

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS GENÉTICOS E AMBIENTAIS SOBRE O TEMPO DE PERMANÊNCIA EM  
IMOBILIDADE TÔNICA DE PERDIZES (*Rhynchotus rufescens*)**

**Milene Elissa Hata**  
Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL  
2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS GENÉTICOS E AMBIENTAIS SOBRE O TEMPO DE PERMANÊNCIA EM  
IMOBILIDADE TÔNICA DE PERDIZES (*Rhynchotus rufescens*)**

**Milene Elissa Hata**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Aidar de Queiroz

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento Animal

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2009

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**MILENE ELISSA HATA** – nascida em 03 de setembro de 1982, na cidade de Mogi das Cruzes – SP, filha de Takuo Hata e Kinuko Hata. Iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Estadual de Maringá, UEM – PR, em agosto de 2002, obtendo o título de Zootecnista no ano de 2006. Em agosto de 2007, ingressou no Programa de Genética e Melhoramento Animal na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, UNESP, Campus de Jaboticabal – SP, como bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, obtendo grau de mestre em outubro de 2009, sob orientação da Profa. Dra. Sandra Aidar de Queiroz.

**DEDICO**

***A minha mãe Kinuko Hata***

*Uma mulher extraordinária que nunca mediu esforços para me ajudar.*

***Ao meu pai Takuo Hata***

*Por ter me ensinado a nunca desistir dos meus ideais.*

*Admiro por ser uma pessoa perseverante.*

## **OFEREÇO**

***Meu irmão e também meu melhor amigo Yukinobu,***  
*por sempre ser o meu “porto seguro”.*  
*Meu maior exemplo de pessoa*  
*sensata, digna e diligente.*

***Meu namorado Jack,***  
*por ser meu maior incentivador.*  
*É um companheiro inigualável e amigo prestimoso*  
*que sempre me ajuda enfrentar os problemas com bom humor.*

## **AGRADECIMENTOS**

**A FAPESP**, pelo auxílio financeiro.

**A Professora Dra. Sandra Aidar de Queiroz**, pela orientação e confiança. Excelente profissional que foi essencial para o meu progresso de aprendizagem, sempre paciente e compreensiva diante das minhas dificuldades.

**A Professora Dra. Patrícia Tholon**, pela grande ajuda no meu trabalho.

**Ao Diego Barrozo**, pela amizade e por esclarecido as minhas dúvidas inúmeras vezes.

**Aos colegas de trabalho Aline, Bruno, Dimas, Érika, Josiane, Juliana, Letícia, Luana, Flávia, Jaqueline e Regiane**, pelo companheirismo.

**Aos funcionários do Setor de Animais Silvestres, Beterraba e Turquinho.**

**Aos professores, funcionários e alunos** do Departamento de Morfologia, por terem sido prestativos.

**Aos amigos do Departamento Carla, Davi, Iara e Marcos** pelo apoio e momentos divertidos.

**Ao Professor Dr. Danísio Prado Munari, Professor Dr. João Ademir de Oliveira e Professor Dr. Valter Udler Cromberg** pelos conselhos para aprimoramento do meu trabalho.

**Aos meus avós**, pela atenção e preocupação.

**A Janaína**, pela valiosa ajuda.

## SUMÁRIO

<b>EFEITOS GENÉTICOS E AMBIENTAIS SOBRE O TEMPO DE PERMANÊNCIA EM IMOBILIDADE TÔNICA DE PERDIZES (<i>Rhynchotus rufescens</i>).....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>3</b>
<b>OBJETIVO .....</b>	<b>4</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>5</b>
Características da perdiz ( <i>Rhynchotus rufescens</i> ).....	5
Domesticação .....	5
Bem estar animal .....	9
Comportamento de medo e imobilidade tônica (IT).....	10
Relação heterófilo/linfócito (H/L).....	15
Seleção divergente.....	18
Estrutura da população .....	21
Alojamento dos reprodutores.....	21
Experimento de seleção divergente .....	22
Manejo reprodutivo.....	24
Manejo dos ovos e identificação da genealogia .....	25
Manejo dos recém-nascidos .....	26
Alojamento dos perdigotos.....	27
Manejo dos animais .....	27
Sexagem .....	28
Imobilidade tônica (IT).....	28
Relação heterófilo/linfócito (H/L).....	30
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>31</b>
<b>Capítulo 2 – Efeitos ambientais que afetam o tempo de permanência em imobilidade tônica de perdizes (<i>Rhynchotus rufescens</i>).....</b>	<b>44</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>47</b>
Alojamento dos reprodutores.....	47
Manejo.....	48
Imobilidade tônica (IT).....	49

