

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado dos cursos de Pós-graduação**

**CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DO AVESTRUZ
(*Struthio camelus*) AVALIADO PELA ANÁLISE
ESPERMÁTICA E ULTRASSONOGRAFIA FOLICULAR**

PABLO CÉSAR PEZOA POBLETE

**BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA – UFMG
2009**

Pablo César Pezoa Poblete

**CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DE AVESTRUZES (*Struthio camelus*)
CRIADOS NO CENTRO-OESTE MINEIRO PELA ANÁLISE ESPERMÁTICA
E ULTRASSONOGRAFIA MORFOMÉTRICA FOLICULAR**

Dissertação apresentada na Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito
parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência
Animal.

Área de Concentração: Reprodução Animal
Orientador: Prof. Antônio de Pinho Marques Júnior

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2009

P739c Pezoa-Poblete, Pablo César, 1976-
Características Reprodutivas do Avestruz (*Struthio camelus*) avaliado pela análise espermática e
ultrassonografia folicular / Pablo César Pezoa Poblete - 2009
40 p. :il.

Orientador: Antônio de Pinho Marques Júnior
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária
Inclui Bibliografia

1. Avestruz – Reprodução – Teses. 2. Sêmen – Análise-Teses. 3 – Ultrassonografia – Teses.
Ultrassonografia – Teses. I. Marques Júnior, Antônio de Pinho. II. Universidade Federal de Minas Gerais.
Escola de Veterinária. III. Título

CDD – 636.590 892 6

Dissertação defendida e aprovada em 29 de maio de 2009 pela Comissão Examinadora constituída por:

Prof. Antônio de Pinho Marques Júnior

Prof. Tarcízio Antônio Rêgo de Paula

Prof. Mark Roger Jean Marie Henry

Prof. Guilherme Ribeiro Valle

A meu avô Luís A. Pezoa de la Peña, *abuelito* querido,
exemplo para mim de sabedoria e austeridade,
apesar de eu nem sempre ter ouvido que
"Las batallas se ganan con tiempo".

"Perder com classe e vencer com ousadia,
porque o triunfo pertence a quem se atreve"
– Charles Chaplin (*Vida*)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por não ter retirado as pedras do caminho, mas por permitir que eu as tenha transposto, retirando lições preciosas dos tropeços;

A minha família, Cintia, Gabriel e Luiza que, no dia-a-dia, são o refúgio seguro de dias nem sempre perfeitos. Cíntia, pelo amor, apoio e compreensão sem limites nesta caminhada; Gabito e Lulu pela felicidade irradiante, alheios à tudo, *nem aí*...mas essenciais por darem sentido à vida;

A minha família de Campinas, mamita, papito, Horácio Mermão e Nanita Perrema (em Barcelona...) e anexados Tati e Pedro Luis, pelo incentivo e pensamentos positivos que atravessam terras e mares e chegam em Belo Horizonte capazes ainda de dar-me forças para seguir adiante;

Ao amigo-orientador Pinho. Orientador de vida, profissional, pessoal...ah sim...do mestrado também! Obrigado pelo entendimento de tudo, do respeito com o orientado, mesmo às vezes *cabeça-dura* (eu diria *perseverante*...), mas que fez o trabalho que queria, da forma que queria, com as *sarnas* que procurou;

À amiga e colega Valéria Spyridion Moustacas, pessoa de coração enorme, altíssima competência que, sem dúvida, proveu uma contribuição fundamental para que o trabalho acontecesse. *Váleri*, obrigado por tudo, que Deus esteja sempre a teu lado e que tenha muito, muito sucesso na tua vida! Esta dissertação é parte sua!

À amiga Camila Henriques de Oliveira pelo apoio e dedicação na organização do trabalho ao longo do experimento. Muito, muito obrigado!

À *Pure Avestruz-Fazenda Flamboyant*, na pessoa de seus proprietários João Manoel e Lucena, por acreditarem em mim e no trabalho, permitindo que fizéssemos o experimento na fazenda e disponibilizando a Rosa para preparar deliciosos almoços... além, claro, de toda a equipe de apoio para a contenção dos animais;

A Maria Barbara Mangiaterra, Prof. Alan e Esterzinha, pelo apoio nos experimentos pilotos, que muito contribuíram para trilhar os caminhos da pesquisa.

Ao Prof. Marc Henry que, inicialmente se prontificou a auxiliar no que fosse preciso no experimento.... "liberou" a *Váleri*... agradeço muito de qualquer forma a sua disponibilidade, professor;

Ao Prof. João Paulo Haddad e Alex José de Almeida pelo apoio na análise estatística.

A Dorinha responsável pela harmonia em casa e a Renata e Lívia na empresa;
Ao GruPinho, pela força em todos os momentos....todos!

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. HIPÓTESE	12
3. OBJETIVOS	12
4. REVISÃO DE LITERATURA	13
4.1 SAZONALIDADE	13
4.2 ETOLOGIA E FISILOGIA REPRODUTIVA	13
4.3 ASPECTOS REPRODUTIVOS RELATIVOS À FÊMEA	15
4.3.1 Aspectos anatômicos	15
4.3.2 Aspectos endócrinos	16
4.3.3 Avaliação folicular por ultrassonografia	16
4.4 ASPECTOS REPRODUTIVOS RELATIVOS AO MACHO	17
4.4.1 Aspectos anatômicos	17
4.4.1.1 Testículos e ductos	17
4.4.1.2 Falo	17
4.4.2 Aspectos endócrinos	18
4.4.3 Coleta de Sêmen	18
4.4.4 Avaliação do sêmen	19
5. MATERIAL E MÉTODOS	21
5.1 PERÍODO E LOCAL DO EXPERIMENTO	21
5.2 ANIMAIS E MANEJO DIÁRIO	21
5.3 FÊMEA	22
5.4 MACHO	23
5.4.1 Escore de bico, coleta de sêmen e mensuração de falo	23
5.4.2 Avaliação espermática	23
5.4.2.1 Avaliação a campo: cor, volume e motilidade	23
5.4.2.2 Avaliação no laboratório: concentração e morfologia	23
5.5 FOTOPERÍODO E PLUVIOSIDADE	24
5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
6. RESULTADOS	25
6.1 FÊMEA	25
6.2 MACHO	27

7. DISCUSSÃO	31
7.1 FÊMEA	31
7.2 MACHO	31
8 CONCLUSÕES	35
9 CONSIDERAÇÕES	36
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Incidência de defeitos dos espermatozóides de avestruz (<i>Struthio camelus</i>) n=45	29
Tabela 2 - Incidência de defeitos dos espermatozóides de avestruz (<i>Struthio camelus</i>) em época reprodutiva (Novembro a julho) n=45	29
Tabela 3 - Características seminais de avestruz (<i>Struthio camelus</i>) em período reprodutivo (novembro a julho) n=45	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dimorfismo sexual em avestruz: machos pretos	14
Figura 2 - Dimorfismo sexual em avestruz: fêmeas marrom-aczentadas. Na imagem, fêmea em <i>display</i>	14
Figura 3 e 4 - Morfologia dos órgãos reprodutivos da fêmea: (a) stroma, (b) folículos pequenos (\emptyset 1cm), (c) folículo pré-ovulatório maior (\emptyset 9cm), (d) pedúnculo folicular, (e) stigma, (f) Folículo pós-ovulatório, (g) Folículo atrésico jovem, (h) folículo atrésico antigo, (i) infundíbulo, (j) magno, (k) istmo, (l) útero ou glândula da casca, (m) vagina, (n) ovo com gema ao centro, (o) albúmen, (p) anéis de gema clara, (q) anéis de gema escura (<i>Adaptado de Bronneberg et al., 2003</i>)	15
Figura 5 - Sistema reprodutor do macho de avestruz. <i>Fonte: Garcia et al., 1997</i>	18
Figura 6 - Contenção de avestruz. Contenção com auxílio de gancho próprio para a espécie.	22
Figura 7 - Contenção de avestruz. Fêmea com capuz, permitindo a aproximação e manipulação.	22
Figura 8 - Exame ultrassonográfico de folículos ovarianos em avestruz.	22
Figura 09 - Numerosos folículos menores (<6cm) em avestruz, maio de 2008.	25
Figura 10 - Mensuração de folículo maior (>6,0cm) em avestruz, outubro de 2008	26
Figura 11 - Relação entre Postura e Fotoperíodo: período de maior luminosidade corresponde ao período de maior média de ovos em avestruzes	26
Figura 12 - Sêmen de avestruz com alta concentração espermática (2 bilhões espermatozóide/ ml) encontrada em experimento com avestruz	27
Figura 13 - Sêmen de avestruz com concentração média (200 milhões/ml) de espermatozóides em experimento com avestruz	28
Figura 14 - Sêmen de avestruz com concentração baixa (um milhão/ml) de espermatozóides em experimento com avestruz	28
Figura 15 e 16 - Relação entre a porcentagem de espermatozóides normais e concentração/ml com postura, mostrando que no trimestre de menor atividade testicular (agosto a outubro) houve alta oviposição e no quadrimestre de menor postura (fevereiro a maio) houve uma alta atividade testicular	33

RESUMO

Objetivou-se verificar a atividade folicular, por ultrassonografia, e espermática de avestruzes em diferentes estações do ano, relacionando-as com fotoperíodo, pluviosidade, postura, morfometria folicular, características do sêmen, morfometria do falo, e intensidade de coloração do bico. Oito fêmeas e cinco machos foram avaliados por 12 meses, em coletas únicas mensais, em criatório no estado de Minas Gerais. O antímero que ofereceu melhor acesso ultrassonográfico foi o direito. A estação de postura estendeu-se de abril a novembro. Não houve correlação entre a postura e a atividade folicular com a quantidade de chuva, porém estas foram altas quando correlacionadas com o fotoperíodo. O período de maior atividade espermática abrangeu os meses de Novembro a Julho. Neste período, o sêmen apresentou como características: Volume: $0,87 \pm 0,56$; motilidade: 26 ± 17 ; concentração ($\times 10^6$): $213,717 \pm 292,258$; Espermatozóides normais (%): 54 ± 23 ; Defeitos maiores (%): 14 ± 2 ; Defeitos menores (%): 31 ± 27 . Não houve variação significativa do tamanho do falo e da intensidade de coloração do bico no período amostrado.

Palavras-chave: avestruz, sazonalidade, reprodução, ultrassom, coleta de sêmen

ABSTRACT

The objective was to verify in ostriches the follicular activity by ultrasound and the sperm characteristics at different seasons of the year, relating them to photoperiod, rainfall, posture, follicular morphology, semen characteristics, morphology of the phallus, and staining intensity of the beak. Eight females and five males were evaluated for 12 months in monthly collections in animals raised in the state of Minas Gerais. The antimere that offered better access to ultrasound evaluation was the right one. The breeding season lasted from April to November. There was no correlation between the posture and follicular activity with the amount of rain, but they were high when correlated with the photoperiod. The period of greatest activity spermatogenic was from November to July, when the semen showed the following characteristics: Volume: 0.87 ± 0.56 , motility: 26 ± 17 ; concentration ($\times 10^6$): 213.717 ± 292.258 ; normal spermatozoa (%): 54 ± 23 ; major defects (%): 14 ± 2 and minor defects (%): 31 ± 27 . There was no significant variation in the size of the phallus and in the intensity of staining of the beak in the animals during the period of evaluation.

