amo Vocês!!!!!!

Aos meus irmãos, Claudia,
Júnior, Tássia e Larissa, pelo
amor e cumplicidade.

À Dra. Valquíria e ao Dr. Renato
por serem o exemplo de vida que
eu quero seguir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente, a força maior que nos acompanha, o AMOR, porque DEUS É AMOR

Aos meus pais (Raimundo, Eliana; Geraldo e Rejane) que me ensinaram o que é união e o significado de ser amada e amar a família.

À todos os meus familiares: irmãos, avós, primos, tios, cunhados e a coisa mais linda do mundo, Raíssa, que sem querer, tornam mais difícil minha permanência em São Paulo.

À Dra. Valquíria e ao Dr. Renato por terem me acolhido no VRA e terem me aceitado como orientada, sem saber é claro, que estavam adotando uma filha baiana, porque é assim que me considero ao lado dessas pessoas tão especiais, carinhosas e acima de tudo verdadeiras. Obrigado por tudo, vocês são maravilhosos!!!

Ao Prof. Dr. Marcelo Guimarães pela grande amizade e pelos conselhos e dicas essenciais para a realização desse trabalho.

À Prof. Dra. Maria Denise Lopes que aceitou me orientar na capacitação técnica, logo que cheguei em São Paulo, e a quem eu admiro muito. Quer saber? Um dia chego lá...

À Prof. Dra. Miriam Giannoni, por me mostrar toda a importância das Emas e me fazer apaixonar por esse trabalho.

À UFBA e todos seus docentes e discentes, por terem me ajudado com muito orgulho, conseguir meu diploma de Médica Veterinária.

À Prof. Dra. Maria Emília Bavia, por ter aberto minha mente e ter me iniciado ao fantástico mundo da pesquisa.

A todas as fazendas que abriram as porteiras e a Associação Mata Ciliar que permitiram a utilização dos animais para o experimento.

À Kari, por ser minha outra metade aqui em São Paulo, sem ela, com certeza eu não estaria mais aqui. Te Amo!!!!

Ao Marcílio...preciso falar alguma coisa???????? É melhor não, senão teria que escrever no mínimo 10 páginas elogiando o profissional e a pessoa inigualável que ele é. Também Te Amo!!!! (Ele vai me matar por isso!!!)

Tenho que fazer um agradecimento especial a minha amiga, Thaís e sua família que, literalmente, abriram os braços e as portas de casa num momento muito difícil de minha "vida paulista".

À Ana Paula. Essa sofreu comigo todas as minhas lamentações antes de dormir, tanto que mudou de quarto. Obrigado por tudo isso e por deixar eu roubar sua família de vez em quando.

À Lú, eu não imaginava que podíamos nos tornar tão amigas e cúmplices!!! Mas dizem por aí que os opostos se atraem. Obrigado pela força e correções.

Ao meu companheiro de coletas e carnavais baianos, Marcelo. Com certeza sem você, eu não conseguiria as minhas amostras. Obrigado por todo esforço. Você mora em meu coração.

À galera do peito: Gutinho (Amorzinho), Roger (Semelhança), Sobrinho (Amizade), Marcinho (Disciplina), Rodrigo (Meiguice), Thiesa (Mamãe), Graciana (Certinha), Déa (Risos), Dani (Espetaculosa), Gonzalo (Irmão), Mouse (Louca), Nélcio (Risadas), Carlos (Coração), Cabral (Forrest Gump), Regina e Edú (Meus cumpadres), Alexandre (Alemão).

Às meninas do LDH (sortudas, preciso ir mais lá) e Edú e André é claro. Em especial à Érika por me ajudar a dosar testosterona.

Às meninas do TE e Marquito também. Pelos bate papos e lanches.

Ao pessoal de Pira. Em especial: Carlinha, Fê, Adri, Claudia, João, Graziela, Claudia, Rogério, Zanon, Gutão, Pércio

Aos Professores do VRA, Pietro, Visintin, Cláudio, Clair, Mayra, pela colaboração e por compartilhar momentos agradáveis nos corredores.

Aos Professores de Pirassununga: Kiky, Mário, Flávio, Rubens, Ed, por me receberem tão bem quando apareço por lá.

À D. Silvia, por ser tão atenciosa e prestativa com todos no departamento.

Ao pessoal da secretaria: Thaís, Harumi, Alice, Daura e D. Eunice, por sempre resolverem os meus pepinos.

Ao Miguel e à Maria Amélia, por sempre se colocarem à disposição para o que eu precisasse no Laboratório de Citogenética, principalmente com os papos durante o trabalho.

Às meninas da biblioteca por terem paciência e me atenderem com risos, mas sempre me pedindo silêncio.

Às meninas da pós graduação um agradecimento especial, por quebrarem meus galhos e pelas conversas jogadas fora.

Aos funcionários da FMVZ, em especial a Jocimar, Irailton (conterrâneo), Belau e Luís por sempre me ajudarem quando preciso.

À D. Radmila e à Zorana, por se preocuparem e cuidarem de mim me fazendo sentir parte da família e por dividirem comigo nossos amados filhos.

Às minhas eminhas lindinhas por colaborarem com o experimento (de vez em quando elas se zangavam..., mas continuavam lindinhas de qualquer jeito).

Aos meninos da xerox por colaborarem na elaboração desse trabalho, em especial a Roberto, por fazer minha amiga feliz e pelo amigo que se tornou.

À FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Sei que sem querer esqueci alguém que com certeza é especial, porque no decorrer desses anos de São Paulo conheci e fiz muitos amigos. A essas pessoas peço desculpas, mas saibam que vocês também fazem parte dessa história.

Quando eu estava no ginásio, assisti um filme da sessão da tarde e lembro que eu chorei muito no final, aliás até hoje choro em filmes, novelas e até propagandas, mas Lessie, Flipper e afins me deixavam totalmente arrasada. No final do filme apareceu uma mensagem que eu nunca esqueci:

***“Se o homem permitir que o animal morra,
o homem vai morrer de solidão.”***

Essa mensagem se tornou o objetivo de minha vida e o que sou hoje. Sempre achei que eu a escreveria em algo muito importante para mim...

RESUMO

GÓES, P. A. A. **Características reprodutivas de emas (*Rhea americana*) criadas em cativeiro no estado de São Paulo.** [Reproductive characteristics in captive rhea (*Rhea americana*) raised in São Paulo state.] 2003. 79 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

A ema (*Rhea americana*), é uma ave nativa da América do Sul, e pertence ao grupo das Ratitas. Considerando a importância comercial desse animal foram implantadas algumas biotecnologias reprodutivas, como coleta e avaliação de sêmen que ajudariam na preservação da espécie, assim como na disseminação de material genético. Nesse estudo utilizou-se 107 animais, dentro e fora da estação reprodutiva, com idade entre 3 e 4 anos, que encontravam-se no Estado de São Paulo, durante os anos de 2001, 2002 e 2003. Observou-se os animais para identificação de dominância. Os machos foram contidos em caixa de madeira adaptada e capuz preto. Após a contenção realizou-se a coleta de sêmen através de massagem digital. Os falos foram analisados quanto ao tamanho e formação de espiral. Alguns parâmetros seminais foram avaliados: volume, motilidade, concentração e número de espermatozóides por ejaculado. Foi coletado sangue da veia metatarsal, de animais dentro e fora da estação reprodutiva para dosagem de nível plasmático de testosterona. Dos 69 animais em estação reprodutiva, 44 apresentaram falos grandes e desses, 26 formaram espiral. A coleta de sêmen através de massagem digital mostrou-se eficiente para esses animais. O sêmen foi analisado quanto ao volume ($0,68 \pm 0,14$), motilidade ($61,11 \pm 11,54\%$), concentração ($3,29 \pm 1,33 \times 10^9$ sptz/ml) e número por ejaculado ($2,40 \pm 1,38 \times 10^9$ sptz/ml) e foram descritas algumas patologias espermáticas. Encontrou-se diferença estatística significativa ($p=0,0161$) de níveis plasmáticos de testosterona em animais dentro e

fora da estação reprodutiva ($53,28 \pm 18,41 \text{ ng/ml}$ e $5,57 \pm 3,81 \text{ ng/ml}$, respectivamente). Foram relatadas variações de tamanho de falos em animais dentro e fora da estação e animais em estação reprodutiva. Observou-se que animais que apresentavam falos maiores e níveis plasmáticos de testosterona foram os considerados dominantes através de observações comportamentais. Os resultados do presente experimento confirmam a possibilidade de coleta de sêmen de emas e o seu uso em futuras biotecnologias como a inseminação artificial.

Palavras-chave: Sêmen animal (coleta). Emas. Animais de cativeiro.

ABSTRACT

GÓES, P. A. A. **Reproductive characteristics in captive rhea (*Rhea americana*) raised in São Paulo state.** [Características reprodutivas de emas (*Rhea americana*) criadas em cativeiro no estado de São Paulo.] 2003. 79 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

The rhea (*Rhea americana*), a native bird from South America, belongs to the Ratite group. Considering the commercial significance of this animal were standardize some techniques such as semen collection. These techniques aim to optimize the reproductive traits of this animal and to allow the dissemination and preservation of the genetic material of this endangered specie. In this study, 107 male rheas were used. The animals were around 3 and 4 years old and were raised in São Paulo's State commercial breeding. Semen collections were performed during breeding and non breeding seasons of 2001, 2002 and 2003. Animals were observed in order to detect hierarchic behavior. Contention was performed using a box and a black hood. Semen collection was performed through a digital pressure in the base of the phallus, which were observed in order to detect size and spiral shape. Immediately after collection semen samples were evaluated for volume, motility, sperm concentration and morphology. In a limited number of animals, blood samples were collected by the metatarsal vein in order to measure testosterone levels. Among 69 animals in breeding season, 44 showed larger phallus and among those, 26 showed spiral shape. The method of semen collection showed good results. Semen was then evaluated for volume (0.68 ± 0.14 ml), motility ($61.11 \pm 11.54\%$), sperm concentration ($3,29 \pm 1,33 \times 10^9$ spz/ml) and number of spermatozoa per ejaculate ($2.40 \pm 1.38 \times 10^9$ spz/ml). Morphological abnormalities were analyzed and accounted. Statistical differences ($p=0.0161$) were found for testosterone levels between animals

during breeding and non-breeding season ($53.28 \pm 18.41 \text{ ng/ml}$ e $5.57 \pm 3.81 \text{ ng/ml}$, respectively). It was observed that animals showed variations in phallus size during breeding and non-breeding seasons. A relationship was found between animals with larger phallus and higher testosterone levels and dominant behavior. Results of the present experiment confirmed the possibility of collecting semen from rheas in order to use it in future biotechnologies such as artificial insemination.

Key-words: Semen animal (collection). Rhea. Captive animal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Figura esquemática de sistema reprodutor masculino, em aves. diferenciando o tamanho dos testículos na estação reprodutiva e fora da estação reprodutiva.....	29
Figura 2	- Esquema de falo de avestruz.....	30
Figura 3	- Esquema de falo de ema.....	30
Figura 4	- Animal do grupo experimental.....	37
Figura 5	- Pasto da fazenda São Luiz, município de Sarapuí/SP.....	37
Figura 6	- Instalações: solário (A), pasto (B) e criação com pais (C).....	39
Figura 7	- Posição de ataque	41
Figura 8	- Formação de ninho (A), ninho com ovos (B) e macho no ninho (C).....	42
Figura 9	- Contenção: capuz (A) e caixa (B).....	44
Figura 10	- Tamanho de falo: pequeno (A) e grande (B).....	45
Figura 11	- Primeira etapa da coleta: exposição do falo (A e B) e pressão na base do falo (C, D e E).....	46
Figura 12	- Seqüência da ejaculação: ereção (A), formação de espiral (B e C) e ejaculação (D, E, F e G).....	47
Figura 13	- Equipamentos utilizados na análise do sêmen (A, B e C).....	49
Figura 14	- Coleta de sangue com Vacutainer Systems® (A) e por gotejamento (B).....	49
Figura 15	- Macho com penas arrepiadas.....	58
Figura 16	- Seqüência da cópula natural.....	59
Figura 17	- Espermatozóides corados com Williams, sem alterações morfológicas visíveis à microscopia de luz, num aumento de 1000x (A e B).....	66

- Figura 18 - Alterações morfológicas observadas sob microscopia de luz (aumento de 1000x), cabeça dobrada (coloração de Williams) (A), cauda fortemente dobrada e cauda fortemente enrolada (B), cauda dobrada (câmara úmida) (C), cauda enrolada (D), inserção retroaxial (coloração simples - Pope) (E)..... 66
- Figura 19 - Alterações morfológicas observadas sob microscopia de luz (aumento de 1000x): - Protusão citoplasmática na peça intermediária (coloração de Williams) (A), cabeças isoladas (câmara úmida) (B), forma teratológica (coloração simples - de Pope) (C)..... 67
- Figura 20 - Espermatozóides corados pelo Panótico Rápido® (A) e Williams (B), sob microscopia de luz (aumento de 1000x)..... 67
- Figura 21 - Acrossoma corado na extremidade da cabeça do espermatozóide por coloração simples – Pope (círculo) sob microscopia de luz num aumento de 1000x (A e B)..... 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Volume do ejaculado (ml), motilidade espermática (%), concentração espermática ($\times 10^9$ sptz/ml) e nível plasmático de testosterona (TESTO, ng/ml) de emas (<i>Rhea americana</i>) mantidas em cativeiro durante a estação reprodutiva e que apresentavam falos grandes na região de Sarapuí, Cosmorama, Jundiá e Tatuí. São Paulo, 2001, 2002 e 2003.....	69
--	----