<b>Análises estatísticas.....</b>	<b>49</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>54</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>54</b>
<b>Capítulo 3 – Estimação dos componentes de variância e parâmetros genéticos e fenotípicos da imobilidade tônica em perdizes (<i>Rhynchotus rufescens</i>)..</b>	<b>59</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>60</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>63</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>69</b>



## EFEITOS GENÉTICOS E AMBIENTAIS SOBRE O TEMPO DE PERMANÊNCIA EM IMOBILIDADE TÔNICA DE PERDIZES (*Rhynchotus rufescens*)

**RESUMO** – O medo é uma característica comportamental importante em espécies domesticadas e pode ser incluído no programa de seleção, pois responde à seleção artificial e tem conseqüências importantes ao bem estar e desempenho das aves domésticas. A reação de medo pode ser avaliada pelo tempo de permanência em imobilidade tônica (IT), que é o período em que o animal fica em estado catatônico induzido manualmente pelo homem. Quanto menos tempo permanecer neste estado, menor é o medo do animal e mais adaptado este se mostra a viver em cativeiro. A característica IT é bem representativa do nível de medo do indivíduo e também pode estar relacionada com a relação heterófilo/linfócito (H/L). Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar efeitos de ambiente e estimar parâmetros genéticos da característica tempo de permanência em IT de perdiz (*Rhynchotus rufescens*) criada no ambiente de cativeiro. A análise realizada pelo método dos quadrados mínimos revelou a influência da época de nascimento dentro de geração e o peso corporal, sendo que animais mais pesados permaneceram maior tempo em IT ( $b = 0,32 \pm 0,14g$ ,  $p < 0,05$ ). O método de máxima verossimilhança restrita possibilitou a estimação do coeficiente de herdabilidade da característica IT, apresentando valor igual a 0,29 evidenciando influência do ambiente sobre o tempo de permanência em IT. Contudo, a seleção pode ser eficiente para alterar as médias desta característica.

**Palavras-Chave:** bem estar animal, domesticação, medo, relação heterófilo/linfócito, seleção

**GENTIC AND ENVIRONMENTAL EFFECTS ON TONIC IMMOBILITY OF RED-  
WINGED TINAMOU (*Rhynchotus rufescens*)**

**ABSTRACT** - Fear is an important behavior trait in domesticated species and can be included in the selection program, and have important consequences to the welfare and performance of poultry. The fear reaction can be measured by the time spend in tonic immobility (TI), which is the period where the animal stays in catatonic state induced by human hand. The less time remaining in this state, smaller is the fear of the animal and it shows more adapted to living in captivity. The trait IT is well representative of the level of fear of the individual and may also be related to the heterophil to lymphocyte ratio (H/L). The objective of this study was to determine the effects of environment and estimate the genetic characteristic of tonic immobility time in Red-winged Tinamou (*Rhynchotus rufescens*) hosed in captivity environment. The method of least squares analysis resulted the influence of season within generation and body weight, whose heavier animals showed longer period in IT ( $b = 0.32 \pm 0.14$  g,  $p < 0.05$ ). The restricted maximum likelihood method was applied to estimate heritability of TI with value of 0.29 indicating environmental influence. However, the selection can be effective to change the means of this trait.