Keywords: ostrich, seasonality, reproduction, ultrasound, semen collection

1. INTRODUÇÃO

É crescente o interesse zootécnico pelo grupo das Ratitas, que compreende a Ema, nativa da América do Sul, o Emú, endêmico da Austrália e o Avestruz, representante africano do grupo taxonômico (Huchzermeyer, 2000). O fato ocorre por estas aves terem carne vermelha, com sabor semelhante ao do filé bovino, porém com aproximadamente 1/3 do seu colesterol; couro resistente, com seu desenho *sui generis*, obtendo uma das maiores cotações no mercado; além das exuberantes plumas de avestruz, sucesso na confecção de fantasias das festas populares, tendo o Brasil o seu maior consumidor. Este mercado diversificado impulsionou diversos países à criação dos mesmos, particularmente do avestruz, a maior ave do mundo (Costa, 2005).

A estruturacultura, ou criação comercial do avestruz, teve seu início no Brasil em 1995, com as primeiras aves importadas da Itália para o Estado de São Paulo (Portella, 2005). Desde então a atividade expandiu-se rapidamente, sendo seus atributos utilizados inclusive para atividades de especulação, com promessa de altos ganhos em curto prazo. É hoje uma realidade na agropecuária nacional, levando o Governo Brasileiro a regulamentar a atividade através de Instrução Normativa específica para Ratitas (IN N°2, 21/02/2003). O país conta hoje com aproximadamente 20 abatedouros que processaram em 2007 aproximadamente 30.000 aves (Muniz, 2009) com seus produtos comercializados no mercado interno e externo.

Três raças e seus mestiços são criados no Brasil: *Red neck*, *Blue neck* e *African black*. Esta última é a que sofreu maior pressão de seleção, obtida por cruzamentos entre as subespécies *Struthio camelus camelus* e *Struthio camelus syriacus* (hoje extinta). A *African black* é mais adequada para a produção de couro, com a virtude de

apresentar maior proximidade entre os folículos das penas, valorizando a peça curtida com seu desenho característico. As outras raças apresentam maior peso, temperamento mais agressivo e menor qualidade das plumas, particularmente a *Red neck*. No Brasil predominam os mestiços oriundos de *African black* e *Blue neck* (Elmôr et al., 2004)

Do ponto de vista zootécnico, o avestruz apresenta alta capacidade de conversão alimentar, com capacidade de fermentação da fibra semelhante aos eqüídeos, entre outros aspectos zootécnicos vantajosos (Huchzermeyer, 2000).

Quando comparado a animais de grande porte, o avestruz apresenta alta prolificidade, produzindo em média 20 a 40 filhotes/ano (Huchzermeyer, 2000). Em contraponto, o desempenho reprodutivo é considerado baixo quando comparado às aves de produção, apresentando, em média, baixas taxas de fertilidade e de postura (Rautenfeld, 1977; Hicks-Allredge, 1996; Bronneberg et al., 2003), apesar de haver diversos indivíduos com postura superior a 60 ovos por estação (Bronneberg et al., 2003).

Pesquisas na área zootécnica sobre avestruzes são crescentes, todavia há poucos trabalhos que elucidem sobre características reprodutivas destes. Este trabalho visou contribuir no provento de informações na área reprodutiva de avestruzes criados no Brasil, ao apresentar uma avaliação morfométrica ultrassonográfica dos folículos e exame quanti-qualitativo do sêmen.

2. HIPÓTESE

Ocorre variação sazonal na atividade folicular e espermática de avestruzes criados no Centro-Oeste de Minas Gerais, Brasil

3. OBJETIVOS

- a) Verificar a exequibilidade da coleta de sêmen de avestruzes a campo

segundo a técnica descrita por Rautenfeld (1977) e adaptada por Irons et al. (1996) e sua avaliação quali- quantitativa;

- b) Verificar a exequibilidade do exame ultrassonográfico para avaliação folicular em avestruzes;
- c) Relacionar a atividade reprodutiva do macho com a atividade reprodutiva da fêmea;

4. REVISAO DE LITERATURA

4.1 Sazonalidade

O Avestruz, na natureza, se restringe em vida livre, ao leste e sul da África (Huchzermeyer, 2000). Em vida livre, é considerado um animal sazonal fotoperíodo dependente (Jarvis et al., 1985; Huchzermeyer, 2000). Contudo, quando selvagem, é sensível a disponibilidade de pasto, havendo um estímulo a postura logo após os períodos de chuva, a despeito da estação (Sauer, 1972, citado por Huchzermeyer, 2000). Em cativeiro a sua sazonalidade pode não ser tão evidente, sendo influenciado por outros fatores, como a disponibilidade constante de alimento e pluviosidade (Degen et al., 1994; Garcia et al., 1995; Huchzermeyer, 2000; Kornfeld et al., 2004), sendo esta última fator deletério à produção de ovos (Degen, 1994). Cloete et al. (2002) sinalaram a herdabilidade da sazonalidade do avestruz, fator que deve ser considerado em processos de seleção de futuras matrizes, enquanto Fair et al. (2005) relataram a acentuação da sazonalidade do avestruz com o avançar da idade da matriz.

Outras ratitas com potencial zootécnico, como a ema e emu, apresentam fotoperíodo positivo e negativo, respectivamente (Hicks-Allredge, 1996).

Em aves sazonais, a concentração plasmática de estradiol aumenta no período de nidificação e postura, diminuindo no período da incubação (Wingfield e Farner, 1980; Dawson, 1983). Degen et al. (1994) observou os mesmos padrões em avestruzes, verificando aumento no início da estação de postura, com pico da concentração de estradiol coincidindo com o pico de postura, mantendo-se elevado durante todo este período. Ainda, este autor relatou oscilação plasmática mais branda da concentração deste hormônio ao longo do ano,

diferentemente do normalmente encontrado em aves silvestres.

4.2 Etologia e Fisiologia Reprodutiva

O avestruz põe uma média de 20 a 40 ovos por ano, os quais variam de 1000 a 2000g de peso (média de 1.200g), com cascas de 2mm de espessura e período de incubação aproximado de 42 dias (Kornfeld et al., 2004).

Os animais não apresentam dimorfismo sexual até aproximadamente 14 meses de idade, quando o aumento de testosterona circulante promove o nascimento de penas pretas no corpo, ao mesmo tempo em que as penas brancas das asas (remiges) tornam-se evidenciadas (Fig.1). As fêmeas apresentam-se marron-acinzentadas com bicos e tarsometatarso pretos (Huchzermeyer, 2000) (Fig. 2). Atingem a maturidade sexual entre dois e três anos de idade (Huchzermeyer, 2000, Rozenboim et al., 2003). Os fatores que afetam a idade da sua maturação são: subespécies (raças geográficas Sul-Africanas e seus mestiços maturam antes, com aproximadamente 2 anos, do que as provenientes do Norte da África); estação do ano (pintos que nascem durante o período de aumento do fotoperíodo maturam primeiro que os nascidos durante o período de decréscimo do dia; aspectos nutricionais; condições ambientais e de manejo (Hicks-Allredge, 1996), e finalmente, o sexo, sendo que as fêmeas tendem a atingir a maturidade sexual mais cedo que os machos (Rozenboim et al., 2003).

O período reprodutivo na região Sudeste do Brasil abrange os meses de agosto a março (Almeida, 2006), enquanto na região Nordeste é comum aves que realizam postura durante todo o ano (Kornfeld et al., 2004)

Com o surgimento dos estímulos reprodutivos, o macho confecciona o ninho cavando uma depressão rasa no solo e fica responsável pela incubação durante a noite, enquanto é função da fêmea realizá-la durante o dia (Huchzermeyer, 2000).

O tamanho e a organização social do grupo variam dependendo do *habitat* e da época do ano. Em época reprodutiva os animais podem ser encontrados em colônias, casais ou haréns com duas a quatro fêmeas por macho (Degen et al., 1994). Existe uma relação de dominância, inclusive entre as fêmeas, sendo que a dominante tem a maior tendência de gerar um número maior de ovos. As fêmeas submissas eventualmente podem botar em ninhos de outras fêmeas, porém apenas a dominante realiza a incubação e cria dos filhotes (Carrer et al., 2004).

Na época reprodutiva os avestruzes manifestam diversos aspectos comportamentais, tais como:

- *Dança do acasalamento ou “kantling”*: em decúbito esternal os machos abrem alternadamente cada asa e golpeiam a cabeça sobre o dorso. Segundo Kornfeld et al. (2004) o ato estimularia a circulação local, favorecendo o influxo de maior

quantidade de sangue pelos testículos, liberando uma maior quantidade de testosterona. Silva (2008) sugere que este comportamento territorialista não depende da época reprodutiva.

- *Vocalização*: os machos emitem fortes sons, produzidos através da aspiração de grande quantidade de ar que é retido no esôfago com grande capacidade de distensão e que, ao ser exalado, emite um urro alto, manifestação esta de coorte e dominância de território (Kornfeld et al., 2004).

- *Andar pendular*: machos sexualmente estimulados andam projetando a cabeça para frente e para trás, em um movimento pendular ritmado (Kornfeld et al., 2004).

- *Cauda erguida*: a cauda do macho sexualmente ativo permanece eriçada (Kornfeld et al., 2004).

- *“Display”*: este é o nome dado a um conjunto de sinais reprodutivos manifestado pela fêmea receptiva à cópula, que consiste na queda parcial das asas, com seus movimentos repetidos de abrir e fechar, além de projeção crânio-ventral da cabeça e abrindo e fechando o bico (Kornfeld et al., 2004) (Fig. 2).



Fig.1 e 2: Dimorfismo sexual em avestruz: machos pretos e fêmeas marrom-aczentadas. Na imagem da direita, fêmea em *display*.

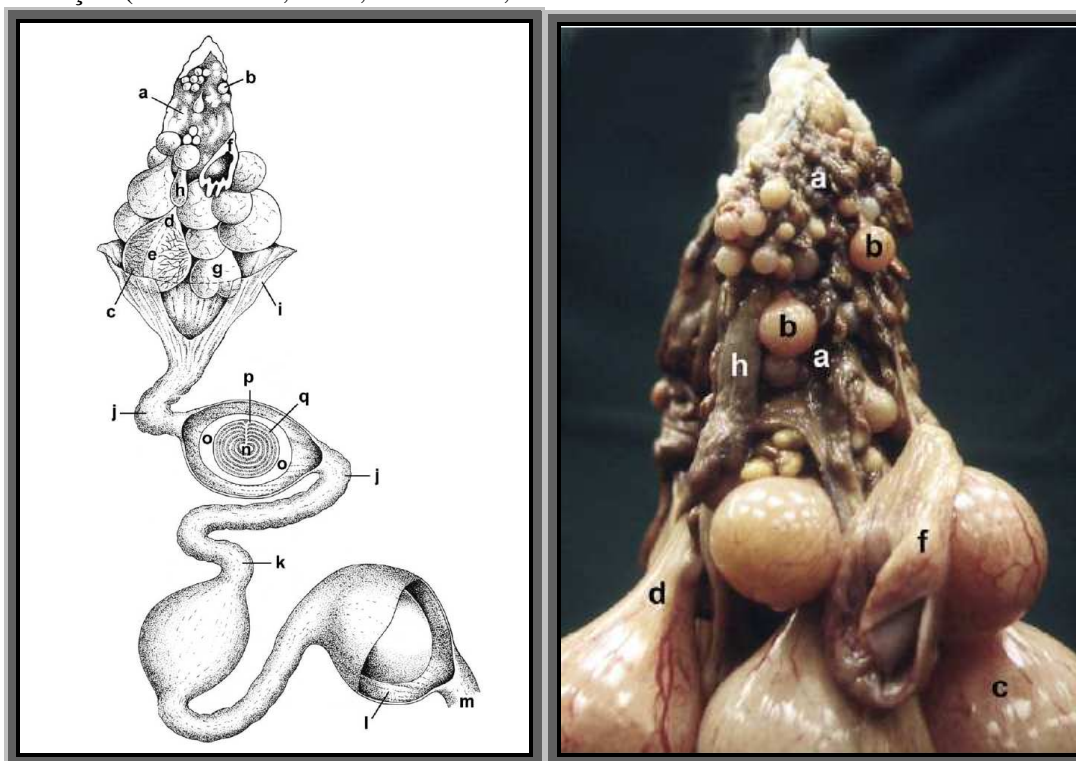
4.3 Aspectos Reprodutivos Relativos à Fêmea

4.3.1 Aspectos Anatômicos

Os órgãos genitais feminino das aves são compostos por um único ovário, esquerdo, e oviduto. Na realidade, no período embrionário o ovário direito também está presente. Não obstante, com a produção de substâncias inibidoras do ducto de Müller pelo ovário, ocorre a regressão deste e parte do ducto. O fato não ocorre com as estruturas esquerdas, pois há um maior número de receptores de estrogênio nestas, Hormônio este que, aparentemente, impede a ação das substâncias inibidoras do ducto de Müller (Bahr e Johnson, 1991).

