

GUILHERME COSTA DE OLIVEIRA E SILVA

Estudo do perfil sérico dos hormônios esteróides (estradiol e progesterona) e do comportamento reprodutivo de fêmeas jovens de avestruz (*Struthio camelus*) criadas no Brasil



SÃO PAULO
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

GUILHERME COSTA DE OLIVEIRA E SILVA

Estudo do perfil sérico dos hormônios esteróides (estradiol e progesterona) e do comportamento reprodutivo de fêmeas jovens de avestruz (*Struthio camelus*) criadas no Brasil

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

Departamento:
Reprodução Animal

Área de Concentração:
Reprodução Animal

Orientador:
Prof. Dr. Marcelo Alcindo de B. Vaz Guimarães

São Paulo
2008

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1991
FMVZ

Silva, Guilherme Costa de Oliveira e
Estudo do perfil sérico dos hormônios esteróides (estradiol e progesterona) e do comportamento reprodutivo de fêmeas jovens de avestruz (*Struthio camelus*) criadas no Brasil / Guilherme Costa de Oliveira e Silva. – São Paulo : G. C. O. Silva, 2008.
86 f. : il.

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

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

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Alcindo de B. Vaz Guimarães.

1. Avestruz. 2. *Struthio camelus*. 3. Comportamento reprodutivo. 4. Estradiol. 5 Progesterona. I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

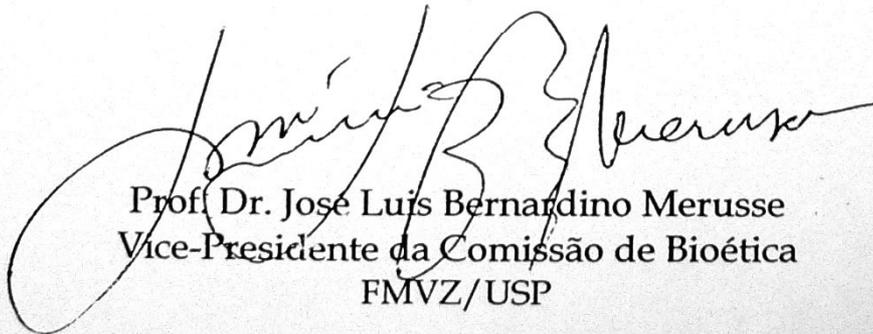
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo do perfil sérico dos hormônios esteróides (Estradiol e Progesterona) e do comportamento reprodutivo de fêmeas jovens de avestruz (*Struthio camelus*) criadas no Brasil", protocolo nº831/2006, utilizando 15 (quinze) avestruzes, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Study of the steroids hormones profiles (Estradiol and Progesterone) and the reproductive behaviour of young female ostriches (*Struthio camelus*) farmed in Brazil", protocol number 831/2006, utilizing 15 (fifteen) ostriches, under the responsibility of Prof. Dr. Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting).

São Paulo, 02 de março de 2006



Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Vice-Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SILVA, Guilherme Costa de Oliveira e

Título: Estudo do perfil sérico dos hormônios esteróides (estradiol e progesterona) e do comportamento reprodutivo de fêmeas jovens de avestruz (*Struthio camelus*) criadas no Brasil

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____
Assinatura: _____

Instituição: _____
Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Assinatura: _____

Instituição: _____
Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Assinatura: _____

Instituição: _____
Julgamento: _____

Aos meus pais que sempre apoiaram minhas decisões.

À minha namorada...
Você sempre terá todo o espaço do meu coração.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelo apoio concedido.

À empresa e funcionários da BIOTECTRUZ® Piveta Assunção pelo apoio e fornecimento dos animais para a realização deste estudo.

Aos pais da minha namorada, Olga e Guilherme, que sempre me deram todo o apoio necessário para que eu pudesse ir e vir durante este estudo (e mais um pouco).

Ao Prof. Dr. Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães que de forma brilhante vem me ajudando durante todos esses anos.

A todos que me ajudaram e participaram de alguma forma durante o todo mestrado.

RESUMO

SILVA, G. C. O. **Estudo do perfil sérico dos hormônios esteróides (estradiol e progesterona) e do comportamento reprodutivo de fêmeas jovens de avestruz (*Struthio camelus*) criadas no Brasil.** [Study of the steroids hormones profiles (Estradiol and Progesterone) and the reproductive behavior of young female ostriches (*Struthio camelus*) farmed in Brazil]. 2008. 86f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

O objetivo deste trabalho foi estudar os níveis séricos dos hormônios esteróides (estradiol e progesterona) e analisar as possíveis relações destes com o desenvolvimento do comportamento reprodutivo em fêmeas jovens de avestruzes (*Struthio camelus*) durante a maturação sexual. No primeiro experimento, duas fêmeas jovens foram avaliadas, três vezes por semana, através de colheitas de sangue para dosagem de estradiol e progesterona e de observações para avaliação do comportamento reprodutivo. No segundo experimento, 20 fêmeas jovens foram selecionadas de acordo com a intensidade de comportamento reprodutivo e tiveram seu comportamento reprodutivo monitorado semanalmente. Foram realizadas colheitas de sangue semanais nos mesmos dias das observações comportamentais. No primeiro experimento, através da comparação das médias dos valores de estradiol nas fases de presença (CCOMP) ou ausência de comportamento reprodutivo (SCOMP), verificou-se uma igualdade entre as médias nas duas fêmeas estudadas e não foi verificada correlação entre os níveis séricos de estradiol e o comportamento reprodutivo. No segundo experimento, a comparação das médias de estradiol entre as amostras dos animais SCOMP e CCOMP apresentou diferença significativa. A comparação das médias entre as 4 categorias comportamentais estabelecidas - sem comportamento (SCOMP), com baixo comportamento (COMPBX), com alto comportamento sem aceitação de cópula (COMPALTSACC), com alto comportamento com aceitação de cópula (COMPALTCACC) - demonstraram haver diferença significativa entre os valores de estradiol encontrados, também sendo verificada correlação entre as 4 categorias e os níveis médios de estradiol ($r = 0,64$). Para a progesterona, no primeiro experimento, os valores médios foram significativamente maiores nas amostras SCOMP do que nas

CCOMP, sendo que a progesterona apresentou uma correlação negativa com a intensidade do comportamento reprodutivo nas duas fêmeas ($r = -0,54$ e $r = -0,33$). No segundo experimento, os valores médios de progesterona foram significativamente maiores nas amostras CCOMP do que nas amostras SCOMP. As médias de progesterona das 4 categorias comportamentais apresentaram diferenças significativas e houve correlação positiva ($r = 0,43$) dos níveis de progesterona com as 4 categorias comportamentais. Os resultados sugerem que exista uma relação entre os níveis de estradiol e progesterona e a modulação da intensidade de comportamentos reprodutivos, mas não necessariamente entre estes níveis hormonais e a iniciação destes comportamentos e que os perfis séricos de estradiol e progesterona em fêmeas de avestruz na fase de maturação sexual apresentam semelhanças com outras espécies de aves.

Palavras-chave: Avestruz. *Struthio camelus*. Comportamento reprodutivo. Estradiol. Progesterona.

ABSTRACT

SILVA, G. C. O. **Study of the steroids hormones profiles (estradiol and progesterone) and the reproductive behavior of young female ostriches (*Struthio camelus*) farmed in Brazil.** [Estudo do perfil sérico dos hormônios esteróides (estradiol e progesterona) e do comportamento reprodutivo de fêmeas jovens de avestruz (*Struthio camelus*) criadas no Brasil]. 2008. 86f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

The purpose of this work was to study the serum levels of estradiol and progesterone and analyze their relationship with the development of the reproductive behavior in young female ostriches (*Struthio camelus*) during sexual maturity. The first experiment studied two young females, through blood samples, three times a week, for measurement of estradiol and progesterone and was performed behavioral observations at the same time. In the second experiment, twenty young female ostriches had their reproductive behavior monitored weekly and blood samples were collected for hormone assays in the same days of the observations. The results of the first experiment showed no differences between the mean of estradiol levels in the two phases, with and without reproductive behavior. In the same way there were no correlations between estradiol levels and frequency of behaviors. In the second experiment, there were significant differences between the mean of estradiol levels with and without reproductive behavior. When it was considered four categories of behavior (without behavior, low behavior, high behavior and no copulation posture, and high behavior and copulation posture display), the mean estradiol levels showed significant differences. There was positive correlation between the categories and the estradiol levels ($r = 0,64$). Regarding progesterone, the first experiment, demonstrated significantly higher hormonal levels in the absence than in the presence of reproductive behavior and a negative correlation between the occurrence of behaviors and the hormonal levels for both females ($r = -0,54$ and $r = -0,33$). In the second experiment, the means of progesterone levels were significantly higher in the phase with behavioral displays than with none. For the four behavioral categories, the means of progesterone levels differed significantly and showed a positive correlation ($r = 0,43$) with the reproductive behavior. The results suggest that

there is a relationship between estradiol and progesterone levels and the occurrence of the reproductive behavior, but not necessarily between these hormone levels and the initiation of the process. The hormonal levels of estradiol and progesterone found in ostriches were similar to some domestic avian species.

Keywords: Ostriches. *Struthio camelus*. Reproductive behavior. Estradiol. Progesterone.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Vista do piquete do grupo de fêmeas jovens de avestruz (ao fundo) na Fazenda Modelo da empresa BIOTECTRUS® Piveta Assunção - Cosmópolis/SP - 200634
- Figura 2 - (A) Contenção física de avestruz com auxílio de cambão; (B) Colheita de Sangue por punção da veia jugular direita; (C) Separação do soro sanguíneo e acondicionamento em tubos eppendorf - Cosmópolis/SP - 200635
- Figura 3 - Realização da observação do comportamento reprodutivo das fêmeas estudadas. Seta: posição do observador. Notar a distância entre o observador e os animais avaliados - Cosmópolis/SP - 200636
- Figura 4 - Observação de comportamento reprodutivo de uma das fêmeas estudadas, demonstrando a posição de abaixar e bater de asas (ASA) e o abaixar e o balançar pendular da cabeça com bater de bico (BICO) - Cosmópolis/SP - 200637
- Figura 5 - Observação de comportamento reprodutivo de uma das fêmeas estudadas, demonstrando a postura de aceitação de cópula (ACC) - Cosmópolis/SP - 200637
- Figura 6 - Contenção física de uma fêmea de avestruz para colheita de amostra de sangue da veia jugular direita - São Gabriel do Oeste/MS - 200642
- Figura 7 - Realização da observação e avaliação do comportamento reprodutivo de uma das fêmeas estudadas em São Gabriel do Oeste/MS - 200643
- Figura 8 - Observação do desenvolvimento do comportamento reprodutivo da fêmea 1923 baseados nos critérios estabelecidos no material e métodos para esta fase do estudo. ASA: “abaixar e bater das asas”; BICO: “abaixar e balançar pendular da cabeça batendo o bico”; ACC: presença de postura de aceitação de cópula - São Paulo/SP - 200847

Figura 9 - Observação do desenvolvimento do comportamento reprodutivo da fêmea 1925 baseado nos critérios estabelecidos no material e métodos para esta fase do estudo. ASA: “abaixar e bater das asas”; BICO: “abaixar e balançar pendular da cabeça batendo o bico”. Não foi observada nenhuma postura de aceitação de cópula - São Paulo/SP - 2008.....	48
Figura 10 - Demonstração gráfica da validação do conjunto Estradiol DSL4400® para quantificação do estradiol em soro sanguíneo de fêmeas de avestruzes (<i>Struthio camelus</i>) - São Paulo/SP - 2008.....	49
Figura 11 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (+DPM) dos valores de estradiol encontrados na fêmea 1923 de acordo com a categorização estabelecida. SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008.....	50
Figura 12 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de estradiol encontrados na fêmea 1923 - São Paulo/SP - 2008.....	51
Figura 13 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (+DPM) dos valores de estradiol encontrados na fêmea 1925 de acordo com a categorização estabelecida. SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008.....	52
Figura 14 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de estradiol encontrados na fêmea 1925 - São Paulo/SP - 2008.....	52
Figura 15 - Demonstração gráfica da validação do conjunto Progesterona DSL3900® para quantificação de progesterona em soro sanguíneo de fêmeas de avestruzes (<i>Struthio camelus</i>) - São Paulo/SP - 2008.....	53

Figura 16 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (+DPM) dos valores de progesterona encontrados na fêmea 1923 de acordo com a categorização estabelecida. SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008.....	54
Figura 17 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de progesterona encontrados na fêmea 1923 - São Paulo/SP - 2008.....	55
Figura 18 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de estradiol e progesterona encontrados na fêmea 1923 - São Paulo/SP - 2008.....	56
Figura 19 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (+DPM) dos valores de progesterona encontrados na fêmea 1925 de acordo com a categorização estabelecida. SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008.....	57
Figura 20 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de progesterona encontrados na fêmea 1925 - São Paulo/SP - 2008.....	57
Figura 21 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de estradiol e progesterona encontrados na fêmea 1925 - São Paulo/SP - 2008.....	58
Figura 22 - Imagens ultra-sonográficas demonstrando a ausência de folículos ovarianos desenvolvidos (A) e a presença de 2 folículos ovarianos desenvolvidos com tamanho aproximado de 7,0cm (B) - Cosmópolis/SP - 2006.....	59
Figura 23 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (+DPM) dos valores de estradiol encontrados no conjunto de amostras sem comportamento reprodutivo (SCOMP) e no conjunto que apresentava qualquer tipo de comportamento reprodutivo (CCOMP). Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008.....	62

- Figura 24 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (+DPM) dos valores de estradiol encontrados nas categorias: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; COMPBX: comportamento reprodutivo baixo; COMPALTSACC: comportamento reprodutivo alto sem aceitação de cópula; COMPALTCACC: comportamento reprodutivo alto com aceitação de cópula. Letras sobrescritas diferentes representam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 200864
- Figura 25 - Demonstração gráfica da validação do conjunto Progesterona Coat a Count® para quantificação de progesterona em soro sanguíneo de fêmeas de avestruzes (*Struthio camelus*) - São Paulo/SP - 2008.....65
- Figura 26 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (+DPM) dos valores de progesterona encontrados no conjunto de amostras sem comportamento reprodutivo (SCOMP) e no conjunto que apresentava qualquer tipo de comportamento reprodutivo (CCOMP). Letras sobrescritas diferentes representam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 200867
- Figura 27 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (+DPM) dos valores de progesterona encontrados nas categorias: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; COMPBX: comportamento reprodutivo baixo; COMPALTSACC: comportamento reprodutivo alto sem aceitação de cópula; COMPALTCACC: comportamento reprodutivo alto com aceitação de cópula. Letras sobrescritas diferentes representam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 200869

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 – Descrição dos controles de qualidade dos ensaios de estradiol realizados com o conjunto Estradiol DSL4400® SP - São Paulo/SP - 2008.....49
- Quadro 2 – Descrição dos controles de qualidade dos ensaios de progesterona realizados com o conjunto Progesterona DSL 3900® - São Paulo/SP - 2008.....53
- Quadro 3 – Descrição dos controles de qualidade dos ensaios de progesterona realizado com o conjunto Progesterona Coat a Count® - São Paulo/SP - 2008.....66

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de estradiol na fêmea 1923, de acordo com a categorização das amostras segundo o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008.....50
- Tabela 2 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de estradiol na fêmea 1925, de acordo com a categorização das amostras segundo o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008.....51
- Tabela 3 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de progesterona na fêmea 1923, de acordo com a categorização das amostras segundo o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008.....54
- Tabela 4 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de progesterona na fêmea 1925, de acordo com a categorização das amostras segundo o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008.....56
- Tabela 5 – Data da realização e resultado dos exames ultra-sonográficos do ovário das fêmeas estudadas - São Paulo/SP - 2008.....59
- Tabela 6 – Desenvolvimento do comportamento reprodutivo da fêmea P 243 durante o período de estudo e a categorização das amostras de acordo com o comportamento apresentado em cada semana - São Paulo/SP – 2008.....60
- Tabela 7 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de estradiol estabelecidas de acordo com a ausência ou presença de comportamento reprodutivo nos animais estudados - São Paulo/SP - 2008.....62
- Tabela 8 – Mediana, valores mínimos e máximos das concentrações séricas de estradiol nas 4 categorias de fêmeas jovens de avestruz estabelecidas conforme o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008.....63

Tabela 9 – Média e desvio-padrão das concentrações séricas de estradiol nas 4 categorias de fêmeas jovens de avestruz estabelecidas conforme o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008.....	64
Tabela 10 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de progesterona estabelecidas de acordo com a ausência ou presença de comportamento reprodutivo nos animais estudados - São Paulo/SP - 2008.....	66
Tabela 11 – Mediana, valores mínimos e máximos das concentrações séricas de progesterona nas 4 categorias de fêmeas jovens de avestruz estabelecidas conforme o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008.....	67
Tabela 12 – Média e desvio-padrão das concentrações séricas de progesterona nas 4 categorias de fêmeas jovens de avestruz estabelecidas conforme o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008.....	68

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVOS	22
3	REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1	O AVESTRUZ (<i>Struthio camelus</i>).....	23
3.2	A ESTRUTIOCULTURA NO BRASIL.....	24
3.3	A REPRODUÇÃO NO AVESTRUZ.....	25
3.4	FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE AVES EM GERAL E NO AVESTRUZ.....	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1	EXPERIMENTO 1 – COSMÓPOLIS/SP.....	33
4.1.1	Animais	33
4.1.2	Colheitas de sangue e obtenção do soro sanguíneo	34
4.1.3	Observação de comportamento reprodutivo	36
4.1.4	Exame ultra-sonográfico do ovário	38
4.1.5	Dosagens hormonais	39
4.1.6	Análise estatística	39
4.2	EXPERIMENTO 2 – SÃO GABRIEL DO OESTE/MS.....	41
4.2.1	Animais	41
4.2.2	Colheitas de sangue e obtenção do soro sanguíneo	41
4.2.3	Observação de comportamento reprodutivo	43
4.2.4	Dosagens hormonais	44
4.2.5	Análise estatística	45

5	RESULTADOS	47
5.1	EXPERIMENTO 1 – COSMÓPOLIS/SP	47
5.1.1	Resultados comportamentais	47
5.1.2	Resultados hormonais	48
5.1.2.1	Estradiol	48
5.1.2.2	Progesterona	53
5.1.3	Avaliação ultra-sonográfica do ovário	58
5.2	EXPERIMENTO 2 – SÃO GABRIEL DO OESTE/MS	59
5.2.1	Resultados comportamentais	60
5.2.2	Resultados hormonais	61
5.2.2.1	Estradiol	61
5.2.2.2	Progesterona	65
6	DISCUSSÃO	70
6.1	COMPORTAMENTO REPRODUTIVO	70
6.2	ESTRADIOL	71
6.3	PROGESTERONA	74
6.4	CONSIDERAÇÕES GERAIS	76
7	CONCLUSÕES	78
	REFERÊNCIAS	79
	APÊNDICES	82

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a criação de avestruzes – chamada de Estrutiocultura – vem ganhando força e popularidade em todo o mundo (CARBÓ, 2003). Um dos motivos principais para esse crescente interesse se baseia na qualidade e na potencialidade econômica dos produtos originários dos avestruzes (PINHEIRO et al., 2002; CARBÓ, 2003; CARRER, 2004), que são sua carne (vermelha), seu couro, suas plumas (o Brasil é o principal mercado consumidor) e seus ovos. Outra característica que faz com que essa espécie seja uma interessante opção para criação é sua capacidade de adaptação às mais diversas condições climáticas e a necessidade de pequenas áreas para o manejo e produção, constituindo-se assim, uma boa alternativa para pequenas e médias propriedades (PINHEIRO et al., 2002).