**Keywords:** animal welfare, domestication, fear, heterophil to lymphocyte ratio, selection

## CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Vários programas de seleção têm sido delineados para diferentes características de comportamento relacionadas ao medo e os resultados desses indicaram que animais de genótipo divergente têm diferentes respostas comportamentais e fisiológicas em situações de medo. O medo pode ser avaliado pelo tempo de duração da imobilidade tônica (IT), que é o período variável em que o animal permanece imóvel, induzido manualmente pelo homem, sendo que menor permanência em IT indica menor índice de medo e maior facilidade de adaptação em cativeiro. O desenvolvimento das linhagens de aves domésticas comerciais tem sido, em grande escala, baseado na seleção para características relacionadas ao desempenho econômico. No entanto, a influência dessa seleção nos caracteres comportamentais não foi amplamente estudada e essa informação é importante se as características comportamentais, como a reação de medo, forem incluídas no programa de seleção (MINVIELE et al., 2002).

PRICE (1984) definiu domesticação como sendo o processo pelo qual uma população de animais se torna adaptada ao homem e ao ambiente de cativeiro, por uma combinação de mudanças genéticas ocorridas durante gerações. A ampla dispersão geográfica, o hábito alimentar onívoro e sua capacidade cinegética tornam a domesticação da perdiz (*Rhynchotus rufescens*) atrativa do ponto de vista econômico (THOLON & QUEIROZ, 2007). Pesquisas realizadas no Setor de Animais Silvestres, do Departamento de Zootecnia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, mostraram que esta ave possui boa velocidade de crescimento (QUEIROZ et al., 2004; THOLON & QUEIROZ, 2008), excelente desempenho no rendimento de carcaça e de peito (MORO et al., 2006) e perfeita adaptação à alimentação com rações industriais (MORO et al., 2000), indicando assim vantagens na comercialização desta espécie.

Portanto, está sendo realizado no setor de animais silvestres, do Departamento de Zootecnia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias- UNESP, Campus de Jaboticabal, estudos envolvendo características comportamentais de perdizes,

mediante o emprego de seleção divergente, visando à domesticação desta espécie.

## **OBJETIVO**

Determinação dos efeitos genéticos e de ambiente das características tempo em imobilidade tônica e relação heterófilo/linfócito para a seleção das famílias do próximo ciclo de reprodução.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Características da perdiz (*Rhynchotus rufescens*)

Segundo SICK (1985), as perdizes são aves terrícolas, de aparência galinácea, pertencentes à ordem Tinamiforme, família Tinamidae e da subfamília Nothurinae, que compreende um grupo de aves com distribuição restrita ao continente americano. Esta espécie faz parte da avifauna mais antiga do continente americano, com distribuição restrita à América do Sul e apresenta asas bem definidas e arredondadas, e em vida livre usam o bico forte, longo e curvo para cavar a terra à procura de raízes e tubérculos, além de se alimentarem de insetos (SICK, 1997).

O período reprodutivo da *Rhynchotus rufescens* compreende os meses de agosto a março, sendo que a fêmea possui o hábito de acasalar-se com vários machos (LIEBERMANN, 1936; ORIAN, 1969). A incubação dos ovos e o cuidado com a prole são realizados pelo macho (ORIAN, 1969) e este apresenta vocalização bastante característica no período reprodutivo.

As perdizes não possuem dimorfismo sexual aparente. Assim, a identificação do sexo é realizada pelo método de sexagem por reversão da cloaca para verificar a presença ou não do órgão copulador (MORO et al., 1994).

### Domesticação

A domesticação é o primeiro passo da seleção cuja reprodução (escolha de reprodutores e isolamento dos selvagens equivalentes), o manejo (fornecimento de abrigo, alimento e proteção contra os predadores) e a nutrição são parcialmente controlados pelos humanos (HALE, 1969).

A domesticação animal pode ser definida como um processo no qual os animais em cativeiro se adaptam ao homem e ao ambiente que ele proporciona, por meio da seleção (PRICE, 1984; PRICE, 2002). Essa adaptação dos animais ao ambiente de cativeiro é obtida por meio de alterações genéticas que ocorrem durante gerações,

estímulo ambiental e de experiências durante um tempo de vida do animal (PRICE, 1984). Neste sentido, a domesticação pode ser analisada como um processo evolutivo e um fenômeno de desenvolvimento (PRICE, 1999).