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 - Volume do ejaculado (ml); motilidade espermática (%); concentração espermática $\times 10^6$ espermatozoides/ml) e número de espermatozoides (SPTZ)/ejaculado de emas (*Rhea americana*) mantidas em cativeiro durante a estação reprodutiva na região de Sarapuí, Cosmorama, Jundiá e Tatuí. São Paulo, 2001, 2002 e 2003..... 61
- Quadro 2 - Nível plasmático de testosterona (TESTO, ng/ml), tamanho de falo e presença de células espermáticas de emas (*Rhea americana*) mantidas em cativeiro durante a estação reprodutiva na região de Sarapuí, Cosmorama, Jundiá e Tatuí. São Paulo, 2001, 2002 e 2003..... 69
- Quadro 3 - Nível plasmático de testosterona (TESTO, ng/ml) de emas (*Rhea americana*) mantidas em cativeiro fora da estação reprodutiva e que apresentavam falos pequenos na região de Sarapuí. São Paulo, 2003..... 70
- Quadro 4 - Correlação (r^2) e nível de significância (p) entre os parâmetros volume do ejaculado (VOL), motilidade espermática (MOT), concentração espermática (CONC), número de espermatozoides (NUM), nível plasmático de testosterona (TESTO)..... 71

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	OBJETIVOS	21
3	REVISÃO DE LITERATURA	22
3.1	SITUAÇÃO COMERCIAL NO BRASIL.....	22
3.2	PRINCIPAIS PRODUTOS OBTIDOS DA EMA.....	24
3.3	CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	25
3.4	TAXONOMIA.....	25
3.5	DESCRIÇÃO DE COMPORTAMENTO.....	26
3.6	CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS.....	28
3.6.1	<i>Características reprodutivas anatômicas nos machos</i>	28
3.6.2	<i>Características reprodutivas comportamentais</i>	31
3.7	COLETA DE SÊMEN.....	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1	ANIMAIS E LOCAL.....	37
4.2	MANEJO.....	38
4.3	PARÂMETROS UTILIZADOS PARA AVALIAR O INÍCIO E TÉRMINO DA ESTAÇÃO REPRODUTIVA E HIERARQUIA.....	40
4.3.1	<i>Mudança de comportamento</i>	41
4.3.1.1	Machos.....	41
4.3.1.2	Fêmeas.....	43
4.4	PROCEDIMENTO.....	43
4.5	COLETA DE SÊMEN.....	44
4.5.1	<i>Manipulação</i>	45

4.6	ANÁLISE DO SÊMEN.....	48
4.7	COLETA DE SANGUE PARA AVALIAÇÃO HORMONAL.....	49
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1	PERÍODO REPRODUTIVO.....	54
5.2	COMPORTAMENTO DE MACHOS.....	55
5.3	CONTENÇÃO.....	56
5.4	TÉCNICA DE COLETA DE SÊMEN.....	57
5.5	TAMANHO DE FALO.....	59
5.6	FORMAÇÃO DE ESPIRAL.....	60
5.7	PARÂMETROS REPRODUTIVOS SEMINAIS.....	60
5.7.1	<i>Volume</i>	61
5.7.2	<i>Concentração</i>	62
5.7.3	<i>Motilidade</i>	63
5.7.4	<i>Número de espermatozóides por ejaculado</i>	65
5.7.5	<i>Alterações morfológicas</i>	65
5.7.6	<i>Colorações espermáticas</i>	67
5.8	COLETA DE SANGUE E DOSAGEM DE TESTOSTERONA SÉRICA.....	68
5.9	CORRELAÇÕES.....	71
5.10	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73
6	CONCLUSÕES	74
	REFERÊNCIAS	75

1 INTRODUÇÃO

A ema (*Rhea americana*) é uma ave corredora, pertencente ao grupo das ratitas, vive nas planícies da América do Sul, do Brasil até o sul da Argentina e é considerada a maior ave brasileira (DE CICCO, 2001).

Provavelmente, a criação doméstica da ema iniciou-se com os índios, antes do descobrimento da América (DANI, 1994).

A exploração das ratitas está sendo considerada uma forma eficaz na busca de uma pecuária alternativa, na Europa e América do Norte. No Brasil, vem crescendo o interesse pela exploração comercial da ema em criadouros conservacionistas, científicos e comerciais. Considerada uma ave silvestre, a ema, atualmente encontra-se em vias de extinção devido a caça e/ou substituição da vegetação nativa por culturas e pastos (GIANNONI, 1996).

Apesar do crescente investimento de recursos na criação de emas e do grande potencial desta pecuária alternativa, ainda são escassas as informações relativas ao manejo e comportamento reprodutivo desses animais.

A exploração comercial desta espécie de ratita constitui uma atividade viável, devido à grande variedade de subprodutos gerados, a saber: carne, óleo, couro, ovos, penas, fígado e extrato de proteína (GIANNONI, 1996; MELLO, 1987).

A obtenção do sucesso de criadouros, não depende apenas do conhecimento comportamental e do manejo adequado dos animais, mas principalmente da reprodução (CARRER; KORNFIELD, 1999).

Atualmente, a reprodução de emas em cativeiro vem sendo feita através da monta natural, controlada ou não. Vários tipos de manejo são adotados nos

diferentes criadouros. No Brasil, devido à baixa tecnologia aplicada, a taxa de fertilidade média está abaixo de 50% (GIANONNI, 1996).

A baixa fertilidade na criação de ratitas pode estar associada à várias causas, incluindo fatores comportamentais, ambientais, sazonais, anatômicos e nutricionais. Hicks-Allredge (1996) afirma que, muitas vezes, o responsável pelos baixos níveis de fertilidade é o macho, principalmente porque ainda não se tem dados à respeito da qualidade reprodutiva deste. Uma alternativa é o uso racional de reprodutores selecionados, concomitante ao auxílio de biotécnicas, priorizando a inseminação artificial.

Um outro problema das ratitas é o nível relativamente baixo de diversidade genética; esta foi demonstrada por Lane (1995), através de estudos de DNA realizados em populações de emas, emus e avestruzes da América do Norte. Em criações onde não existe um esquema de reprodução assistida e com pouca variedade genética, o grau de consangüinidade é elevado. Há um grande risco de consangüinidade ao se selecionar pares ao acaso, e isto poderia ser evitado com o acasalamento racional de emas. O Brasil, por ser o país com maior número de subespécies e de populações naturais (GIANNONI, 1996), poderia contribuir neste processo com a comercialização de sêmen.

Em decorrência do crescente número de novos criadores, necessita-se de um estudo mais aprofundado e do desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas, proporcionando a viabilidade e o retorno econômico dessa atividade.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho visa verificar a possibilidade de se obter amostras viáveis de sêmen de emas (*Rhea americana*) através do método de coleta por massagem digital na base do falo e reunir informações e experiências práticas, para colaborar com avanços na reprodução de emas em cativeiro através da análise do sêmen desta espécie animal.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O Brasil abriga uma imensa diversidade biológica, o que faz dele o principal entre os países detentores de megadiversidade do planeta, possuindo entre 15% a 20% das 1.500.000 de espécies animais descritas na Terra (LEWINSOHN; PRADO, 2000), sendo que cerca de 200 espécies animais estão seriamente ameaçadas de extinção (IBAMA, 2003).

Atualmente a principal ameaça para a extinção de animais silvestres, é a destruição e/ou a fragmentação de habitats, que provocam o isolamento de populações aumentando o endocruzamento, e levando perdas genéticas consideráveis (GUIMARÃES, 2002; OLIVEIRA, 1994)

A manutenção da diversidade genética nas espécies animais depende do sucesso reprodutivo destes animais. Entretanto a ação deletéria do homem sobre o ambiente contribuiu para um aumento na consangüinidade, perda de variabilidade genética e extinção de milhares de espécies, além de comprometer a sobrevivência futura de muitas espécies (MAY; VEIGA NETO; POZO, 2000).

3.1 SITUAÇÃO COMERCIAL NO BRASIL

A reestruturação do mercado agroalimentar, ocorrida nas últimas décadas, desencadeou mudanças nos hábitos de consumo da população, com crescente procura por produtos de alta qualidade nutricional e de maior valor agregado. Além disso, num futuro próximo, serão priorizados sistemas de produção

de alimentos de origem animal, que tenham sido produzidos segundo os conceitos de qualidade total e agro-sustentabilidade.

A cadeia de carnes é um típico exemplo no qual ocorre a segmentação de mercado em novos e especializados produtos para o atendimento de uma demanda cada vez mais exigente em qualidade, criando vários nichos específicos de consumo. (CARRER; KORNFIELD, 1999)

Em busca de uma pecuária alternativa, criadores da Europa, América do norte e América do Sul, reiniciaram a exploração de ratitas: avestruz (*Struthio camelus*) da África, ema (*Rhea americana*) da América do Sul e o emú (*Dromaius novaehollandiae*) da Austrália. (GIANNONI, 1996)

No Brasil, a ema é considerada um animal silvestre, controlado pelo IBAMA, que proíbe sua caça e está classificada na lista vermelha do CITES (Comitê Internacional de Tráfico de Espécies Ameaçadas de Extinção), como animal de baixo risco de extinção (CITES, 2003). O comércio da carne de emas só é permitido de animais oriundos de criadouros comerciais registrados junto ao IBAMA, e abatidos em frigoríficos que também sejam legalizados.

A criação de emas no Brasil é tida como um excelente negócio que oferece retorno do investimento, geralmente, do segundo ao quarto ano. Hoje, a AGCE (Associação Gaúcha de Criadores de Emas fundada em 1998 no Rio Grande do Sul), pretende ampliar o número de criadores, para atingir o abate de 1000 emas/mês. Sendo a ema sul americana, torna-se conveniente para nossos criadores abastecer a carência do mercado externo de consumo dos produtos provenientes dessa ave (DE CICCIO, 2001).

Apesar do crescente investimento de recursos na criação de emas, como pecuária alternativa, ainda são escassas as informações relativas ao manejo e

comportamento reprodutivo desses animais. Atualmente, a reprodução de emas em cativeiro vem sendo feita através da monta natural, controlada ou não. No Brasil, devido à baixa tecnologia aplicada, a taxa de fertilidade média está abaixo de 50% (GIANONNI, 1996).

3.2 PRINCIPAIS PRODUTOS OBTIDOS DA EMA

A carne (de cor vermelha, paladar semelhante ao da carne bovina, com teor de gordura próximo de 0,2% e alta porcentagem de proteína); o óleo (usado na indústria de cosméticos, medicamentos e substituto ou complemento da alimentação de bebês, devido à semelhança com o leite humano); couro (excelente para indústria de calçados e roupas); os ovos (a casca tem mostrado grande potencial para várias formas de aplicações médicas, o ovo não fertilizado pode ser consumido, e são riquíssimos em proteínas e bastante grandes entre 400 a 700g, usados também pela indústria de xampus e no preparo de vacinas); as penas (começam a produzir a partir de 10 meses de idade e serve para a confecção de fantasias e espanadores); o fígado (produção de patês); o extrato de proteína (reguladora do metabolismo do cálcio, extraído da carne e dos ossos da ema, entre outras propriedades inclui tratamento de doenças tais como: psoríases, diabetes, distrofia muscular e também em cirurgias) (GIANNONI, 1996; MELLO, 1987).

3.3 CARACTERÍSTICAS GERAIS

A ema é uma ave pernalta, de grande porte, não voadora, que habita principalmente estepes e savanas, mas que também é encontrada em áreas abertas de montes e bosques. Sua área de distribuição atinge Argentina, Uruguai, Paraguai, Bolívia e Brasil (REBOREDA, 1993). Agora em vias de extinção (principalmente no sul e no nordeste do Brasil), a ema habitava grande parte do território brasileiro (MELLO, 1987).

Pertence ao grupo das ratitas, do qual fazem parte também a avestruz (*Struthio camelus*), nativa da África, e o Emú (*Dromaius novaehollandiae*) da Austrália (GIANNONI, 1996).

3.4 TAXONOMIA

A hipótese monofilética da origem das ratitas, modernamente novamente contestado, foi sugerida tanto por dados morfológicos e bioquímicos (SICK, 1985).

A ema pertence ao Filo Chordata, Classe Aves, à Ordem dos Rheiformes e à família Rheidae (AGCE, 2001; DE CICCIO, 2001).

Esta família abriga duas espécies a *Rhea americana* (5 subespécies) e a *Pterocnemia pennata* (3 subespécies).

1- *Rhea americana albescens* (branca) ou *Rhea a. rosthchildi* (cinza) (Lynch, Arribalzaga & Holmbrg, 1878). Ocorre na Argentina e no sul do Brasil.

2- *Rhea a. intermedia* (Rothschild & Chubb, 1914). Está presente no Uruguai e sul do Brasil

3- *Rhea a. americana* (Linnaeus, 1758). Era freqüente desde o sul do Estado do Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, norte da Bahia, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais e oeste de São Paulo e nos Estados de Sergipe, Alagoas e Mato Grosso Sul.

4- *Rhea a. nobilis* (Brodkorb, 1939) Leste do Paraguai;

5- *Rhea a. araneipes* (Brodkorb, 1938) pode aparecer desde o leste da Bolívia até o sudoeste do Brasil; no chaco Paraguaio e sudoeste do Mato Grosso do Sul;

6- *Rhea a. macrorhyncha* (Sclater, 1860). Questiona-se a existência desta subespécie.

3.5 DESCRIÇÃO DE COMPORTAMENTO

A ema, ave forte, ágil e agressiva para proteger as crias, quando em cativeiro torna-se muito dócil (MELLO, 1987).

Dani (1993) considera a ema uma “raça geográfica”, pois ocupa as mesmas zonas de distribuição geográfica, podendo cruzar entre si originando descendentes férteis.

No Brasil, a ema é a maior (1,34 – 1,70cm de altura média) e mais pesada ave. Possui um corpo ovóide, com a porção posterior cônica. O macho é maior que a fêmea e diferencia-se por um colar de penas mais escuras na base do pescoço, peito anterior e parte mediana do dorso, podendo atingir 34,4kg e a fêmea 32kg. As emas podem viver até 40 anos de idade (SICK, 1985).

As emas possuem algumas características anatômicas específicas do grupo das ratitas, que as diferenciam das outras aves, como por exemplo: ausência de músculos peitorais e quilha; separação de urina e fezes; ausência de glândula uropigiana, entre outras (FOWLER, 1991). É possível observar a cloaca mesmo em longa distância, pois esta destaca-se por possuir uma coloração mais escura em relação ao resto do corpo (SICK, 1985).