O oviduto pode ser dividido em cinco partes: o *infundíbulo*, que capta o óvulo logo após a sua liberação pelo ovário e onde ocorre a fertilização (Garcia et al., 1995; Rutz et al.,

2007); o *magno*, porção mais longa do oviduto, onde ocorre a secreção de albúmen; o *istmo*, mais curto, responsável pela formação das membranas da casca; o *útero* ou glândula da casca, órgão muscular secretório onde um fluido é adicionado ao ovo e ocorre a formação da casca e, na sua porção final, a deposição da mucina; e finalmente a *vagina*, local da passagem do útero para a cloaca e armazenamento dos espermatozoides em invaginações do epitélio do lúmen do túbulo denominadas glândulas hospedeiras de espermatozoides (Garcia et al., 1995; Rutz et al., 2007) (Figs 3 e 4). Estas glândulas podem armazenar espermatozoides por um período de três a quatro semanas em galinhas e oito a quinze semanas em peruas, apesar da porcentagem de ovos fertilizados começar a cair dentro de 5 a 7 dias na galinha e 14 a 21 dias na peruca (Brillard, 1993).



Figs 3 e 4: Morfologia dos órgãos reprodutivos da fêmea de avestruz: (a) stroma, (b) folículos pequenos (\varnothing 1cm), (c) folículo pré-ovulatório maior (\varnothing 9cm), (d) pedúnculo folicular, (e) stigma, (f) folículo pós-ovulatório, (g) Folículo atrésico jovem, (h) folículo atrésico antigo, (i) infundíbulo, (j) magno, (k) istmo, (l) útero ou glândula da casca, (m) vagina, (n) ovo com gema ao centro, (o) albúmen, (p) anéis de gema clara, (q) anéis de gema escura (Adaptado de Bronneberg et al., 2003)

4.3.2 Aspectos Endócrinos

Em aves sazonais, com o surgimento da maturidade sexual, a luz é captada por sensores hipotalâmicos que convertem os sinais em uma mensagem hormonal que estimula os neurônios hipotalâmicos a secretarem GnRH (Hormônio Liberador de Gonadotrofinas). Os gonadotrofos, presentes na hipófise, ao serem estimulados pelo GnRH circulante, produzem Hormônio Luteinizante (LH) e Hormônio Folículo Estimulante (FSH) que são liberados na circulação. Estes se ligam aos receptores das células da teca, que produz progesterona e andrógenos, e da granulosa, que converte o andrógeno a estrógeno. O estrógeno em aves é responsável pelo crescimento e maturação do trato reprodutivo, além de desencadear a síntese de precursores da gema pelo fígado e mobilização do cálcio dos ossos medulares para a glândula da casca (Bahr e Johnson, 1991).

A ovulação em aves ocorre com o aumento de LH causado pela perda da capacidade do folículo F1 em converter a progesterona em androstenediona e o conseqüente acúmulo do primeiro hormônio, este estimulador indireto à liberação de LH (Knight et al., 1985). Em avestruzes, a oviposição ocorre aproximadamente 48h horas após a ovulação (Bronneberg et. al., 2007), causada, em aves, pela ligação do hormônio arginina-vasotocina (liberado pela neurohipófise) em receptores específicos localizados no miométrio e ação local de prostaglandina, desencadeando processos contráteis e peristaltismo da vagina (Takahashi et al., 1994). Em avestruzes, 12 horas antes da postura, ocorre aumento gradativo da progesterona, da concentração basal de 0,1ng/ml para 3,5ng/ml três horas antes da oviposição, com retorno à concentração basal 3h30' após a postura (Bronneberg et. al., 2007). Nova ovulação ocorre aproximadamente duas horas após a última postura e o ovo em desenvolvimento permanece 9h na porção proximal do oviduto (Infundíbulo, magno e istmo) e 39h

na porção distal (útero) (Bronneberg et. al., 2007). Degen et al., 1994, relatou em seu estudo com avestruzes que houve aumento da concentração basal de LH logo antes do início da estação reprodutiva, com seu declínio gradual ocorrendo ao longo desta, mesmo enquanto a produção ainda era alta.

4.3.3 Avaliação folicular por ultrassonografia

A ultrassonografia em reprodução animal foi utilizada inicialmente para diagnóstico de gestação de éguas e hoje se presta para diversas outras aplicações, não só em animais domésticos como também em animais selvagens (Taverne e Willemse, 1989). Cartee et al. (1992) descreveram o uso em aves e a visualização de anéis alternados ecóicos e anecóicos no exame de folículos de aves.

Não obstante, a técnica ainda está em fase de aperfeiçoamento em avestruzes. As publicações em aves iniciaram em 1999 (Hofbauer et. al.), relatando-se que era possível o uso do equipamento para visualização de folículos na cavidade celomática. Os estudos continuaram e em 2002, quando Lambrechts et al. avaliaram o uso do equipamento para quantificar o potencial de produção de ovos em avestruzes.

Bronneberg e Taverne (2003) apresentaram imagens comparativas obtidas pela ultrassonografia *in vivo* e *in vitro*, esta última realizada após o abate, com o órgão reprodutor mergulhado em recipiente com água. As imagens obtidas foram comparadas com a morfologia verificada *post mortem*, logo após o abate. Os autores afirmaram que apenas 58% dos folículos acima de 3cm detectados *post mortem* foram detectados pela ultrassonografia *in vivo*. Ainda assim, a técnica mostrou-se eficiente na quantificação e qualificação da atividade folicular, útil na visualização da presença da hierarquia folicular no ovário e possibilitar na predição do aumento e diminuição da

atividade folicular no início e final da estação de postura, além da conseqüente seleção de aves produtivas. No exame *in vivo*, descreveram o acesso como sendo realizado pelo lado esquerdo, com o transdutor posicionado atrás do tibiotarso, ventrolateral à porção apterígena da pele abdominal. Tal procedimento foi confirmado posteriormente por Bronneberg et al. (2007), que também apresentaram a relação temporal dos eventos reprodutivos, descrevendo os estádios de desenvolvimento que ocorrem entre duas oviposturas e suas concentrações hormonais plasmáticas.

Bronneberg et al. (2007) apresentaram estudo com nove fêmeas, verificando a correlação entre a quantidade dos folículos maiores, >6cm, e concentração plasmática de LH e estrógeno. Relataram que, quando identificaram a presença de folículos maiores, um mês após deu-se início a postura e a elevação plasmática de estrógeno e LH, permanecendo elevados durante todo o período de postura. O antímero descrito para acesso ultrassonográfico foi o esquerdo.

4.4 Aspectos relativos ao macho

4.4.1 Aspectos anatômicos

Os órgãos masculinos do avestruz consistem nos testículos, epidídimo, ducto deferente e falo, com o sulco ejaculatório percorrendo longitudinalmente a superfície dorsal deste último (Huchzermeyer, 2000).

4.4.1.1 Testículos e ductos

Os testículos localizam-se internamente, crânio-ventrais aos rins. Podem sofrer aumento de até 300% em comparação com o período de repouso e 600% em relação ao tamanho antes da puberdade (Garcia et al., 1997). A *rete testis* é composta de rede intratesticular, rede intracapsular e rede extratesticular. O epidídimo das ratitas é curto, subdividindo-se em parte principal e apêndice epididimário. Encontra-se preso cranialmente na glândula adrenal e possui uma continuação cranial denominada de ducto aberrante (Góes, 2004). O ducto epididimário é originado do ducto de Wolff e apresenta-se dorsolateralmente ao testículo (Budras et al., 1981)

4.4.1.2 Falo

Na parte ventral do proctodeu encontra-se o falo, ingurgitação linfática de corpo fibroso, análogo ao pênis nos mamíferos, com sua extremidade distal orientada caudalmente e inserido na bolsa fállica (Garcia et al., 1997; Kornfeld et al., 2004). O órgão flácido mede aproximadamente 20 cm de comprimento, possui coloração avermelhada e torna-se ereto pelo ingurgitamento com fluido linfático, derivado do corpo vascular, atingindo até 40 cm de comprimento. Este órgão copulador é formado por um par de corpos fibrosos, sulco fállico, corpo vascular elástico e músculos. O sulco fállico origina-se próximo às papilas seminais do ducto deferente e termina na extremidade distal do falo, sendo responsável pelo transporte do sêmen até a cloaca da fêmea, não apresentando função mictória (Jensen et al., 1992) (fig. 5).

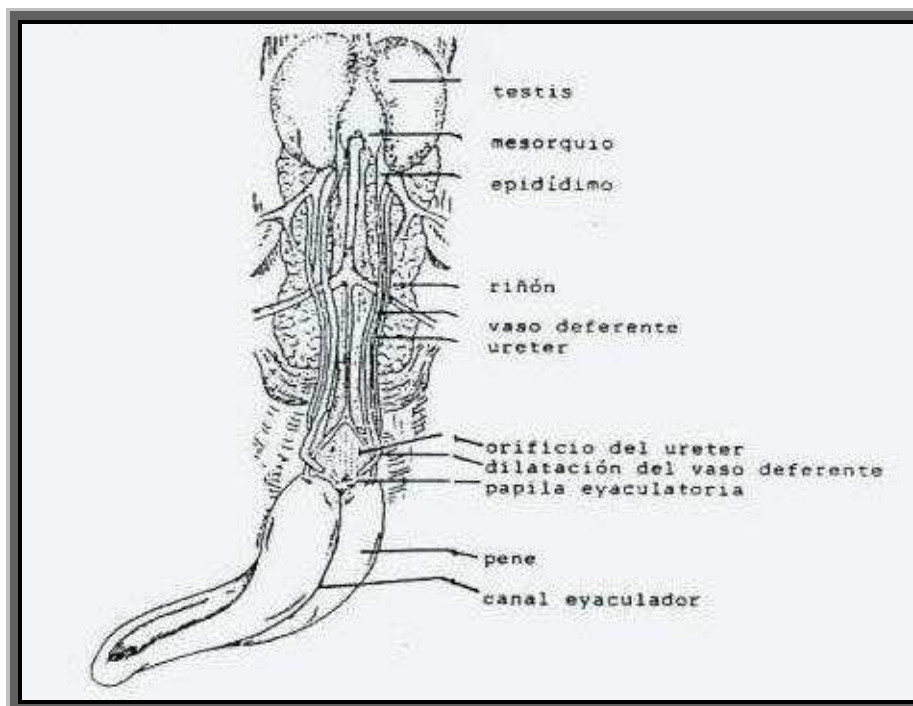


Fig 5: Órgão reprodutor do macho de avestruz. Fonte: Garcia et al., 1997

4.4.2 Aspectos endócrinos

Os avestruzes machos também sofrem influências do fotoperíodo (Degen, 1994; Hick-Allredge, 1996; Huchzermeyer, 2000) diferentemente de galos domésticos (Bajpai, 1962; Maciel et al., 2008). Nestas ratitas, com o aproximar do período reprodutivo, ocorre um aumento da concentração de LH seguindo-se do aumento da concentração basal de testosterona, aproximadamente 30 dias antes do pico da estação de postura (Degen et al., 1994). A função primária do aumento da concentração de LH é o estímulo a hipertrofia das células de Leydig e a conseqüente esteroidogênese nos testículos (Etches, 1996). O aumento da testosterona circulante é responsável por manifestações sexuais secundárias, como o avermelhamento do bico e tarsometatarso (Kornfeld, 2004; Huchzermeyer, 2000) e da bolsa fálica (Silva, 2008). Em outras aves sazonais, o aumento da concentração da testosterona plasmática causa comportamento de cópula, vocalização e defesa de território (Góes, 2004).