REED (1977) defendeu a idéia de que a maioria dos animais domesticados estava pré-adaptado ao processo de domesticação, isto é, já apresentava algumas características físicas e comportamentais que favoreceram a domesticação. Esta teoria foi, anteriormente, proposta nos trabalhos de HALE (1969) e REED (1969) e também afirmada em pesquisa realizada por CLUTTON-BROCK (1981).

Existem algumas mudanças importantes induzidas pela domesticação e que tem sido afetadas de formas diferentes: alteração dos processos de desenvolvimento do indivíduo, aumento da tolerância social, alteração dos comportamentos sexuais e reprodutivos, e a capacidade adaptativa (JENSEN & ANDERSON, 2005).

Um exemplo clássico do processo de domesticação pode ser explicado pela evolução do cão a partir do lobo. Há indícios de que uma relação simbiótica surgiu entre os lobos e os humanos: os lobos se beneficiariam dos restos da comida humana e os humanos poderiam ser advertidos da chegada de inimigos pelos lobos. Esta relação simbiótica, aliada a uma mutação, tornou alguns lobos mais próximos aos humanos e permitiu que os lobos os acompanhassem nas caçadas e ajudassem no transporte de material e comidas e, que em troca, deixavam que os lobos aproveitassem as sobras. Com a evolução desta relação, os homens começaram a criar filhotes de lobos e a desenvolver os tipos de cachorros que existem atualmente (ARMITAGE, 1986).

BELYAEV (1979) simulou o processo de domesticação acima descrito, selecionando, por mais de vinte gerações, exemplares de raposas prateadas (*Vulpes vulpes*) que demonstravam pouco medo aos seres humanos. Embora esta espécie já viesse sendo explorada pelo homem para produção de peles, sua domesticação jamais havia sido tentada. As modificações obtidas neste processo de domesticação foram bem além das mudanças na característica selecionada, isto é, as raposas já não mostravam qualquer medo aos humanos e freqüentemente abanavam seus rabos e lambiam os tratadores para demonstrar afeto (80% da população após 40 anos de seleção). As mudanças fisiológicas mais evidentes foram observadas nos níveis

hormonais de corticosteróides plasmáticos. As raposas domesticadas apresentaram maior tolerância ao estresse e maiores níveis de serotonina no sangue. Ao final do experimento, a população resultante apresentava coloração cinzenta, antecipação e prolongamento da estação reprodutiva nas fêmeas (maior precocidade sexual e assiduidade reprodutiva), quebra de sincronia na estação reprodutiva de machos e de fêmeas e um conjunto de características de pelagem e comportamentais inexistentes na população selvagem.

Assim, pode-se entender que durante o processo de domesticação, os animais sofreram mudanças morfológicas e comportamentais causados por diferentes processos de domesticação. Há três diferentes processos influenciando os animais durante a domesticação: a) relaxamento da seleção natural, causada pelos humanos que fornecem alimentos e proteção contra predadores e o clima; b) a seleção artificial que tem por objetivo obter melhoria nas características de importância econômica e c) a resposta correlacionada causada pela mudança em características que não fazem parte do objetivo da seleção. A domesticação, deste modo, afeta os comportamentos social e de medo, produzindo animais mais calmos e menos agressivos (CRAIG, 1981; PRICE, 1984), facilitando o manejo pelos humanos e adaptação a uma variedade de ambientes físicos e sociais comumente impostas aos animais em cativeiro, além de obter melhoria do sucesso reprodutivo ao longo de gerações em cativeiro.

Desta forma, o processo de domesticação é realizado quando o “pool” gênico é suficientemente alterado e quando ambientes de cativeiro e técnicas de manejos são constantemente aplicadas durante gerações para produzir um fenótipo que promove a adaptação ao ambiente cativo e intervenção humana. Assim, espera-se que o fenótipo dos animais domesticados irá diferir do fenótipo dos seus homólogos selvagens (PRICE, 1999).