Segundo Carrer et al. (2004), o Brasil é tido entre a comunidade da estrutiocultura mundial, como um dos países de maior potencial de crescimento desta atividade, com grande vocação natural e empresarial. Suzan e Garneiro (2007) atribuem o potencial brasileiro na estrutiocultura a fatores como a disponibilidade de espaço físico, clima adequado, mão-de-obra barata e à tradição agropecuária.

Buscando-se sempre formas mais adequadas e eficientes de aumentar a produtividade, os fenômenos reprodutivos das aves industriais têm sido motivo de intensos estudos e pesquisas ao longo das décadas (PINHEIRO et al., 2004).

De início, a simples seleção de indivíduos com as características desejadas era a forma utilizada para se alcançar um incremento na produtividade. Com o avanço tecnológico e o aprimoramento dos conhecimentos sobre os fatores genéticos e endócrinos, estes passaram a ser utilizados na orientação de programas de seleção e melhoramento de plantéis das aves industriais (PINHEIRO et al., 2004).

Em se tratando de avestruzes, diversos aspectos relacionados às suas características reprodutivas ainda são desconhecidos, levando a uma baixa eficiência reprodutiva, o que acaba dificultando o desenvolvimento dessa criação. Por esta razão, é muito importante que sejam conhecidas as suas características endócrino-reprodutivas, as quais podem elevar o desempenho da espécie a partir do momento em que sua fisiologia reprodutiva esteja bem elucidada. Esses conhecimentos possibilitarão uma melhor avaliação do potencial reprodutivo dos

avestruzes, permitindo, também, a aplicação de técnicas de reprodução assistida como o manejo hormonal do ciclo reprodutivo e até mesmo intervenções como a inseminação artificial.

2 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo estudar os níveis séricos dos hormônios esteróides (estradiol e progesterona) e analisar as possíveis relações com a apresentação de comportamento reprodutivo em fêmeas jovens de avestruzes (*Struthio camelus*) durante a maturação sexual.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A seguir, estão descritos diversos aspectos da revisão de literatura no que tange a biologia e a reprodução em avestruzes.

3.1 O AVESTRUZ (*Struthio camelus*)

O avestruz é a maior ave viva do mundo, podendo alcançar um peso de até 200kg e possuir 2,7m de altura. Originário da África, pertence à família *Struthionidae*, que é composta por um único gênero (*Struthio*), uma única espécie (*S. camelus*) e 4 sub-espécies (RITCHIE et al., 1994; CARRER; KORNFELD, 1999):

- *Struthio camelus camelus* (Norte da África) - São maiores e possuem plumagem com grande densidade, cabeça quase sem penugem e pescoço avermelhado. Seus ovos são maiores e mais lisos do que os da África do Sul;
- *Struthio camelus massaicus* (África Oriental) - Ligeiramente maior que o da África do Sul. Possuem pescoço rosado que se torna vermelho na época de reprodução. Concentram-se principalmente no Quênia e Tanzânia;
- *Struthio camelus molybdophanes* (Somália) - São menores que os da África do Sul. Possuem pescoço e pernas com coloração cinza-azulada e tem uma região nua e córnea na cabeça;
- *Struthio camelus australis* (África do Sul) - Possuem pescoço cinza-azulado e a cabeça possui penugem.

No meio comercial, o avestruz é dividido em 3 raças: "African Black", "Red Neck" e "Blue Neck", todos originários de cruzamentos entre as sub-espécies (CARRER; KORNFELD, 1999). A *African Black* é a raça mais utilizada em criações comerciais por possuírem um comportamento mais dócil que facilita o manejo e apresentarem melhor desenvolvimento de plumas e rendimento de carcaça (DEEMING, 1999).

Os avestruzes possuem 2 dedos nos pés e suas pernas são fortes e potentes alcançando a velocidade de 70 km/h (DEEMING, 1999). São onívoros, alimentando-

se principalmente de vegetação, podem viver mais de 80 anos e quando adultos apresentam dimorfismo sexual, que segundo Carrer et al. (2004) começa a ser notado por volta dos 12-14 meses de idade. O macho apresenta plumagem preta e as asas e cauda com pontas brancas e a fêmea e os jovens apresentam plumagem marrom-acinzentada (RITCHIE et al., 1994).

Geralmente as fêmeas são dóceis, mas os machos podem se comportar agressivamente em épocas de reprodução. O chute é a sua grande arma, podendo alcançar facilmente o rosto de uma pessoa, o que faz com se deva tomar muitas precauções no manejo do mesmo (FOWLER, 1986).

3.2 A ESTRUTIOCULTURA NO BRASIL

A estrutuicultura brasileira iniciou-se em 1995 com a importação dos primeiros reprodutores e, em 2001, o setor estrutuicultor brasileiro movimentou de 2 a 3 milhões de dólares, por força de um plantel de aproximadamente 50 mil aves (PINHEIRO et al., 2002). Nos últimos anos, o plantel brasileiro cresceu rapidamente, partindo de 120 mil aves em 2003, para 175 mil em 2004 (CARRER et al., 2004), 335 mil em 2005 (MUNIZ, 2005) e, atualmente, o plantel nacional é estimado em 430 mil aves, consolidando o Brasil com o segundo maior rebanho de avestruzes do mundo, atrás somente da África do Sul (MUNIZ, 2005; SUZAN; GARNEIRO, 2007).

A partir do dia 15 de março de 2002, a Portaria nº 36 do Ministério do Meio Ambiente através do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) incluiu o avestruz (*Struthio camelus*) na listagem de fauna considerada doméstica. Atualmente os criadouros comerciais desta espécie necessitam de registro da sua unidade produtiva junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) seguindo normas específicas definidas na Instrução Normativa Conjunta nº 2, de 21 de fevereiro de 2003.

Segundo dados oriundos do Anuário da estrutuicultura brasileira de 2005/2006 (MUNIZ, 2005), o plantel Brasileiro está concentrado em três estados: São Paulo (125 mil animais), Goiás (86 mil) e Bahia (23 mil), que, respectivamente são os maiores produtores de avestruzes do Brasil e somam aproximadamente 70% do rebanho nacional. Por regiões, temos a Região Sudeste como a principal

produtora de avestruzes do país, possuindo 42% do plantel nacional, sendo o Estado de São Paulo responsável por 90% do plantel desta região. A região Centro-Oeste é a segunda maior produtora de avestruzes no Brasil, com 31% do rebanho nacional, seguida pela região Nordeste com 18%, o Sul com 7% e, por fim, a região Norte com 2% do plantel nacional.

Distanciando-se das especulações de mercado que prometiam lucros exorbitantes e venda fácil, a estruturacultura brasileira vive atualmente um momento mais realista devido ao aumento da organização do setor, conseguida através da formação de entidades associativas que buscam a defesa e o desenvolvimento sustentado dessa criação (PINHEIRO et al., 2004).

Após uma grande expansão do plantel brasileiro, tornou-se necessário, desenvolver e estabelecer a cadeia produtiva de transformação do avestruz, visando a industrialização e a comercialização dos seus subprodutos – a carne, o couro e as plumas. Para tanto, a Associação dos Criadores de Avestruzes do Brasil (ACAB), com o apoio de associações regionais e criadores, vem trabalhando em parceria com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Secretarias de Agricultura e Meio Ambiente, com o objetivo de difundir a estruturacultura no país e regulamentar esta atividade. Atualmente, as atenções da ACAB estão voltadas para a edição de uma Normativa específica para o abate de avestruzes junto ao MAPA e a inserção do avestruz no Programa Nacional de Controle de Resíduos (PNCR), o que permitirá que o Brasil entre no seleto grupo de exportadores de carne de avestruz para a União Europeia (UE), uma vez que o programa é uma obrigatoriedade para a exportação de produtos e gêneros alimentícios imposta pela UE (SUZAN; GARNEIRO, 2007).

3.3 A REPRODUÇÃO NO AVESTRUZ

Os avestruzes ainda mantêm acentuada vinculação às condições ambientais silvestres da sua origem, portanto o ambiente tem grande influência na determinação de aspectos ligados ao desempenho produtivo, sobretudo na reprodução, criação de filhotes e animais jovens. Além da necessidade de condições nutricionais e de sanidade serem adequadas para a reprodução, fatores como fotoperíodo, clima

(índices de pluviosidade e temperatura) e estresse são importantes para um adequado manejo reprodutivo dessas aves (CARRER et al., 2004).

Os avestruzes se reproduzem durante uma estação específica do ano, que dura em torno de seis a oito meses, sendo o tempo do período reprodutivo variável, conforme a latitude e outras condições de meio ambiente (CARRER; KORNFIELD, 1999). Devido às diversas características climáticas encontradas no país, o período reprodutivo dos avestruzes no Brasil varia de uma região a outra, dependendo das chuvas. Em áreas úmidas como a Região Centro-sul do país, a reprodução é concentrada na estação seca, entre junho e outubro. Já em zonas de semi-árido ou de sertão, como no Nordeste brasileiro, a reprodução ocorre no final do ano (setembro a março), normalmente relacionada à época mais seca do ano (CARRER et al., 2004).

Segundo Carrer et al. (2004) as idades de maturação sexual dos animais criados racionalmente são, em média, de 30-36 meses para os machos e 20-24 meses para as fêmeas. Tem-se conhecimento de fêmeas que iniciaram a postura aos 16-18 meses bem como outras que somente iniciaram-na aos 40 meses de idade.

Ainda segundo Carrer et al. (2004) são vários os sinais que indicam o início da estimulação reprodutiva nos animais jovens. Entre os machos pode-se destacar sinais como a dança do acasalamento (*kantling*), o canto, o andar pendular e a cauda erguida como indicativos de comportamento sexual e reprodutivo. Nas fêmeas se observa um único comportamento reprodutivo, conhecido como *display*: as fêmeas soltam as asas paralelas ao corpo, movimentando-as com pequenas chacoalhadas, levantando e abaixando a cabeça e abrindo e fechando o bico (CARRER et al., 2004). Em comunicação pessoal desse mesmo autor (Prof. Dr. Celso da Costa Carrer, ZAB – FZEA/USP), ele ainda relata que o desenvolvimento do *display* nas fêmeas jovens ocorre em um período médio de 60 dias, sendo facilmente visualizadas etapas da evolução deste comportamento reprodutivo. Inicialmente a fêmea começa a abaixar as asas paralelamente ao corpo, depois começa a levantar e abaixar a cabeça batendo o bico e, finalmente, ela assume a posição de aceitação da cópula (agachada).

Bubier et al. (1998) relatam que os avestruzes adultos criados em fazendas comerciais apresentam comportamento reprodutivo (corte) frente a humanos, e que esta apresentação do comportamento reprodutivo é mais intensa quando os animais

são observados a uma curta distância, ou seja, com os observadores próximos dos animais avaliados.

À medida que os animais vão apresentando as características de maturação sexual, eles podem ser separados em casais, trios (1M/2F) ou em grupos para a reprodução, sendo que cada um desses métodos apresenta vantagens e desvantagens ao criador (CARRER; KORNFIELD, 1999; CARBÓ, 2003).

O macho e a fêmea costumam acasalar-se duas ou três vezes por dia, sendo que a fêmea põe um ovo a cada 48 horas, até completar 15 a 20 ovos, cujo peso médio ideal, varia de 1100 a 1700 g (PINHEIRO et al., 2004). Após uma pequena pausa, o ciclo de postura recomeça. Em média, num ano são colocados de 40 a 60 ovos (normalmente 2 a 3 ciclos de postura por ano) e, dependendo das condições podem ser postos até 100 ovos.

De um modo geral, são as fêmeas que tomam a iniciativa para o acasalamento, aproximando-se do macho e exibindo-se para seduzi-lo, abrindo as asas, ato este denominado de *display*. Se o macho está receptivo, a sua cloaca incha e apresenta-se fortemente colorida, o que faz com que ele passe então a se exhibir, alçando a cauda, abrindo as asas e levantando-as em direção ao céu para depois as baixar, ou então, agitando-as ao mesmo tempo ou alternadamente. Em seguida a fêmea começa de forma sincronizada, a debicar o pasto. O macho coloca-se em frente da fêmea, deixa-se cair sobre os tarsos, abre as asas, agitando-as para frente e para trás, sendo que, neste momento, apóia a cabeça no lombo, movendo-a lenta e ritmicamente de um lado para o outro. Todo este ritual se prolonga por alguns minutos, até que subitamente, o macho se ergue e se dirige para a fêmea com as asas abertas. A fêmea permanece com as asas na horizontal, agitando-as, e mantendo a cabeça baixa. Quando a fêmea se agacha, o macho coloca a sua pata esquerda ao lado desta, e a sua pata direita sobre o dorso da fêmea. O macho emite um ruído, enquanto que a fêmea estala o bico e agita a cabeça. A cópula dura de um a dois minutos (PINHEIRO et al., 2004).

3.4 FISILOGIA REPRODUTIVA DE AVES EM GERAL E NO AVESTRUZ

Segundo Deeming (1999), enquanto vários estudos do sistema reprodutivo das aves domésticas vêm sendo realizados e publicados na literatura, muito poucas informações são disponíveis sobre o sistema reprodutivo dos avestruzes. Questões básicas permanecem sem resposta e fazem com que certas áreas de pesquisa permaneçam sem evolução por carecerem dessas informações, particularmente no que diz respeito às características reprodutivas das fêmeas. O mesmo autor ainda relata que, a minoria das pesquisas relacionadas à reprodução dos avestruzes foi direcionada ao trato reprodutivo feminino e numerosos livros e artigos simplesmente reportam que, anatomicamente e fisiologicamente, o trato reprodutivo feminino dos avestruzes é semelhante ao padrão geral aviário.

A fisiologia reprodutiva dos avestruzes, assim como a de outras espécies animais, é um processo complexo, regulado, principalmente, por hormônios produzidos por glândulas endócrinas, os quais interagem entre si através de um sistema de *feedback* (CARRER et al., 2004). Estes hormônios são responsáveis pela regulação do comportamento sexual, pelas características sexuais secundárias e pela gametogênese (CARRER et al., 2004)

O hormônio responsável pelo controle da reprodução é o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), secretado pelo hipotálamo (DEEMING, 1999). Em mamíferos há apenas um tipo de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) enquanto que nas aves são encontrados dois tipos desse hormônio: GnRH-I e GnRH-II, que são semelhantes ao hormônio mamífero variando apenas em algumas substituições de aminoácidos na sua estrutura (DEEMING, 1999). Ambos hormônios aviários já foram encontrados em avestruzes (DEEMING, 1999). Acredita-se que o GnRH-I tenha uma participação maior no controle endócrino da reprodução das aves (ETCHES, 1996; DEEMING, 1999).

As gonadotrofinas aviárias (FSH e LH) possuem similaridades físicas e químicas com as gonadotrofinas mamíferas, mas nem todas as funções atribuídas a esses hormônios mamíferos podem ser atribuídas também aos seus homólogos aviários (ETCHES, 1996). Como exemplo disto, pode-se observar que a principal função “estimulatória” não é atualmente atribuída ao hormônio folículo estimulante (FSH) e nenhum dos tecidos ovarianos nas aves sofre luteinização (ETCHES,

1996). Por não haver uma nomenclatura mais racional para as gonadotrofinas aviárias os termos FSH e LH continuam a ser utilizados pela semelhança estrutural encontrada com as gonadotrofinas mamíferas (ETCHES, 1996).

O LH e o FSH juntos estimulam o crescimento e a maturação das gônadas, os testículos nos machos e o ovário esquerdo nas fêmeas (DEEMING, 1999). De forma geral, acredita-se, também, que os dois hormônios (FSH e LH) regulam o crescimento folicular e mantêm a hierarquia dos folículos maduros (ETCHES, 1996).

A função do FSH nas aves ainda não está claramente elucidada (ETCHES, 1996), mas DEEMING (1999) afirma que o FSH, especificamente, estimula o amadurecimento dos folículos no ovário das fêmeas e nos machos é responsável pelo desenvolvimento das células de Sertoli nos testículos.

O hormônio luteinizante (LH) é tido como o mais ativo estimulador da esteroidogênese nas aves (ETCHES, 1996), sendo que, nos machos, o LH estimula a produção de andrógenos pelas células de Leydig dos testículos e nas fêmeas estimula a produção de progesterona, andrógenos e estrógenos pelas células da teca e da granulosa nos ovários (ETCHES, 1996; DEEMING, 1999). O LH também é reconhecido como o responsável pela ovulação nas aves domésticas (ETCHES, 1996). Nas fêmeas jovens de galinhas domésticas, o pico de concentração de LH é observado de 3 a 5 semanas antes da postura do primeiro ovo, enquanto que nos machos a concentração máxima de LH é encontrada somente após o alcance da maturidade sexual (ETCHES, 1996). Degen et al. (1994) num estudo buscando-se avaliar os níveis séricos do hormônio luteinizante (LH) e dos hormônios esteróides (testosterona e estradiol) em machos e fêmeas adultos de avestruz descreveram que, nos avestruzes, os níveis séricos de LH são aproximadamente 3x maiores nos machos do que nas fêmeas, sendo que a variação sazonal nos dois sexos segue o mesmo padrão, apesar da diferença de concentração encontrada. Os mesmos autores demonstraram, também, que os níveis de LH elevam-se antes do início da postura dos primeiros ovos, tanto nos machos quanto nas fêmeas.

Os hormônios esteróides produzidos pelas gônadas - dos quais os mais importantes são o estradiol nas fêmeas e a testosterona nos machos - possuem uma variedade de efeitos que incluem a diferenciação sexual, o desenvolvimento das características sexuais secundárias, funções no comportamento, metabolismo, produção de gametas, muda de penas e inibição da secreção de LH por *feedback* (DEEMING, 1999). Além dessas funções, o estradiol estimula o fígado a produzir

vitelogenina, que alcança a corrente sangüínea e posteriormente irá se depositar nos folículos ovarianos formando a gema (DEEMING, 1999).

Nas fêmeas jovens de galinhas domésticas, a concentração plasmática dos estrógenos alcança o pico máximo por volta de 3 a 5 semanas antes da postura do primeiro ovo e posteriormente ao pico de LH (ETCHES, 1996). A concentração de progesterona dessas aves permanece em níveis basais até uma semana antes do início da postura, quando a sua produção é rapidamente acelerada para os níveis que são característicos das galinhas poedeiras (ETCHES, 1996).

Segundo Degen et al. (1994), nas fêmeas adultas de avestruzes, os níveis plasmáticos de estradiol apresentam elevação a partir do início do período de postura e tem o pico de sua concentração juntamente com a época de maior produção de ovos, permanecendo a concentração elevada durante toda a fase de postura. Nos machos, os níveis plasmáticos de testosterona mostram um aumento antes do pico de produção de ovos, consecutivo ao aumento dos níveis plasmáticos de LH (DEGEN et al., 1994).

Bronnenberg et al. (2007a) buscaram descrever e analisar as mudanças no número de folículos ovarianos grandes (6,1-9,0cm) e nos níveis plasmáticos do hormônio luteinizante (LH) e do estradiol (E2) em relação aos índices de produção de ovos em fêmeas adultas de avestruzes, dentro e fora da estação reprodutiva. Para tal, os autores realizaram exames ultra-sonográficos do ovário e colheitas de sangue mensais em 9 fêmeas adultas de avestruz com idade entre 11 e 14 anos. Através deste estudo, puderam observar que: (1) a presença de folículos ovarianos grandes e níveis plasmáticos elevados de LH eram observados 1 mês antes da primeira oviposição e do estabelecimento da estação reprodutiva; (2) A concentração plasmática de estradiol eleva-se com o início da temporada de produção de ovos; (3) o número de folículos ovarianos grandes e as concentrações plasmáticas de LH e E2 permaneciam elevados durante toda a temporada de produção de ovos; e (4) o número de folículos ovarianos grandes e as concentrações plasmáticas de LH e estradiol decrescem simultaneamente à última postura de ovo da época reprodutiva. Estatisticamente, comparando-se os valores desses parâmetros antes, durante e depois da estação reprodutiva, os autores verificaram que houve diferença significativa no número de folículos ovarianos grandes e nos níveis plasmáticos de estradiol entre os 3 períodos, enquanto que os níveis plasmáticos de LH apresentaram diferença significativa somente entre a

estação reprodutiva e pós o término da mesma. Através dos dados deste estudo, Bronnenberg et al. (2007a) concluíram que as mudanças no número de folículos ovarianos grandes e nos níveis plasmáticos de LH e estradiol ocorrem em sincronia com a produção de ovos e que este fato fornece evidências de que as mudanças morfológicas e endocrinológicas observadas durante a reprodução dos avestruzes são similares às mudanças que ocorrem em outras espécies sazonais de aves.