São aves bastante sociais, podendo conviver pacificamente com veados campeiros, ovinos e bovinos. Se criada desde filhotes por humanos, passam a segui-los como qualquer outro animal doméstico (DANI, 1993).

É uma espécie não seletiva em relação a alimentação, pois é quase total a ausência de paladar, o que faz com que esse animal ingira muitas coisas que vê (GUNSKI, 1992). Quando nativas, seus filhotes comem vegetais e insetos, as adultas pastejam e alimentam-se de gramíneas e leguminosas rasteiras (inclusive as espinhosas), contribuindo com o reflorestamento natural através da disseminação de sementes, além de insetos e pequenos vertebrados (lagartixas, rãs e cobras), ajudando muitas vezes no controle de pragas nas pastagens e plantações (MELLO, 1987; SICK, 1985). Ingerem pequenas pedras, ou qualquer coisa que lhes auxilie a trituração do alimento (SICK, 1985).

A ema possui três dedos. Quando perseguida ela foge a grande velocidade (até 60km/h) (MELLO, 1987), dando passos de até um metro e meio. Ela corre em ziguezagues, os quais são controlados pelas asas, demonstrando assim a grande utilidade de uma asa longa para uma ave sem a capacidade de vôo (SICK, 1985).

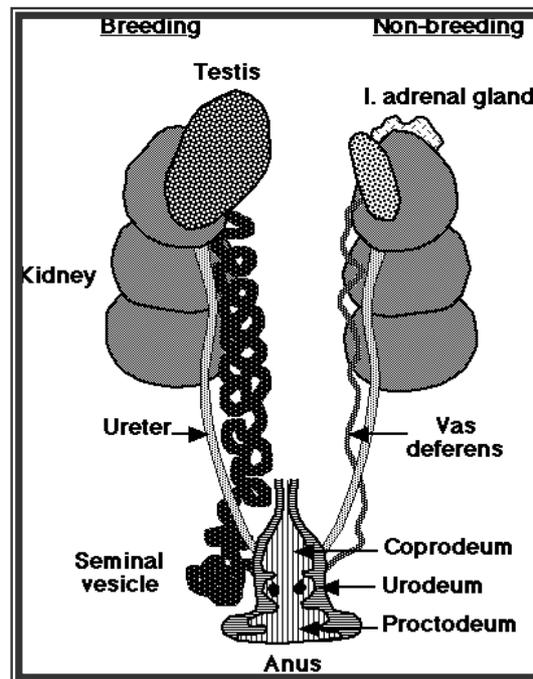
3.6 CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS

Segundo Hicks-Allredge (1996), há pouca pesquisa a respeito da reprodução de ratitas nos Estados Unidos. A maioria do conhecimento dos princípios básicos de fisiologia reprodutiva e tecnologia de incubação têm sido extrapolada de outras aves, principalmente galinhas (*Gallus gallus domesticus*).

3.6.1 *Características reprodutivas anatômicas nos machos*

Os machos adultos possuem um grande falo análogo ao pênis dos mamíferos, mas não homólogo, que é exposto com certa frequência (SICK, 1985). Não há uretra no falo aviário, sendo que este não possui função urinária como a do pênis dos mamíferos (FOWLER, 1991). Os testículos apresentam-se pareados e aumentam de tamanho durante a estação reprodutiva, chegando a atingir até 10 vezes o tamanho normal (GIANNONI, 1996). O epidídimo das ratitas é curto, e subdividi-se em parte principal e apêndice epididimário. Este encontra-se preso cranialmente na glândula adrenal e possui uma continuação cranial denominada de ducto aberrante (Figura 1).

A “rete testis” é composta de rede intratesticular, rede intracapsular e rede extratesticular. O ducto epididimário é originado do ducto de Wolff e caminha dorsolateralmente pelo epidídimo (BUDRAS; MEIER, 1981).



Fonte:

<http://www.biology.eku.edu/RITCHISO/avianrepr>

Figura 1 - Figura esquemática de sistema reprodutor masculino, em aves. diferenciando o tamanho dos testículos na estação reprodutiva e fora da estação reprodutiva

Ainda segundo a revisão anatômica feita por Fowler em 1991, as ratitas possuem dois diferentes tipos de falo. Os avestruzes possuem um falo intromitente, sem cavidade interna (DEEMING, 1999) (Figura 2). Já as emas e os emús possuem um falo intromitente com uma cavidade e uma estrutura em forma de luva, parcialmente invertida, que everte durante a ereção (Figura 3).

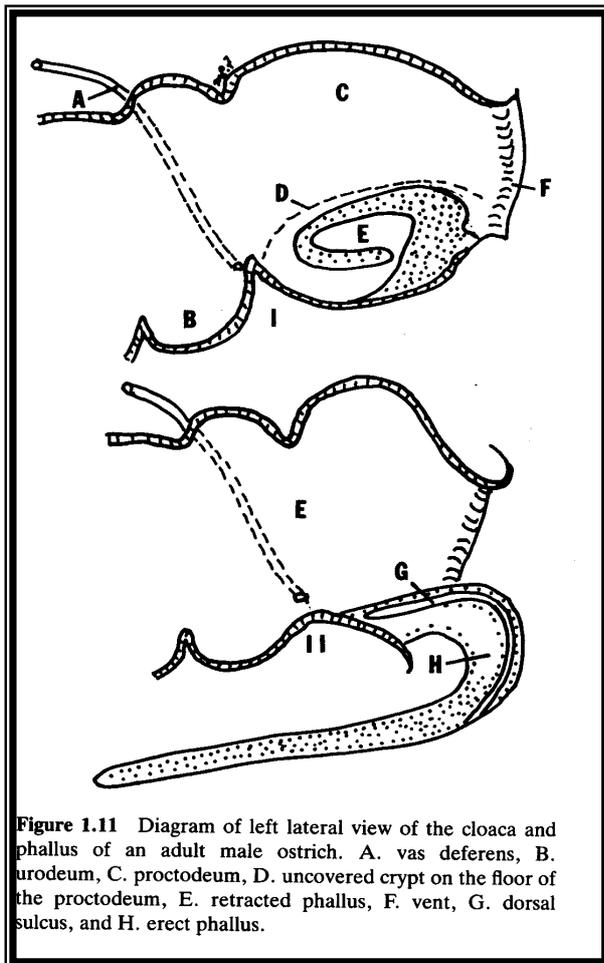
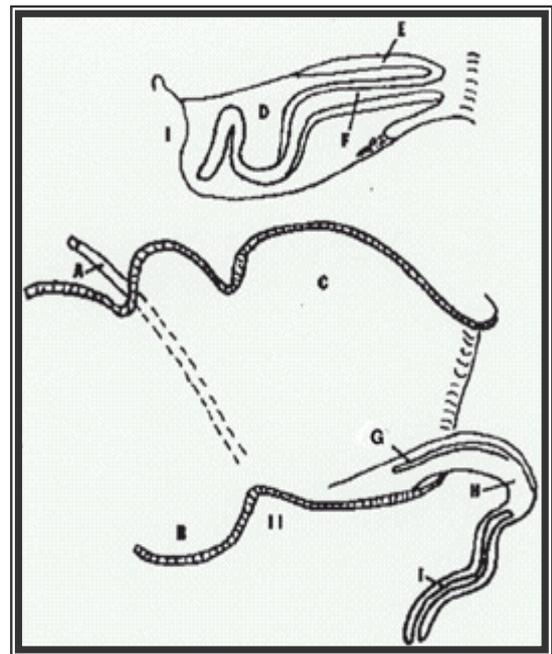


Figure 1.11 Diagram of left lateral view of the cloaca and phallus of an adult male ostrich. A. vas deferens, B. urodeum, C. proctodeum, D. uncovered crypt on the floor of the proctodeum, E. retracted phallus, F. vent, G. dorsal sulcus, and H. erect phallus.

Fonte: Tully e Shane (1996)

Figura 2 - Esquema de falo de avestruz

O falo das emas pode chegar a 1,4 x 7cm, antes da ereção. A estrutura tubular dá a aparência de uma uretra, mas não se comunica com o trato urinário. Há também um sulco fálico que direciona o sêmen para dentro da cloaca da fêmea. O falo relaxado se projeta levemente da parede ventral do proctodeu, ficando contido em uma bolsa (em fundo cego, como um dedo de luva) sob a mucosa desta região. Aproximadamente metade desta cavidade cega everte durante a ereção para alongar o falo; porém, uma fixação na base da cavidade evita a eversão completa. O sulco fálico fica no dorso do falo (SAMOUR; MARKHAM, NIEVA, 1984).



Fonte: Tully e Shane (1996)

Figura 3 - Esquema de falo de ema

3.6.2 Características reprodutivas comportamentais

Embora a criação de emas em cativeiro tenha sido iniciada há bastante tempo, por volta de 1800, os estudos relacionados ao comportamento dessas aves criadas para fins comerciais, ainda é muito pobre em comparação com outras criações de ratitas, como por exemplo a avestruz (SALES et al., 2000).

Segundo Hicks-Allredge (1996) as emas são animais sazonais e iniciam sua atividade reprodutiva à medida que o fotoperíodo aumenta, o que varia de acordo com a latitude.

Codenotti (1997) cita que os machos não produzem espermatozóides fora da estação reprodutiva e que no Brasil, o período reprodutivo das emas apresenta algumas variações, reproduzindo-se principalmente em períodos mais secos na Bahia e Pantanal (região do Mato Grosso), antes do início das chuvas (junho a setembro) e nos estados das regiões sudeste e sul inicia-se no final de agosto, podendo estender-se até final de fevereiro. Em um trabalho realizado no estado do Rio Grande do Sul, verificou-se que a estação reprodutiva da ema acontece na primavera e verão, iniciando-se nos primeiros dias quentes do final do inverno e princípio da primavera (agosto - setembro) e terminando no princípio de fevereiro com a verificação das últimas eclosões de ovos (CODENOTTI; BENINCA; ALVAREZ, 1995; CONEDOTI; ALVAREZ, 1997).

Os machos atingem a maturidade sexual com 2 anos de idade. (CODENOTTI; ALVAREZ, 1997). Giannoni (2002, comunicação pessoal) observou que filhotes machos nascidos no início da estação reprodutiva, atingem a maturidade sexual em 1 ano de idade.

Um dos parâmetros utilizado para verificar o início da estação reprodutiva das emas nos criadouros comerciais, é a presença de ovos férteis no ninho, outro parâmetro é a mudança comportamental dessas aves.

Na fase de formação de territórios os machos se enfrentam para atrair fêmeas e formar um harém, que geralmente são compostos de um macho e 2-12 fêmeas (CODENOTTI; ALVAREZ, 2001). Inicialmente vocalizam, seguindo com a abertura das duas asas ao mesmo tempo e ficando com as penas do pescoço e cabeça arrepiadas. Após assumir essa posição eles avançam rapidamente para o macho receptor que também vem em sua direção, com as asas igualmente levantadas. Durante a luta se bicam no pescoço, correm perseguindo um ao outro e dão coices. Essas lutas são de curta duração, mas podem se repetir várias vezes. Como resultado o macho vencedor consegue expulsar o vencido, perseguindo-o até afastá-lo de sua zona (CODENOTTI; BENINCA; ALVAREZ, 1995).

O cortejo se realiza quando o macho encontra em um bando de fêmeas, uma em particular, tratando de atraí-la para o harém. O macho abre completamente as asas abanando-as, flexionando-as para diante e arrastando as pontas no chão. Exibe seu corpo descoberto, deixando aparecer o falo. Em alguns casos balança o pescoço para cima e para baixo e para a esquerda e direita. O ato do cortejo pode durar de várias horas seguidas estendendo-se por um período de até um mês (CODENOTTI; BENINCA; ALVAREZ, 1995).

A cópula em si, dura muito pouco. A fêmea senta-se e mostra-se receptiva, batendo o pescoço no solo. O macho posiciona-se totalmente em cima da fêmea com os tarsos flexionados, bicando a base do pescoço da fêmea e executando movimentos rápidos e violentos. Não se emite nenhum som durante a cópula (CODENOTTI; BENINCA; ALVAREZ, 1995).

Codenotti e Alvarez (2001) observaram que o sêmen de emas fica viável por pelo menos oito dias no oviduto da fêmea e sugere que em emas, um baixo número de espermatozóides é suficiente para a fertilização.

O macho, além de fazer o ninho, se encarrega da incubação dos ovos que serão postos pelas fêmeas (4 a 5 ovos por fêmeas em intervalos de dois dias), chocando-os durante aproximadamente 38 dias (CODENOTTI, 1997).

As emas apresentam um comportamento reprodutivo poligâmico, poligínico e poliândrico, ou seja, um macho acasala-se com um grupo de fêmeas que quando percebem que o macho já está chocando, vão formar outro grupo com outro macho, ainda na mesma estação (CODENOTTI; ALVAREZ, 2001).

Se os ovos forem coletados diariamente, o macho deverá continuar acasalando durante toda a estação (AGCE, 2001; GIANNONI, 1996).

Giannoni (1996) cita que experiências brasileiras e uruguaias indicam uma média de 5 filhotes por fêmea na primeira postura, e 10 filhotes por fêmeas na segunda postura. Devido aos filhotes criados na natureza estarem sensíveis à ação de predadores, a sobrevivência deles está estimada em média de 5-10%. Espera-se que em um lote de fêmeas, 25% inicie o período reprodutivo aos 12 meses de idade e 85% aos 24 meses. Os machos deverão ser utilizados para a reprodução após os 2 anos de idade.

Ainda não existe um consenso sobre a melhor relação macho/fêmea, nas diferentes criações varia desde 1X1 até 1X10 (CODENOTTI, 1997; GIANNONI, 1996).

3.7 COLETA DE SÊMEN

Segundo Carrer e Kornfeld (1999) a coleta de sêmen em aves pode ser realizada por eletroejaculação, mas a técnica que vem sendo mais utilizada é a coleta por massagem forçada e resposta voluntária que, se realizada com experiência, pode apresentar bons resultados. Para tanto, é necessário a exteriorização do falo que é conseguida através de massagem manual. Durante a exposição ele apresenta-se em forma de gancho. Com a mão esquerda posicionada ventralmente à abertura da cloaca e cranialmente ao corpo fibroso, desvia-se o falo para evitar o retorno à cloaca. O sêmen pode ser colhido diretamente da base ou da extremidade do falo (DEEMING, 1999).