4.4.3 Coleta de sêmen

A coleta de sêmen de aves já foi descrita por alguns autores, como Burrows e Quinn (1937), pela massagem abdominal de galos e perus; por Serebtovskii et al. (1934), com o uso de estímulo elétrico; por Onishi et al. (1955), com o uso de cloaca artificial em patos e por Gvaryahu et al. (1984), em marrecos (todos citados por Rozenboim et al., 2003).

Em Ratitas, o primeiro trabalho sobre coleta de sêmen foi publicado por Rautenfeld (1977), utilizando massagem digital na papila seminal e aplicação de 5UI de ocitocina, intravenosa, 2 a 4 minutos antes da coleta, com a ave sob contenção e encapuzada. A obtenção de sêmen foi possível, porém este foi de baixa qualidade devido à alta contaminação por urina.

Irons et al. (1996) utilizaram a técnica de massagem digital na papila ejaculatória descrita por Rautenfeld (1977) com algumas modificações, associada e não associada ao uso de ocitocina para estímulo a ejaculação.

Outros estudos sobre coleta de sêmen foram posteriormente realizados em emus (Malecki et al, 1997) com o uso de cloaca artificial. Foram testadas duas técnicas: uma com emus condicionados à presença humana, consistindo na colocação da cloaca artificial diante do falo no momento da cópula com a fêmea. A outra técnica consistiu em condicionar os machos a tentar a cópula com a pessoa que faria a coleta de sêmen. O coletador abaixa-se à aproximação do macho, oferecendo as costas ao animal. Na tentativa da monta, o coletador oferece e posiciona a cloaca artificial para a ejeção. O método mostrou-se eficiente, porém apresenta a dificuldade da necessidade de condicionamento dos animais.

Na mesma linha de uso de cloaca artificial, Bubier et al. (1998) realizaram experimento com avestruzes, não obstante, conseguiram resultados pouco satisfatórios, já que nesta espécie o condicionamento é mais difícil e o macho apresenta agressividade e peso maiores, podendo oferecer riscos ao coletador.

Hemberger et al. (2001) utilizaram a técnica de massagem digital da papila seminal descrita por Rautenfeld et al (1977) e Irons et al. (1996), e considerou ser um método eficiente produzindo ejaculado de boa qualidade.

Outras técnicas têm sido buscadas e, em 2003, Rozemboim e colaboradores testaram comparativamente quatro métodos de coleta de sêmen em avestruzes, todos permitindo a cópula natural do macho com a fêmea, sendo a coleta realizada no momento antes da penetração. As quatro metodologias de coleta testadas foram: uso de cloaca artificial, uso de funil, coleta a vácuo (à semelhança do procedimento realizado com perus) e com tubo de vidro colocado no ducto seminal. Os dois últimos métodos apresentaram qualidade melhor do ejaculado, sendo o método da cloaca

artificial abandonado logo no início do experimento devido ao estresse causado aos animais. As técnicas pressupunham uma tolerância das aves à presença do coletador (*imprinting*).

Góes (2004) coletou sêmen de ema pelo método de massagem digital na base do falo, com o animal contido em uma caixa de madeira, já que apenas o uso do capuz mostrou-se ineficiente para permitir o procedimento na espécie.

Rybnick et al. (2007) testaram a coleta com o uso de uma fêmea provocando manualmente o desvio do falo para a cloaca artificial no momento da cópula, além de um manequim semelhante a uma fêmea para a coleta. As amostras obtidas foram satisfatórias, porém notou-se novamente a dificuldade em condicionar os animais à presença do manequim ou do coletador.

4.4.4 Avaliação do sêmen

Irons et al. (1996) afirmaram, após coleta realizada segundo a técnica modificada de Rautenfeld (1977), que a concentração espermática de avestruzes variou entre 10^6 e 10^8 células espermáticas por mL. Já Hemberger et al. (2001) e Rozemboim et al. (2003) encontraram uma concentração aproximada de 7 a 8×10^9 espermatozoides por mL, na estação reprodutiva, à semelhança do encontrado por Malecki et al. (1997) em emus. Ainda, Hemberger et al. (2001), em estudo comparativo com uma, duas e três coletas por semana, afirmaram que a densidade de espermatozoides no ejaculado se reduz drasticamente quando realizada mais de uma vez no período. Góes (2004) encontrou em emas concentrações semelhantes ao encontrado por Hemberger et al. (2001). Rybnick et al. (2007) descreveu concentrações médias de 4×10^9 .

O volume de sêmen coletado foi de 0,1 a 1,5mL, média de 0,6mL, tanto nos resultados de Irons et al. (1996), sem uso da

ocitocina, quanto nos de Hemberger et al. (2001). Já Rybnik et al. (2007) obteve volumes médios maiores, de 1,09mL. A coloração do sêmen variou de branco a marfim e o pH de 6,4 a 8,0, segundo todos os autores.

O espermatozóide de ave possui movimento mais letárgico se comparado ao de mamíferos domésticos, promovendo baixa movimentação pelo campo ocular do microscópio, apesar dos amplos movimentos dos flagelos (Irons et al., 1996), sendo a avaliação do vigor prejudicada. Já Hemberger (2001) adaptou o conceito de “motilidade individual”, independente do seu deslocamento pelo campo.

Irons et al. (1996) encontraram uma motilidade de 26,5% na pré-estação, 48% no meio da estação e 28,7% na pós-estação de postura. Hemberger et al. (2001) encontraram a motilidade entre 42 e 96%, média de 78%, sendo que em 42% das amostras, a motilidade foi igual a zero. Já Rozenboim et al. (2003) concederam motilidade máxima em todas as suas amostras, atribuindo a discrepância de motilidade com o encontrado por Irons et al. (1996) à diferença da técnica de coleta. Rybnik et al. (2007) encontraram motilidade média de 43%. Em emas, Góes (2004) apresentou em seus resultados uma variação de motilidade entre 40 e 80%.

Em relação à morfologia espermática, os espermatozóides de aves geralmente apresentam dimensões menores que os de

mamíferos, medindo em média 9,2 μ m. A cabeça abriga o núcleo e seu acrossoma é simples e encapsulado pela membrana citoplasmática. A cauda divide-se em corpo, peça intermediária, peça principal e peça final (Johnson, 1986).

Rozenboim et al. (2003) constataram que muitas células espermáticas anormais foram detectadas no sêmen no início da estação reprodutiva, diferentemente de Soley (1996) que não encontrou relação entre a estação reprodutiva e a quantidade de células espermáticas anormais. Irons et al. (1996) relataram que a anormalidade mais freqüente foi a gota citoplasmática na peça intermediária. Hemberger et al. (2001) revelaram que em seus estudos a porcentagem de células anormais variou de 5 a 26%, com uma média de 17%. Afirmaram também que a porcentagem de espermatozóides normais variou de 72,8% na pré-estação, 77,4% no meio da estação e 73,2% na pós-estação reprodutiva. Sugeriram que o número de espermatozóides normais desejado não deve ser menor que 60%. Hemberger et al. (2001) concorda com Soley et al. (1991) ao afirmar que o parâmetro mais importante para avaliação da fertilidade de avestruzes é a morfologia espermática. Ainda, Irons et al. (1996) cogitaram que a técnica descrita por Rautenfeld (1977) e adaptada por eles pode não ser representativa do que realmente é ejaculado fisiologicamente, apesar de poder ser utilizado com sucesso na avaliação reprodutiva da ave.

5. MATERIAIS E MÉTODO

5.1 Período e local do experimento

O experimento foi realizado entre fevereiro de 2008 e janeiro de 2009, no criatório comercial *Pure Avestruz*, localizado na Fazenda Flamboyant, devidamente registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A fazenda localiza-se a 100 km de Belo Horizonte, no Centro-Oeste do Estado, na zona rural do município da cidade de Carmo-do-Cajuru, MG, tendo como coordenadas cartográficas 20°10'42'' lat. S. e 44°46'06'' long. W.GR, a 770m de altitude.

Os machos foram separados das fêmeas, em piquetes coletivos e mantidos nestes ao longo do experimento. Uma estrutura em alvenaria estava disponível, possibilitando um local adequado para avaliação espermiática e ultrassonográfica.

Os piquetes não dispunham de cobertura vegetal e possibilitavam um contato visual entre os dois gêneros por serem adjacentes.

5.2 Animais e manejo diário

Foram selecionados avestruzes (*Struthio camelus*) mestiços da raça *African Black* e *Blue Neck*, com idade aproximada de quatro anos, cinco machos e nove fêmeas. Nos machos foi utilizado como critério para inclusão no experimento o comprimento do falo igual ou maior a 15cm. As fêmeas foram escolhidas ao acaso entre as que apresentavam boa condição corporal.

Os animais foram marcados com brincos e microchip e foram submetidos à vermifugação. O exame clínico constatou a ausência de ectoparasitas. Os exames para detecção de *New Castle*, *Salmonella* e *Mycoplasma*, exigidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento estavam em dia, todos negativos.

Diariamente era oferecido aproximadamente 1,5kg (um quilo e meio) de ração balanceada tipo *Manutenção* para avestruz (PB: 13%), mesmo em período reprodutivo, e 1,0kg (um quilo) de capim *napier* picado, no cocho, independentemente da época do ano, por animal. A água permanecia *ad libitum*.

A contenção dos animais era realizada com o auxílio de um gancho próprio para a contenção da espécie e logo depois era colocado um capuz, com o intuito de acalmar a ave, deixando as narinas livres (Figs 6 e 7). As fêmeas eram levadas para uma estrutura de apoio para a coleta sanguínea e exame ultrassonográfico, com duração aproximada dos procedimentos de 15 minutos por fêmea. Nos machos o procedimento de coleta de sêmen era realizado *in loco*, no piquete, e a avaliação espermiática na estrutura de apoio, com duração aproximada dos procedimentos de 20 a 25 minutos por ave.

Os ovos encontrados no piquete das fêmeas integrantes do experimento eram colhidos e feita a anotação em ficha própria pela gerente da fazenda, obtendo-se a média mensal de ovos.



Figs 6 e 7: Contenção de avestruz. Na figura da esquerda, contenção com auxílio de gancho próprio para a espécie. À direita, fêmea com capuz, permitindo a aproximação e manipulação.

5.3 Fêmea

No início do experimento, foi constatado que o antímero que oferecia melhor visualização dos folículos, pela técnica de ultrassonografia transcutânea, era o direito. Portanto, o exame ultrassonográfico foi realizado pelo flanco direito. O transdutor convexo de 5,0mhz era colocado na região apterigena ventral direita, caudalmente ao fêmur, logo após a última fileira de penas.