Em um segundo artigo, Bronnenberg et al. (2007b) estudaram o ciclo de postura de um ovo em fêmeas adultas de avestruz, investigando a relação temporal entre a ovulação, a formação do ovo, a oviposição e as alterações nos níveis plasmáticos de progesterona, estradiol e LH. Para tal, foram estudadas 10 fêmeas adultas de avestruz em época reprodutiva e que sabidamente estavam em postura. Nestas fêmeas, foram realizados exames ultra-sonográficos transcutâneos a cada 3 horas e foram colhidas amostras de sangue para dosagem hormonal a cada 1 hora durante um período de pelo menos 48 horas, que é o tempo normal do intervalo entre posturas. Nas fêmeas (n=8) que ovularam durante o período de estudo, o folículo ovulado foi detectado pela primeira vez 2 horas após uma oviposição, e a ovulação ocorreu sempre brevemente após uma oviposição. Também puderam observar, através do exame ultra-sonográfico, que o ovo em desenvolvimento permanecia por 9 horas na porção proximal (infundíbulo, magno ou istmo) e por 39 horas na porção distal (glândula da casca) do oviduto. Com relação aos níveis hormonais encontrados, os autores relatam que a concentração plasmática de progesterona (P4) nas fêmeas que ovularam, apresentam níveis consistentes e bem caracterizados: de níveis basais, por volta de 0,1ng/ml em média, os níveis de P4 começam a elevar-se 12 horas antes da oviposição, alcançam uma média de 3,5ng/ml a 3 horas antes da oviposição e retornam a níveis basais 3 horas e 30 minutos após a postura do ovo. Com relação às mudanças nos níveis do LH e do estradiol em fêmeas que ovularam, os autores relatam que seus níveis também descrevem um padrão de ascensão e queda em relação ao tempo de ocorrência da oviposição e da ovulação. Entretanto, relatam que há uma maior variação no nível basal destes hormônios entre os indivíduos e os picos são menos visíveis do que os apresentados pela progesterona. Nas fêmeas que não ovularam (n=2) durante o estudo, não foram observadas elevações e picos nos níveis de progesterona, LH ou estradiol. Os autores concluíram que durante o ciclo de postura de um ovo em avestruzes, os eventos reprodutivos (como a ovulação, o desenvolvimento do ovo no

oviduto e a oviposição) e as mudanças nas concentrações hormonais (LH, P4 e E2), ocorrem e se desenvolvem em períodos bem demarcados de tempo durante o ciclo de postura de um ovo no avestruz.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Como foram desenvolvidos 2 experimentos independentes, para uma melhor compreensão, a descrição do material e dos métodos será apresentada separadamente nas subseções a seguir.

4.1 EXPERIMENTO 1 – COSMÓPOLIS/SP

A seguir estão descritos os procedimentos relativos ao primeiro experimento, realizado em Cosmópolis/SP.

4.1.1 Animais

Foram estudadas 2 fêmeas jovens de avestruz (*Struthio camelus*) mantidas na Fazenda Modelo de avestruzes da empresa BIOTECTRUS[®] Piveta Assunção localizada na cidade de Cosmópolis, estado de São Paulo.

Os animais estudados apresentavam idade entre 17 e 19 meses no início do estudo, e foram mantidos em um grupo com mais 4 fêmeas jovens de avestruz em piquete retangular de 600m² (Figura 1). A identificação entre as 2 fêmeas estudadas e as demais era realizada através da observação de características físicas e pela presença de *leg band* (identificador de borracha preso na perna de cada ave com um número específico), sendo que as fêmeas do estudo foram identificadas pelo *leg band* número 1923 e 1925, respectivamente. Os animais eram alimentados com ração comercial específica para avestruzes em reprodução (R.T.B. Indústria e Comércio de Rações Ltda) 2 vezes ao dia e pasto de coast-cross *ad libitum*. Era também fornecida água *ad libitum*. Quando o pasto se apresentava muito baixo, era também oferecido capim-elefante picado como suplemento.



Fonte: (SILVA, 2006)

Figura 1 - Vista do piquete do grupo de fêmeas jovens de avestruz (ao fundo) na Fazenda Modelo da empresa *BIOTECTRUZ® Piveta Assunção* - Cosmópolis/SP - 2006

4.1.2 Colheitas de sangue e obtenção do soro sangüíneo

As colheitas de sangue eram realizadas no período da manhã, 3 vezes por semana (segundas, quartas e sextas-feiras) entre 9:00 e 11:00 horas da manhã, variando de acordo com a rotina de manejo da propriedade. Para a colheita, os animais eram contidos com auxílio de um cambão próprio para avestruzes e capuz (Figura 2A). Após a perfeita contenção do animal, era colhida amostra de sangue por punção da veia jugular direita (Figura 2B) e o sangue obtido era então acondicionado em tubos Vacutainer® para sorologia (BD Vacutainer® Blood Collection Tubes, Franklin Lakes, New Jersey, E.U.A.) e identificados. Terminada a colheita de sangue, as amostras eram mantidas em repouso (4 a 6 horas) para a efetiva retração do coágulo e após esse período, as amostras eram centrifugadas por 3 a 6 minutos a 3600RPM para a obtenção do soro sangüíneo. O soro, então, era separado em tubos eppendorf de 1,5ml em duplicata (Figura 2C) e avaliado quanto a seu grau de hemólise e gelificação. As amostras eram identificadas com o número do animal, data da colheita e número de lote e, a seguir eram congeladas em freezer horizontal a -20°C até o transporte das amostras para o Departamento

de Reprodução Animal da FMVZ/USP, onde foram mantidas congeladas em freezer vertical a -20°C até a realização das dosagens hormonais.



Fonte: (SILVA, 2006)

Figura 2 - (A) Contenção física de avestruz com auxílio de cambão; (B) Colheita de Sangue por punção da veia jugular direita; (C) Separação do soro sanguíneo e acondicionamento em tubos eppendorf - Cosmópolis/SP - 2006

4.1.3 Observação de comportamento reprodutivo

A observação de comportamento reprodutivo dos animais estudados era realizada antes das colheitas de sangue. Para realizar a observação, o observador se posicionava a uma distância de 3 a 5 metros da cerca do piquete onde estavam os animais estudados e, por um período de 30 minutos, avaliava o comportamento reprodutivo das aves (Figura 3). A avaliação do comportamento consistia na contagem/quantificação de 3 critérios comportamentais estabelecidos de acordo com o descrito na literatura sobre o aparecimento, a evolução e o desenvolvimento do comportamento reprodutivo (*display*) em fêmeas de avestruz (CARRER et al., 2004).



Fonte: (SILVA, 2006)

Figura 3 - Realização da observação do comportamento reprodutivo das fêmeas estudadas. Seta: posição do observador. Notar a distância entre o observador e os animais avaliados - Cosmópolis/SP - 2006

Os critérios estabelecidos foram: **ASA**, que se baseia na característica de “*abaixar e bater das asas*”; **BICO**, baseado na observação do comportamento de “*abaixar e balançar pendular da cabeça batendo o bico*”; e **ACC**, baseado na característica de “*sentar e aceitar a cópula*”. Para o critério **ASA** e **BICO** a contagem foi realizada, respectivamente, de acordo com o número de observações dos movimentos de “*abaixar e bater de asas*” e o “*abaixar e balançar pendular da cabeça*”

batendo o bico” (Figura 4). Para o critério **ACC** a contagem foi realizada quando se observou que o animal estudado se agachava indicando a postura de aceitação de cópula (Figura 5). Caso houvesse algum motivo aparente para exibição do comportamento, era também anotado para futura avaliação.



Fonte: (SILVA, 2006)

Figura 4 - Observação de comportamento reprodutivo de uma das fêmeas estudadas, demonstrando a posição de abaixar e bater de asas (ASA) e o abaixar e o balançar pendular da cabeça com bater de bico (BICO) - Cosmópolis/SP - 2006



Fonte: (SILVA, 2006)

Figura 5 - Observação de comportamento reprodutivo de uma das fêmeas estudadas, demonstrando a postura de aceitação de cópula (ACC) - Cosmópolis/SP - 2006

Para facilitar a comparação das médias dos níveis hormonais (estradiol e progesterona) encontrados e a análise da correlação destes com o comportamento reprodutivo, foram atribuídas notas para o comportamento reprodutivo de cada animal seguindo a fórmula [(ASA + BICO)], o que permitiu que as amostras de cada animal fossem categorizadas como:

- Sem Comportamento (SCOMP)
 - [(ASA + BICO)] = 0
 - Ausência de aceitação de cópula
- Com Comportamento (CCOMP)
 - [(ASA + BICO)] \neq 0
 - Ausência ou presença de aceitação de cópula

4.1.4 Exame ultra-sonográfico do ovário

Foram realizados, em alguns dias de colheita de sangue, exames ultra-sonográficos nos animais estudados buscando-se verificar o *status* ovariano através da visualização de folículos ovarianos em desenvolvimento. O exame era realizado no próprio piquete dos animais utilizando-se um aparelho de ultra-sonografia portátil acoplado a um transdutor de 3,5Mhz. No momento em que os animais eram contidos para a colheita de sangue, era realizado o exame através do posicionamento do transdutor diretamente na região ventro-lateral esquerda aptérica da ave (virilha) buscando-se visualizar a presença de folículos ovarianos desenvolvidos. Os exames foram realizados de acordo com a disponibilidade do aparelho de ultra-sonografia e a imagem ultra-sonográfica obtida do ovário em cada exame foi impressa e posteriormente digitalizada.

4.1.5 Dosagens hormonais

Os hormônios esteróides estradiol e progesterona foram mensurados pela técnica de Radioimunoensaio (RIE) no Laboratório de Dosagens Hormonais do Departamento de Reprodução Animal da FMVZ/USP, utilizando-se conjuntos comerciais para dosagem em soro de seres humanos. Para a progesterona, foi utilizado o conjunto Progesterona DSL3900[®] (DIAGNOSTIC SYSTEM LABORATORIES, Webster, Texas, E.U.A.) e para o estradiol o conjunto Estradiol DSL4400[®] (DIAGNOSTIC SYSTEM LABORATORIES, Webster, Texas, E.U.A.). As amostras foram dosadas em duplicata e os resultados expressos em *ng/ml* (nanogramas por mililitro) para a progesterona e em *pg/ml* (picogramas por mililitro) para o estradiol.

As validações necessárias para a mensuração dos hormônios estradiol e progesterona em soro sangüíneo de avestruz utilizando-se estes conjuntos comerciais foram realizadas através do método do paralelismo. Este método consiste numa análise de regressão, onde se compara uma curva obtida através de diluições seriadas de um *pool* de amostras, no caso, soro sangüíneo de avestruz com baixa concentração de hormônios adicionado de hormônio exógeno, com a curva padrão do conjunto comercial.

4.1.6 Análise estatística

Os dados foram testados quanto à normalidade de distribuição e a homogeneidade de variâncias através dos testes de Kolmogorov-Smirnov e do teste de Bartlett. Caso os dados não obedecessem estas premissas eram transformados (logaritmo na base 10 – $\text{Log}_{10}X$; Raiz Quadrada – \sqrt{X} ; Quadrado de $X - X^2$; Inverso de $X - 1/X$) e se a normalidade e homogeneidade de variâncias não fossem obtidas empregava-se análises não-paramétricas.

Para a comparação das médias dos níveis séricos de estradiol encontrados na fêmea 1923 entre os períodos em que não houve qualquer apresentação de comportamento reprodutivo (SCOMP) e quando houve a apresentação de

comportamento reprodutivo (CCOMP) foi utilizado o teste t não-pareado ($p < 0,05$) nos dados transformados ($\text{Log}_{10}X$) já que os dados originais não obedeciam a uma distribuição normal.

Para a comparação das médias dos níveis séricos de progesterona encontrados na fêmea 1923 entre os períodos em que não houve qualquer apresentação de comportamento reprodutivo (SCOMP) e quando houve a apresentação de comportamento reprodutivo (CCOMP) foi utilizado o teste t não-pareado ($p < 0,05$) nos dados transformados ($\text{Log}_{10}X$) já que os dados originais não obedeciam a uma distribuição normal e não possuíam uma homogeneidade de variâncias.

Para a comparação das médias dos níveis séricos de estradiol encontrados na fêmea 1925 entre os períodos em que não houve qualquer apresentação de comportamento reprodutivo (SCOMP) e quando houve a apresentação de comportamento reprodutivo (CCOMP) foi utilizado o teste t não-pareado ($p < 0,05$) nos dados transformados ($1/X$) já que os dados originais não obedeciam a uma distribuição normal.

Para a comparação das médias dos níveis séricos de progesterona encontrados na fêmea 1925 entre os períodos em que não houve qualquer apresentação de comportamento reprodutivo (SCOMP) e quando houve a apresentação de comportamento reprodutivo (CCOMP) foi utilizado o teste t não-pareado ($p < 0,05$) nos dados transformados ($1/X$) já que os dados originais não obedeciam a uma distribuição normal.

Para avaliar a existência e a intensidade da correlação entre os níveis hormonais (estradiol e progesterona) e os dados comportamentais de cada animal estudado, foi realizado o teste de correlação de Spearman ($p < 0,05$), já que os dados não obedeceram às premissas de normalidade e a homogeneidade de variâncias e não puderam ser transformados.

As análises estatísticas foram executadas com o auxílio do programa GraphPad Prism versão 5.00 para Windows[®] (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, E.U.A.).

4.2 EXPERIMENTO 2 – SÃO GABRIEL DO OESTE/MS

A seguir estão descritos os procedimentos relativos ao segundo experimento, realizado em São Gabriel do Oeste/MS.

4.2.1 Animais

Foram estudadas 20 fêmeas jovens de avestruz mantidas na fazenda de criação comercial de avestruzes da empresa BIOTECTRUS® Piveta Assunção localizada na cidade de São Gabriel do Oeste, estado do Mato Grosso do Sul.

As fêmeas estudadas, com idade aproximada de 24 meses, foram selecionadas do plantel existente na fazenda através de uma avaliação do seu comportamento reprodutivo. Esta avaliação consistiu na observação do comportamento reprodutivo de 30 fêmeas durante 4 dias consecutivos no período da manhã e à tarde, sendo selecionadas 16 fêmeas que apresentaram diferentes intensidades de comportamento reprodutivo (o que possivelmente indicava que elas estavam em diferentes fases do processo de maturação sexual) e 4 fêmeas que não apresentaram nenhum tipo de comportamento reprodutivo.

Os animais eram mantidos em casais (1M/1F) em piquetes triangulares com aproximadamente 400m² e com uma pequena área coberta utilizada para a realização da alimentação com ração e para o manejo dos animais. As aves eram alimentadas 2 vezes ao dia com ração para reprodução de avestruzes produzida na própria fazenda e tinham acesso a pasto de braquiária e água *ad libitum*. A identificação das fêmeas estudadas era feita através do número do piquete em que estavam.

4.2.2 Colheitas de sangue e obtenção do soro sanguíneo

As colheitas de sangue foram realizadas no período da manhã, uma vez por semana em horário pré-determinado de acordo com a rotina de manejo da propriedade (7:30-8:30). As colheitas de amostras foram divididas em dois dias da

semana (terça e quarta-feira) sendo que sempre eram colhidas amostras dos mesmos animais em cada dia da semana. Para a colheita, os animais eram encaminhados até a área coberta do piquete e contidos fisicamente com capuz (Figura 6). Após a perfeita contenção do animal, era colhida amostra de sangue por punção da veia jugular direita e o sangue obtido era então acondicionado em tubos Vacutainer® para sorologia (BD Vacutainer® Blood Collection Tubes, Franklin Lakes, New Jersey, E.U.A.) e identificados. Terminada a colheita de sangue, as amostras eram mantidas em repouso (4 a 6 horas) para a efetiva retração do coágulo e, após esse período, as amostras eram centrifugadas por 3 a 6 minutos a 3600RPM para a obtenção do soro sanguíneo. O soro era separado em tubos eppendorf de 1,5ml em duplicata, avaliado quanto a seu grau de hemólise & gelificação e identificados. As amostras de soro foram mantidas congeladas, na fazenda, em freezer a -15°C até o término do período de colheitas, quando estas foram transportadas ainda congeladas (gelo seco) para São Paulo através de carga aérea expressa. Em São Paulo, as amostras foram armazenadas em freezer a -20°C no Departamento de Reprodução Animal da FMVZ/USP até a realização das dosagens hormonais.



Fonte: (SILVA, 2006)

Figura 6 - Contenção física de uma fêmea de avestruz para colheita de amostra de sangue da veia jugular direita - São Gabriel do Oeste/MS - 2006

4.2.3 Observação de comportamento reprodutivo

A observação do comportamento foi realizada nos dias de colheita (terças e quartas-feiras), no período da manhã e se iniciava entre 30 a 90 minutos após o término das colheitas de sangue. O observador se aproximava do animal estudado - pelo lado de fora do piquete – e, por um período de 2 a 5 minutos avaliava o grau do desenvolvimento do comportamento reprodutivo de *display* apresentado pelo animal observado (Figura 7). A avaliação consistiu na atribuição de notas (0 a 3), para o critério chamado de **ASA**, que se baseia na característica de “*abaixar e bater das asas*” e para o critério **BICO**, baseado na observação do comportamento de “*abaixar e balançar pendular da cabeça batendo o bico*”. As notas eram definidas de acordo com a porcentagem do tempo (da observação) em que o animal apresentava as características de cada critério: (0) *nenhum comportamento*; (1) *<50% do tempo observado*; (2) *≥ 50% e <75% do tempo*; (3) *≥ 75% do tempo*. A visualização do comportamento de “*aceitação de cópula*” (**ACC**) foi avaliada como presente ou ausente. O estabelecimento destes critérios baseou-se nas informações encontradas a respeito do aparecimento, evolução e desenvolvimento do comportamento reprodutivo (*display*) em fêmeas de avestruz e que estão descritos em literatura (CARRER et al., 2004).



Fonte: (SILVA, 2006)

Figura 7 - Realização da observação e avaliação do comportamento reprodutivo de uma das fêmeas estudadas em São Gabriel do Oeste/MS - 2006

Para facilitar a comparação das médias dos níveis hormonais (estradiol e progesterona) encontrados e a análise da correlação destes com o comportamento reprodutivo, foram atribuídas notas para cada amostra de cada animal através da fórmula $[(ASA + BICO)/2]$, estabelecida a partir da metodologia de observação do comportamento. Isto permitiu que as amostras fossem categorizadas em 4 grupos, a saber:

- Sem Comportamento (SCOMP)
 - $[(ASA + BICO)/2] = 0$
 - Ausência de aceitação de cópula
- Com Comportamento Baixo (COMPBX)
 - $[(ASA + BICO)/2] < 1,5$
 - Ausência de aceitação de cópula
- Com Comportamento Alto sem Aceitação de Cópula (COMPALTSACC)
 - $[(ASA + BICO)/2] \geq 1,5$
 - Ausência de aceitação de cópula
- Com Comportamento Alto com Aceitação de Cópula (COMPALTCACC)
 - $[(ASA + BICO)/2] \geq 1,5$
 - Presença de aceitação de cópula

4.2.4 Dosagens hormonais

Os hormônios esteróides estradiol e progesterona foram mensurados pela técnica de Radioimunoensaio (RIE) no Laboratório de Dosagens Hormonais do Departamento de Reprodução Animal da FMVZ/USP, utilizando-se conjuntos comerciais para dosagem em soro de seres humanos. Para a progesterona, foi utilizado o conjunto Progesterona Coat a Count[®] DPC (DIAGNOSTIC PRODUCTS CORPORATION, Los Angeles, Califórnia, E.U.A.) e para o estradiol o conjunto Estradiol DSL4400[®] (DIAGNOSTIC SYSTEM LABORATORIES, Webster, Texas, E.U.A.). As amostras foram dosadas em duplicata e os resultados expressos em *ng/ml* (nanogramas por mililitro) para a progesterona e em *pg/ml* (picogramas por mililitro) para o estradiol.