Usando a mão enluvada ou um cone coletor de sêmen bovino, é aplicada uma pressão sobre a porção dorsal do falo. À medida que o macho ejacula, ele bica o cone coletor, que deve ser envolto por uma capa protetora.

Em avestruzes, a coleta de sêmen é realizada com massagem na base do falo, que é exteriorizado através da manipulação pela cloaca. Algumas avestruzes ejaculam sem estímulos adicionais, em outras se faz necessário a estimulação com massagem digital nas papilas seminais (HEMBERGER; HOPES; BOSTED, 2001).

Malecki, Martin e Lindsay (1997a) utilizam como método de coleta de sêmen em emús uma cloaca artificial desenvolvida especificamente para a espécie em questão. No trabalho descrito, foram testados dois métodos de estimulação do macho: no primeiro método utilizou-se uma fêmea como manequim, e quando o macho assumia posição de cópula, introduzia-se a cloaca artificial; no segundo método, o próprio técnico servia de manequim, deixando o macho apoiar-se sobre

seu corpo e concomitantemente introduzindo a cloaca artificial para que o macho ejaculasse.

A maioria das amostras apresenta-se altamente contaminada com urina, tornando difícil a determinação dos valores de concentração, volume e pH (CARRER; KORNFELD, 1999; HICKS-ALLDREDGE, 1996).

Um estudo realizado por Hemberger, Hopes e Bostedt (2001), demonstra que o volume de sêmen coletado em avestruzes variou de 0,1 a 1,5ml, com média de 0,64ml. Pode-se observar uma coloração de branco a marfim com consistência semelhante a creme. O pH variou de 6,4 a 8,0 com valor médio de 7,3. Os valores da concentração espermática oscilaram de 3,9 a 36,0 milhões/ μ l, sendo a média de 7,3 milhões/ μ l. A motilidade espermática ficou entre 42 a 96%, com valor médio de 78%.

Malecki, Martin e Lindsay (1997b) descreveram algumas características seminais do emú. O volume encontrado do ejaculado foi de 0,61ml \pm 0,06ml, concentração de $1,94 \times 10^9$ sptz/ml \pm $0,14 \times 10^9$ sptz/ml.

Os espermatozóides maduros em aves variam muito em relação à morfologia, geralmente eles apresentam-se menores quando comparados com os de mamíferos e medem em média $9,2 \mu\text{m}^3$, o acrossoma é simples e encapsulado pela membrana citoplasmática e a cabeça contém o núcleo. A cauda divide-se em pescoço, peça intermediária, peça principal e peça final (JOHNSON, 1986).

Celeghini (2000) descreveu algumas formas espermáticas anormais em galos, tais como: defeitos de acrossoma, cabeça, peça intermediária, cauda, protusão protoplasmática, cabeça isolada e defeitos teratológicos.

Os espermatozóides das emas são caracterizados por apresentarem uma peça intermediária curta entre a cabeça e a peça principal (PHILLIPS; ASA, 1989).

Embora não tenham sido conduzidos estudos controlados nos Estados Unidos, os técnicos reconhecem a subfertilidade do macho como uma causa importante de perda econômica. Nas criações onde as emas são mantidas em grupos, cada grupo deve conter 20 a 30% de machos.

Há relatos da África do Sul mostrando que mais de um terço dos avestruzes machos são inférteis. A falha ao copular, devido a problemas comportamentais, é a causa mais óbvia de infertilidade. Embora os avestruzes sejam poligínicos na natureza, com um macho acasalando várias fêmeas, eles possuem preferências individuais. A incompatibilidade é comum quando as aves não podem escolher seus companheiros.

Condições ambientais estressantes também podem resultar em infertilidade comportamental, nos avestruzes. A infertilidade sazonal é comum no início da estação reprodutiva, quando a fêmea entra em produção antes do macho produzir espermatozóides maduros, e também, pode ocorrer sob temperaturas extremas. Causas nutricionais de infertilidade não têm sido documentadas (HICKS-ALLDREDGE, 1996). Não existem dados a respeito destes fatores nas criações de emas, mas sabe-se que elas são muito sensíveis a condições estressantes; de ambiente e manejo e possivelmente venham a enfrentar os mesmos problemas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento realizou-se nos anos de 2001, 2002 e 2003, no Estado de São Paulo.

4.1 ANIMAIS E LOCAL

Fizeram parte do experimento, emas (*Rhea americana*) com idade entre 3 e 4 anos (Figura 4), que encontravam-se na Fazenda São Luiz, no município de Sarapuí (Figura 5), na Fazenda Capivarema, município de Cosmorama, Sítio Boa Vista, município de Tatuí e Associação Mata Ciliar, município de Jundiaí, todas localizadas no estado de São Paulo.



Figura 4 - Animal do grupo experimental



Figura 5 - Pasto da fazenda São Luiz, Município de Sarapuí/SP

As aves utilizadas neste trabalho foram disponibilizadas a critério de cada proprietário, o que dificultou a coleta de alguns dados, como nível sérico de testosterona de todos os animais. Além de impossibilitar a repetibilidade dos animais, dificultando uma comparação de dados.

Apenas a Associação Mata Ciliar, permitiu repetir as coletas com os mesmos animais. Porém, após as primeiras coletas os animais puseram-se em choco impossibilitando as mesmas.

Os machos foram submetidos a coletas de sêmen nos anos de 2001, 2002 e 2003. As coletas foram realizadas nos períodos reprodutivos que tiveram início em julho, maio e julho, e término em outubro, novembro e final de novembro, nos anos de 2001, 2002 e 2003, respectivamente.

Os animais estudados estiveram expostos às flutuações naturais de fotoperíodo e temperatura local e encontravam-se livres de qualquer afecção que pudesse acarretar alterações clínicas e reprodutivas.

4.2 MANEJO

Os animais experimentais estavam em sistema semi-intensivo (Figura 6), divididos em recintos semelhantes, possuindo cada um, aproximadamente 5000m² de área, cercados com tela tipo alambrado de 1,50m de altura. Estes recintos eram cobertos por gramíneas do tipo braquiária (*Brachiaria decumbens*), com árvores esparsas para produzir áreas de sombreamento e comedouros e bebedouros de plástico, espalhados em quantidade suficiente para que as aves tivessem acesso durante todo dia.

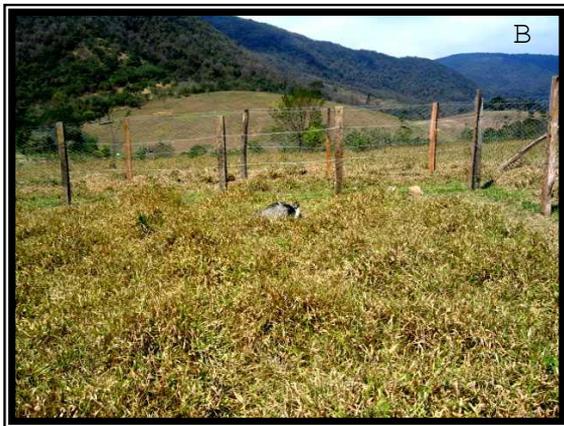


Figura 6 – Instalações: solário (A), pasto (B) e criação com pais (C)

A alimentação foi dividida entre ração comercial para avestruzes fase manutenção, nos meses de fevereiro a junho, e fase reprodução, nos meses de julho a janeiro, sendo gradativa essa substituição, durando o processo, uma semana. A quantidade diária de ração por ave adulta foi de aproximadamente 350 gramas.

Semestralmente exames (Newcastle, Influenza, Micoplasma e Salmonelose), eram realizados, em laboratório credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em 20% do plantel, conforme determina a Instrução Normativa Conjunta nº 2, de 21 de fevereiro de 2003.

O sistema de reprodução adotado pela propriedade foi de incubação e criação artificial e natural durante as estações reprodutivas.

4.3 PARÂMETROS UTILIZADOS PARA AVALIAR O INÍCIO E TÉRMINO DA ESTAÇÃO REPRODUTIVA E HIERARQUIA

Para a análise do início da estação reprodutiva, era mantido contato telefônico, semanalmente, com o veterinário e tratadores da fazenda, pelos quais pode-se obter informações sobre a mudança de comportamento do plantel. Ao iniciar a mudança de atitude dos animais, a equipe montava os equipamentos e dirigia-se à propriedade, onde era realizada uma observação das aves, de um local apropriado para não interferir no manejo e comportamento natural dos animais.

Os parâmetros utilizados para a avaliação do início e término da estação reprodutiva seguiram os padrões descritos por Codenotti, Beninca e Alvarez (1995) e estão descritos abaixo.

4.3.1 Mudança de comportamento

Dividiu-se as observações entre machos e fêmeas, porque diferiam as atitudes.

4.3.1.1 Machos

Nos machos pode ser observado os seguintes comportamentos:

- **Lutas corporais** : para determinação da dominância, observa-se os machos que inicialmente vocalizam, seguindo com a abertura das duas asas ao mesmo tempo, ficando com as penas do pescoço e cabeça arrepiadas e que depois de assumir essa posição, avançam para o macho receptor (Figura 7). As lutas foram observadas até que o macho vencedor expulsasse o vencido e assumisse a liderança do território e das fêmeas.



Figura 7 – Posição de ataque

- **Formação de haréns**:. Observou-se quando iniciava-se a formação de haréns, após o macho encontrar um grupo de fêmeas. Foram observados a abertura completa das asas e movimentos destas, flexionando-as para diante e arrastando as pontas no chão; exibindo o corpo descoberto, deixando aparecer o falo, além de movimentos do pescoço para cima e para baixo e para a esquerda e direita.

- **Formação de ninhos pelos machos:** Observou-se quando o macho cavava uma depressão no solo, cortando com o bico a vegetação ao redor e mantendo limpa a área de 2 a 3 metros de raio.

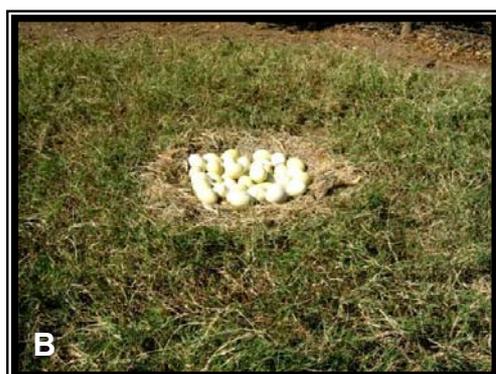


Figura 8 – Formação de ninho (A), ninho com ovos (B) e macho pronto para chocar (C)

- **Presença de ovos férteis no ninho:** Foi verificado através da ovoscopia realizada aos sete dias de incubação. Com auxílio de uma lanterna, ao entardecer, era realizada a avaliação da porcentagem de ovos férteis e inférteis presentes nos ninhos ou incubadoras.
- **Presença de células espermáticas no material coletado:** Foi verificada a presença de células espermáticas através de observação em microscópio óptico imediatamente após a coleta.

4.3.1.2 Fêmeas

- **Docilidade e aceitabilidade do macho:** observa-se quando as fêmeas começam a seguir o macho.

4.4 PROCEDIMENTO

Alguns animais foram desconsiderados por problemas de manejo como fugas, acidentes, mudanças fisiológicas e comportamentais que indicassem um estresse muito grande.

Para a contenção dos animais e coletas, eram selecionados, primeiramente, os machos mais agressivos, que indicavam serem os dominantes, através das observações acima citadas. Geralmente, esses machos demonstravam a agressividade, tentando atacar os tratadores, assumindo a posição de ataque e correndo ao encontro das pessoas com as asas abertas.

Após o período de adaptação, que decorreu durante o plano piloto, utilizou-se um capuz de pano na cor preta e uma caixa de contenção adaptada para emas, para a realização das coletas. A caixa de madeira mede 1,80m de altura, 21cm de largura e 27,5cm de profundidade, com portas laterais que suspendem-se verticalmente através de corrediças, e são reguláveis. A caixa encontrava-se posicionada em local ventilado e com sombra (Figura 9).

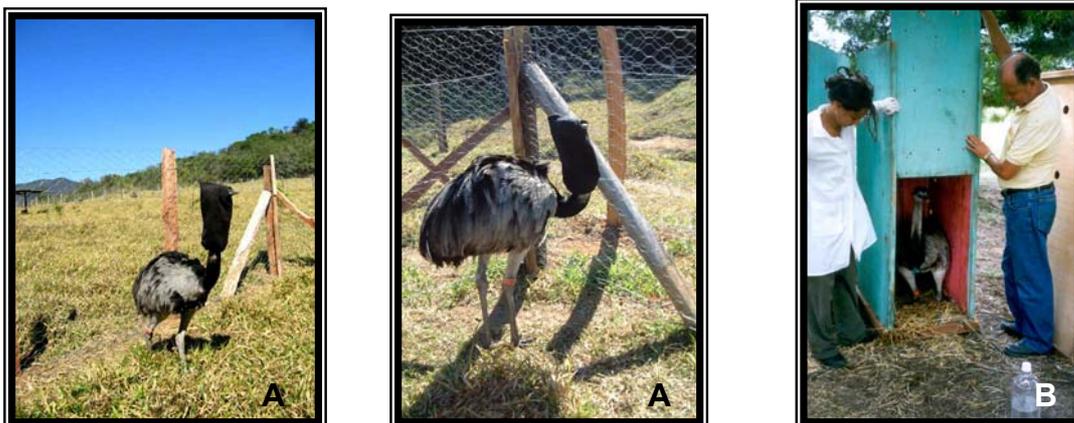


Figura 9 – Contenção: capuz (A) e caixa (B)

4.5 COLETA DE SÊMEN

O manejo empregado na criação das aves determinava o horário das coletas. Sendo assim, este foi estabelecido preferencialmente, para as primeiras e últimas horas do dia. Os animais permaneceram em jejum prévio e, no momento da coleta, o alimento foi oferecido nas proximidades da caixa facilitando a contenção. Anteriormente à coleta, realizou-se a montagem dos equipamentos e materiais necessários para os procedimentos.