Gel específico era aplicado no transdutor para otimizar o contato com a pele. O local de permanência da equipe foi escurecido com um pano preto (tipo “cabana”) para melhor visualização da tela do ultrassom. Uma varredura dorso ventral e caudo cranial era então realizada para avaliação da atividade folicular (Fig 8). Estes, quando presentes, eram contados e foi padronizada a mensuração do diâmetro dos folículos no sentido diagonal.



Fig. 8: Exame ultrassonográfico de folículos ovarianos em avestruz

5.4 Macho

5.4.1 *Escore de bico, coleta de sêmen e mensuração de falo*

Mensalmente era avaliada a intensificação da coloração vermelha do bico dos machos selecionados, atribuindo-se escores de 1 a 5, onde 1 referia-se a coloração rósea clara e 5 a coloração vermelha intensa.

A coleta de sêmen foi realizada conforme descrito por Rautenfeld (1977) e Irons et al., 1996. Contudo, não foi utilizada estimulação endócrina com o uso de ocitocina devido a possibilidade de contaminação por urina da amostra, relatada por Hicks-Aldredge (1996) e Hemberger et al. (2001), o que foi também constatado no experimento piloto. A técnica é descrita a seguir: com a ave sob contenção e encapuzada, a extremidade distal do falo era evertida parcialmente com dois dedos da mão enluvada. Em seguida, a mão era inserida no proctodeo e pressão era aplicada no sentido ao exterior, provocando a eversão parcial do órgão. Neste instante, uma compressa era utilizada para gentilmente auxiliar na exteriorização do falo. Com o órgão exteriorizado, um dedo era inserido na prega uro-proctodeal até as papilas seminais que eram tateadas e massageadas alternadamente. Após um tempo variável de poucos segundos a aproximadamente 3 minutos, ocorria a ejaculação. O sêmen escorria principalmente no sulco ejaculatório e era coletado com um tubo coletor graduado. Logo após, era realizada a mensuração do falo com fita métrica. Uma única coleta mensal foi realizada por animal.

5.4.2 *Avaliação espermática*

5.4.2.1 *Avaliação a campo (cor, volume, motilidade)*

anormalidade e células normais era contabilizada. Em amostras de sêmen com concentração insuficiente para a contagem

No laboratório *a campo*, o volume do sêmen era medido em tubo graduado com precisão de 0,1ml e era realizada a avaliação da amostra (cor e possíveis contaminações por urina). Para a avaliação de motilidade e vigor, 10µL de sêmen fresco era imediatamente colocado em lâmina aquecida em placa aquecedora a 38° e, logo após, coberta com lamínula. Em um microscópio ótico, no aumento de 400X, a motilidade foi avaliada com a atribuição de porcentagens de 0 a 100%, crescente segundo a quantidade de espermatozóides em atividade no campo do microscópio. Na ocasião, foram diluídos 20µL em 0,5mL de formol salina (1:25) em tubo *ependorf* para posterior cálculo da concentração. Também foi coletada amostra em formol salina para avaliação posterior da morfologia. Amostras que apresentavam contaminações, como rajadas brancas (urina), odor ou cor incompatíveis com ejaculados não eram consideradas.

Devido ao fato do espermatozóide de ave não apresentar boa movimentação no campo ocular, conforme descrito por Irons et al. (1996) e constatado ao longo do experimento, não foi considerado neste trabalho o parâmetro *vigor*.

5.4.2.2 *Avaliação no laboratório (concentração e morfologia)*

No laboratório do Setor de Reprodução da Escola de Veterinária da UFMG, a concentração era calculada pela contagem em câmara de hematimetria (*Neubauer*), utilizando-se das recomendações usuais para contagem de células.

Já a morfologia dos espermatozóides foi avaliada em microscópio de contraste de fase, no aumento de 400 e 1000X. Duzentos espermatozóides eram avaliados e a porcentagem de cada das 200 células, um número menor de células era avaliado. Os espermatozóides

anormais foram agrupados segundo sua fortemente enrolada e gota proximal; defeitos menores: cabeça isolada, gota distal, cauda enrolada e cauda dobrada. A patologia

5.5 Fotoperíodo e Pluviosidade

O período médio de insolação foi considerado como a média entre o dia 1 e o último dia de cada mês, do tempo entre o nascer e o ocaso do sol na cidade de Carmo do Cajuru, MG, obtido no domínio do Observatório Nacional (www.on.br). Devido ao fato de diversos autores relatarem a sensibilidade à umidade como fator de influência na atividade reprodutiva (Sauer, 1972, citado por Huchzermeyer, 2000, Degen et al., 1994) consideramos a quantidade de dias de chuvas mensal, no lugar de mm/chuva/mês. Estes foram obtidos no domínio do Instituto Nacional de Meteorologia (www.inmet.gov.br). Dos dados obtidos foi realizada a média aritmética mensal.

5.6 Análise estatística

A análise estatística se iniciou pela identificação de possíveis tendências nos dados amostrados através da análise de estatística descritiva, realizada inicialmente através da interpretação dos valores das

patologia: defeitos maiores: cauda *cabeça dobrada* também foi considerada neste trabalho.

médias e dos desvios padrão das variáveis registradas. Possíveis associações entre as variáveis foram verificadas através da testes de correlações entre os mesmos.

O teste estatístico não paramétrico Mann-Whitney (U) foi aplicado para verificar as diferenças entre a quantidade de ovos postos mensalmente em dois agrupamentos ao longo do ano, o primeiro comparando os dados obtidos do período de menor postura observada (de fevereiro à maio) e do outro período de maior postura mensal (de julho a janeiro).

Possíveis diferenças mensais na variação anual do diâmetro e quantidade dos folículos, defeitos maiores, defeitos menores e morformetria do falo ao longo do ano foram verificadas através de análise de variância e o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, com o teste Student-Newman-Keuls para comparações, quando necessárias. Todas as análises foram executadas com o auxílio do software Bioestat 5.0 com um nível de significância de p de 5%.

6. RESULTADOS

6.1– Fêmea

de oito meses, correspondentes aos meses de junho a janeiro. A postura durante esses

A atividade folicular foi avaliada pela quantidade (Fig. 13) e tamanho dos folículos presentes, quando presentes. Considerou-se como alta atividade folicular a presença de mais de três folículos sendo o maior igual ou maior que 6 cm (Fig. 14), conforme descrito por Bronneberg et al. (2003). A quantidade de folículos e o diâmetro do folículo maior apresentaram alta correlação entre si ($r=0,9$; $p<0,001$), porém não apresentaram correlação com a postura ($r=0,15$; $p=0,15$ em ambos).

O período reprodutivo, caracterizado pelos meses de maior postura, teve uma duração meses foi maior do que os meses de fevereiro a maio ($p=0,006$)

Comparando-se os meses de maior postura, junho a janeiro, com os meses de menor postura, fevereiro a maio, encontrou-se diferença significativa na quantidade de folículos ($p=0,018$) e no tamanho do folículo maior ($p=0,027$), mostrando uma maior atividade folicular no período reprodutivo. Esta atividade não apresentou correlação com a quantidade de dias de chuva mensal ($r=-0,08$, $p=0,44$).



Fig. 09: Numerosos folículos menores (<6cm) em avestruz, maio de 2008

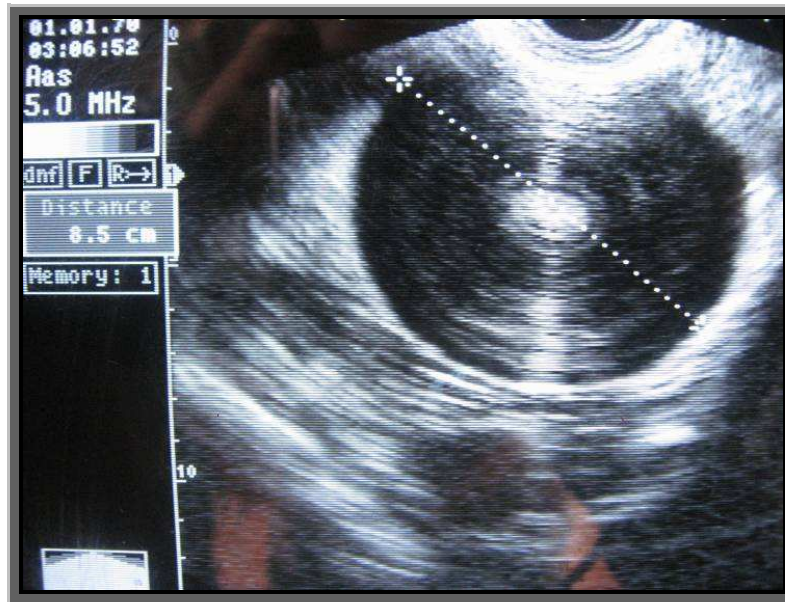


Fig. 10: Mensuração de folículo maior (>6,0cm) em avestruz, outubro de 2008.

uma permaneceu com atividade folicular durante todo o ano e outra mostrou maior atividade fora da estação reprodutiva.

Das nove fêmeas examinadas, uma permaneceu com atividade folicular durante todo o ano e outra mostrou atividade folicular inversa com a do grupo. Uma ave

não apresentou atividade significativa por todo o período do experimento.

Sobre o fotoperíodo, houve correlação positiva ($r=0,48$; $p<0,01$) entre este e a postura, confirmando a sensibilidade ao aumento da luminosidade da fêmea de avestruz (fig. 15).

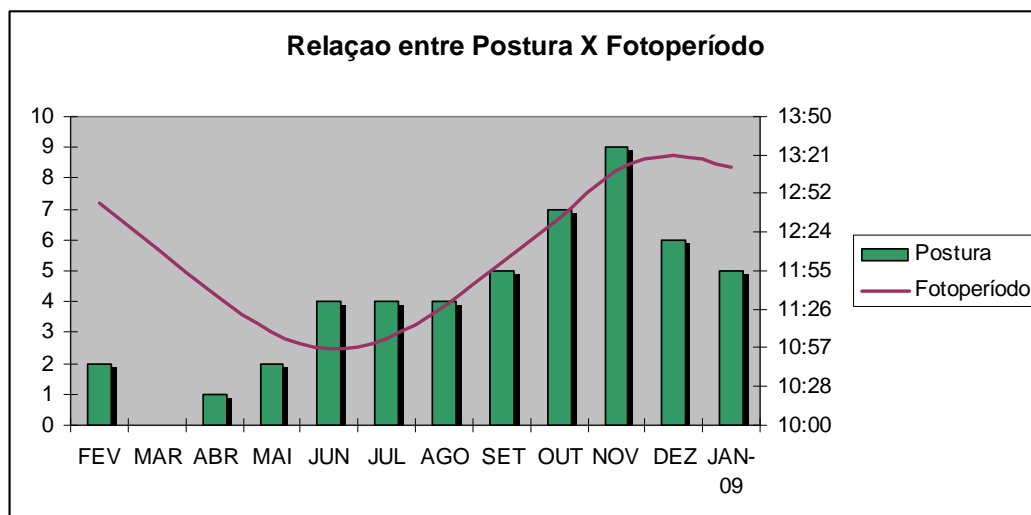


Figura 11: Relação entre Postura e Fotoperíodo: período de maior luminosidade corresponde ao período de maior média de ovos em avestruzes

6.2 Macho

Em experimento piloto verificou-se que o uso de 5UI de ocitocina descrito por Rautenfeld (1977) provocou, além da liberação do sêmen, a liberação de urina, contaminando a amostra. Portanto foi descartado o uso do hormônio exógeno para coleta de sêmen, como foi realizado no trabalho de Hemberger et al (2001).

A técnica mostrou-se eficiente para coleta de sêmen e avaliação espermática da ave. Foi obtido sêmen com coloração variando entre translúcido a branco leitoso.