As validações necessárias para a mensuração dos hormônios estradiol e progesterona em soro sangüíneo de avestruz utilizando-se estes conjuntos comerciais foram realizadas através do método do paralelismo. Este método consiste numa análise de regressão, onde se compara uma curva obtida através de diluições seriadas de um *pool* de amostras, no caso, soro sangüíneo de avestruz com baixa concentração de hormônios adicionado de hormônio exógeno, com a curva padrão do conjunto comercial.

4.2.5 Análise estatística

Os dados foram testados quanto à normalidade de distribuição e a homogeneidade de variâncias através dos testes de Kolmogorov-Smirnov e do teste de Bartlett. Caso os dados não obedecessem estas premissas eram transformados (logaritmo na base 10 – $\text{Log}_{10}X$; Raiz Quadrada – \sqrt{X} ; Quadrado de $X - X^2$; Inverso de $X - 1/X$) e se a normalidade e homogeneidade de variâncias não fossem obtidas empregava-se análises não-paramétricas.

Para a comparação das médias dos níveis séricos de estradiol encontrados entre as amostras dos animais que não apresentaram nenhum tipo de comportamento reprodutivo (SCOMP) e as que apresentaram qualquer tipo de comportamento reprodutivo (CCOMP) foi utilizado o teste t não-pareado modificado por Welch ($p < 0,05$) já que os dados obedeciam a uma distribuição normal, mas não possuíam uma homogeneidade de variâncias e não puderam ser transformados.

Para a comparação das médias dos níveis séricos de progesterona entre as amostras dos animais sem nenhum tipo de comportamento reprodutivo (SCOMP) e as com qualquer tipo de comportamento reprodutivo (CCOMP) foi utilizado teste t não-pareado ($p < 0,05$) nos dados transformados ($\text{Log}_{10}X$), já que os dados originais não obedeciam a uma distribuição normal e não possuíam uma homogeneidade de variâncias.

Para a comparação das médias dos níveis séricos de estradiol entre as 4 categorias comportamentais estabelecidas (SCOMP; COMPBX; COMPALTSACC; COMPALTCACC) foi utilizado *One-way* ANOVA seguida do pós-teste de Tukey

($p < 0,05$) nos dados transformados (\sqrt{X}) já que os dados originais deste hormônio não obedeceram às premissas de homogeneidade de variâncias.

Para a comparação das médias (medianas) dos níveis séricos de progesterona entre as 4 categorias foi utilizado ANOVA não-paramétrica (teste de Kruskal-Wallis) seguida do pós-teste de Dunn ($p < 0,05$) já que os dados originais não puderam ser transformados.

Para avaliar a existência e a intensidade de correlação entre os níveis hormonais (estradiol e progesterona) e as diferentes categorias estabelecidas foi utilizado o teste de correlação de Spearman ($p < 0,05$), já que os dados não obedeceram às premissas de normalidade e a homogeneidade de variâncias e não puderam ser transformados.

As análises estatísticas foram executadas com o auxílio do programa GraphPad Prism versão 5.00 para Windows[®] (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, E.U.A.).

5 RESULTADOS

Os resultados dos dois experimentos estão descritos separadamente nas subseções a seguir.

5.1 EXPERIMENTO 1 – COSMÓPOLIS/SP

Durante o estudo em Cosmópolis foram colhidas, no total, 65 amostras de cada fêmea. As colheitas iniciaram-se em 24 de março de 2006 e terminaram em 04 de setembro de 2006. Os dados colhidos a campo foram tabulados em *Excel*[®]. A fim de exemplificar a forma de tabulação dos dados a campo nesta fase do estudo, estão dispostas no Apêndice duas tabelas referentes às colheitas e observações de comportamento de uma das fêmeas estudadas (Apêndice A e B).

5.1.1 Resultados comportamentais

As figuras 8 e 9 ilustram, graficamente, a evolução do comportamento reprodutivo nas fêmeas 1923 e 1925 de acordo com os critérios estabelecidos para a avaliação do comportamento reprodutivo nesta fase do estudo.

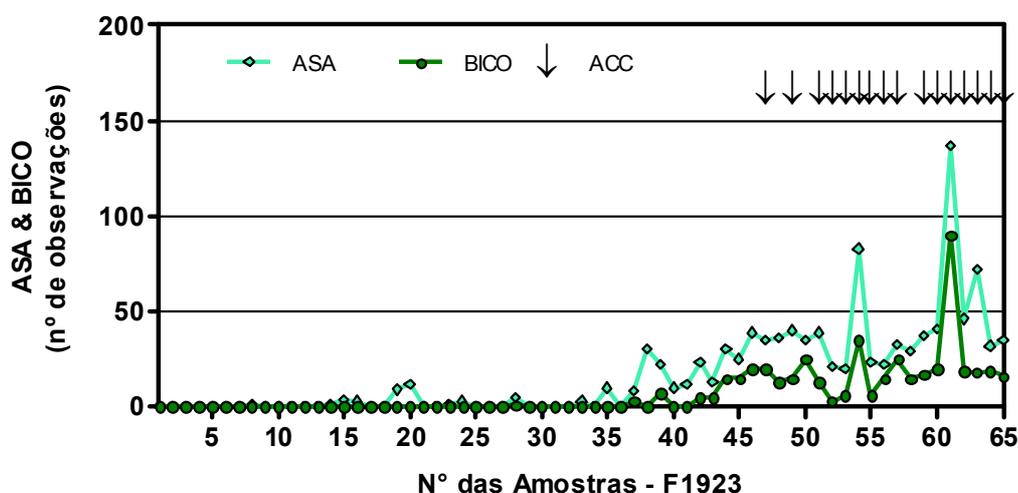


Figura 8 - Observação do desenvolvimento do comportamento reprodutivo da fêmea 1923 baseados nos critérios estabelecidos no material e métodos para esta fase do estudo. ASA: "abaixar e bater das asas"; BICO: "abaixar e balançar pendular da cabeça batendo o bico"; ACC: presença de postura de aceitação de cópula - São Paulo/SP - 2008

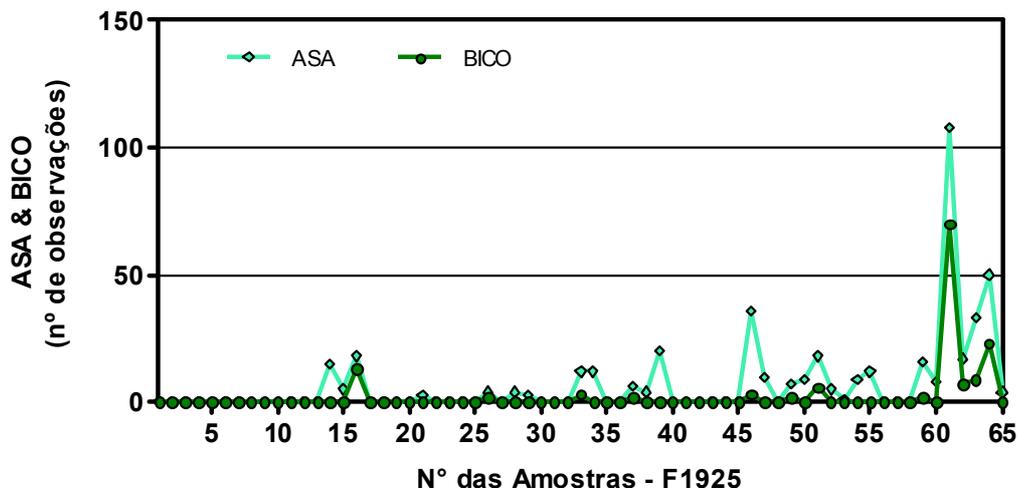


Figura 9 - Observação do desenvolvimento do comportamento reprodutivo da fêmea 1925 baseado nos critérios estabelecidos no material e métodos para esta fase do estudo. ASA: “*abaixar e bater das asas*”; BICO: “*abaixar e balançar pendular da cabeça batendo o bico*”. Não foi observada nenhuma postura de aceitação de cópula - São Paulo/SP - 2008

5.1.2 Resultados hormonais

Os resultados das dosagens de estradiol e progesterona do primeiro experimento serão descritos nas subseções a seguir.

5.1.2.1 Estradiol

Foi realizada a validação do conjunto comercial Estradiol DSL4400[®] para a quantificação do estradiol em soro sanguíneo de avestruzes, onde se verificou o paralelismo da curva de diluição da amostra com a curva padrão do conjunto, com $R^2 = 0,995$ e $p < 0,05$ (Figura 10).

No total, foram realizados 4 ensaios para dosagem dos níveis séricos de estradiol utilizando-se o conjunto Estradiol DSL4400[®]. Os controles de qualidade dos ensaios estão descritos no quadro 1.

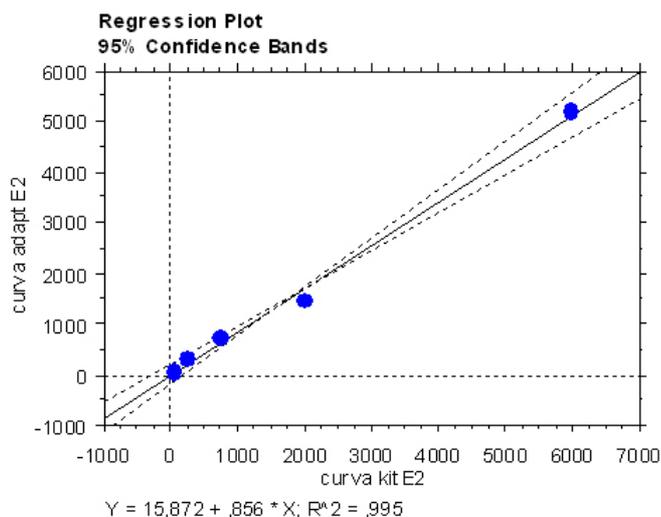


Figura 10 - Demonstração gráfica da validação do conjunto Estradiol DSL4400[®] para quantificação do estradiol em soro sanguíneo de fêmeas de avestruzes (*Struthio camelus*) - São Paulo/SP - 2008

Quadro 1 – Descrição dos controles de qualidade dos ensaios de estradiol realizados com o conjunto Estradiol DSL4400[®] - São Paulo/SP - 2008

Ensaio	Controle				CPM ponto 0	CPM total	Cap Lig. B/B0	L.N.E CPM	L.N.E (%)	Sensibilidade % (dose)	CV Intra Baixo	CV Intra Alto
	C1	C2	C3	C4								
1	213,3	907,4	217,04	933,18	14819,5	27980	53%	328,00	1,17%	92(6,33pg/mL)	1,23%	1,98%
2	158,66	778,15	175,98	777,59	11743,5	23746,5	49%	410,00	1,73%	95(1,70pg/mL)	7,32%	0,05%
3	328,11	1295,4	315,79	1469,5	11509,5	23472	49%	387,00	1,65%	94(2,27pg/mL)	2,71%	8,91%
4	246,36	1156,3	243,19	1014,9	10962,5	22369,5	49%	402,00	1,80%	94(1,70pg/mL)	0,92%	9,21%
CV Inter ensaio	236,61	1034,3	238	1048,8							0,41%	0,98%

Todas as amostras colhidas das duas fêmeas estudadas (total: n=130) foram dosadas para o estradiol. A tabela 1 e a figura 11 apresentam a média e o desvio-padrão (\pm DPM) dos níveis séricos de estradiol na fêmea 1923 quando as amostras foram separadas de acordo com a categorização do comportamento reprodutivo descrito nos métodos (SCOMP e CCOMP). De acordo com o teste t não-pareado realizado nos dados transformados, não foi verificada diferença estatística significativa entre as médias de estradiol desta fêmea ($p = 0,51$).

Tabela 1 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de estradiol na fêmea 1923, de acordo com a categorização das amostras segundo o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008

F 1923	Estradiol (pg/ml)
SCOMP	102,10 ± 23,84 ^a
CCOMP	107,50 ± 31,92 ^a

Legenda: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$).

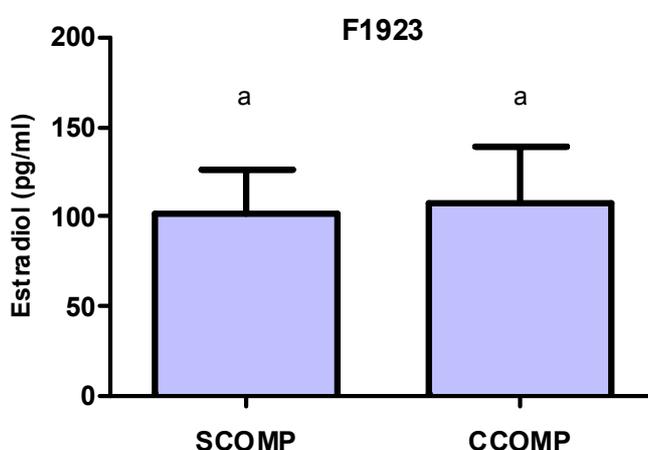


Figura 11 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (\pm DPM) dos valores de estradiol encontrados na fêmea 1923 de acordo com a categorização estabelecida. SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008

A figura 12 ilustra, em gráfico, a relação entre as variáveis comportamento reprodutivo [(ASA + BICO)] e níveis séricos de estradiol na fêmea 1923. De acordo com o teste de correlação de Spearman ($p < 0,05$), não foi verificada correlação significativa entre os valores de estradiol e o comportamento reprodutivo observado na fêmea 1923 ($r = 0,17$ e $p = 0,17$).

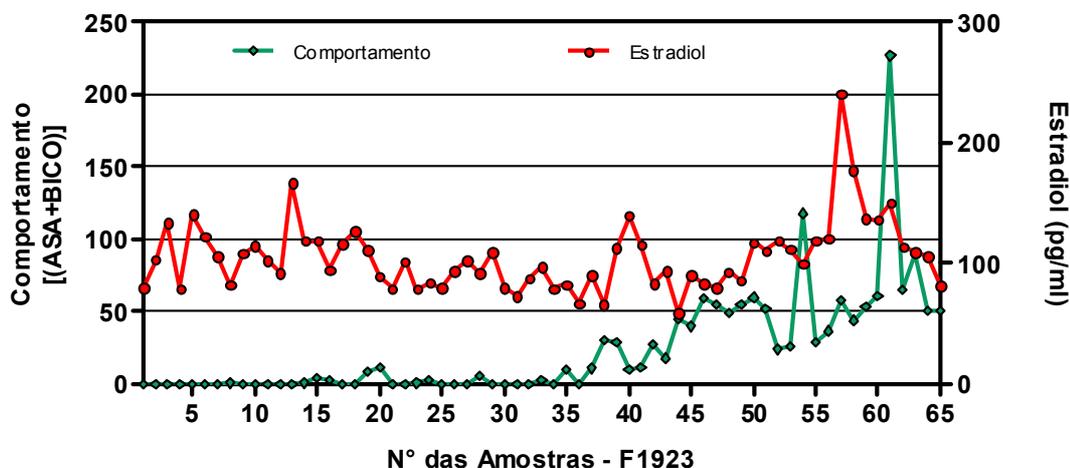


Figura 12 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de estradiol encontrados na fêmea 1923 - São Paulo/SP - 2008

A tabela 2 e a figura 13 apresentam a média e o desvio-padrão (\pm DPM) dos níveis séricos de estradiol na fêmea 1925 quando as amostras foram separadas de acordo com a categorização do comportamento reprodutivo descrito nos métodos (SCOMP e CCOMP). De acordo com o teste t não-pareado realizado nos dados transformados, não foi verificada diferença estatística significativa entre as médias de estradiol desta fêmea ($p = 0,85$).

Tabela 2 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de estradiol na fêmea 1925, de acordo com a categorização das amostras segundo o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008

F 1925	Estradiol (pg/ml)
SCOMP	115,50 \pm 36,98 ^a
CCOMP	115,10 \pm 36,62 ^a

Legenda: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$).

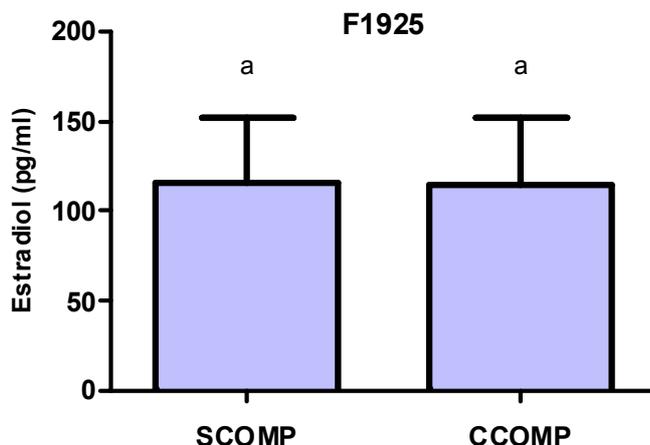


Figura 13 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (\pm DPM) dos valores de estradiol encontrados na fêmea 1925 de acordo com a categorização estabelecida. SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008

A figura 14 ilustra, em gráfico, a relação entre as variáveis comportamento reprodutivo [(ASA + BICO)] e níveis séricos de estradiol na fêmea 1925. De acordo com o teste de correlação de Spearman ($p < 0,05$), não foi verificada correlação significativa entre os valores de estradiol e o comportamento reprodutivo observado na fêmea 1925 ($r = 0,01$ e $p = 0,93$).

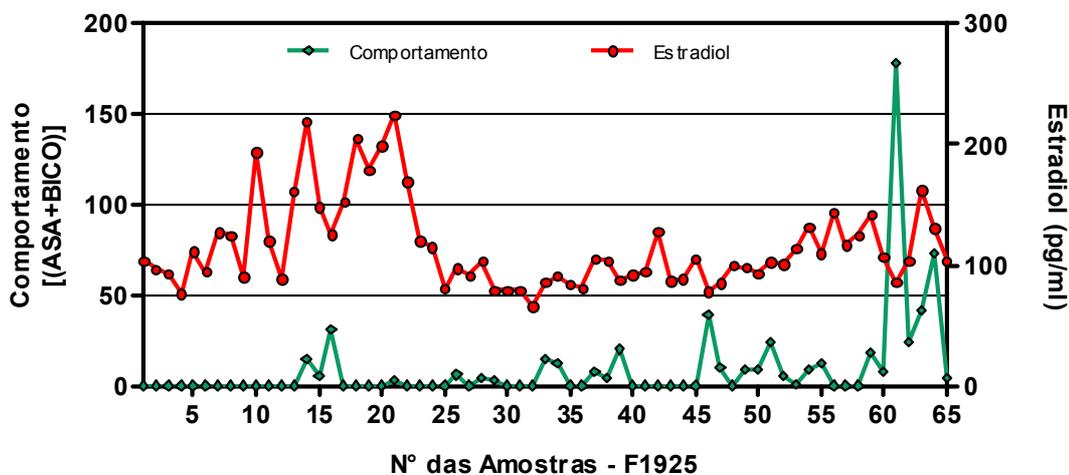


Figura 14 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de estradiol encontrados na fêmea 1925 - São Paulo/SP - 2008

5.1.2.2 Progesterona

Foi realizada a validação do conjunto comercial Progesterona DSL3900[®] para a quantificação de progesterona em soro sanguíneo de avestruzes. Verificou-se o paralelismo da curva de diluição da amostra com a curva padrão do conjunto, com $R^2 = 0,996$ e $p < 0,05$ (Figura 15).