Esperou-se alguns minutos antes da manipulação, para que os animais se adaptassem à caixa. Realizava-se então, uma limpeza na região da cloaca, com água e sabão neutro, para a retirada de sujidades, posteriormente utilizou-se apenas água e/ou papel toalha.

4.5.1 Manipulação

Introduziu-se a mão enluvada, na região cloacal e realizou-se a eversão do falo, propiciando sua exposição. Logo após esse procedimento realizou-se um rápido exame de inspeção e mensurou-se o tamanho do falo seguindo protocolo onde eram considerados falos pequenos (abaixo de 3cm) e falos grandes (acima de 3cm) (Figura 10). Após esse procedimento foi exercida uma massagem digital na base do falo para torná-lo ereto.



Figura 10 – Tamanho de falo: pequeno (A) e grande (B)

Com a outra mão, também enluvada, segurou-se uma placa de petri, posicionada na ponta do falo, por onde o sêmen escorreu através do sulco fálico. Eventualmente, realizou-se massagem na parte ventral do pescoço da ave, a fim de facilitar a ejaculação.

Uma vez coletado, o sêmen foi imediatamente analisado.



Figura 11 – Primeira etapa da coleta: exposição do falo (A e B) e pressão na base do falo (C, D e E)

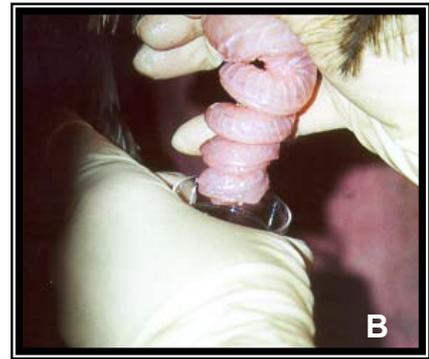


Figura 12 – Seqüência da ejaculação: ereção (A), formação de espiral (B e C) e ejaculação (D, E, F e G)

4.6 ANÁLISE DO SÊMEN

Imediatamente após a colheita do sêmen, realizou-se o exame visual da amostra. Observou-se a coloração e possíveis contaminações com fezes e urina. O volume da amostra obtida em cada animal foi medido com o auxílio de uma pipeta automática (graduada para 1ml). (Finnpipette; Labsystems). Foram desprezadas amostras contaminadas com fezes e urina, volume inferior a 0,3ml ou de fluido seminal azoospermicos.

A motilidade espermática foi mensurada através do depósito de uma gota de sêmen (2,5µl) entre lâmina e lamínula, observadas em microscópio de luz.

Foram preparados esfregaços de sêmen e alíquotas em solução de formol salino para posterior análise de morfologia e concentração espermáticas em microscópio de luz com interferência diferencial de fase. Os esfregaços foram corados pelos métodos de Williams (MIES FILHO, 1987) ou Panótico Rápido¹ (segundo fabricante) e analisados sob microscopia de luz, num aumento de 100, 400 e 1000x (Dialux 20[®]/Leitz). A concentração espermática foi determinada através da contagem em câmara de hematimetria (Neubauer), utilizando-se das recomendações usuais para contagem de células sangüíneas. Aferiu-se o número de espermatozóides por ejaculado, multiplicando o volume e concentração espermática. Para avaliação da morfologia espermática, uma alíquota de 5-10µl de sêmen diluído em formol salino foi depositada entre lâmina e lamínula, que posteriormente foram vedadas com esmalte e avaliadas em microscópio de interferência diferencial de fases (1000X). Para análise da morfologia acrossomal, uma alíquota de 10 µl de sêmen fresco foi diluída em 10 µl do corante Fast

¹ Laborclin, Pinhais-PR

Green/Rosa Bengala (POPE; ZHANG; DRESSER, 1991). Após homogeneização, uma alíquota desta mistura foi depositada em uma lâmina e, com auxílio de uma lâmina lapidada, foi preparado um esfregaço, que era avaliado em microscópio de luz (1000X).



Figura 13 – Equipamentos utilizados na análise do sêmen (A, B e C)

4.7 COLETA DE SANGUE PARA AVALIAÇÃO HORMONAL

Amostras sanguíneas para determinação dos níveis plasmáticos de testosterona, foram coletadas através da veia metatarsal medial. Inicialmente, utilizou-se o sistema Vacutainer Systems^{®2}, e posteriormente agulhas 30X8mm gotejamento ou sucção.



Figura 14 – Coleta de sangue: com Vacutainer Systems[®] (A) e por gotejamento (B).

² BD, R. Alexandre Dumas, 1976, Cep: 04717-004, São Paulo - Brasil

O material foi depositado em tubo estéril contendo gel para a separação do soro. Após a manutenção em isopor com gelo, as amostras foram centrifugadas (1000g/10 min.) e o soro recuperado e transferido para tubos tipo eppendorf, devidamente identificados. As alíquotas foram congeladas e mantidas a -20°C até análise.

A quantificação dos níveis de testosterona foi realizada no Laboratório de Dosagens Hormonais (LDH) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), da Universidade de São Paulo (USP), através de radioimunoensaio, com a utilização de conjunto diagnóstico comercial de fase sólida de testosterona DPC-Medlab® (Double Antibody Testosterone – Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, 90045, EUA) e também através do conjunto diagnóstico comercial de fase sólida de testosterona DSL® (Diagnostic Systems Laboratories, Inc.), seguindo recomendações do fabricante.

O método de validação utilizado foi o paralelismo, que indica se o material utilizado (soro da espécie em questão) está interagindo com o anticorpo do kit de forma similar ao hormônio usado como padrão.

Técnica: Realizar a depleção hormonal, com carvão-dextran, de um “pool” de amostras. Adicionar a essa matriz depletada valores conhecidos de hormônio padrão com diluições que se aproximam dos pontos da curva padrão (kit). Com essas diluições, deve-se construir uma curva que terá seus valores correlacionados aos da curva padrão. Os resultados devem ser analisados por Regressão Simples, plotados e o índice de correlação não deverá ser inferior a 0,9. O resultado encontrado foi R Squared ($r^2 = 0,954$).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através do programa SAS System for Windows (SAS INSTITUTE, 2000).

Através do aplicativo Guided Data Analysis, os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Caso não obedecessem a estas premissas foram transformados (logaritmo na base 10 - Log10X; Raiz quadrada - RQ X; Quadrado - X²) e se a normalidade não fosse obtida empregava-se então, o procedimento NPAR1WAY de análise de variância não paramétrica.

Para descrição dos resultados, foram empregados as médias e os erros padrões (média \pm erro padrão) dos dados originais e os níveis de significância (p) dos dados originais, quando obedecessem às premissas; dos dados transformados, quando necessária a transformação; e dos dados analisados através da análise não paramétrica, quando não obedecessem às premissas e não houvessem transformações possíveis.

O nível de significância utilizado para rejeitar H₀ (hipótese de nulidade) foi de 5%, isto é, para um nível de significância menor que 0,05, considerou-se que ocorreram diferenças estatísticas entre as variáveis resposta. A variável classificatória utilizada foi: estação reprodutiva (Sim e Não).

A variável resposta avaliada foi nível plasmático de testosterona (TESTO). Ela foi correlacionada com as variáveis volume do ejaculado (VOL), motilidade espermática (MOT), concentração espermática (CONC) e número de espermatozoides (NUM) através da correlação de Pearson (PROC CORR), sendo os

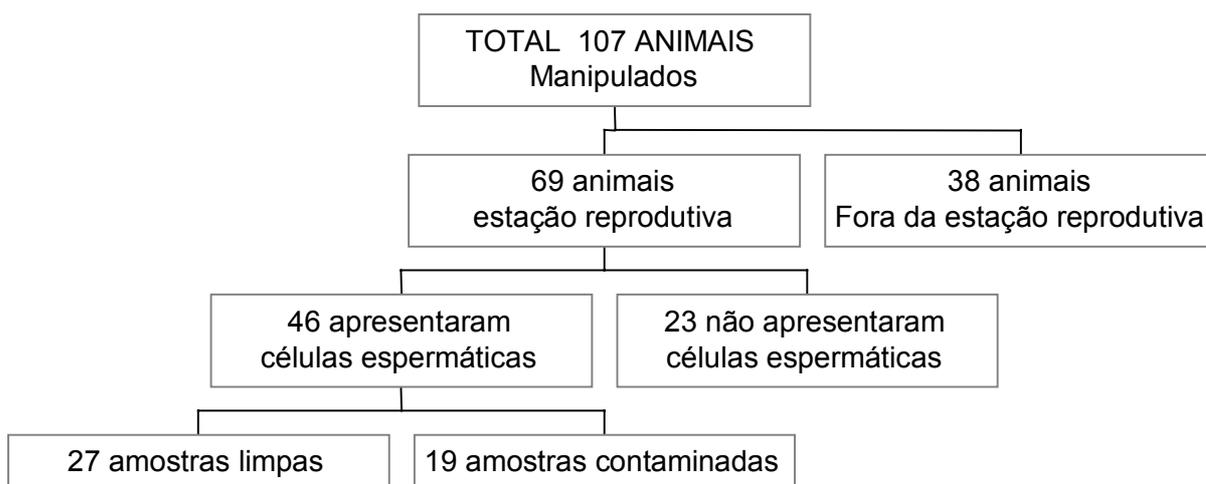
resultados expressos através do coeficiente de correlação de Pearson (r) e seu nível de significância (p).

A variável resposta nível plasmático de testosterona (TESTO) não obedeceram às premissas, não sendo possível transformá-los. Esta variável foi então analisada através do PROC NPAR1WAY de análise de variância não paramétrica. Neste caso utilizou-se o nível de significância do teste Wilcoxon.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas estações reprodutivas dos anos de 2001, 2002 e 2003, foram realizadas 13 coletas (2, 6 e 5 respectivamente).

Foram manipulados 107 animais. Sendo 69 animais manipulados na estação reprodutiva e 38 animais fora da estação reprodutiva. Dos 69 animais manipulados em estação reprodutiva, 46 apresentaram células espermáticas e 23 não apresentaram. Dos 46 animais que apresentaram células espermáticas, 27 tiveram amostras limpas e 19 tiveram amostras contaminadas. Essas 27 amostras limpas, serviram para demonstrar as características seminais de emas.



As amostras contaminadas com fezes e/ou urina não foram computadas. Pois as excretas poderiam diminuir o grau de confiabilidade das conclusões.

5.1 PERÍODO REPRODUTIVO

Os períodos reprodutivos observados durante o experimento iniciaram-se em julho, maio e julho, e término em outubro, novembro e final de novembro, nos anos de 2001, 2002 e 2003, respectivamente. Esses dados diferem dos encontrados na literatura, que afirmam que a estação reprodutiva nos estados da região sudeste do Brasil inicia-se no final do mês de agosto e estende-se até final do mês de fevereiro (CODENOTTI, 1997). Suspeita-se que essa diferença tenha ocorrido devido à mudanças climáticas ocorridas nestes períodos.

Cavalcante (2003, comunicação pessoal) cita que em perdizes, a umidade tem correlação com o início do período reprodutivo, e ainda afirma que com um manejo de aspersão de água sobre os boxes desses animais, duas vezes ao dia, consegue-se que os animais antecipem o período reprodutivo.

Codenotti e Alvarez (2001), Codenotti, Beninca e Alvarez (1995) e Giannoni (1996) afirmam que o início da estação reprodutiva pode ser verificada através da mudança de comportamento dos animais e presença de ovos férteis em ninhos. No experimento descrito, foram observadas, no início de cada estação reprodutiva, mudanças comportamentais dos animais. Constatou-se que alguns machos apresentavam-se mais agressivos com outros machos e com os próprios tratadores. Além disso, verificou-se a formação de ninhos e postura de ovos férteis, corroborando com os achados dos autores acima citados (Figuras 7 e 8) .

A confirmação de que os animais já estavam no período reprodutivo, foi conseguido também, através da presença de células espermáticas nas amostras coletadas.

5.2 COMPORTAMENTO DE MACHOS

A determinação do macho dominante era facilitada pelo comportamento que ele assumia como por exemplo posições de combate quando ele abria as asas e partia para a luta com outros machos, essa situação podia durar alguns minutos, horas ou até dias e no término ele formava seu harém.

Durante a formação do harém, nos meses de maio (2002) e julho (2001 e 2003), os machos vocalizavam bastante, tentando, dessa forma, chamar a atenção das fêmeas. Mercolli e Yanosky (1994) demonstraram que as vocalizações de machos de emas no período de agosto a outubro, teriam a função de atração de fêmeas.

Geralmente os machos dominantes formavam seus haréns na proporção de 1 macho para 5-9 fêmeas, e determinavam uma área dentro do piquete como marcação de território, prosseguindo com a cópula e construções de ninhos. Foi possível observar mais de um macho dominante num grupo. Essas observações coincidiram com dados experimentais sobre comportamento de emas no Rio Grande do Sul obtidos por Codenotti, Beninca e Alvarez (1995) e Codenotti e Alvarez (2001).

Pôde-se observar também que os machos adultos (mais velhos), copulavam com as fêmeas antes dos machos mais jovens, que só conseguiram formar haréns quando os machos adultos já estavam chocando (Figura 8). Codenotti e Alvarez (1997) observaram que a dominância dos machos adultos sobre os jovens coincide com a formação dos haréns.

Neste experimento, pode-se observar que a provável hierarquia entre os machos, pode ser estabelecida por indivíduos diferentes no mesmo período, podendo ter a mudança hierárquica com intervalos de uma semana ou mais.

5.3 CONTENÇÃO

O horário estabelecido, começo da manhã ou final da tarde, e o procedimento do jejum prévio, foram de grande importância para o sucesso da coleta, visto que reduziram bastante o estresse dos animais, pois eles dirigiam-se, por vontade própria, ao encontro do alimento, que estava posicionado próximo à caixa de contenção. A temperatura nesses horários estava mais amena, minimizando os efeitos do estresse térmico, que nesses animais são muito intensos.