O volume coletado, desprezando-se os ejaculados que apresentavam contaminações aparentes, variou de 0,1 a 3,2mL, com média de 1,03mL, e 0,87mL considerando-se apenas o período reprodutivo.

Os meses entre novembro e julho apresentaram diferença significativa com os

meses de agosto a outubro, pela análise da média da motilidade ($p=0,003$), porcentagem dos espermatozoides normais ($p<0,001$) e concentração de espermatozoides ($p=0,002$). Com isso, verificou-se que o período reprodutivo do macho foi de nove meses e é maior que o da fêmea, de oito meses. Considerando as amostras que apresentavam espermatozoides vivos, a avaliação *in loco* da motilidade apresentou uma média de 24%, sendo maior na época reprodutiva, com valor médio de 30%. A porcentagem de sêmen com ausência de motilidade em relação ao total de amostras foi de 30%.

A concentração espermática variou de 71.250 a 2.050.000.000 espermatozoides/ml (fig. 16) , com média de 163.569.819 espermatozoides/ml (fig. 17), sendo 214.050.093 a média no período reprodutivo e 12.125.000 fora deste (Fig.18).

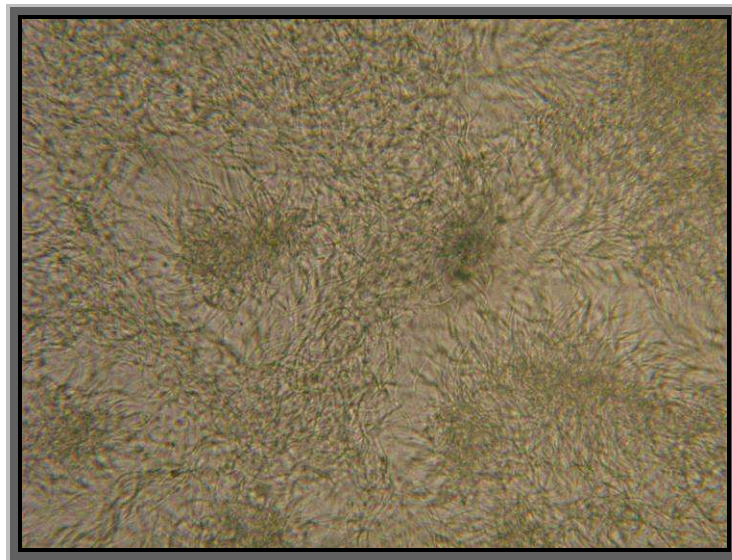


Fig. 12: Sêmen de avestruz com alta concentração espermática (2 bilhões espermatozói/ml) encontrada em experimento com avestruz

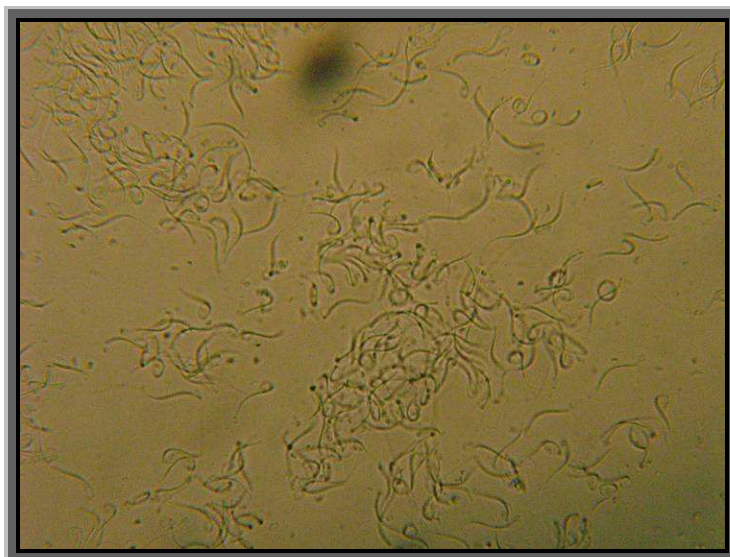


Fig. 13: Sêmen de avestruz com concentração média (200 milhões/ml) de espermatozóides em experimento com avestruz



Fig. 14: Sêmen de avestruz com concentração baixa (um milhão/ml) de espermatozóides em experimento com avestruz

Não houve correlação entre fotoperíodo e a concentração espermática ($r=0,30$; $p=0,144$). Houve correlação moderada entre esta e o número de dias de chuva mensal ($r=0,42$; $p=0,036$).

Sobre a morfologia espermática, foi obtida uma média anual de 44% de espermatozóides normais sendo que no

período reprodutivo esta foi maior ($p<0,001$), de 54%. O trimestre de maior porcentagem de espermatozóides normais, entre 64% e 70%, foi o de fevereiro a abril. Julho, último mês com atividade média testicular considerável, apresentou o pico mensal de espermatozóides normais, 72%, com índices de defeitos maiores de 19% e menores de 17%. Uma maior incidência dos

defeitos maiores ocorreu nos meses de agosto, novembro e dezembro e os defeitos menores nos meses de agosto, setembro e outubro. O defeito de maior ocorrência foi o de cauda dobrada (38%, 30%), seguido de gota (17%, 16%), cabeça dobrada (5%, 7%), cauda enrolada (3%, 2%), cauda fortemente enrolada (2%, 0%) e, finalmente, cabeça

isolada (2%, 1%), para média anual (Tabela 1) e do período reprodutivo (tabela 2), respectivamente.

O resumo da avaliação espermática em período reprodutivo está apresentado na tabela 3.

Tabela 1: Incidência de defeitos dos espermatozoides de avestruz (*Struthio camelus*) n=45

Espermatozoides	
Defeito	%
Cauda dobrada:	38
Gota	17
Cabeça dobrada:	5
Cauda enrolada	3
Cauda fortemente enrolada	2
Cabeça isolada	2

Tabela 2 Incidência de defeitos dos espermatozoides de avestruz (*Struthio camelus*) em época reprodutiva (Novembro a julho) n=45

Espermatozoides - Reprodução	
Defeito	%
Cauda dobrada:	30
Gota	16
Cabeça dobrada:	7
Cauda enrolada	2
Cauda fortemente enrolada	0
Cabeça isolada	1

Tabela 3: Características seminais de avestruz (*Struthio camelus*) em período reprodutivo (novembro a julho) n=45

Características seminais de Avestruz em atividade testicular (Novembro a Julho)			
Característica	Unidade	Média ± DP	Faixa
Volume	ml	0,87± 0,56	0,1 a 3,2
Motilidade	%	26± 17	0 a 65%
Concentração	milhoes/ml	213,717± 292,258	7.125.000X10 ⁻² a 2.050.000X10 ³
Esptz normais	%	54± 23	0 a 99%
Defeitos maiores	%	14± 2	1 a 95%
Defeitos menores	%	31± 27	1 a 85%
Amostras com Motilidade=0	%	30	-

A avaliação de escore de bico apresentou variações entre 4 e 5. Exceção feita ao macho 871 que foi visto em disputas com outros animais do grupo em setembro, coincidindo com o início do clareamento gradual do bico (menor escore) nos meses seguintes. O animal foi então colocado isolado em piquete anexo, verificando-se um aumento gradativo da coloração avermelhada até a recuperação aos níveis médios do escore do grupo. Não houve correlação entre a variação do escore do bico e o fotoperíodo ($r=-0,22$; $p=0,503$).

A variação média do tamanho do falo não apresentou variação que caracterizasse qualquer sazonalidade, não apresentando diferença significativa ao longo do ano ($p=0,068$), sempre com valores entre 20 e 35cm, sendo o limite inferior atingido apenas pelo macho 871, após conflitos com outras aves do piquete. Para os demais, o limite inferior foi de 25cm. Não houve correlação significativa entre o tamanho do falo com o fotoperíodo ($r=-0,09$; $p=0,50$) e o número de chuvas mensal ($r=-0,07$; $p=0,60$).

7. DISCUSSÃO

7.1 Fêmea

No início do experimento, verificou-se que o antímero que oferecia o melhor acesso para exame ultrassonográfico era o direito, em contraponto ao descrito por Bronneberg e Taverne (2003) e Bronneberg et al. (2007) que relataram como o melhor acesso o lado oposto. Apesar de apenas o ovário esquerdo estar presente nas aves (Bahr e Johnson, 1991), provavelmente o lado direito apresentou melhor acesso devido ao fato do pró-ventrículo (estômago) e ventrículo (moela) estarem situados anatomo-topograficamente basicamente no lado esquerdo (Tully e Shane, 1996) deixando o lado direito mais livre para outras estruturas, como o ovário.

O aumento da atividade folicular constatada pela ultrassonografia, definida pelo tamanho do folículo maior e quantidade de folículos, acompanhando o incremento da postura mostra que o método ultrassonográfico pode estimar a qualidade reprodutiva da ave, no momento do exame. A baixa correlação obtida entre esta atividade e a postura pode ter ocorrido devido à menor variação da atividade folicular ao longo do ano. Ou seja, mesmo em épocas de reduzida postura, algumas aves mantinham sua alta atividade folicular, diminuindo desta forma o grau de correlação.

Os resultados de atividade folicular e média de postura ao longo do ano ofereceram subsídios para estabelecer a estação de postura, na maioria das aves, com duração média de oito meses (abril a novembro), havendo, contudo, variações de 6 a 10 meses. O período assemelha-se ao encontrado por Silva (2008) em levantamento realizado em avestruzes criados no Sudeste e Centro-Oeste do Brasil.

Apesar de uma ligeira queda da postura no mês de dezembro, período este de maior concentração das chuvas (21 dias de chuva), não houve correlação entre a postura e a atividade folicular com a quantidade de chuva. O resultado vai em contraponto ao verificado por Sauer (1972, citado por Huchzermeyer, 2000), Degen (1994), Garcia et al. (1995), Huchzermeyer (2000), Kornfeld et al. (2004) e Silva (2008) que relataram a sensibilidade da ave a pluviosidade.

7.2 Macho

Apesar da técnica mostrar-se eficiente para avaliação espermática do avestruz, concordamos com Irons et al. (1996) e Hemberger et al. (2001), quando afirmam que a amostra colhida pode não representar a real morfologia espermática do ejaculado em montas naturais. Fatores que subestimem a qualidade do sêmen como choques térmicos, contaminações, principalmente por urina e fezes, devem ser considerados ao avaliar reprodutivamente uma ave.

Neste estudo, em relação à média de motilidade, percentual de espermatozoides normais e concentração espermática, foram obtidos valores inferiores aos de Irons (1996), Hemberger et al. (2001) e Rozenboim et al. (2003). Deve-se ressaltar o número reduzido de animais testados, cinco animais, apesar da obtenção de um número considerável de amostras (n=45).

A concentração de espermatozoides sofreu uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,017$) nos meses fora da época reprodutiva (agosto, setembro e outubro) em relação aos outros meses do ano. Há, portanto, um período de diminuição da atividade testicular e até quiescência em algumas aves, com diminuição ou ausência da produção de espermatozoides. A média de concentração obtida em época

reprodutiva de aproximadamente 214 milhões de espermatozóide/mL em época reprodutiva condiz com o estudo de Irons et al. (1996), que obtiveram valores entre 1,67 a 636 milhões/mL, porém está aquém do encontrado por Hemberger et al. (2001) e Rozemboim et al. (2003), que relataram valores de 7 a 8 bilhões de espermatozóides/mL. Contudo, foram obtidas algumas amostras superiores a 500 milhões de espermatozóides/mL e uma amostra apresentou concentração superior a 2 bilhões de espermatozóides/mL, com maior proximidade ao obtido pelos últimos autores.