Para as dosagens de progesterona realizadas nesta fase do estudo, foram realizados 2 ensaios para dosagem dos níveis séricos de progesterona utilizando-se o conjunto Progesterona DSL3900[®]. Os controles de qualidade verificados estão descritos no quadro 2.

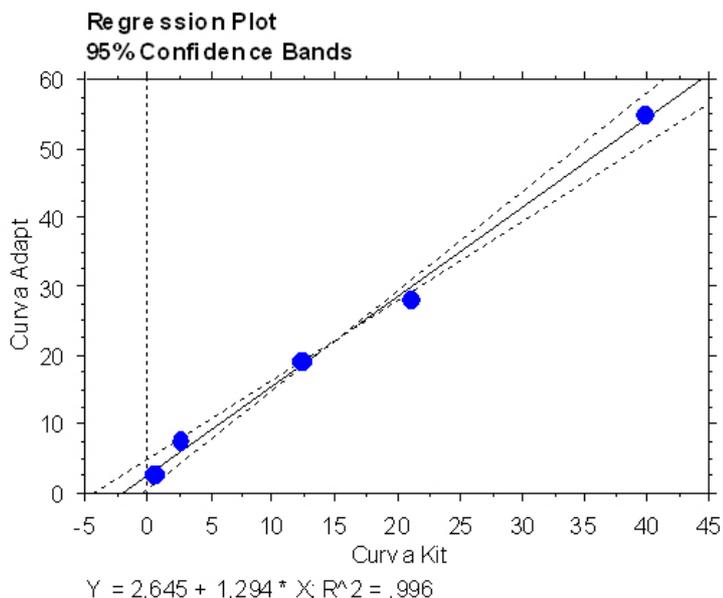


Figura 15 - Demonstração gráfica da validação do conjunto Progesterona DSL3900[®] para quantificação de progesterona em soro sanguíneo de fêmeas de avestruzes (*Struthio camelus*) - São Paulo/SP - 2008

Quadro 2 – Descrição dos controles de qualidade dos ensaios de progesterona realizados com o conjunto Progesterona DSL 3900[®] - São Paulo/SP - 2008

Ensaio	Controle				CPM	CPM	Cap Lig.	L.N.E	L.N.E	Sensibilidade	CV Intra	CV Intra
	C1	C2	C3	C4	ponto 0	total	B/B0	CPM	(%)	% (dose)	Baixo	Alto
1	1,1337	9,1274	0,9855	9,8182	12974,5	21590,5	60%	233,50	1,08%	86(0,01)	9,89%	5,16%
2	1,1337	6,7345	1,0285	7,5106	13296,5	22107,5	60%	228,50	1,03%	87(0,01)	6,88%	7,70%
CV Inter ensaio	1,1337	7,931	1,007	8,6644							8,37%	6,25%

A tabela 3 e a figura 16 apresentam a média e o desvio-padrão (\pm DPM) dos níveis séricos de progesterona na fêmea 1923 quando as amostras foram separadas de acordo com a categorização do comportamento reprodutivo descrito nos métodos (SCOMP e CCOMP). De acordo com o teste t não-pareado realizado nos dados transformados, foi verificada diferença estatística extremamente significativa com $p < 0,0001$ entre as médias de progesterona desta fêmea.

Tabela 3 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de progesterona na fêmea 1923, de acordo com a categorização das amostras segundo o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008

F 1923	Progesterona (ng/ml)
SCOMP	1,69 \pm 0,87 ^a
CCOMP	1,00 \pm 0,42 ^b

Legenda: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$).

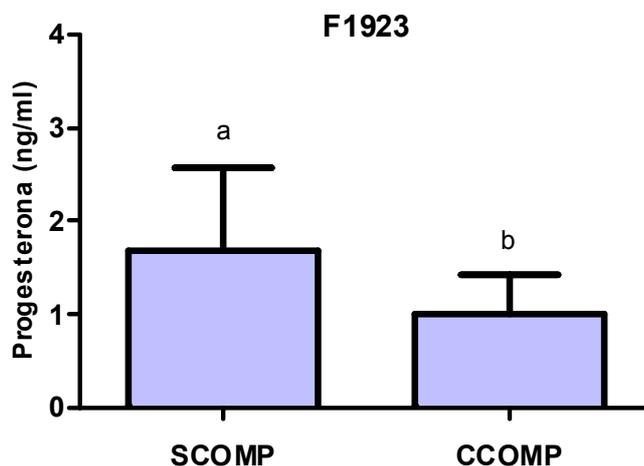


Figura 16 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (\pm DPM) dos valores de progesterona encontrados na fêmea 1923 de acordo com a categorização estabelecida. SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008

A figura 17 ilustra, em gráfico, a relação entre as variáveis comportamento reprodutivo [(ASA + BICO)] e níveis séricos de progesterona na fêmea 1923. De acordo com o teste de correlação de Spearman, foi verificada uma correlação significativa de média intensidade entre os valores de progesterona e o comportamento reprodutivo observado na fêmea 1923, com $r = -0,54$ e $p < 0,0001$.

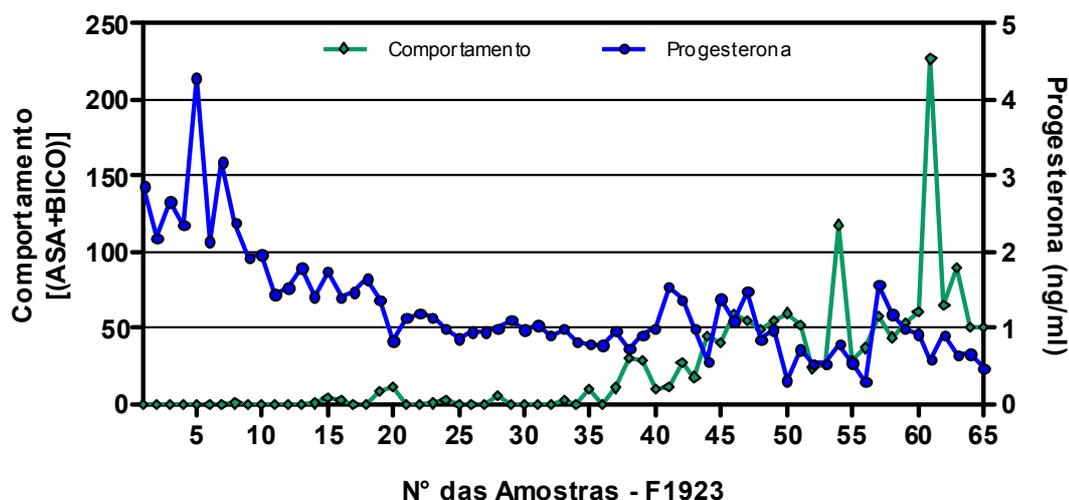


Figura 17 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de progesterona encontrados na fêmea 1923 - São Paulo/SP - 2008

A figura 18 ilustra, em gráfico, a relação entre os níveis séricos de estradiol e progesterona e o comportamento reprodutivo [(ASA + BICO)] na fêmea 1923. De acordo com o teste de correlação de Spearman, não foi verificada uma correlação significativa entre os valores de estradiol e progesterona observados na fêmea 1923, com $r = 0,14$ e $p = 0,26$.

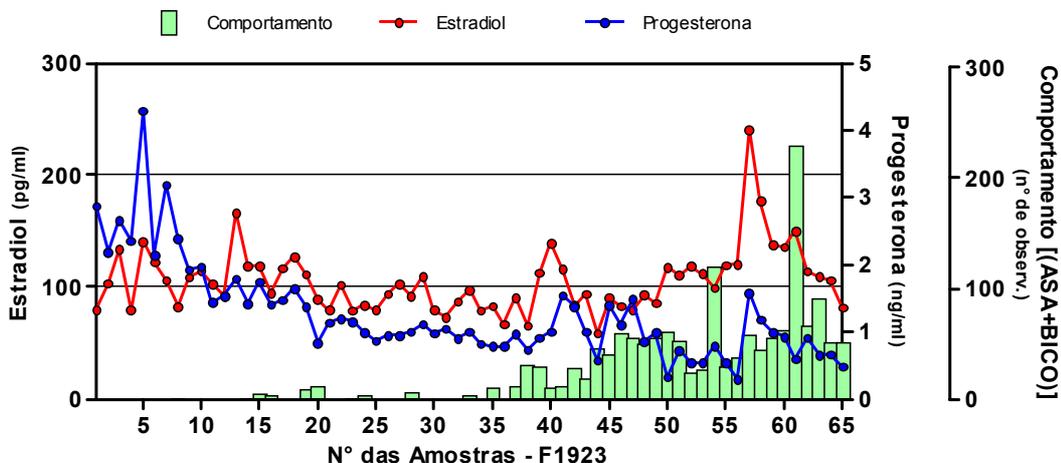


Figura 18 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de estradiol e progesterona encontrados na fêmea 1923 - São Paulo/SP - 2008

A tabela 4 e a figura 19 apresentam a média (\pm DPM) dos níveis séricos de progesterona na fêmea 1925 quando as amostras foram separadas de acordo com a categorização do comportamento reprodutivo descrito nos métodos (SCOMP e CCOMP). De acordo com o teste t não-pareado realizado nos dados transformados, foi verificada diferença estatística significativa com $p = 0,01$ entre as médias de progesterona desta fêmea.

Tabela 4 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de progesterona na fêmea 1925, de acordo com a categorização das amostras segundo o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008

F 1925	Progesterona (ng/ml)
SCOMP	$2,41 \pm 1,06^a$
CCOMP	$1,98 \pm 1,12^b$

Legenda: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$).

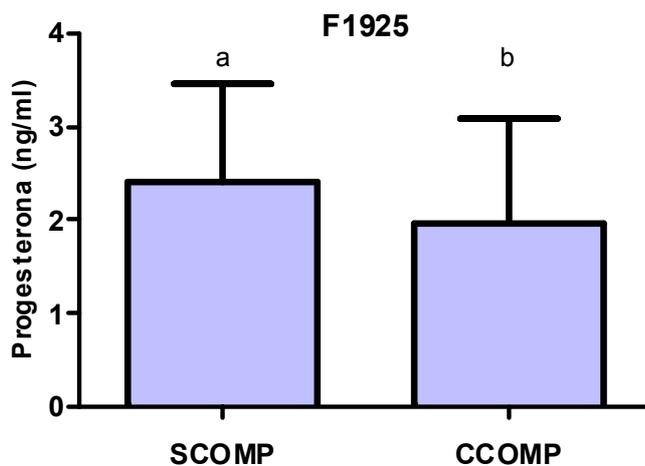


Figura 19 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (\pm DPM) dos valores de progesterona encontrados na fêmea 1925 de acordo com a categorização estabelecida. SCOMP: sem comportamento reprodutivo; CCOMP: com comportamento reprodutivo. Letras sobscritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008

A figura 20 ilustra, em gráfico, a relação entre o comportamento reprodutivo [(ASA + BICO)] e os níveis séricos de progesterona na fêmea 1925. De acordo com o teste de correlação de Spearman ($p < 0,05$), foi verificada uma correlação significativa de baixa intensidade entre os valores de progesterona e o comportamento reprodutivo observado na fêmea 1925, com $r = -0,327$ e $p < 0,008$.

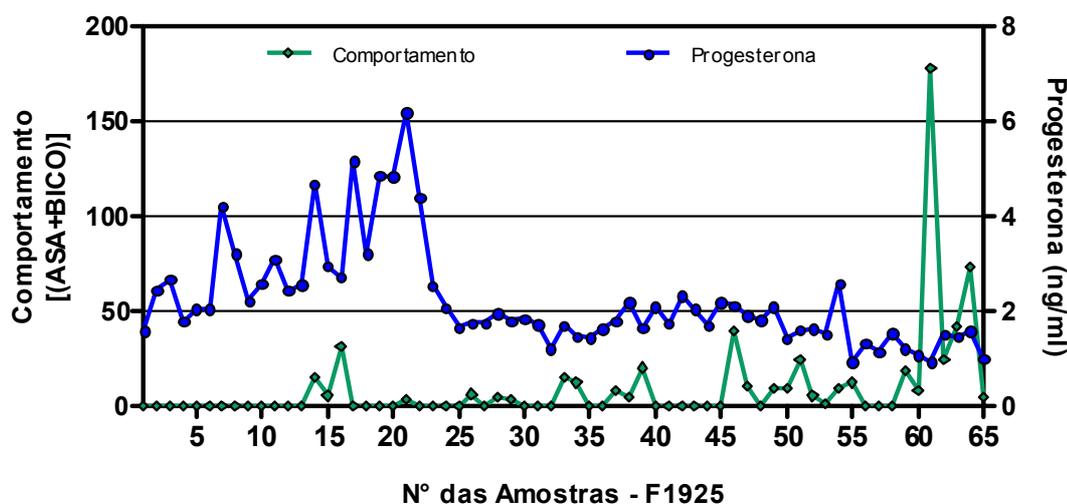


Figura 20 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de progesterona encontrados na fêmea 1925 - São Paulo/SP - 2008

A figura 21 ilustra, em gráfico, a relação entre os níveis séricos de estradiol e progesterona e o comportamento reprodutivo [(ASA + BICO)] na fêmea 1925. De acordo com o teste de correlação de Spearman, foi verificada uma correlação significativa de média intensidade entre os valores de estradiol e progesterona observados na fêmea 1925, com $r = 0,42$ e $p < 0,001$.

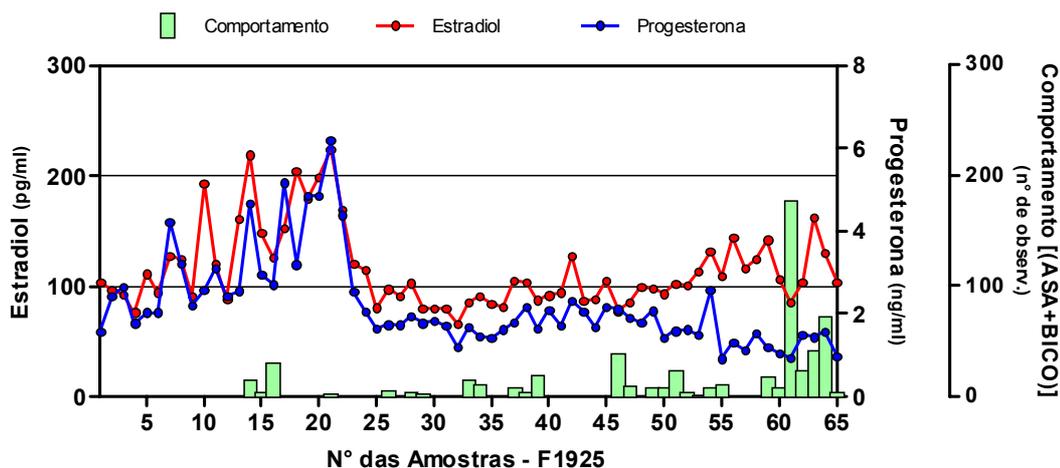


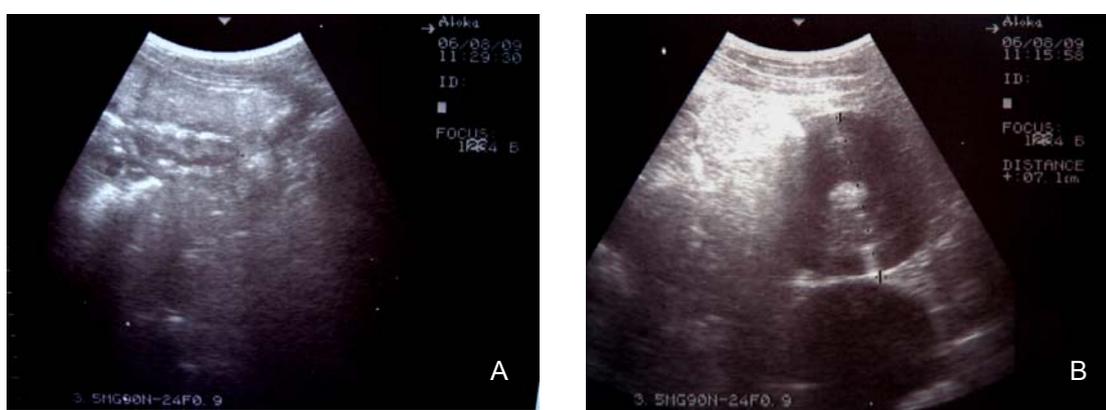
Figura 21 - Demonstração gráfica da relação entre o comportamento reprodutivo e os níveis séricos de estradiol e progesterona encontrados na fêmea 1925 - São Paulo/SP - 2008

5.1.3 Avaliação ultra-sonográfica do ovário

Foram realizados 5 exames ultra-sonográficos do ovário durante esta fase do estudo. Através desses exames foram visualizados, na imagem ultra-sonográfica, folículos ovarianos desenvolvidos nas 2 fêmeas estudadas. Devido a uma falta de periodicidade na disponibilidade do aparelho de ultra-som, infelizmente, não foi possível acompanhar detalhadamente o desenvolvimento destas estruturas, sendo observada somente a presença e a ausência de folículos ovarianos desenvolvidos (Figura 22). As datas de realizações dos exames ultra-sonográficos e os resultados dos mesmos estão descritos na tabela 5.

Tabela 5 – Data da realização e resultado dos exames ultra-sonográficos do ovário das fêmeas estudadas - São Paulo/SP - 2008

Data	Lote da amostra	Resultados
24/03/2006	1	Folículos ausentes
28/04/2006	16	Folículos ausentes
02/06/2006	31	Folículos ausentes
26/07/2006	54	Folículos desenvolvidos F1923 e F1925
09/08/2006	60	Folículos desenvolvidos F1923 e F1925



Fonte: (SILVA, 2006)

Figura 22 - Imagens ultra-sonográficas demonstrando a ausência de folículos ovarianos desenvolvidos (A) e a presença de 2 folículos ovarianos desenvolvidos com tamanho aproximado de 7,0cm (B) - Cosmópolis/SP - 2006

5.2 EXPERIMENTO 2 – SÃO GABRIEL DO OESTE/MS

Durante o estudo, foram colhidas um total de 10 amostras de cada fêmea estudada (n=20). As colheitas iniciaram-se no dia 19 de setembro de 2006 e se encerraram no dia 22 de Novembro de 2006. Todos os dados colhidos nesta fase do estudo foram tabulados em Excel[®]. A fim de exemplificar a forma de tabulação dos dados a campo nesta fase do estudo, está disposta na seção *Apêndices* uma tabela referente às colheitas e a observação de comportamento reprodutivo de uma das fêmeas estudadas nesta fase (Apêndice C).

5.2.1 Resultados comportamentais

Durante o período de estudo, apenas 2 das 20 fêmeas iniciaram postura. Uma delas pôs somente o seu primeiro ovo, enquanto que a outra continuou produzindo, chegando a um total de 18 ovos postos ao longo do período estudado. As datas de postura de todos os ovos foram anotadas.

Com relação aos dados comportamentais, verificou-se que 14 dos 20 animais estudados apresentaram alguma intensidade de comportamento reprodutivo durante o período estudado. Pôde-se observar, também, que dentre estes 14 animais, alguns demonstraram uma evolução gradativa do comportamento reprodutivo e outros, com o decorrer do estudo, mantiveram seus *status* reprodutivos, evoluíram, ou até mesmo regrediram durante o período estudado. Isso fez com que as amostras colhidas de um mesmo animal pudessem pertencer a categorias diferentes a cada semana do estudo. A tabela 6 ilustra este fato em uma das fêmeas estudadas.