Encontrou-se algumas dificuldades relacionadas à contenção dos animais. A primeira proposta de contenção era o tratador segurar o animal com as mãos, tentando imobilizá-lo para realizar-se a coleta posteriormente. Essa técnica foi imediatamente desconsiderada, pois além dos animais ficarem muito estressados, houve um aumento na incidência de acidentes de trabalho.

A segunda proposta para a contenção desses animais era utilizar a mesma técnica de contenção de avestruzes, onde os animais são capturados através de ganchos e vendados com um capuz preto. Hemberger, Hopes e Bostedt (2001) colocavam um saco de tecido macio na cabeça de avestruzes para que eles ficassem calmos e a coleta de sêmen pudesse ser realizada.

Em emas essa técnica não foi suficiente para imobilizá-las, pois diferente das avestruzes, as emas, não permaneciam paradas, e freqüentemente escoiceavam os tratadores e técnicos. Malecki, Martin e Lindsay (1997a) realizavam a coleta de sêmen em emús condicionados à manipulação a partir do primeiro ano, sem a utilização de capuz.

Após essas tentativas, associou-se ao uso do capuz preto uma caixa de madeira (Figuras 9), adaptada para a manipulação destes animais. A caixa de

contenção adaptada para a coleta de sêmen associada ao capuz preto, mostraram-se como a melhor maneira de contenção desses animais para coletar sêmen se comparadas com as outras tentativas, pois não foi verificado nenhum tipo de acidente relacionado à contenção realizada com a caixa.

Após a entrada dos animais na caixa, aguardou-se alguns minutos para adaptação das aves, na tentativa de minimizar o efeito do estresse causado pela contenção. A seguir, a lateral da caixa foi erguida até a altura da cloaca. Este procedimento facilitou a coleta, uma vez que tornou mais segura a manipulação diminuindo os riscos de acidentes causados por escoiceamentos ou até mesmo bicadas.

No início do experimento limpava-se a região cloacal com água e sabão, porém verificou-se que os animais ficavam bastante inquietos em contato com a água. Decidiu-se então realizar a limpeza da região cloacal com papel toalha, visto que os animais tornaram-se menos agitados com esse procedimento. Hemberger, Hopes e Bostedt (2001) coletaram sêmen de avestruz através de massagem digital e não preconizaram a lavagem da região da cloaca antes da coleta.

5.4 TÉCNICA DE COLETA DE SÊMEN

A técnica de coleta utilizada mostrou-se adequada para coletar sêmen em emas. Durante as coletas realizadas, alguns animais apresentaram o falo ereto e a sua extremidade final em forma de espiral. além de terem vocalizado no momento da ejaculação (Figuras 11 e 12).

A eficácia desse método de coleta de sêmen foi também comprovada em avestruzes (HEMBERGER; HOPES; BOSTEDT, 2001), papagaios (BROCK, 1991), galos (BENOFF, et al., 1981) e perus (BURROWS; QUINN, 1935).

Pesquisas recentes demonstraram o uso de manequins e vagina artificial para a coleta de sêmen em emús (MALECKI; MARTIN; LINDSAY, 1997a), mas para a utilização dessa técnica era necessário que o animal fosse manipulado e condicionado precocemente por um mesmo técnico durante um período de pelo menos 3 anos.

Cogitou-se a idéia de adaptar os animais para coletas através de manequins, mas tornou-se inviável pelo fato dos animais não poderem ser manipulados constantemente.

Uma vantagem da utilização da massagem para coleta de sêmen, é a possibilidade de utilizá-la em animais apreendidos em vida livre, e utilizar o sêmen para a diversificação genética dos grupos criados em cativeiro evitando a consangüinidade.

Foram manipulados 69 animais em estação reprodutiva com essa técnica, dos quais 46 apresentaram células espermáticas no material coletado. Esses resultados demonstram que esta é uma técnica eficiente para a coleta de sêmen de emas, uma vez que teve uma eficiência de 66%.

No início da massagem digital verificou-se que algumas aves exerceram uma pressão cloacal forte, mas após alguns minutos relaxaram a musculatura. O falo tornou-se ereto e formou-se o espiral em algumas aves. Nesse momento, observou-se que a ave vocalizava e arrepiava-se (Figura 15).



Figura 15 – Macho com penas arrepiadas.

Esse comportamento também foi descrito por Codenotti, Beninca e Alvarez (1995) durante a cópula natural. Em animais que não formaram o espiral, não observou-se esse tipo de comportamento.



Figura 16 – Seqüência da cópula natural (A, B, C e D)

Em algumas aves foi realizada massagem na base do pescoço concomitante à massagem cloacal, mas não foram verificadas diferenças nas coletas. Esses dados são subjetivos, pois trata-se de observações.

5.5 TAMANHO DE FALO

Num total de 69 animais manipulados na estação reprodutiva, verificou-se que 44 animais apresentaram falos grandes (maiores que 3cm) e que 25 animais

apresentaram falos pequenos (menores que 3cm). Ou seja 71% dos animais apresentaram o falo grande (Figura 10).

Fora da estação reprodutiva os falos permaneciam pequenos, e quando em estação reprodutiva aumentavam de tamanho. Foi possível perceber subjetivamente, que machos considerados com falos grandes e dentro da estação reprodutiva, apresentavam diferenças de tamanho de falos e geralmente os maiores falos pertenciam aos machos considerados dominantes.

5.6 FORMAÇÃO DE ESPIRAL

De 44 animais que apresentaram falos grandes em 26 foi verificado a formação do espiral, ou seja 59%. O espiral só foi formado em animais que possuíam falo grande, nunca em animais que possuíam falos pequenos (Figura 12).

5.7 PARÂMETROS REPRODUTIVOS SEMINAIS

No quadro 1 estão relacionados os parâmetros reprodutivos de emas machos coletados durante o experimento.

Quadro 1 – Volume do ejaculado (ml); motilidade espermática (%); concentração espermática ($\times 10^9$ sptz/ml) e número de espermatozoides SPTZ/ejaculado de emas (*Rhea americana*) mantidas em cativeiro durante a estação reprodutiva na região de Sarapuí, Cosmorama, Jundiá e Tatuí. São Paulo, 2001, 2002 e 2003

Amostra	Volume (ml)	Motilidade (%)	Concentração espermática ($\times 10^9$ sptz/ml)	Número de SPTZ/ejaculado
1	0,8	60	3,23	2,584
2	0,6	50	1,24	0,744
3	0,7	60	1,97	1,379
4	1	70	3,31	3,31
5	0,5	40	1,28	0,64
6	0,5	50	2,01	1,005
7	0,8	50	3,32	3,32
8	0,7	60	2,93	2,051
9	0,5	40	1,73	0,865
10	0,7	70	4,41	3,087
11	0,7	60	3,15	2,205
12	0,7	60	3,41	2,387
13	0,9	80	4,89	4,401
14	0,8	80	3,67	2,936
15	0,5	50	1,48	0,74
16	0,6	60	3,55	2,13
17	0,5	70	4,12	2,06
18	0,7	60	4,72	3,304
19	0,5	50	2,74	1,37
20	1	80	6,88	6,88
21	0,6	50	2,04	1,224
22	0,7	60	2,29	1,603
23	0,6	70	3,31	1,986
24	0,7	80	5,01	3,507
25	0,8	70	4,26	3,408
26	0,8	60	4,87	3,896
27	0,6	60	3,12	1,872
Média	0,685	61,111	3,294	2,403
Erro Padrão	0,028	2,222	0,257	0,266
Desvio Padrão	0,146	11,547	1,336	1,382

5.7.1 Volume

O volume dos ejaculados coletados variou bastante, com amostras de 0,5 até 1,0ml, sendo que a média alcançada foi de 0,68ml. Semelhante aos valores

encontrados na literatura para emús 0,61ml, (MALECKI; MARTIN; LINDSAY, 1997b) e avestruzes 0,64ml (HEMBERGER; HOPES; BOSTEDT, 2001). Em galos Celeghini (2000) encontrou médias de volume seminal que variaram de 0,13 até 0,37ml.

Para a avaliação da contaminação das amostras, foi utilizada a análise das características físicas do ejaculado. Encontrou-se amostras que continham rajadas brancas, que supostamente indicava contaminação por urina, e amostras acinzentadas por fezes e/ou urina. Para confirmação observou-se as amostras em microscópio óptico, onde constatou-se artefatos como pedaço de capim.

Pode-se também, em algumas amostras, distinguir a contaminação por fezes e urina através do odor da amostra.

5.7.2 Concentração

Os dados de concentração espermática encontrados variaram de 1,24 até $6,88 \times 10^9$ sptz/ml com média final de $3,29 \times 10^9$ sptz/ml, e sugerem que as emas apresentam sêmen comparativamente parecido com o de emú $3,34 \times 10^9$ sptz/ml (MALECKI; MARTIN; LINDSAY, 1997b) e avestruz $7,3 \times 10^9$ sptz/ml (HEMBERGER; HOPES; BOSTEDT, 2001).

A variação dos dados encontrados em relação à concentração de sêmen de emas também foi descrita em galos por Surai e Wishart (1996) que relataram variações na concentração espermática em diferentes linhagens de galos de 1,80 até $4,0 \times 10^9$ sptz/ml e Celeghini (2000) que encontrou resultados de concentração espermática de galos com 20 (vinte) semanas de vida, variando entre 0,6 a $5,5 \times 10^9$ sptz/ml.

Cerolini et al. (1997) observaram um aumento da concentração espermática em galos (de 4,67 para $6,99 \times 10^9$ sptz/ml), de 24 semanas a 39 semanas respectivamente, diminuindo para $2,06 \times 10^9$ sptz/ml, em galos com 72 semanas. Esses dados futuramente poderão ser testados em emas e assim definir o melhor período (idade) de coleta para posterior inseminação.

Etches (1994) descreve que uma única inseminação com aproximadamente 100×10^6 sptz/dose faz com que fêmeas de peru e galinhas produzam ovos férteis por até 10 e 3 semanas, respectivamente. Em emas pode-se sugerir que valores semelhantes possam também ser utilizados.

5.7.3 Motilidade

O sêmen a fresco apresentou motilidade variando de 40 a 80% com média de 61,1%. Esses valores foram menores que os encontrados para avestruzes (média 78%) descritos por Hemberger, Hopes e Bostedt (2001). Bertschinger et al. (1992) relatam que a motilidade espermática em avestruzes é baixa se comparada com as de mamíferos.

Para galos Segura Correa e Aguayo Arceo (1995) encontraram uma média de 68,5% e Celeghini (2000) descreveu resultados de 50 até 68%.

O exame do sêmen dos galos antes do início da fase de acasalamento, sobretudo quanto à motilidade, pode constituir-se em prática bastante vantajosa na criação de reprodutores (CARVALHO; MEGALE; CHQUILOFF, 1978). Também, características de movimentação espermática ou percentagem de espermatozoides móveis são indicadores do potencial reprodutivo de galos, sendo utilizados por

vários pesquisadores para avaliar a capacidade de fertilização (FROMAN; MCLEAN, 1996; WILSON et al., 1979).

Chaudhri et al. (1988) e Wishart e Palmer (1986) encontraram fortes correlações ($r=0,80$ e $0,91$; respectivamente) entre motilidade espermática e fertilidade do sêmen, podendo ser considerada como uma ferramenta básica para a seleção de reprodutores. Ainda não utiliza-se esses critérios de seleção de reprodutores para emas, mas essa pode ser uma alternativa futura.

Foote (2003) comentou que a avaliação da motilidade espermática é o teste mais utilizado para estimar a capacidade fertilizante do sêmen, pela rapidez e facilidade de aplicação, e por haver uma correlação com fertilidade; porém salienta que o aspecto subjetivo da avaliação da motilidade geralmente diminui a confiabilidade deste teste.

Em touros a motilidade é utilizada na congelação de sêmen e adequação de dose inseminante, associada a parâmetros já padronizados como: melhor diluidor, curva de congelamento, crioprotetor e outros. Em emas, as pesquisas relacionadas à reprodução ainda estão muito escassas, mas com o decorrer do tempo será possível a obtenção de um protocolo de congelamento do sêmen desses animais, e a motilidade poderá ser utilizada da mesma maneira ou de forma parecida da que é utilizada para bovinos.

As amostras à fresco e diluídas em Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (D-PBS®)³ de sêmen de emas foram observadas ao microscópio para avaliação da morfologia e motilidade. A análise demonstrou uma sensibilidade dessas células ao PBS, demonstrando ausência de motilidade. Pode-se cogitar ter

³ Nutricell, Campinas - Brasil

havido alguma incompatibilidade a algum componente do PBS ou mesmo diferenças de osmolaridade.

5.7.4 Número de espermatozóides por ejaculado

A média do número de espermatozóides encontrados em sêmen de emas foi de 2,40 bilhões de células por ml. Hocking (1989) encontrou média de $1,36 \times 10^9$ sptz/ml e $2,37 \times 10^9$ sptz/ml em galos Cobb 500 de 25 e 60 semanas respectivamente. Rosenstrauch, Degen e Fredländer (1994) observaram média de $3,4 \times 10^9$ sptz/ml e $0,8 \times 10^9$ sptz/ml em galos Cornish de 32 e 110 semanas de idade respectivamente.

O número de espermatozóides por ejaculado reflete de maneira mais precisa a capacidade de produção espermática de galos, considerando-se que um volume seminal menor pode ser compensado por uma maior concentração espermática (AMANN, 1999)

Uma determinação acurada do número de espermatozóides e do volume do ejaculado determina quantas fêmeas podem ser inseminadas (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

5.7.5 Alterações morfológicas

Por se tratar de uma espécie que não possui relatos de patologia espermática na literatura, foram encontradas algumas dificuldades para a

classificação, sendo então utilizados parâmetros desenvolvidos para galos domésticos.