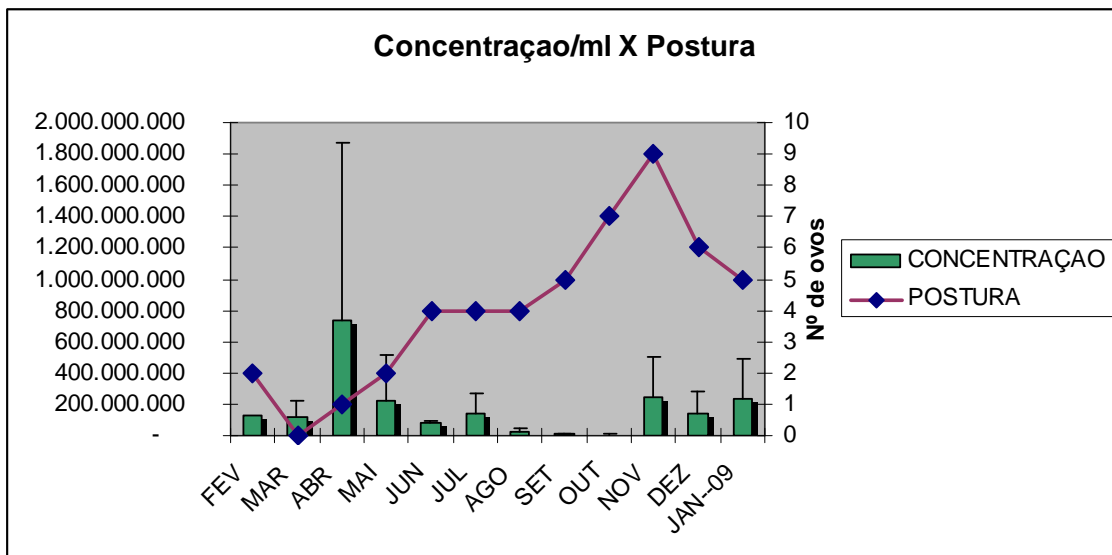
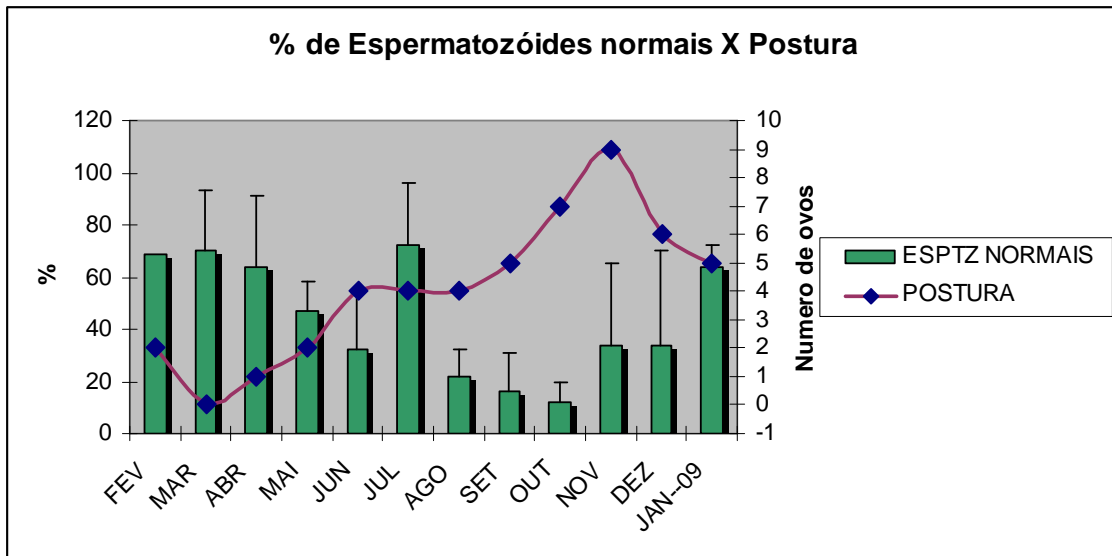
O fato de não ocorrer correlação entre fotoperíodo e a concentração espermática ($r=0,30$; $p=0,144$) e existir uma correlação positiva com a quantidade de dias de chuva mensal ($r=0,42$; $p=0,036$), nos sinala que o macho de avestruz apresentou maior sensibilidade a outros fatores, além do fotoperíodo. Contudo, devido ao número de indivíduos testados ser reduzido, os resultados devem ser considerados com precaução.

Em relação aos índices de espermatozóides normais, houve variação da sua porcentagem deste ao longo do ano, sendo esta maior em época reprodutiva ($p<0,001$). Os resultados assemelham-se aos de Rozemboim et al (2003) mas apresentam contraponto aos de Soley (1996) que não encontrou diferença estatística ao longo da estação reprodutiva. O trimestre de maior porcentagem de espermatozóides normais, entre 64% e 70%, foi o de fevereiro a abril, período este entre os mais baixos índices de postura.

O estudo das patologias espermáticas revelou que os defeitos de maior incidência foram o de cauda dobrada e gota citoplasmática, conforme já descrito por Irons et al. (1996). Os autores sinalizam que a porcentagem de espermatozóides normais não deve ser menor que 60%. A média de espermatozóides anormais de 46% é bem maior que o relatado por Irons et al. (1996), 23%, Hemberger et al. (2001), de 17% e Hemberger et al. (2008), de 17%.

Entre os meses de julho a dezembro, período de menor concentração de espermatozóides, a média do volume do ejaculado, 1,0ml, foi maior que o descrito por Hemberger et al (2001) e Rozemboim et al. (2003), de 0,6mL em ambos os trabalhos, e intermediário entre as duas técnicas de coleta descrita por Irons et al. (1996), com e sem o uso da ocitocina, de 0,6 e 1,5mL, respectivamente. Como o procedimento de coleta de sêmen foi realizado inclusive fora da estação reprodutiva, era comum a coleta de sêmen com volume considerável, porém com baixa ou nenhuma presença de espermatozóides. Este volume foi considerado para cálculo da média.

Apesar de verificar-se uma extensão do período de maior atividade testicular, abrangendo os meses de novembro a julho, tendo os meses de maior concentração média em abril, novembro e janeiro, constatou-se que o período de baixa atividade testicular (agosto a outubro) estava entre os meses de maior postura do grupo experimental (Figs. 15 e 16). Na prática, em situações similares na criação comercial, é de se esperar que os índices de infertilidade sejam altos neste trimestre.



Figuras 15 e 16: Relação entre a porcentagem de espermatozóides normais e concentração/ml com postura, mostrando que no trimestre de menor atividade testicular (agosto a outubro) houve alta oviposição e no quadrimestre de menor postura (fevereiro a maio) houve uma alta atividade testicular.

O grupo experimental de machos apresentou período reprodutivo definido, sensível a outros fatores, além da luminosidade. Apesar do período médio de maior atividade testicular do grupo ter permanecido por nove meses, as aves, individualmente, apresentaram alta atividade testicular por período máximo de seis meses, tendo uma ave permanecido por sete meses. A assincronia da atividade

espermática dos indivíduos, entrando em atividade em tempos diferentes, provocou esta extensão do período médio de alta atividade testicular.

Ao permanecer o grupo avaliado com escore de bico entre 4 e 5 ao longo do ano, com exceção do macho 871, conclui-se que este parâmetro não ofereceu subsídios para avaliar a sazonalidade reprodutiva do

grupo. O mesmo ocorreu com a avaliação do tamanho do falo ao não apresentar diferença estatística ($p=0,503$) ao longo do ano. Contudo, o evento ocorrido com o macho 871 de brigas e submissão com outras aves do piquete com a conseqüente diminuição do escore de bico para 1 e remissão do tamanho do falo para 20 cm e, após sua separação, a recuperação aos

parâmetros médios do restante do grupo testado, sinaliza que uma ave mantida em colônia e que esteja em posição hierárquica inferior, pode apresentar índices reprodutivos aquém do desejado, e, quando separada, pode apresentar índices similares aos encontrados em outras aves do grupo.

8. CONCLUSOES

a) A fêmea de avestruz apresentou período reprodutivo médio de oito meses, abrangendo os meses de junho a janeiro e o macho de nove meses, maior que o da fêmea, abrangendo o período entre novembro e julho. Não houve coincidência total dos dois períodos.

b) A fêmea mostrou-se mais sensível ao fotoperíodo que o macho e nenhum apresentou correlação com pluviosidade;

c) A análise folicular pelo método de ultrassonografia e do sêmen oferece subsídios para avaliação reprodutiva do avestruz, desde que considerado os fatores ambientais, comportamentais e corporais da ave;

d) O antímero de eleição para a ultrassonografia folicular foi o direito;

e) O tamanho do falo e avaliação do escore de bico não apresentaram diferença estatística significativa ao longo do ano;

f) A média anual da porcentagem de espermatozoides normais foi de 44%, sendo que na época reprodutiva apresentou-se maior de 54%. A concentração variou dos valores aproximados de 70mil a 2 bilhões, com média em época reprodutiva de 215 milhões.

g) O defeito de maior incidência nos espermatozoides foi de cauda dobrada seguido de gota ciptoplasmática.

9. CONSIDERAÇÕES

É visível no grupo estudado que o período reprodutivo do macho e da fêmea não coincidiu por completo, o que, em situações comerciais, poderia ter provocado um aumento dos ovos inférteis com diminuição da eficiência reprodutiva. Os índices reprodutivos obtidos foram aquém do encontrado em outros países.

Uma das causas pode ser a ausência de seleção no plantel nacional considerando aspectos reprodutivos, como a avaliação espermática, folicular, postura, entre outros. Deve-se, portanto, iniciar esta seleção, com intuito de incrementar a eficiência reprodutiva do plantel brasileiro e sua conseqüente redução dos custos de produção.

Esta seleção deve considerar as particularidades da região em que o criatório se encontra. Uma das estratégias propostas é a diminuição da amplitude da estação reprodutiva e sobreposição da estação da fêmea com a do macho, já que houve variações individuais fazendo com que alguns avestruzes ovulassem ou produzissem espermatozoides viáveis durante oito a nove meses por ano. Com a seleção voltada para estabelecimento de um período reprodutivo menor, de seis a sete meses, os esforços seriam concentrados neste período, gerando vantagens tais como: desligamento das máquinas de incubação no

período não-reprodutivo, responsável pelo maior custo com energia da atividade; possibilidade de manejo sanitário adequado das máquinas e instalações oferecendo a oportunidade de aplicar um vazão sanitário (*all-in, all-out*) na entressafra; maior quantidade de ovos férteis pela sincronização dos períodos reprodutivos; programação de procedimentos sanitários fora da estação reprodutiva em todo o criatório, como coleta de amostras para os exames exigidos pelo MAPA, vermifugações, manejo de plumas, entre outros. Pesquisas também devem ser incentivadas para a instauração de métodos de sincronização dos períodos reprodutivos, tais como protocolos hormonais, nutricionais, ou outro, estabelecendo claramente uma estação reprodutiva.