Tabela 6 – Desenvolvimento do comportamento reprodutivo da fêmea P 243 durante o período de estudo e a categorização das amostras de acordo com o comportamento apresentado em cada semana - São Paulo/SP - 2008

DATA	COMPORTAMENTO			CATEGORIA
	ASA	BICO	ACC	
19/09/06	0	0	0	SCOMP
26/09/06	0	0	0	SCOMP
03/10/06	0	0	0	SCOMP
10/10/06	0	0	0	SCOMP
17/10/06	1	0	0	COMPBX
24/10/06	3	3	1	COMPALTCACC
31/10/06	3	3	1	COMPALTCACC
07/11/06	3	2	0	COMPALTSACC
14/11/06	3	2	0	COMPALTSACC
21/11/06	2	1	0	COMPALTSACC

LEGENDA: ASA/BICO: notas de 0 a 3 atribuídas de acordo com o “abaixar e bater das asas” e o “abaixar e balançar pendular da cabeça batendo o bico”. ACC: 0=ausência e 1=presença de aceitação de cópula. SCOMP: Sem comportamento reprodutivo; COMPBX: Comportamento reprodutivo baixo; COMPALTSACC: Comportamento reprodutivo alto sem aceitação de cópula; COMPALTCACC: Comportamento reprodutivo alto com aceitação de cópula.

De acordo com a metodologia descrita nos Materiais e Métodos para a categorização das amostras, a quantidade de amostras obtida pertencente a cada categoria estabelecida foi:

- Sem Comportamento (SCOMP)
 - 96 amostras
- Com Comportamento Baixo (COMPBX)
 - 42 amostras
- Com Comportamento Alto sem Aceitação de Cópula (COMPALTSACC)
 - 33 amostras
- Com Comportamento Alto com Aceitação de Cópula (COMPALTCACC)
 - 29 amostras

5.2.2 Resultados hormonais

Os resultados das dosagens de estradiol e progesterona do primeiro experimento serão descritos nas subseções a seguir.

5.2.2.1 Estradiol

Das 200 amostras colhidas previstas para serem analisadas durante esta fase do estudo, somente em 105 amostras foi dosado o estradiol. As amostras analisadas foram selecionadas com base no comportamento reprodutivo, para que todas as categorias estabelecidas no material e métodos estivessem bem representadas. A quantidade de amostras dosadas em cada categoria está disposta no texto e nas tabelas que apresentam os resultados das análises realizadas.

A validação do conjunto comercial utilizado e os controles de qualidade dos ensaios de estradiol realizados durante o estudo já foram descritos no item *5.1.2.1 Estradiol*.

A tabela 7 apresenta a média e o desvio-padrão (\pm DPM) dos níveis séricos de estradiol para o conjunto das amostras de animais que não apresentaram qualquer

tipo de comportamento reprodutivo (SCOMP; n=24) e para o conjunto das amostras de animais que apresentaram qualquer tipo de comportamento reprodutivo (CCOMP; n=81). De acordo com o teste t não-pareado modificado por Welch, verificou-se uma diferença extremamente significativa entre estas médias, com $p < 0,0001$.

A figura 23 demonstra, em gráfico, a diferença entre os níveis médios de estradiol encontrados no conjunto de amostras sem comportamento reprodutivo (SCOMP) e no conjunto com qualquer tipo de comportamento reprodutivo (CCOMP).

Tabela 7 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de estradiol estabelecidas de acordo com a ausência ou presença de comportamento reprodutivo nos animais estudados - São Paulo/SP - 2008

CATEGORIA	Estradiol (pg/ml)
SCOMP (n=24)	85,44 ± 42,88 ^a
CCOMP (n=81)	161,60 ± 93,68 ^b

Legenda: SCOMP: amostras de animais sem comportamento reprodutivo; CCOMP: amostras de animais com qualquer tipo de comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$).

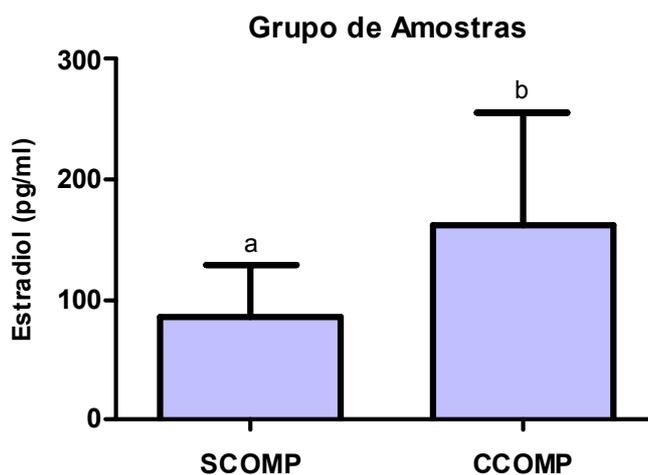


Figura 23 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (\pm DPM) dos valores de estradiol encontrados no conjunto de amostras sem comportamento reprodutivo (SCOMP) e no conjunto que apresentava qualquer tipo de comportamento reprodutivo (CCOMP). Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008

Quando as amostras foram categorizadas nos 4 grupos descritos nos métodos, foi possível avaliar as diferenças nos níveis séricos de estradiol em cada categoria. A tabela 8 ilustra a mediana, os valores mínimos e máximos para a concentração de estradiol em cada categoria.

Tabela 8 – Mediana, valores mínimos e máximos das concentrações séricas de estradiol nas 4 categorias de fêmeas jovens de avestruz estabelecidas conforme o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008

CATEGORIA	Estradiol (pg/ml)		
	mediana	mínimo	Máximo
SCOMP (n=24)	82,01	11,75	208,29
COMPBX (n=26)	86,01	15,05	259,18
COMPALTSACC (n=26)	118,99	52,54	219,60
COMPALTCACC (n=29)	208,41	116,38	521,62

LEGENDA: SCOMP: Sem comportamento reprodutivo; COMPBX: comportamento reprodutivo baixo; COMPALTSACC: comportamento reprodutivo alto sem aceitação de cópula; COMPALTCACC: comportamento reprodutivo alto com aceitação de cópula.

A tabela 9 apresenta as médias (\pm DPM) dos níveis de estradiol nas 4 categorias. Comparando-se estas médias através do teste *One-way ANOVA*, verificou-se diferença estatística extremamente significativa nos dados transformados ($p < 0,0001$). Através do pós-teste de Tukey, verificou-se $p < 0,001$ para a diferença entre as médias SCOMP vs COMPALTCACC, COMPBX vs COMPALTCACC, e COMPALTSACC vs COMPALTCACC. Para SCOMP vs COMPALTSACC verificou-se uma diferença com $p < 0,05$. Nas demais comparações não existiram diferenças significativas ($p > 0,05$).

Tabela 9 – Média e desvio-padrão das concentrações séricas de estradiol nas 4 categorias de fêmeas jovens de avestruz estabelecidas conforme o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008

CATEGORIA	Estradiol (pg/ml)
SCOMP (n=24)	85,44 ± 42,88 ^a
COMPBX (n=26)	109,28 ± 66,41 ^{a, b}
COMPALTSACC (n=26)	128,37 ± 48,92 ^b
COMPALTCACC (n=29)	238,30 ± 96,63 ^c

LEGENDA: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; COMPBX: comportamento reprodutivo baixo; COMPALTSACC: comportamento reprodutivo alto sem aceitação de cópula; COMPALTCACC: comportamento reprodutivo alto com aceitação de cópula. Letras sobrescritas diferentes representam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$).

A figura 24 demonstra, em gráfico, a diferença dos níveis médios de estradiol encontrados nas 4 categorias comportamentais estabelecidas.

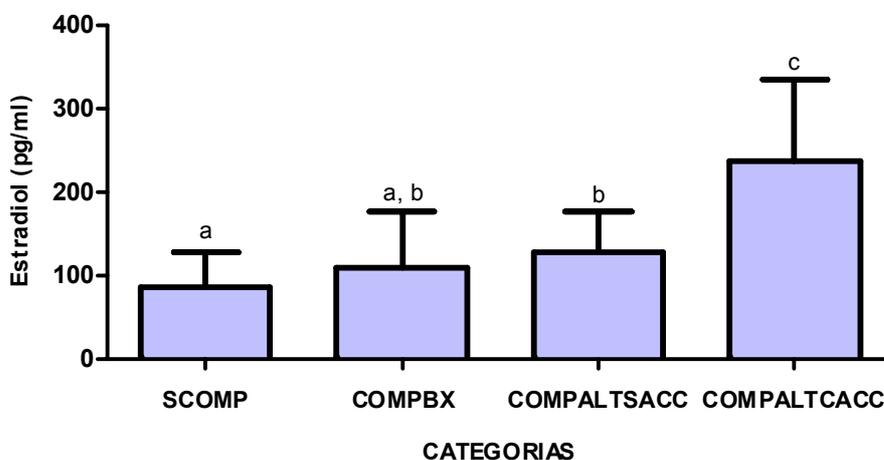


Figura 24 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (\pm DPM) dos valores de estradiol encontrados nas categorias: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; COMPBX: comportamento reprodutivo baixo; COMPALTSACC: comportamento reprodutivo alto sem aceitação de cópula; COMPALTCACC: comportamento reprodutivo alto com aceitação de cópula. Letras sobrescritas diferentes representam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008

Através do teste de correlação de Spearman, verificou-se uma correlação significativa de intensidade média entre os níveis séricos de estradiol e as 4 categorias estabelecidas, com $r = 0,64$ e $p < 0,0001$.

5.2.2.2 Progesterona

Todas as 200 amostras colhidas nesta fase do estudo foram dosadas para progesterona. Para tal, foi realizada a validação do conjunto comercial Progesterona Coat a Count[®] para a quantificação de progesterona em soro sanguíneo de avestruzes, onde se verificou o paralelismo da curva de diluição da amostra com a curva padrão do conjunto, com $R^2 = 0,984$ e $p < 0,05$ (Figura 25).

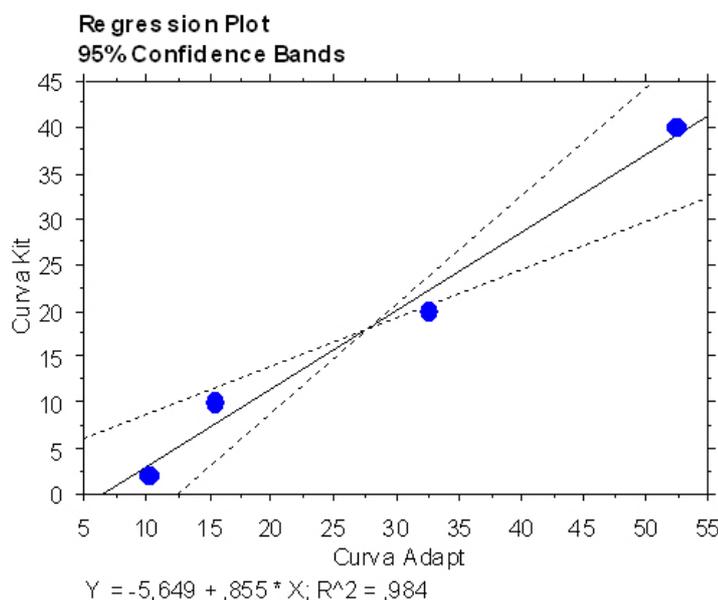


Figura 25 - Demonstração gráfica da validação do conjunto Progesterona Coat a Count[®] para quantificação de progesterona em soro sanguíneo de fêmeas de avestruzes (*Struthio camelus*) - São Paulo/SP - 2008

Para as dosagens de progesterona realizadas nesta fase do estudo, foi realizado 1 ensaio para dosagem dos níveis séricos de progesterona utilizando-se o conjunto Progesterona Coat a Count[®]. Os controles de qualidade verificados estão descritos no quadro 3.

Quadro 3 – Descrição dos controles de qualidade dos ensaios de progesterona realizado com o conjunto Progesterona Coat a Count® - São Paulo/SP - 2008

Ensaio	Controle				CPM	CPM	Cap Lig.	L.N.E	L.N.E	Sensibilidade	CV Intra	CV Intra
	C1	C2	C3	C4	ponto 0	total	B/B0	CPM	(%)	% (dose)	Baixo	Alto
1	0,5816	19,917	0,5175	19,126	22913,5	40205	57%	186,00	0,46%	92(0,005)	8,26%	2,87%
CV Inter ensaio	0,5816	19,917	0,5175	19,126							8,26%	2,87%

A tabela 10 apresenta a média (\pm DPM) dos níveis séricos de progesterona para o conjunto das amostras de animais que não apresentaram qualquer tipo de comportamento reprodutivo (SCOMP; n=96) e para o conjunto das amostras de animais que apresentaram qualquer tipo de comportamento reprodutivo (CCOMP; n=104). Através do teste t não pareado aplicado aos dados transformados, verificou-se diferença estatística extremamente significativa entre as médias dos níveis séricos de progesterona, com $p < 0,0001$.

Tabela 10 – Média e desvio-padrão dos níveis séricos de progesterona estabelecidas de acordo com a ausência ou presença de comportamento reprodutivo nos animais estudados - São Paulo/SP - 2008

CATEGORIA	Progesterona (ng/ml)
SCOMP (n=96)	0,21 \pm 0,18 ^a
CCOMP (n=104)	0,42 \pm 0,42 ^b

Legenda: SCOMP: amostras de animais sem comportamento reprodutivo; CCOMP: amostras de animais com qualquer tipo de comportamento reprodutivo. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$).

A figura 26 demonstra, em gráfico, a diferença entre os níveis médios de progesterona encontrados no conjunto de amostras sem comportamento reprodutivo (SCOMP) e no conjunto com qualquer tipo de comportamento reprodutivo (CCOMP).

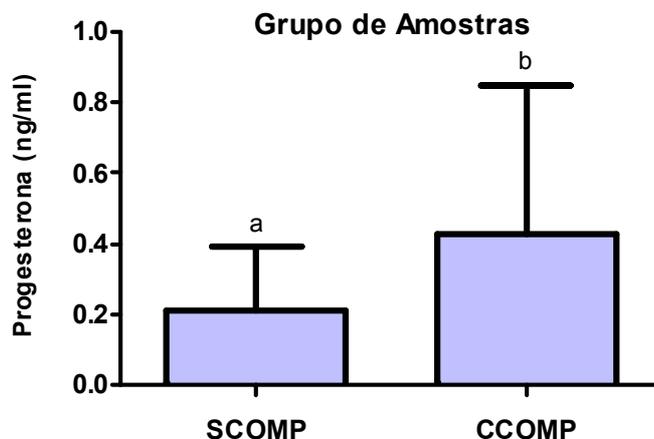


Figura 26 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (\pm DPM) dos valores de progesterona encontrados no conjunto de amostras sem comportamento reprodutivo (SCOMP) e no conjunto que apresentava qualquer tipo de comportamento reprodutivo (CCOMP). Letras sobrescritas diferentes representam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008

Quando as amostras foram categorizadas nos 4 grupos descritos nos métodos, foi possível avaliar as diferenças nos níveis séricos de progesterona em cada categoria. A tabela 11 ilustra a mediana, os valores mínimos e máximos para a concentração de progesterona em cada categoria.

Tabela 11 – Mediana, valores mínimos e máximos das concentrações séricas de progesterona nas 4 categorias de fêmeas jovens de avestruz estabelecidas conforme o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008

CATEGORIA	Progesterona (ng/ml)		
	mediana	mínimo	máximo
SCOMP (n=96)	0,1647	0,0054	1,1640
COMPBX (n=42)	0,1661	0,0303	3,1620
COMPALTSACC (n=33)	0,3183	0,0774	1,2340
COMPALTCACC (n=29)	0,4751	0,1367	0,9132

LEGENDA: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; COMPBX: comportamento reprodutivo baixo; COMPALTSACC: comportamento reprodutivo alto sem aceitação de cópula; COMPALTCACC: comportamento reprodutivo alto com aceitação de cópula.

A tabela 12 ilustra, respectivamente, as médias (\pm DPM) dos níveis de progesterona nas 4 categorias. Através do teste de Kruskal-Wallis, verificou-se diferença estatística extremamente significativa nas médias deste hormônio entre as categorias ($p < 0,0001$). Através do pós-teste de Dunn verificou-se $p < 0,001$ para a diferença entre as médias SCOMP vs COMPALTSACC, SCOMP vs COMPALTCACC e COMPBX vs COMPALTCACC. Na comparação entre COMPBX vs COMPALTSACC houve diferença estatística significativa com $p < 0,05$. Nas demais comparações não existiram diferenças significativas ($p > 0,05$).

Tabela 12 – Média e desvio-padrão das concentrações séricas de progesterona nas 4 categorias de fêmeas jovens de avestruz estabelecidas conforme o comportamento reprodutivo - São Paulo/SP - 2008

CATEGORIA	Progesterona (ng/ml)
SCOMP (n=96)	0,21 \pm 0,18 ^a
COMPBX (n=42)	0,37 \pm 0,57 ^a
COMPALTSACC (n=33)	0,43 \pm 0,33 ^b
COMPALTCACC (n=29)	0,50 \pm 0,21 ^b

LEGENDA: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; COMPBX: comportamento reprodutivo baixo; COMPALTSACC: comportamento reprodutivo alto sem aceitação de cópula; COMPALTCACC: comportamento reprodutivo alto com aceitação de cópula. Letras sobrescritas diferentes representam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$)

A figura 27 demonstra, em gráfico, a diferença dos níveis médios de estradiol encontrados nas 4 categorias comportamentais estabelecidas.

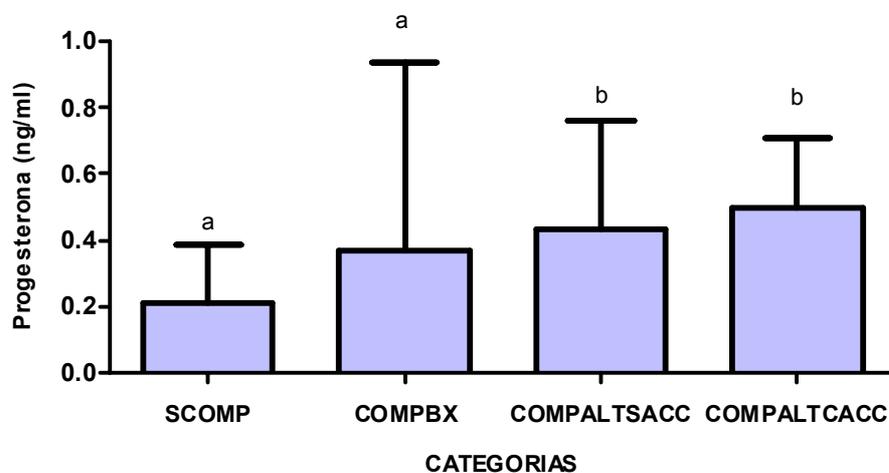


Figura 27 - Demonstração gráfica da diferença entre a média (\pm DPM) dos valores de progesterona encontrados nas categorias: SCOMP: sem comportamento reprodutivo; COMPBX: comportamento reprodutivo baixo; COMPALTSACC: comportamento reprodutivo alto sem aceitação de cópula; COMPALTCACC: comportamento reprodutivo alto com aceitação de cópula. Letras sobrescritas diferentes representam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$) - São Paulo/SP - 2008

Através do teste de correlação de Spearman, verificou-se uma correlação significativa de intensidade média entre os níveis séricos de progesterona e as 4 categorias estabelecidas, com $r = 0,44$ e $p < 0,0001$.

6 DISCUSSÃO

A discussão dos resultados dos dois experimentos foi realizada junta para evitar uma repetição de comparações entre os resultados dos dois experimentos e os dados de literatura.