Verificou-se que a morfologia espermática assemelha-se à do avestruz. As células espermáticas apresentaram uma estrutura cilíndrica dividida em cabeça, peça intermediária e cauda. A cabeça é composta de um distinto acrossoma e um núcleo e a cauda é formada por uma peça principal e peça terminal. Os achados foram fotodocumentados e encontram-se abaixo:

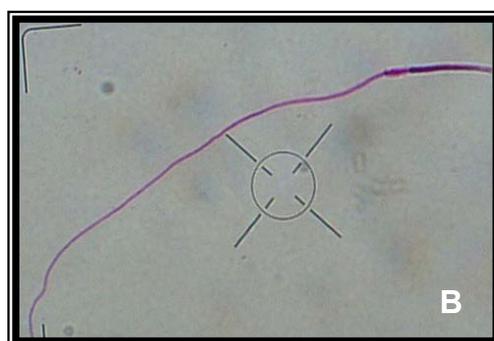
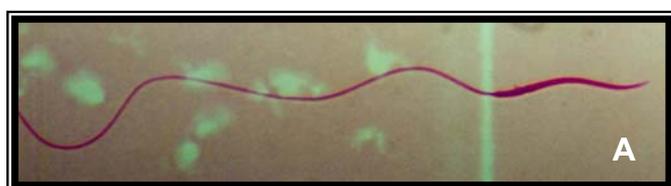


Figura 17 – Espermatozóides corados com Williams, sem alterações morfológicas visíveis à microscopia de luz, num aumento de 1000x (A e B)

As análises revelaram grande variedade de alterações morfológicas, tais como cabeça dobrada (A), cauda dobrada (B), fortemente dobrada (C), cauda fortemente enrolada (B), cauda enrolada (D), inserção retroaxial (E).

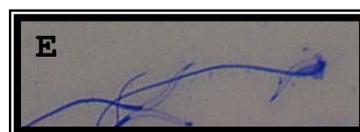
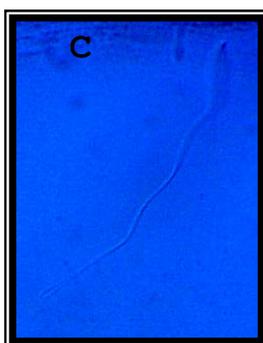
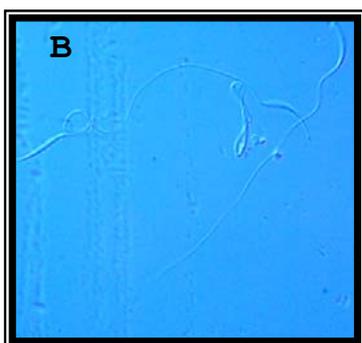


Figura 18 – Alterações morfológicas observadas sob microscopia de luz (aumento de 1000x), cabeça dobrada (coloração de Williams) (A), cauda fortemente dobrada e cauda fortemente enrolada (B), cauda dobrada (câmara úmida) (C), cauda enrolada (D), inserção retroaxial (coloração simples - Pope) (E).

Celeghini (2000) descreveu algumas formas espermáticas anormais em galos, tais como: defeitos de acrossoma, cabeça, peça intermediária, cauda,

protusão protoplasmática, cabeça isolada e defeitos teratológicos que assemelharam-se com as alterações morfológicas encontradas em emas no decorrer do experimento.

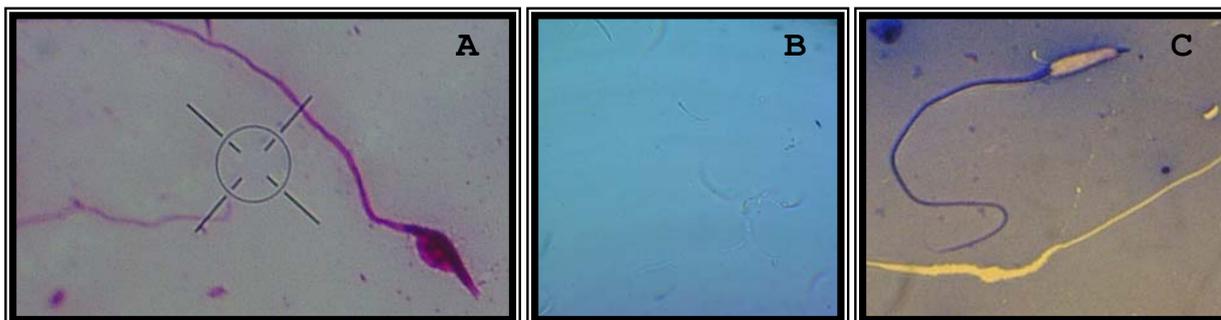


Figura 19 – Alterações morfológicas observadas sob microscopia de luz (aumento de 1000x): - Protusão citoplasmática na peça intermediária (coloração de Williams) (A), cabeças isoladas (câmara úmida) (B), forma teratológica (coloração simples - de Pope) (C).

5.7.6 Colorações espermáticas

As colorações pelo método de Williams e Panótico Rápido^{®4}, utilizadas para a morfologia e alterações patológicas, demonstraram ser eficientes, sendo que a primeira corou as células de forma mais nítida facilitando a identificação das alterações.

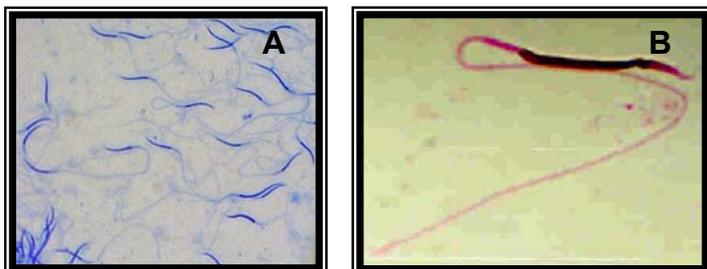


Figura 20 – Espermatozoides corados pelo Panótico Rápido[®] (A) e Williams (B), sob microscopia de luz (aumento de 1000x)

⁴ Laborclin, Pinhais-PR

Através do método de coloração Fast Green/Rosa Bengala (POPE; ZHANG; DRESSER, 1991), realizado com sêmen fresco, pôde-se evidenciar o acrossoma de espermatozóides de emas por meio de uma coloração violácea, diferente da cabeça.

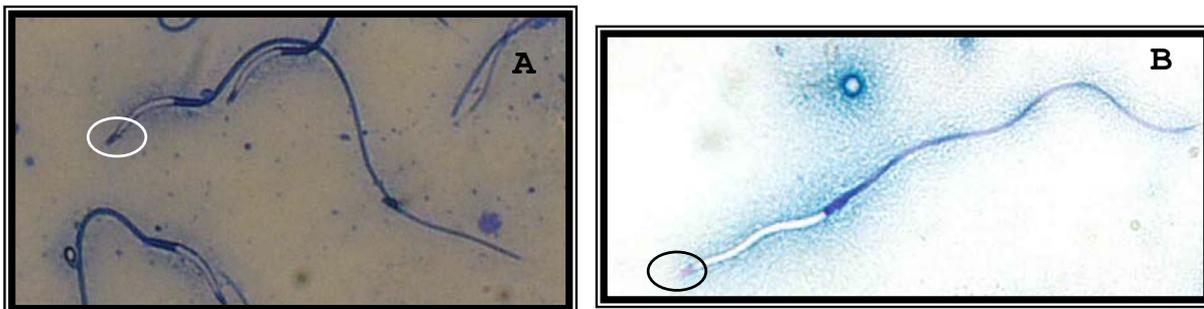


Figura 21 – Acrossoma corado na extremidade da cabeça do espermatozóide por coloração simples – Pope (círculo) sob microscopia de luz num aumento de 1000x (A e B)

5.8 COLETA DE SANGUE E DOSAGEM DE TESTOSTERONA SÉRICA

Obteve-se alguns inconvenientes com a utilização de tubos de coleta de sangue a vácuo (Vacutainer Systems[®])³, pois quando a agulha era introduzida na veia metatarsal, a ave flexionava a perna e constantemente perdia-se o vácuo do tubo. Sendo assim adaptou-se uma curvatura em agulhas (30X8mm)

Quando o animal não movimentava a perna era possível succionar o sangue com seringa de 5ml. Caso contrário a coleta era realizada através de gotejamento no tubo coletor.

³ BD, R. Alexandre Dumas, 1976, Cep: 04717-004, São Paulo - Brasil

Quadro 2 – Nível plasmático de testosterona (TESTO, ng/ml), tamanho de falo e presença de células espermáticas de emas (*Rhea americana*) mantidas em cativeiro durante a estação reprodutiva na região de Sarapuí, Cosmorama, Jundiá e Tatuí. São Paulo, 2001, 2002 e 2003

Amostra	TESTO (ng/ml)	Tamanho de falo	Células espermáticas
1	3,65	Falo grande	Com células
2	0,13	Falo pequeno	Sem células
3	0,59	Falo pequeno	Com células
4	3,26	Falo grande	Com células

No quadro 2 observa-se que animais com falos grandes apresentaram valores de testosterona mais altos que os com falo pequeno. Durante o experimento os animais com falos grandes foram considerados dominantes. Em decorrência do pequeno número de indivíduos avaliados não foi possível demonstrar diferença estatística entre os valores plasmáticos de testosterona entre animais de falos pequenos e grandes.

Tabela 1 – Volume do ejaculado (ml), motilidade espermática (%), concentração espermática ($\times 10^9$ sptz/ml) e nível plasmático de testosterona (TESTO, ng/ml) de emas (*Rhea americana*) mantidas em cativeiro durante a estação reprodutiva e que apresentavam falos grandes na região de Sarapuí, Cosmorama, Jundiá e Tatuí. São Paulo, 2001, 2002 e 2003

Amostra	Volume (ml)	Motilidade (%)	Concentração ($\times 10^9$ sptz/ml)	TESTO (ng/ml)
1	0,7	60	3,41x10 ⁹ ml	28,285
2	0,9	80	4,89x10 ⁹ ml	78,924
3	0,8	80	3,67x10 ⁹ ml	39,832
4	0,7	50	1,48x10 ⁹ ml	16,794
5	1,0	80	6,88x10 ⁹ ml	133,44
6	0,8	50	2,04x10 ⁹ ml	22,41
Média	0,82	66,67	3,73	53,28
Desvio padrão	0,12	15,06	1,96	45,11

Quadro 3 – Nível plasmático de testosterona (TESTO, ng/ml) de emas (*Rhea americana*) mantidas em cativeiro fora da estação reprodutiva e que apresentavam falos pequenos na região de Sarapuí. São Paulo, 2003

Amostra	TESTO (ng/ml)
1	<1,13
2	<1,13
3	20,712
4	3,76
5	<1,13

Na Tabelas 1 e no Quadro 3 pôde-se constatar que houve diferença estatística significativa ($p=0,0161$) entre os valores plasmáticos de testosterona de animais que estavam em período reprodutivo (Tabela 1) e animais que estavam fora do período reprodutivo (Quadro 3) ($53,28\pm 18,41\text{ng/ml}$ e $5,57\pm 3,8141\text{ng/ml}$ respectivamente). Entretanto esses resultados não devem ser considerados como padrão da espécie, pois o número de animais avaliados é pequeno. Contudo pode-se afirmar que o nível plasmático de testosterona dos animais estudados é superior no período reprodutivo. Esses dados coincidem com um trabalho realizado com 12 emús do sudeste da Austrália onde constatou-se diferença entre o nível de testosterona sérica desses animais quando estavam dentro e fora da estação reprodutiva ($2,5$ a $6,0\text{ng/ml}$ e $0,5$ a $1,0\text{ng/ml}$), respectivamente. Bertschinger et al. (1991) cita que o nível plasmático de testosterona em avestruzes sul-africanas decresce após um mês da estação reprodutiva, atingindo pico máximo (461nmol l^{-1}) em estação reprodutiva e menor nível (63nmol l^{-1}) fora da estação reprodutiva. Esse achado pode explicar o fato de não se encontrar células espermáticas nesses animais quando estão fora do período reprodutivo uma vez que a produção de células espermáticas é dependente de testosterona (CODENOTTI, 1997).

Na penúltima coleta (Quadro 3), onde foram coletadas amostras de machos fora da estação reprodutiva, todos os animais apresentaram falos pequenos.

Contudo, em um animal obteve-se uma amostra seminal com presença de raras células espermáticas e baixa percentagem de motilidade. O falo deste animal, apesar de ter sido considerado como pequeno (abaixo de 3cm), mostrava-se um pouco maior quando comparado aos outros animais. O nível plasmático de testosterona deste animal apresentou-se mais elevado quando comparado aos outros machos da mesma coleta. Esses animais tinham acabado de sair da estação reprodutiva e este macho provavelmente foi o último macho dominante.

5.9 CORRELAÇÕES

Quadro 4 - Correlação (r^2) e nível de significância (p) entre os parâmetros volume do ejaculado (VOL), motilidade espermática (MOT), concentração espermática (CONC), número de espermatozoides (NUM), nível plasmático de testosterona (TESTO)

r^2 p	VOL	MOT	CONC	NUM	TESTO
VOL	1,000	0,719 0,1069	0,873 0,0229	0,922 0,0088	0,938 0,0056
MOT		1,000	0,841 0,0356	0,802 0,0546	0,742 0,0910
CONC			1,000	0,989 0,0002	0,960 0,0024
NUM				1,000	0,989 0,0002
TESTO					1,000

Números em vermelho – correlação estatisticamente significante $p < 0,05$

Os resultados desse experimento demonstraram haver correlação estatisticamente significante entre (Quadro 4):

- ◆ Volume e Concentração ($r^2=0,873$, $p=0,0229$)
- ◆ Volume e Número de espermatozoides ($r^2=0,922$, $p=0,0088$)
- ◆ Volume e Testosterona ($r^2=0,938$, $p=0,0056$)
- ◆ Motilidade e Concentração ($r^2=0,841$, $p=0,0356$)
- ◆ Concentração e Número de espermatozoides ($r^2=0,989$, $p=0,0002$)
- ◆ Concentração e Testosterona ($r^2=0,960$, $p=0,0024$)
- ◆ Número de espermatozoides e Testosterona ($r^2=0,989$, $p=0,0002$)

As correlações entre volume e número de espermatozoides, e concentração e número de espermatozoides já eram esperadas, visto que o cálculo para número de espermatozoides envolve volume e concentração.