Machos mantidos em colônias que apresentarem avaliação reprodutiva insuficiente devem ser retirados desta e colocados em piquetes com fêmeas ou isolados para, após alguns meses, reavaliação, pois podem estar sofrendo inibição reprodutiva pela dominância de outros machos. Como entre as fêmeas de avestruzes também ocorre processo hierárquico (Carrer et al., 2004), é possível que o mesmo processo de inibição folicular ocorra, recomendando-se, portanto, que também seja avaliada isolada de outras fêmeas.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M. A. Sthruotioniformes (Ema, Avestruz) In: CUBAS, Z.S., SILVA, J. C. R., CATAO-DIAS, J.L. *Tratado de animais silvestres: medicina veterinária*. 1º Ed. São Paulo: Roca, 2006, p. 136-157.
- BAHR, J. M.; JOHNSON P. A. Reproduction in poultry. In: CUPPS, P.T. (Ed.) *Reproduction in domestic animals*. 3. ed. Nova Iorque: Academic Press, 1991. p.555-575.
- BAJPAI, P. K. The effect of photoperiodicity on semen characteristics of poultry. *Poult. Sc.*, v. 3, p. 462-465, 1962
- BRILLARD, J. P. Sperm Storage and transport following natural mating and artificial insemination. *Poult. Sc.*, v. 72, p.923-928, 1993.
- BRONNEBERG, R. G. G.; TAVERNE, M. A. M. Ultrasonography of the female reproductive organs in farmed ostriches (*Struthio camelus* spp.). *Theriogenology*. v. 60, p. 617-633, 2003.
- BRONNEBERG, R. G. G.; TAVERNE, M. A. M.; DIELEMAN, S. J. et al. The relation between ultrasonographic observations in the oviduct and plasma progesterone, luteinizing hormone and estradiol during the egg laying cycle in ostriches. *Dom. Anim. Endocr.*, v. 32, p. 15-28, 2007.
- BUBIER, N. E.; PAXTON, C. G. M.; BOWERS, P. et al. Courtship behaviour of ostrich (*Struthio camelus*) towards humans under farming conditions in Britain. *British Poultry Science*, v. 39, n. 4, p. 477- 481, 1998.
- BUDRAS, K. D.; MEIER, U. The epididymis and its development in ratite birds (Ostrich, emu, Rhea). *Anatomy and Embriology*, v.162, p.281-299, 1981.
- BURROWS, W.H.; QUINN, J.P. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poult. Sc.*, v. 16, n. 1, p.19-24, 1937.
- CARRER, C. C.; KORNFELD, M. E.; ELMÔR, R. A.; Origem e Histórico. In: CARRER, C. C.; ELMÔR, R. A.; KORNFELD, M. E. et al. (Eds). *A criação do avestruz: Guia completo de A a Z*. Grupo Brasil Ostrich, Pirassununga, SP, 2004, p.13-16
- CARTEE, R. E.; RUMPH, P. F.; ROLAND, D. et al. Ultrasonographically detectable ring structure in avian (*Gallus gallus*) egg yolks. *Anat Histol Embryol*. v.21, p. 57-64, 1992
- COSTA, G. A. Produtos de avestruz: perspectivas de mercado aqui e no exterior. *Anuário da Estruticultura Brasileira 2005/06*, Associação dos Criadores de Avestruzes do Brasil, p. 114-115, 2005.
- CLOETE, S. W. P.; BUNTER, K.L.; VAN SCHALKWYK, S. J. V. Progress towards a scientific breedings strategy for ostriches. *Proc. 7th World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod.*, v. 30, p. 561-568, 18-23 Agosto, Montpellier, França.
- DAWSON, A. Plasma gonadal steroid levels in wild starlings (*Sturnus vulgaris*) during the annual cycle and relation to the stages of breeding. *Gen. Com. Endocrinol.*, v. 49, p. 286-294, 1983.
- DEGEN, A. A.; WEIL, S.; ROSENSTRAUCH, A. Seasonal plasma levels of luteinizing hormones in male and female domestic ostriches (*Struthio camelus*). *General and comparative endocrinology*, v.93, p.21-27, 1994.
- ELMÔR, R. A.; CARRER, C. R. O.; CARVALHO, M. C. Biologia e Meio ambiente. In: CARRER, C. C.; ELMÔR, R.

- A.; KORNFIELD, M. E. et al. (Eds). *A criação do avestruz: Guia completo de A a Z*. Pirassununga: Grupo Brasil Ostrich, 2004, p. 17-32.
- ETCHES, R. J. *Reproduction in poultry*. Wallingford, Oxon, UK: CAB International; 328p., 1996.
- FAIR, M.D.; WYK, V.; CLOETE, S.W.P. Parameter estimates for production traits of ostrich females within breeding season. *Proceedings of the 3RD International ratite symposium of the World's Poltry Science Association (WPSA) & XII World Ostrich Congress*. The World's poultry science association, Madrid, Espanha, p. 355-357, 2005.
- GARCIA, E. C.; LLOVERAS, A. G.; GARCIA, F. C. et al. *Cria de avestruces*. Barcelona: Real Escuela de Avicultura. 1995. 231p.
- GARCIA, E. C.; FONTOVA, F. C.; LLOBET, J. A. C. et al. *Cria de avestruces, emues e ñandues*. Barcelona: Real Escuela de Avicultura. 1997. 421p
- GVARYAHU, G.; ROBINZON, B.; MELTZER, A.; PEREK, M.; SNAPIR, N. An improved method for obtained semen from Muscovy drakes and some its quantitative and qualitative characteristics. *Poult. Sc.*, v. 63, n. 5, p. 548-553, 1984.
- GÓES, P. A. A. *Características reprodutivas de emas machos (Rhea americana) criadas em cativeiro no Estado de São Paulo*. 2003. 79f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- HEMBERGER, M. Y.; HOSPES, R.; BOSTEDT, H. Semen collection, examination and spermogram in ostriches. *Reprod. Dom. Anim.*, v. 36, p. 241-243, 2001.
- HICKS-ALLDREDGE, K. D., Reproduction. In: TULLY T. N & SHANE, S. M. (Eds) *Ratite management, medicine and surgery*. Krieger Publishing, Malabar, Florida, USA, p. 47-57, 1996.
- HOFBAUER, H.; KRAUTWALD-JUNGHANN, M. E. Transcutaneous ultrasonography of the avian urogenital tract. *Vet Radiol Ultrasound*. v. 40, p. 58-64, 1999.
- HUCHZERMAYER, F. W. *Doenças de avestruzes e outras ratitas/Trad. Giannonni, M.L., Novais, A.A.*. Jaboticabal: FUNEP. 392p. 2000.
- IRONS, P. C., BERTSCHINGER, H. J., SOLEY, J. T. et al. Semen collection and evaluation in the ostrich. *Proceedings of the 1st Ratite Conference*, Manchester, UK, p.157-159, 1996.
- JARVIS, M. F. J.; JARVIS, C.; KEFFEN, R. H. Breeding seasons and laying patterns of the southern African ostrich *Struthio camelus*. *Ibis*, v. 127, p. 442-449, 1985
- JENSEN, J. M.; JOHNSON, J. H.; WEINER, S. T. *Husbandry and medical management of ostrich, Emus and Rheas*. Texas: College station. Wildlife and Exotic Animal Teleconsultants, 129p, 1992.
- KNIGHT, P. C.; GLADWELL, R. T.; CUNNINGHAM, F. J. Release in LHRH in vitro and anterior pituitary responsiveness to LHRH in vivo during sexual maturation in pullets (*Gallus domesticus*)., *J. Reprod. Fertil.*, v. 74, p.145-151, 1985.
- KORNFIELD, M. E.; ELMÔR, R. A.; BARBOSA, F. W. Manejo Reprodutivo. In: CARRER, C. C.; ELMÔR, R. A.; KORNFIELD, M. E. (Eds). *A criação do avestruz: Guia completo de A a Z*. Grupo

- Brasil Ostrich, Pirassununga, SP, , 2004, p.113-126.
- LAMBRECHTS, H.; CLOETE, S. W. P.; SWART, D.; et al. Preliminary results on the use on the use of diagnostic ultrasonography as a management tool to quantify egg production potential in breeding ostrich (*Struthio camelus australis*) females. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* n. 2, v. 73, p. 48-52, 2002.
- MACIEL, M. P.; COTTA, J. T. B.; MURGAS, L. D. S. et al. Desempenho e características de galos leves submetidos a diferentes fotoperíodos. *Ciênc. Agrotec.*, v. 32, n.4, p. 1287-1291, 2008.
- MALECKI, I. A.; MARTIN, G. B.; LINDSAY, D. R.; Semen production by the emu (*Dromaius novaehollandiae*). 1. Methods for collections of semen. *Poult. Sc.*, v.76, n.6, p.615-621, 1997.
- MUNIZ, L. R. Estrutociultura brasileira se reestrutur para 2009. *Avicultura industrial*. Disponível em: www.aviculturaindustrial.com.br. 13/01/2009, acesso em 09/02/2009.
- ONISHI, N.; KATO, Y.; FUTAMURA, L. Studies in artificial insemination of ducks. *Bulletin of agricultural science*, v.11, n.1, p.1-16, 1955.
- PORTELLA, R. B. O avestruz no mundo e no Brasil. *Anuário da Estrutociultura Brasileira 2005/06*, Associação dos Criadores de Avestruzes do Brasil, p.7-35, 2005.
- RAUTENFELD, D. B. V. Mitteilungen zur kunstlichen besamung geschlechts- und altersbestimmung beim straub (*Struthio camelus australis*). *Der Praktische Tierarztliche*. V. 5, p. 359—366, 1977.
- RYBNICK, P. K., HORBANCZUK, J. O., NARANOWICZ H. et al. Semen collection in the ostrich (*Struthio camelus*) using a dummy or a teaser female. *Brit. Poult. Sc.*, V. 48, n. 5, p. 635-643, 2007
- ROZENBOIM, A.; NAVOT, N.; SNAPIR, A. et al. Method for collecting semen from the ostrich (*Struthio camelus*) and some of its quantitative and qualitative characteristics. *Brit. Poult. Sc.*, v. 44, n. 4, p. 607-611, 2003.
- RUTZ, F.; ANCIUTI, M.A.; XAVIER, E.G.; et al. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v. 31,n. 3,p. 307-317, jul/set 2007.
- SAUER, E. G. F., The impact of unusual rains and food on the social organization of the South African ostrich. *Proceedings of the International Congress of Ornithology*, v.15, p-684-685, 1972.
- SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa Conjunta Nº 2 de 21 de fevereiro de 2003. *Diário Oficial*, Brasília, 25 de fevereiro de 2003, Seção 1, Edição 40.
- SILVA, V. F. *Níveis hormonais em avestruzes (Struthio camelus) machos e correlação com comportamento e características sexuais secundárias*. 2008. 92f. (Mestrado em ciência animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SEREBTOVSKII, A.S.; SOKOLOVAKAJA, I. I. Electro ejaculation in birds. *Anim. Breed. Abstr.*, v.3, n. 2, p. 443-1446, 1934.
- SOLEY, J. T., BERTSCHINGER, H. J., ROBERTS, D. C. et al. Correlation between semen quality and egg fertility in ostriches. Seminar on ostrich research, Oudtshoorn: 17-18 Julho, p. 45-47, 1991.

SOLEY, J. T. Differentiation of the acrosomal complex in ostrich (*Struthio camelus*) spermatids. *J. of Morph.* , v. 227, p.101-111, 1996.

TAVERNE, M. A. M.; WILLEMSE, A. H. *Diagnostic ultrasound and animal reproduction*. Boston: Kluwer academic Publishers; 1989. 34p.

TAKAHASHI T., KAWASHI M., KAMIYOSHI, M. et al. Arginine vasotocin receptor binding in the hen uterus (shell gland) before and after oviposition. *Eur. J. Endocrinol.*, v. 130, p. 366-372, 1994.

TULLY, T. N., SHANE, S.M. *Ratite management, medicine and surgery*. Florida, USA: Krieger Malabar. 188p. 1996

WINGFIELD, J. C., FARNER, D. S. Control of seasonal reproduction in temperate-zone birds. *Prog. Reprod. Biol.* v. 5, p. 62-101, 1980.