6.1 COMPORTAMENTO REPRODUTIVO

Através da observação de comportamento e das metodologias empregadas nos dois experimentos, foi possível verificar que as fêmeas jovens de avestruz desenvolvem o comportamento reprodutivo (*display*) de acordo com o descrito na literatura por Carrer et al. (2004). As fêmeas começam a “abaixar e bater as asas” próximas ao corpo e vão intensificando este comportamento até iniciarem o “abaixar e balançar pendular da cabeça e o bater do bico”. Com o aumento da intensidade de expressão destes dois comportamentos, as fêmeas jovens alcançam a última fase do desenvolvimento do comportamento reprodutivo, que é a aceitação de cópula.

No primeiro experimento, estas etapas da evolução do comportamento reprodutivo foram mais bem visualizadas na fêmea 1923, já que foi verificada evolução deste comportamento até a fase de aceitação de cópula (Figura 8). Já na fêmea 1925, apesar de ela não ter demonstrado aceitação de cópula durante as observações de comportamento, esta foi visualizada algumas vezes fora do horário de observação na parte final do estudo, quando já apresentava o comportamento de “bater asas” e o “abaixar da cabeça com o bater do bico” bem desenvolvido (Figura 9).

Analisando os dados comportamentais do segundo experimento, verificou-se que o desenvolvimento do comportamento reprodutivo pode não ocorrer de uma forma gradual e constante. Alguns animais desenvolveram o comportamento reprodutivo de uma maneira rápida e gradativa, outros apenas mantiveram seu *status* reprodutivo durante todo o período estudado e ainda houve casos em que ocorreu uma regressão do comportamento reprodutivo no decorrer da pesquisa.

Durante as duas fases deste estudo, foi possível verificar que os avestruzes

mantidos em criações comerciais apresentam o comportamento reprodutivo perante a presença humana segundo o descrito por Bubier et al. (1998). Este fato, apesar de poder gerar uma interferência nas análises dos resultados obtidos, é interessante no que tange à avaliação do *status* reprodutivo dos avestruzes mantidos em uma fazenda de criação comercial, já que a presença deste comportamento em avestruzes jovens sugere a chegada da maturidade sexual, e em avestruzes adultos, pode indicar o início de época reprodutiva. Portanto, para o estrutiocultor, a visualização e avaliação do comportamento reprodutivo podem indicar precocidade sexual e auxiliar na seleção de indivíduos em programas de melhoramento.

Comparando-se as metodologias de observação e avaliação do comportamento nos dois experimentos, pode-se dizer que a técnica empregada no Experimento 2 – São Gabriel do Oeste/MS, na qual o observador se colocava bem próximo ao animal e avaliava qualitativamente seu comportamento reprodutivo em poucos minutos, possibilita que esta técnica seja incluída facilmente no manejo da criação comercial de avestruzes como uma ferramenta para se avaliar o *status* reprodutivo das fêmeas.

6.2 ESTRADIOL

No primeiro experimento, na comparação das médias dos níveis séricos de estradiol, quando as amostras foram categorizadas de acordo com a presença (CCOMP) ou ausência de comportamento reprodutivo (SCOMP), verificou-se uma igualdade nos níveis médios de estradiol entre as categorias nas duas fêmeas estudadas (Tabelas 1 e 2). Verificou-se, também, que os valores médios de estradiol encontrados na fêmea 1925 eram um pouco mais elevados do que na fêmea 1923, sugerindo uma variação individual nas concentrações deste hormônio. Não foi verificada correlação entre os níveis séricos de estradiol e o comportamento reprodutivo em nenhuma das fêmeas estudadas.

Ao se comparar as representações gráficas dos níveis de estradiol nas duas fêmeas do primeiro experimento (Figuras 12 e 14), verificou-se que a fêmea 1925 apresentou uma elevação pequena nos níveis de estradiol durante a fase inicial do experimento entre as amostras 0 até a 20 (200pg/ml). Após este período, houve uma

queda nos níveis de estradiol que se mantiveram por volta dos 100pg/ml até a fase final do estudo, quando houve uma leve tendência de elevação, compatível com o desenvolvimento do comportamento reprodutivo. Na fêmea 1923, não foi verificado nível elevado de estradiol na fase inicial do experimento. Este se manteve por volta dos 100pg/ml até a fase final do experimento, quando houve uma tendência de elevação nos níveis de estradiol compatíveis com o desenvolvimento do comportamento reprodutivo. Esta diferença encontrada nos níveis de estradiol na fase inicial do experimento pode estar relacionada a um momento diferente da maturação sexual das duas fêmeas, já que os perfis hormonais se mostraram semelhantes após a queda verificada nos níveis séricos de estradiol na fêmea 1925.

No segundo experimento, a comparação das médias de estradiol entre as amostras dos animais sem nenhum comportamento reprodutivo (SCOMP) e as amostras dos demais animais com comportamento (CCOMP), assim como a comparação das médias deste hormônio entre as 4 categorias comportamentais estabelecidas nos material e métodos (SCOMP, COMPBX, COMPALTSACC, COMPALTCACC), demonstraram que existe diferença entre os valores de estradiol encontrados entre as categorias (Tabelas 7 e 9). Isto pode indicar que o estradiol esteja relacionado com o aparecimento e o desenvolvimento do comportamento reprodutivo nas fêmeas de avestruzes em maturação sexual já que também foi verificada correlação positiva de intensidade média entre as categorias estabelecidas e os níveis séricos de estradiol ($r = 0,64$).

As análises do estradiol apresentaram algumas diferenças se comparados os resultados obtidos entre os experimentos. No primeiro experimento não foi verificada diferença entre os valores médios de estradiol entre as amostras SCOMP e CCOMP, o que ocorreu no segundo experimento. Isto pode ter ocorrido devido ao fato de que, durante o período estudado, as fêmeas do primeiro experimento não alcançaram plenamente a sua maturidade sexual - que seria caracterizada pela postura dos seus primeiros ovos - o que fez com que os valores encontrados para o estradiol no período CCOMP não se apresentassem mais elevados, como ocorreu nas amostras CCOMP do segundo experimento.

Comparando-se os valores de estradiol nos dois experimentos com os valores encontrados na literatura para avestruzes, verifica-se que os níveis encontrados neste estudo são relativamente maiores do os apresentados por outros estudos (DEGEN et al., 1994; BRONNENBERG et al., 2007a,b). Degen et al. (1994),

verificaram pico de 70pg/ml no meio da estação reprodutiva em fêmeas adultas de avestruz. Bronnenberg et al. (2007a) avaliando as variações hormonais durante o ano, encontraram na estação reprodutiva uma média nos níveis de estradiol de $6,5 \pm 2,8$ pg/ml. Estes mesmos autores, em outro artigo avaliando o ciclo de postura de um ovo (BRONNENBERG et al., 2007b), encontraram níveis basais de estradiol entre 5 a 20 pg/ml e picos de concentração de 14,77 a 54,74 pg/ml durante o ciclo. Um fator importante que pode estar contribuindo para esta variação encontrada nos níveis de estradiol entre este experimento e os dados da literatura, é a idade dos animais e o seu *status* reprodutivo no momento do estudo. Os valores encontrados neste experimento foram obtidos a partir de animais jovens entrando em puberdade, enquanto que nos estudos descritos em literatura, estavam sendo avaliados animais adultos maduros sexualmente e já produzindo ovos (DEGEN et al., 1994; BRONNENBERG et al., 2007a,b). Essas diferenças também podem estar ocorrendo devido a outros fatores como horários diferentes de colheitas de amostras, diferenças nas características dos ensaios de dosagem hormonal e também por diferença nos aspectos ambientais dos locais de estudo (clima, temperatura e umidade relativa do ar, pluviosidade, fotoperíodo, etc).

Comparando-se os níveis de estradiol encontrados neste estudo com dados encontrados na literatura para aves domésticas, verifica-se que pode haver uma semelhança no perfil e nos níveis de estradiol entre as espécies. Bacon et al. (2002), estudando fêmeas de peru no período de maturação sexual, relatam que não foram encontradas variações nas concentrações de estradiol em fêmeas no período anterior à primeira ovulação (pico do LH) e depois da mesma, sendo mantida uma variação nos níveis de estradiol entre 200 a 400 pg/ml. Yang et al. (1999), avaliando a secreção de estradiol e LH em fêmeas de peru, do nascimento a 60 semanas de vida e expostas a diferentes fotoperíodos, relatam que as concentrações de estradiol são baixas e estáveis (em torno de 100 pg/ml) até 2 a 3 semanas antes da postura dos primeiros ovos quando os valores de estradiol se elevam e se mantêm em torno de 300 a 500 pg/ml. Buchanan et al. (2002), estudando o ciclo ovulatório em perus, observaram níveis basais de estradiol entre 100 a 200 pg/ml e picos entre 300 a 500 pg/ml. Em galinhas, Etches e Cheng (1981) verificaram níveis basais de estradiol entre 200 a 300 pg/ml e pico de 400pg/ml durante o ciclo ovulatório.

6.3 PROGESTERONA

No primeiro experimento, os valores médios de progesterona foram maiores nas amostras categorizadas como SCOMP em relação às amostras CCOMP, com diferença estatística significativa entre essas médias nas duas fêmeas estudadas (Tabelas 3 e 4). Na fêmea 1925 as médias encontradas foram um pouco mais elevadas do que as médias encontradas na fêmea 1923. Este fato pode estar ligado a uma variação individual, já que o perfil da curva de progesterona nas duas fêmeas foi semelhante no decorrer do estudo (Figuras 17 e 20). No início do estudo, quando as fêmeas ainda não apresentavam comportamento reprodutivo, os valores de progesterona encontrados eram elevados. No momento em que se iniciou o desenvolvimento e estabelecimento do comportamento reprodutivo, os valores de progesterona mostraram queda e se mantiveram em níveis mais baixos. Os níveis séricos de progesterona observados nas duas fêmeas estudadas apresentaram correlação negativa com o comportamento reprodutivo (1923/1925: $r = -0,54$; $r = -0,33$).

No segundo experimento, os valores médios de progesterona foram maiores nas amostras CCOMP em relação às amostras SCOMP (Tabela 10) com diferença estatística significativa entre as médias, contrastando com os resultados verificados no experimento 1. Quando foram comparadas as médias de progesterona das 4 categorias comportamentais estabelecidas também foram verificadas diferenças, sendo que as médias SCOMP e COMPBX foram significativamente diferentes das médias COMPALTSACC e COMPALTCACC (Tabela 12) e houve correlação positiva de intensidade baixa ($r = 0,43$) dos níveis de progesterona com as 4 categorias comportamentais.

Analisando os valores de progesterona encontrados nos dois experimentos, pode-se verificar uma diferença grande nos valores de progesterona quando comparadas as médias entre os experimentos numa mesma categoria (SCOMP e CCOMP). Esta diferença provavelmente está relacionada ao uso de conjuntos comerciais diferentes para a dosagem de progesterona. Na comparação entre os resultados dos dois experimentos, verificou-se uma inversão nos níveis médios quando as amostras foram categorizadas em SCOMP e CCOMP. No grupo de Cosmópolis (experimento 1) os valores médios foram significativamente maiores nas amostras SCOMP do que nas CCOMP e, no grupo do Mato Grosso do Sul

(experimento 2), encontramos um resultado oposto. Da mesma forma a correlação negativa encontrada em Cosmópolis entre os níveis de progesterona e intensidade do comportamento, foi um resultado oposto ao encontrado no grupo do Mato grosso, onde a correlação foi positiva. Estas diferenças podem estar relacionadas a vários fatores como: número amostral de animais, diferentes manejos nas duas propriedades, diferentes sensibilidades dos conjuntos comerciais utilizados na dosagem hormonal e possíveis diferenças nas fases de maturação sexual dos indivíduos estudados.

Comparando-se os valores médios de progesterona encontrados neste estudo com os valores encontrados na literatura para avestruzes, verificamos que os níveis encontrados nos 2 experimentos se encontram dentro da variação verificada num estudo sobre o ciclo de postura de um ovo no avestruz, onde a concentração basal observada foi 0,1ng/ml e a média do pico de progesterona verificado pouco antes da oviposição foi de 3,49ng/ml (BRONNENBERG et al., 2007b).

Comparando-se os níveis de progesterona encontrados neste estudo com dados encontrados na literatura para aves domésticas, pode-se verificar que o perfil de progesterona verificado em avestruzes apresenta semelhanças com os perfis descritos nas aves domésticas. Bacon et al. (2002) estudando fêmeas de peru no período próximo da maturação sexual, observaram níveis basais de progesterona variando perto de 1,0 ng/ml e se estabelecendo por volta de 2,0 ng/ml, após os 3 primeiros picos pré-ovulatórios de LH e progesterona verificados durante a maturação sexual. Buchanan et al. (2002) observaram uma média de progesterona em torno de 2,0 ng/ml e picos pré-ovulatórios médios entre 4,0 a 6,0 ng/ml durante o ciclo ovulatório em fêmeas de peru. Neste mesmo estudo, é possível verificar que em fêmeas que não apresentaram ovulação e oviposição, os valores de progesterona mantiveram-se abaixo de 1,0 ng/ml, sendo este, também o nível basal encontrado entre os picos pré-ovulatórios de progesterona. Williams e Sharp (1977), acompanhando os níveis plasmáticos de LH e progesterona em galinhas da oitava semana de vida até a maturação sexual, verificaram que os níveis plasmáticos de progesterona se mantinham abaixo de 0,1 a 0,5 ng/ml até uma semana antes da primeira postura, quando os níveis de progesterona se elevam e se estabilizam por volta de 0,4 a 2,2 ng/ml. Etches e Cheng (1981) estudando o ciclo ovulatório em galinhas encontraram valores basais de progesterona por volta de 1,0ng/ml e picos pré-ovulatórios de até 7,0ng/ml.

6.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os exames ultra-sonográficos realizados durante o Experimento 1 – Cosmópolis/SP, permitiram detectar folículos ovarianos desenvolvidos nas 2 fêmeas estudadas, mas a falta de periodicidade entre os exames, devido à indisponibilidade do aparelho de ultra-sonografia (emprestado pela fazenda fornecedora dos animais para o estudo), não permitiu acompanhar o desenvolvimento e a hierarquização dos folículos ovarianos. Apesar disto, a avaliação ultra-sonográfica do ovário demonstrou ser uma ferramenta de grande utilidade para a avaliação da condição ovariana em avestruzes, possibilitando futuros estudos que caracterizem a relação do desenvolvimento folicular e o perfil hormonal de esteróides sexuais.

Através do acompanhamento do comportamento reprodutivo nas duas fêmeas estudadas no primeiro experimento e da categorização comportamental das amostras do segundo experimento, pôde-se verificar a relação entre os níveis séricos de estradiol e de progesterona e o desenvolvimento do comportamento reprodutivo durante a maturação sexual das fêmeas de avestruzes. As análises dos níveis hormonais encontrados e a presença de correlação entre os hormônios esteróides e o comportamento reprodutivo sugerem fortemente que o desenvolvimento do comportamento reprodutivo esteja associado com as variações dos hormônios esteróides (estradiol e progesterona). À medida que os níveis séricos de estradiol e progesterona se elevam, o comportamento reprodutivo, aparentemente, evolui. Nos poucos trabalhos existentes na literatura, onde havia avaliação hormonal de avestruzes, não foi encontrada nenhuma análise relacionando aspectos comportamentais com níveis hormonais, sendo, portanto, impossível a confrontação ou comparação com os resultados obtidos neste estudo.

A realização, neste estudo, da validação de um conjunto comercial para dosagem de estradiol e de 2 conjuntos para dosagem de progesterona em soro sangüíneo de avestruzes permite que novos trabalhos sejam realizados nesta espécie utilizando estes conjuntos para a mensuração destes hormônios por radioimunoensaio.

Os dados hormonais descritos em aves domésticas e os achados descritos neste estudo demonstram uma possível semelhança entre a fisiologia reprodutiva do avestruz e a de outras espécies de aves.

Estudos com um maior número amostral e com a avaliação de avestruzes em diferentes idades e momentos reprodutivos são necessários para uma melhor compreensão da fisiologia reprodutiva desta espécie.

7 CONCLUSÕES

Através deste estudo pode-se concluir que:

- O comportamento reprodutivo das fêmeas de avestruz no período de maturação sexual pode apresentar um desenvolvimento gradual ou intermitente.
- A análise do comportamento reprodutivo pode contribuir de forma consistente com o manejo reprodutivo desta espécie.
- As diferentes categorias comportamentais estabelecidas podem ser caracterizadas hormonalmente.
- Existem fortes indícios de que há uma relação entre os níveis de estradiol e progesterona e a modulação da intensidade de comportamentos reprodutivos, mas não necessariamente entre estes níveis hormonais e a iniciação destes comportamentos.
- Os perfis séricos de estradiol e progesterona em fêmeas de avestruz na fase de maturação sexual apresentam semelhanças com outras espécies de aves.

REFERÊNCIAS

- BACON W. L.; VIZCARRA, J. A.; MORGAN, J. L. M.; YANG, J.; LIU, H.; LONG, D. W.; KIRBY, J. D. Changes in plasma concentrations of luteinizing hormone, progesterone and estradiol-17 β in peripubertal turkey hens under constant or diurnal lighting. **Biology of Reproduction**, v. 67, p. 591-598, 2002.
- BRONNEBERG, R. G. G.; STEGEMAN, J. A.; VERNOOIJ, J. C. M.; DIELEMAN, S. J.; DECUYPERE, E.; BRUGGEMAN, V.; TAVERNE, M. A. M. Changes in numbers of large ovarian follicles, plasma luteinizing hormone and estradiol-17 β concentrations and egg production figures in farmed ostriches throughout the year. **Theriogenology**, v. 67, p. 1492-1502, 2007a.
- BRONNEBERG, R. G. G.; TAVERNE, M. A. M.; DIELEMAN, S. J.; DECUYPERE, E.; BRUGGEMAN, V.; VERNOOIJ, J. C. M.; STEGEMAN, J. A. The relation between ultrasonographic observations in the oviduct and plasma progesterone, luteinizing hormone and estradiol during the egg laying cycle in ostriches. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 32, p. 15-28, 2007b.
- BUBIER, N. E.; PAXTON, C. G. M.; BOWERS, P.; DEEMING, D. Courtship behaviour of ostriches (*Struthio camelus*) towards humans under farming conditions in Britain. **British Poultry Science**, v. 39, p. 477-481, 1998.
- BUCHANAN, S.; ROBERTSON, G. W.; HOCKING, P. M. Comparative changes in plasma concentrations of progesterone, oestradiol and LH during the ovulatory cycle in a multiple ovulating male line and a single ovulating traditional line of turkeys. **Reproduction**, v. 123, p. 127-133, 2002.
- CARBÓ, C. B. **Producción Del Avestruz: aspectos claves**. 2. ed. Espanha: Mundi-Prensa, 2003. 798 p.
- CARRER, C. C. O mercado de avestruzes no Brasil e no mundo. **Struthio & Cultura**, v. 3, n. 10, ABR/MAI, p. 14-15, 2004.
- CARRER, C. C. O mercado de avestruzes no Brasil e no mundo. **Struthio & Cultura**, v. 3, n. 11, JUN/JUL, p. 14-15, 2004.

CARRER, C. C.; ELMÔR, R. A.; KORNFIELD, M. E.; CARVALHO, M. C. **A criação do avestruz: guia completo de A a Z**. Pirassununga, São Paulo: Grupo Ostrich do Brasil, 2004. 255 p.

CARRER, C. C.; KORNFIELD, M. E. **A criação de avestruzes no Brasil**. Pirassununga, São Paulo: Brasil Ostrich, 1999. 304 p.

DEEMING, D. C. (Ed.). **The ostrich: biology, production and health**. Cambridge: CABI Publishing, 1999. 358 p.