As correlações de concentração/número de espermatozoides com o nível plasmático de testosterona também já foram verificadas em outras espécies. Essa correlação pode ser explicada pelo fato da produção espermática ser dependente do nível de testosterona. É preciso um alto nível de testosterona plasmática para estimular a espermatogênese (HAFEZ; HAFEZ, 2004)

A correlação entre volume e testosterona pode ser explicada se levarmos em consideração que o testículo em emas aumenta até dez vezes de tamanho, com isso aumenta o volume do parênquima e conseqüentemente o número de Células de Leydig responsável pela produção de testosterona, que por sua vez é responsável pela produção de células espermáticas. Sendo o ejaculado das aves muito concentrado, aumentando o número de espermatozoides aumenta também o volume.

Nem sempre observou-se correlação entre volume e concentração, e motilidade concentração.

Os resultados obtidos na avaliação das amostras indicaram que machos que formaram o falo em espiral possuíam maiores níveis de testosterona quando comparados aos que não formaram. Possivelmente os machos dominantes possuíam os valores mais Elevados de testosterona sérica em relação aos dominados (MALECKI et al., 1999).

5.10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados dos parâmetros seminais de emas, obtidos nesse estudo contribuem de forma expressiva na futura utilização de biotecnologias, inclusive a inseminação artificial, na reprodução de emas, seja para a criação comercial ou para reintrodução na natureza de forma a evitar a extinção da espécie.

6 CONCLUSÕES

Com esses resultados pôde-se concluir que:

1. É possível coletar sêmen de emas através de massagem digital na base do falo.
2. As amostras coletadas forneceram informações sobre as características seminais dessa espécie.

REFERÊNCIAS

Associação dos Criadores de Emas - AGCE. **Criação comercial biologia de ema**. Disponível em:

<<http://www.agce.com.br/index2.html>>. Acesso em: 31 jan. 2001.

AMANN, R. P. Lessons for the poultry industry gleaned from experiences with other commodity species. **Poultry Science**, v. 78, n. 3, p. 419-427, 1999.

BAKST, M. R.; SEXTON, T. J. Fertilizing capacity and ultrastructure of fowl and turkey spermatozoa before and after freezing. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 55, p. 1-7, 1979.

BENOFF, F. H. , ROWE, K. E. , FUQUAY, J. I. , RENDEN, J. A. , ARSCOTT, G. H. Effect of semen collector on semen volume and sperm concentration in broiler breeder males. **Poultry Science**, v. 60, n. 5, p. 1062-1065, 1981.

BERTSCHINGER, H. J.; BURGER, W. P.; SOLEY, J. T.; DE LANGE, J. H. Semen collection and evaluation of the male ostrich. In: BIENNIAL CONGRESS OF THE SOUTH AFRICAN VETERINARY ASSOCIATION, 1992, Grahamstown. **Proceedings...** Grahamstown: [s.n.], 1992, p. 154-158.

BERTSCHINGER, H. J. , SOLEY, J. T.; DE LANGE, D. H.; BURGER, W. P. Semen collection and evaluation in ostriches. In: SEMINAR ON OSTRICH RESEARCH, 1991, Oudtshoorn. **Anais...** Oudtshoorn: Dept. Van Landbou en Watervoorsiening, 1991. p. 42-44.

BROCK, M. K. Semen collection and artificial insemination in the hispaniolan parrot (*Amazona ventralis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 22, n. 1, p. 107-114, 1991.

BUDRAS, K. D.; MEIER, U. The epididymis and its development in ratite birds (Ostrich, Emu, Rhea). **Anatomy and Embryology**, v. 162, p. 281-299, 1981.

BURROWS, W. A.; QUINN, J. P. A method of obtain spermatozoa from the domestic fowl. **Poultry Science**, v. 14, n. 4, p. 251-254, 1935.

CARRER, C. C.; KORNFIELD, M. E. **A criação de avestruzes no Brasil**. Rio Claro: Editora Ultra Copy, 1999. 304 p.

CARVALHO, M. R.; MEGALE, F.; CHQUILOFF, M. A. G. Relação de três características de sêmen de galos White Leghorns com a fertilidade. **Arquivos da Escola de Veterinária da Faculdade de Minas Gerais**, v. 30, n. 1, p. 29-35, 1978.

CELEGHINI, E. C. C. **Avaliação do método de seleção de galos (*Gallus gallus domesticus*) para a reprodução pelo desenvolvimento da crista com relação à idade à puberdade, características seminais e testiculares**. 2000. 84 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2000.

CEROLINI, S; KELSO, K. A.; NOBLE, R. C.; SPEAKE, B. K.; PIZZI, F.; CAVALCHINI, L. G. Relationship between spermatozoan lipid composition and fertility during aging of chicken. **Biology of Reproduction**, v. 57, n. 5, p. 976-980, 1997.

CHAUDHURI, D.; WISHART, G. J.; LAKE, P. E.; RAVIE, O. Predicting the fertilising ability of avian semen: comparison of a simple colourimetric test with other methods for predicting the fertilising ability of fowl semen. **British Poultry Science**, v. 29, n. 4, p. 801-05, 1988.

CITES. **Red list**. Disponível em: <<http://chamownersweb.com/originis/cites2003.html>>. Acesso em: 29 agosto 2003.

CODENOTTI, T. L.; BENINCA, D.; ALVAREZ, F. Etograma y relacion de la conducta com el habitat y com la edade em el ñandu (*Rhea americana*). **Acta Vertebrata**, v. 22, p. 1-2, 1995.

CODENOTTI, T. L. Fenologia reproductiva y biometria de nidos, huevos y pollos del ñandu, *Rhea americana* en Rio Grande do Sul, Brasil. **El homero**, v. 4, p. 211-223, 1997.

CODENOTTI, T. L.; ALVAREZ, F. Cooperative breeding between males in the Greater Rhea *Rhea americana*. **IBIS**, n. 139, p. 568-571, 1997.

CODENOTTI, T. L.; ALVAREZ, F. Mating behavior of the male greater rhea. **Wilson Bull**, v. 113, n. 1, p. 85-89, 2001.

DANI, S. **A ema (Rhea americana):** biologia, manejo e conservação. Belo Horizonte: Fundação Acangaú, 1993. 136 p.

DE CICCIO, L. H. S. **Saúde animal. Ema. Ela é criada pelo pai.** Disponível em: <<http://www.saudeanimal.com.br/extinto25/html>>. Acesso em: 31 jan. 2001.

DEEMING, D. C. **The ostrich:** biology, production and health. New York: CABI Publishing, 1999. 358 p.

DONOGHUE, A. M.; DONOGHUE, D. J. Effects of water-and lipid- soluble antioxidants on turkey sperm viability, membrane integrity, and motility during liquid storage. **Poultry Science** v. 76, p. 1440-1445, 1997.

DONOGHUE, A. M.; GARNER, D. I.; DONOGHUE, D. J.; Assessment of the membrane integrity of fresh and stored turkey spermatozoa using a combination of hypo-osmotic stress, fluorescent staining and flow cytometry. **Theriogenology**, v. 46, p. 153-163, 1996.

ETCHES, R. J. Inseminação artificial. In: FUNDAÇÃO APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. **Fisiologia da reprodução de aves**. Campinas, 1994. p. 117-127.

FOOTE, R. H. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. **Animal Reproduction Science**, v. 75, p. 119-139, 2003.

FOWLER, M. E. Comparative clinical anatomy of ratites. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 22, n. 2, p. 204-227, 1991.

FROMAN, D. P.; MCLEAN, D. J. Objective measurement of sperm motility based upon sperm penetration of Accudenz®. **Poultry Science**, v. 75, n. 12, p. 2344-2351, 1986.

GIANNONI, M. L. **Emas e Avestruzes - uma alternativa para o produtor rural**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 49 p.

GIANNONI, M. L.; SANCHEZ, M. E. As espécies sul-americanas do grupo das ratitas. **Atualidades Ornitológicas**, v. 64, p. 4, 1995.

GILES, A. K.; RENBORG, U. Farm management: what's it all about? **Farm Management**, v. 7, p. 399-411. 1990.

GILLESPIE, J. M.; SCHUPP, A. R. Ratite production as an agricultural enterprise. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 14, p. 373-386. 1998.

GUIMARÃES, M. A. B. V. A aplicação de técnicas de reprodução assistida em animais silvestres mantidos em cativeiro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, n. 2, p. 116-117, 2001.

GUIMARÃES, M. A. B. V. Biotecnologia aplicada aos animais silvestres: aspectos éticos e concervationistas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, n. 2, p. 58-61, 2002.

GUNSKI, R. J. **Análise citogenética e algumas considerações biológicas da espécie *Rhea americana* - Ema (Aves: Rheidae)**. Jaboticabal: UNESP, 1992. 129 p.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. Barueri: Manole, 2004. 513 p.

HEMBERGER, M. Y.; HOPES, R.; BOSTEDT, H. Semen collection, examination and spermogram in ostriches. **Reproduction in Domestic Animal**, v. 36, p. 241-243, 2001.

HICKS-ALLDREDGE, K. D. Ratite reproduction. In: TULLY, T. N.; SHANE, S. M. **Ratite – management, medicine and surgery**. Malabar: Krieger Publishing Company, 1996. 188 p.

HOCKING, P. M. Effect of dietary crude protein concentration on semen yield and quality in male broiler breeder fowls. **British Poultry Science**, v. 30, p. 935-45, 1989.

IBAMA. **Lista das espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção 2003**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>>. Acesso em: 04 set. 2003.

JOHNSON, A. L. Reproduction in the male. In: STURKIE, P. D. (Ed.). **Avian Physiology**. 4. ed. New York: Springer - Verlag, 1986. p. 432- 451.

LANE, R. Selecting your best ratites. **Canadian Ostrich**, v. 4, n. 2, p. 16-18, 1995.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, I. P. **Texto da convenção sobre diversidade biológica**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/cdb/decreto.html>> Acesso em: 28 ago. 2003.

MALECKI A. I.; MARTIN, G. B.; LINDSAY, D. R. Semen production by the Emu (*Dromaius novaehollandiae*). 1. Methods for collection of semen. **Poultry Science**, v. 76, p. 615-621, 1997a.

MALECKI A. I.; MARTIN, G. B.; LINDSAY, D. R. Semen production by the Emu (*Dromaius novaehollandiae*). 2. Effect of collection frequency on the production of semen and spermatozoa. **Poultry Science**, v. 76, p. 622-626, 1997b.

MALECKI, I. A.; MARTIN, G. B.; MALLEY, P. J. O.; MEYER, G. T.; TALBOT, R. T.; SHARP, P. J. Endocrine and testicular changes in a short- day seasonally breeding bird, the Emu (*Dromaius novaehollandiae*), in southwestern Australia. **Animal Reproduction Science**, v. 53, p. 143-155, 1999.

MAY, P. H.; VEIGA NETO, F. C.; POZO, O. V. C. **Valoração econômica da biodiversidade. Estudos de caso no Brasil 2000**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/sbf/index.cfm>>. Acesso em: 28 ago. 2003.

MELLO, N. H. A ficha do bicho – Ema. **Globo Rural**, n. 5, p. 56-60, 1987.

MERCOLLI, C.; YANOSKY, A. A. Vocalizaciones del ñandú común *Rhea americana* (Aves: Rheidae) em Argentina. **Revista de Biología Tropical**, v. 43, n. 3, p. 759-760, 1994.

MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais**. 6. ed. Porto Alegre: Sulinas, 1987. v. 1, 314 p.

OLIVEIRA, T. G. **Neotropical cats ecology and conservation**. São Luís: Editora da Universidade Federal do Maranhão, 1994. 220 p.

PHILLIPS, D. M.; ASA, C. S. Development of spermatozoa in the Rhea. **The Anatomical Record**, v. 223, p. 276-282, 1989.

POPE, C. E.; ZHANG, Y. Z.; DRESSER, B. L. A simple staining method for evaluating acrossomal status of cat spermatozoa. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 22, n. 1, p. 87-95, 1991.

- REBOREDA, J. C. The rhea (*Rhea americana*). **Anales de la Sociedad Rural Argentina**, v. 126, n. 1-3, p. 57-61, 1993.
- ROSENSTRAUCH, A.; DEGEN, A. A.; FRIEDLÄNDER, M. Spermatozoa retention by Sertoli cells during the decline in fertility in aging roosters. **Biology of Reproduction**, v. 50, n. 1, p. 129-36, 1994.
- SALES, J.; DEEMING, D. C.; DEVENTER, P. J. U. ; MARTELLA, M. B.; NAVARRO, J. L. Diurnal time-activity budget of adult Greater Rheas (*Rhea americana*) in a farming environment. **Archiv Geflügelk**, v. 64, n. 5, p. 207-210, 2000.
- SAMOUR, J. H.; MARKHAM, J.; NIEVA, O. Sexing ratite birds by cloacal examination. **Veterinary Record**, v. 115, p. 167-169, 1984.
- SEGURA CORREA, J. C.; AGUAYO ARCEO, A. M. Edad a la pubertad y características seminales de gallos Rhode Island y Criollos Cuello Desnudo bajo condiciones tropicales. **Veterinária México**, v. 26, n. 4, p. 375-79, 1995.
- SEXTON, T. J. A New poultry semen extender – 1. Effect of extension on the fertility of chicken semen. **Poultry Science**, v. 56, p. 1443-1446, 1997
- SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Brasília: [s.n.], 1985. V. 1, 482 p.
- SURAI, P. F.; WISHART, G. J. Poultry artificial insemination technology in the countries of the former USSR. **World's Poultry Science Journal**, v. 52, n. 1, p. 27-43, 1996.
- WILSON; H. R.; PIESCO, N. P.; MILLER, E. R.; NESBETH, W. G. Prediction of the fertility potential of broiler breeder males. **World's Poultry Science Journal**, v. 35, n. 2, p. 95-118, 1979.
- WISHART, G. J.; PALMER, F. H. Correlations of the fertilising ability of semen from individual male fowls with sperm motility and ATP content. **British Poultry Science**, v. 27, n. 1, p. 190-196, 1999.