DEGEN, A. A.; WEIL, S.; ROSENSTRAUCH, M. K.; KAM, M.; DAWSON, A. Seasonal plasma levels of luteinizing hormone and steroid hormones in male and female domestic ostriches (*Struthio camelus*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 93, p. 21-27, 1994.

ETCHES, R. J. **Reproduction in poultry**. Wallingford, Oxon: CAB International, 1996. 318 p.

ETCHES, R. J.; CHENG, K. W. Changes in the plasma concentrations of luteinizing hormone, progesterone, oestradiol and testosterone and in the binding of follicle-stimulating hormone to the theca of follicles during the ovulation cycle of the hen (*Gallus domesticus*). **Journal of Endocrinology**, v. 91, p. 11-22, 1981.

FOWLER, M. E. **Zoo & wild animal medicine**. 2. ed. Philadelphia: Saunders, 1986. 1127 p.

MARQUES, H. L. Pé no chão. **Avicultura Industrial**, v. 96, n. 11, n. 1129, p. 88-90, 2004.

MUNIZ, L. R. Estatística do atual rebanho de avestruzes no Brasil. In: _____. **Anuário da avicultoria brasileira - 2005/06: edição histórica e comemorativa**. São Paulo: Associação dos Criadores de Avestruzes do Brasil, 2005. p 107-112.

PINHEIRO, L. A. S.; PINHEIRO, L. E. L.; PINHEIRO, L. S. Reprodução das Aves e Avestruzes: perspectivas futuras. **Avicultura Industrial**, v. 96, n. 11, n. 1129, p. 106-112, 2004.

PINHEIRO, L. A. S.; PINHEIRO, L. E. L.; SILVEIRA, L. H.; PINHEIRO, L. M. S. Estruticultura brasileira: aspectos reprodutivos e econômicos – Mini-revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, n. 4, p. 292-296, 2002.

RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Flórida: Wingers, 1994.

SUZAN, E.; GARNEIRO, A. H. Perspectivas e desafios do Sistema Agroindustrial do Avestruz no Brasil. **Informações Econômicas**, v. 37, n. 10, p. 44-59, 2007.

WILLIAMS, J. B.; SHARP P. J. A. Comparison of plasma progesterone and luteinizing hormone in growing hens from eight weeks of age to sexual maturity. **Journal of Endocrinology**, v. 75, p. 447-448, 1977.

YANG, J.; LONG, D. W.; BACON, W. L. Ontogeny of luteinizing hormone and estradiol secretion in turkeys hens exposed to different photoperiods from hatch to sixty weeks of age. **Poultry Science**, v. 78, p.1611-1618, 1999.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Dados referentes a colheita de amostras em Cosmópolis/SP - 2006

ANIMAL	DATA COL	HORA	SANGUE	SORO	HEMO	GEL
1923	24/3/2006	11:10	5ml	-	-	-
1923	27/3/2006	09:26	5ml	1,0ml	3	0
1923	29/3/2006	09:45	5ml	0,75ml	0	3
1923	31/3/2006	09:46	5ml	1,1ml	0	0
1923	3/4/2006	09:25	5ml	0,8ml	0	3
1923	5/4/2006	11:39	10ml	2,75ml	1	0
1923	7/4/2006	09:20	10ml	3,0ml*	0	3
1923	10/4/2006	09:51	20ml*	3,0ml	0	3
1923	12/4/2006	09:52	10ml	3,0ml	0	0
1923	14/4/2006	09:42	10ml	2,0ml*	1	0
1923	17/4/2006	10:00	10ml	4,5ml	0	0
1923	19/4/2006	10:27	10ml	4,5ml	0	0
1923	21/4/2006	09:48	10ml	3,5ml	0	3
1923	24/4/2006	09:30	10ml	4,1ml	0	2
1923	26/4/2006	09:30	10ml	4,3ml	1	0
1923	28/4/2006	10:07	10ml	4,5ml	0	0
1923	1/5/2006	09:50	10ml	4,5ml	0	0
1923	3/5/2006	09:38	10ml	4,5ml	0	0
1923	5/5/2006	09:40	10ml	4,5ml	0	2
1923	8/5/2006	09:43	10ml	4,5ml	0	0
1923	10/5/2006	09:45	10ml	4,3ml	1	0
1923	12/5/2006	07:34	10ml	4,0ml	0	0
1923	15/5/2006	10:05	10ml	4,0ml	0	0
1923	17/5/2006	09:42	10ml	4,0ml	0	0
1923	19/5/2006	10:00	10ml	4,5ml	1	0
1923	22/5/2006	09:56	10ml	4,25ml	0	0
1923	24/5/2006	09:42	10ml	4,5ml*	0	0
1923	26/5/2006	09:23	10ml	3,75ml	1	0
1923	29/5/2006	09:58	10ml	4,0ml	0	1
1923	31/5/2006	09:40	10ml	4,5ml	0	0
1923	2/6/2006	10:12	10ml	3,2ml	0	0
1923	5/6/2006	09:57	10ml	3,75ml	1	0
1923	7/6/2006	09:42	10ml	3,9ml	0	0
1923	9/6/2006	09:45	10ml	4,3ml	0	2
1923	12/6/2006	09:40	10ml	3,6ml	0	0
1923	14/6/2006	09:23	10ml	3,6ml	0	0
1923	16/6/2006	09:41	10ml	3,8ml	0	0
1923	19/6/2006	09:45	10ml	4,0ml	0	3
1923	21/6/2006	11:25	10ml*	3,5ml	0	0
1923	23/6/2006	10:24	10ml	3,7ml	0	0
1923	26/6/2006	09:26	10ml	3,5ml	0	0
1923	28/6/2006	09:58	10ml	3,8ml	0	1
1923	30/6/2006	09:50	10ml	4,1ml	0	0
1923	3/7/2006	09:42	10ml	4,2ml	0	0
1923	5/7/2006	09:51	10ml	4,25ml	0	0
1923	7/7/2006	09:51	10ml	4,0ml	0	0
1923	10/7/2006	14:07	10ml	4,5ml	0	0
1923	12/7/2006	10:07	10ml	4,0ml	0	0
1923	14/7/2006	09:44	10ml	4,25ml	0	0
1923	17/7/2006	09:54	10ml	4,25ml*	0	3
1923	19/7/2006	09:23	10ml	4,1ml	0	1
1923	21/7/2006	10:09	10ml	4,1ml	0	1
1923	24/7/2006	09:44	10ml	3,8ml	0	0
1923	26/7/2006	10:07	10ml	4,0ml	1	0
1923	28/7/2006	10:39	10ml	3ml	0	0
1923	31/7/2006	10:13	10ml	3,75ml	0	0
1923	2/8/2006	10:12	10ml	4,0ml	0	0
1923	4/8/2006	09:45	10ml	4,1ml	0	2
1923	7/8/2006	09:49	10ml	4,0ml	0	0
1923	9/8/2006	10:45	10ml	3,6ml	0	0
1923	11/8/2006	10:07	10ml	4,0ml	0	0
1923	14/8/2006	10:10	10ml	4,4ml	0	1
1923	16/8/2006	10:20	10ml	4,5ml	0	2
1923	18/8/2006	10:07	10ml	4,0ml	0	0
1923	21/8/2006	11:31	10ml	4,25ml	0	0

LEGENDA: DATA COL: dias de colheita; HEMO: grau de hemólise no soro: 0-ndn, 1-hemácias no fundo do eppendorf, 2-pouco avermelhado; 3-bem avermelhado; GEL: grau de gelificação no soro: 0-ndn, 1-pequena gelificação, 2-gelificação moderada, 3-gelificação severa.

APÊNDICE B – Dados referentes à observação de comportamento em Cosmópolis/SP - 2006

ANIMAL	DATA COL	METEOR	HORA	°C	%UR	ASA	BICO	ACC	OBSERVAÇÕES GERAIS
1923	24/3/2006	SOL	07:35	-	-	0	0	0	ULTRA-SOM realizado. SEM DADOS SORO / HEMO / GEL
1923	27/3/2006	SOL NUV.	08:01	23	62	0	0	0	
1923	29/3/2006	NUBLADO	08:25	22	65	0	0	0	Chuvas ao longo do dia (10:20-14:00)
1923	31/3/2006	SOL	09:00	25	54	0	0	0	
1923	3/4/2006	SOL	08:27	26	60	0	0	0	
1923	5/4/2006	SOL NUV.	13:23	35	44	0	0	0	Cada amostra de 5ml do mesmo animal gerou 1 soro (não homogeneizado). Observação de comportamento na hora do almoço *2,5ml gelificou, comparar com amostra normal (2 tubos de 5ml: 1 normal, outro gelificou) . [SORO homogeneizado (2 amostras de sangue de 5ml gerou 1 soro)]
1923	7/4/2006	NUBLADO	08:00	26	62	0	0	0	*colhido 20ml por engano, uma amostra gelificou. Comparar as 2 amostras
1923	10/4/2006	SOL NUV.	08:18	23,5	66	1	0	0	
1923	12/4/2006	SOL	08:01	20	64	0	0	0	
1923	14/4/2006	NUBLADO	07:55	18	65	0	0	0	*2,0ml de soro ok, +2,0ml de soro extra que gelificou (comparar)
1923	17/4/2006	NUBLADO	08:18	20	63	0	0	0	
1923	19/4/2006	SOL	07:47	16,5	66	0	0	0	ANIMAIS SEM RAÇÃO 2o dia.
1923	21/4/2006	SOL	08:10	16	65	0	0	0	
1923	24/4/2006	SOL	08:20	16	64	1	0	0	
1923	26/4/2006	SOL	08:20	22	64	4	0	0	Por "superpopulação" no piquete, os animais estão se debicando entre si. (arrancamento de plumas do dorso).
1923	28/4/2006	SOL	08:30	17	62	3	0	0	ULTRA-SOM realizado.
1923	1/5/2006	SOL	08:40	19	62	0	0	0	
1923	3/5/2006	SOL	08:10	13	60	0	0	0	
1923	5/5/2006	SOL	08:40	15	62	9	0	0	INÍCIO SUPLEMENTAÇÃO com CAPIM PICADO.
1923	8/5/2006	NUBLADO	08:20	22	58	12	0	0	
1923	10/5/2006	NUBLADO	08:30	19	62	0	0	0	
1923	12/5/2006	SOL NUV.	08:00	19	59	0	0	0	
1923	15/5/2006	SOL	08:40	16	64	1	0	0	
1923	17/5/2006	SOL	08:25	15	64	3	0	0	
1923	19/5/2006	SOL	09:06	16	63	0	0	0	Senta durante captura. (ACC?)
1923	22/5/2006	NUBLADO	08:25	18,5	66	0	0	0	
1923	24/5/2006	NUBLADO	08:30	17	60	0	0	0	Senta durante a captura (ACC?)
1923	26/5/2006	NUBLADO	08:20	17	60	5	1	0	
1923	29/5/2006	SOL	09:15	20	54	0	0	0	
1923	31/5/2006	SOL	08:30	17	62	0	0	0	
1923	2/6/2006	SOL	08:40	26	51	0	0	0	ULTRA-SOM realizado.
1923	5/6/2006	SOL	08:35	16,5	62	0	0	0	
1923	7/6/2006	SOL	08:33	15	65	3	0	0	
1923	9/6/2006	SOL	08:05	11	65	0	0	0	Início ração 2x/dia
1923	12/6/2006	SOL	08:24	17	66	10	0	0	
1923	14/6/2006	SOL	08:14	12	66	0	0	0	
1923	16/6/2006	SOL	08:05	9	63	8	3	0	
1923	19/6/2006	SOL	08:17	13	64	30	0	0	
1923	21/6/2006	SOL	08:09	11	65	22	7	0	Colhida nova amostra (identif. no tubo errada 1923 e 1925). Amostra errada separada como extra "A" e "B"
1923	23/6/2006	SOL NUV.	08:07	13	64	10	0	0	Chuva fim da tarde.
1923	26/6/2006	NUBLADO	08:15	16	64	12	0	0	CHUVA 9:35-12:30
1923	28/6/2006	SOL	08:20	10	64	23	5	0	
1923	30/6/2006	SOL	08:15	13	60	13	5	0	
1923	3/7/2006	SOL	08:20	10	66	30	15	0	
1923	5/7/2006	SOL	08:16	10	64	25	15	0	Sentou na aproximação para iniciar colheitas.
1923	7/7/2006	SOL	08:10	12	62	39	20	0	
1923	10/7/2006	NUBLADO	08:27	17	64	35	20	1	Choveu durante a colheita de sangue, foi feita nova colheita de amostras de todos os animais.
1923	12/7/2006	SOL	08:14	15	64	36	13	0	

Continua...

APÊNDICE B – Dados referentes à observação de comportamento em Cosmópolis/SP - 2006 (conclusão)

ANIMAL	DATA COL	METEOR	HORA	°C	%UR	ASA	BICO	ACC	OBSERVAÇÕES GERAIS
1923	14/7/2006	SOL	08:09	12	66	40	15	1	1923: apresenta comportamento de asa/bico já em grande distância
1923	17/7/2006	SOL	08:21	11	64	35	25	0	*23: amostra ainda com um pouco de gel no eppendorf.
1923	19/7/2006	SOL	08:13	12	62	39	13	1	
1923	21/7/2006	SOL	08:11	10	62	21	3	1	1923 e 1925: sentam durante a captura para a colheita e apresentam comportamento de asas/bico (aceitação?)
1923	24/7/2006	SOL	08:13	13	63	20	6	1	
1923	26/7/2006	SOL	08:12	13	61	83	35	1	ULTRA-SOM realizado. Ovário desenvolvido no USS. Influência externa durante observação de comportamento.
1923	28/7/2006	SOL	08:05	12	62	23	6	1	AMOSTRA EM CONGELADOR DA GELADEIRA Coleta realizada por VIVIAN.
1923	31/7/2006	NUBLADO	08:37	14	62	22	15	1	Chuvvas ao longo do dia (10:45-11:30; 12:40-13:40; 14:25-14:40; 15:40-16:05) . animais sem trato à tarde.
1923	2/8/2006	NUBLADO	08:20	17	60	33	25	1	Atraso na colheita (chuva 9:30-10:15)
1923	4/8/2006	NUBLADO	08:16	15	62	29	15	0	Durante observação de comportamento da manhã os animais ficaram agitados por causa da neblina.
1923	7/8/2006	SOL	08:20	15	62	37	17	1	
1923	9/8/2006	SOL	08:12	14	64	41	20	1	ULTRA-SOM realizado. Ovário desenvolvido no USS
1923	11/8/2006	SOL	08:20	17	64	137	90	1	Excesso de influência externa durante observação de comportamento?
1923	14/8/2006	SOL	08:21	16	64	46	19	1	
1923	16/8/2006	SOL	08:30	18	64	72	18	1	Excesso de influência externa durante observação de comportamento?
1923	18/8/2006	SOL	08:36	21	61	32	19	1	ÚLTIMA COLHEITA A CADA 2 DIAS/SEMANA.
1923	21/8/2006	SOL	10:30	20	48	35	16	1	Atraso na coleta (funcionários dispensados)

LEGENDA: DATA COL: data das observações METEOR: meteorologia; °C: temperatura; %UR: umidade relativa do ar; ASA: número de observações do comportamento de “*abaixar e bater asas*” em 30 minutos de observação; BICO: número de observações do comportamento de “*abaixar a cabeça e bater o bico*” em 30 minutos de observação; ACC: número de observações do comportamento de “*aceitação de cópula*” em 30 minutos de observação.

APÊNDICE C – Dados referentes à colheita e observação de comportamento em São Gabriel do Oeste/MS - 2006

ID: P 211	D I A S D E C O L H E I T A S									
	20/09/06	27/09/06	04/10/06	11/10/06	18/10/06	25/10/06	01/11/06	08/11/06	15/11/06	22/11/06
HORA	8:15	7:37	7:56	7:43	7:35	7:36	7:40	7:43	7:31	7:40
SANGUE	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml
SORO	3,75ml	4,5ml	4,25ml	4,0ml	4,5ml	4,5ml	4,5ml	4,25ml	4,5ml	4,4ml
HEMO	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
GEL	0	2	2	3	2	2	1	0	1	0
METEOR	NUBLADO	SOL	NUBLADO	SOL	SOL NUV.	SOL	NUBLADO	NUBLADO	SOL	SOL NUV.
° C	29	28	24,5	27	25	30	27	27,5	27,5	30
%UR	46	48	56	58	57	52	56	58	51	52
ASA	3	1	1	1	1	1	1	1	0	0
BICO	2	1	1	1	1	1	1	0	0	0
ACC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OBSERV.	4 ^o 20/09: CHUVA rápida manhã/tarde.	6 ^o 29/09: CHUVA: tarde Sáb 30/09: CHUVA: tarde toda 2a 02/10: CHUVA: Sáb 23/09: CHUVA: tarde	OBSERV. COMP. 5 ^o de manhã. Colheita Sangue na chuva. 4 ^o 04/10: CHUVA: 5:00 - 10:40 5 ^o 05/10: CHUVA: noite Dom 08/10: CHUVA: 12:00 - 14:00	SANGUE não coagulou direito. 2 ^o 09/10: GAROA: 15:30-16:00 6 ^o 13/10: CHUVA: Tarde 2 ^o 16/10: CHUVA: manhã & tarde	5 ^o 19/10: 19/10: Mudança no manejo: casal separado na alimentação. SANGUE não coagulou direito. 3 ^o 24/10 GAROA: 7:30 - 8:50 9:55 - 10:05 2 ^o 30/10 CHUVA: 8:00 - 9:00 18:00 - 20:00	19/10: Mudança no manejo: casal separado na alimentação. SANGUE não coagulou direito. 3 ^o 24/10 GAROA: 7:30 - 8:50 9:55 - 10:05 2 ^o 30/10 CHUVA: 8:00 - 9:00 18:00 - 20:00	4 ^o 01/11: CHUVA: 20:00 - 21:00. RAÇÃO. 4 ^o 01/11: 2a 06/11: CHUVA: 10:45 - 11:00 5 ^o 02/11 GAROA: 13:00 - 13:10 13:00 - 13:10 HORÁRIO DE VERÃO 3 ^o 07/11: GAROA: 05/11. 6 ^o 03/11: 13:40 - 13:45 CHUVA: 18:30 - 18:40 10:00 - 10:15 madrug p/ 4 ^o 4 ^o 08/11: GAROA: 17:00 - 18:00 dia todo & à noite CHUVA: 11:50 - 13:40 15:30 - 17:00 5 ^o 09/11: CHUVA: 12:35 - 12:50 14:30 - 14:40 18:40 - 19:00 19:20 - 19:50	Dom. 19/11: CHUVA: 12:20 - 12:35; 14:00-14:20 16:30-17:00 Sáb 25/11: CHUVA 11:45-13:15 2 ^o 27/11: CHUVA 14:00-14:20 GAROA 14:36-14:46	6 ^o 24/11: CHUVA 14:00-14:20 16:30-17:00 Sáb 25/11: CHUVA 11:45-13:15 2 ^o 27/11: CHUVA 14:00-14:20 GAROA 14:36-14:46	

LEGENDA: HORA: hora colheita sangue; SANGUE: quantidade sangue; SORO: quantidade soro; HEMO: grau de hemólise no soro: 0-ndn, 1-hemácias no fundo do eppendorf, 2-pouco avermelhado; 3-bem avermelhado; GEL: grau de gelificação no soro: 0-ndn, 1-pequena gelificação, 2-gelificação moderada, 3-gelificação severa; METEOR: meteorologia; ° C: temperatura; %UR: umidade relativa do ar; ASA: comportamento asas: nenhum(0), <50% do tempo observado(1), ≥ 50% e <75% do tempo(2), ≥ 75% do tempo(3); BICO: comportamento bico: nenhum(0), <50% do tempo observado(1), ≥ 50% e <75% do tempo(2), ≥ 75% do tempo(3); ACC: comportamento aceitação cópula: ausente(0), presente(1).

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)