JENSEN (2006) também concorda que a domesticação envolve uma rápida e complexa mudança de vários fenótipos diferentes. Para este autor, as várias mudanças que ocorrem em frangos manifestam-se em alguns locos indicando que as alterações causadas pela domesticação podem ser provocadas por poucos genes, possivelmente com funções reguladoras. Além de aumentar a compreensão do controle genético do

comportamento, isto pode nos ajudar a compreender como animais se adaptam à seleção induzida pelo homem durante a domesticação.

Isto mostra que, tanto a seleção artificial como a seleção natural (em cativeiro) pode contribuir para uma redução da resposta emocional durante gerações em cativeiro. Além disso, as práticas de manejo constantemente aplicados aos animais em jaulas ou gaiolas onde eles têm exposição contínua aos seres humanos e outros animais de mesma espécie, têm um efeito importante na redução da resposta emocional ao longo da vida do animal (PRICE, 1999).

A expansão da biologia molecular tem dado importância para encontrar mutações nos genes ou regiões reguladoras, o que pode explicar a variação nas características fenotípicas, tais como comportamento. No entanto, o estudo do genoma tornou cada vez mais evidente que a maior variação fenotípica não está associada com mutações levando a alteração das proteínas (JENSEN et al., 2008). Em vez disso, diferenças significativas entre espécies, populações e indivíduos podem ser atribuídas a alterações nos níveis de expressão do agrupamento de genes (HOFMANN, 2003). Tais modificações nos níveis de expressão podem ser devidas, por exemplo, a mutações nos genes reguladores, no controle do agrupamento de genes, ou alterações na estrutura da cromatina ou padrões de metilação do DNA associado com os genes entre si (RICHARDS, 2006).

Embora a domesticação tenha alterado o comportamento de forma quantitativa e qualitativa, as aves domésticas continuam apresentando comportamento anti-predador que vem evoluindo desde seu ancestral selvagem (NEWBERRY, 2001).

Em 1999 iniciaram-se, no Setor de Animais Silvestres do Departamento de Zootecnia da FCAV – UNESP, estudos para conhecer melhor a vida das perdizes com intuito de iniciar o processo de domesticação. MORO (1996), trabalhando com estas aves, concluiu que estas se adaptaram facilmente à alimentação composta por rações industriais e possuíram boa viabilidade para produção de carne, apresentando rendimento de carcaça de 74,37% e de peito igual a 36,65% (MORO et al., 2006).

Deste modo, acredita-se que é possível a domesticação da espécie *Rhynchotus rufescens* com estudos envolvendo características comportamentais, mediante o



emprego de seleção divergente.

### **Bem estar animal**

O comportamento agressivo como canibalismo e bicagem da cabeça, bem como estresse social são de grande interesse econômico e de preocupação crescente para a produção e bem-estar animal (BUCHWALDER & HUBER-EICHER, 2005; DENNIS et al., 2006).

De acordo com MOLLER & MANNING (2003), a consequência do aumento na produtividade dos animais tornou-se recentemente questão central de preocupação, pois as mudanças tecnológicas que possibilitaram incremento nas taxas de crescimento, melhoria na qualidade de alimentação e da sanidade e instalações mais apropriadas às criações, trouxeram consequências negativas para o bem estar animal. FORMANECK et al. (2008) complementaram que estas modificações podem ser associadas à observação de desordem comportamental, indicando que os animais não são totalmente adaptados ao ambiente de criação, resultando em respostas negativas na produção.

Assim, nas últimas décadas, a questão do bem-estar tem sido uma das maiores discussões da indústria de criação de animais domésticos, impondo um ajustamento no sistema de manejo que possibilite a qualidade de produção proporcionando conforto ao animal. Segundo EDWARDS (2004), para proporcionar maior bem-estar aos animais, os criadores são responsáveis por planejarem e oferecerem alojamento, manejo, alimentação e prevenção de doenças. Para DUNCAN (2004), os animais devem ser saudáveis física e mentalmente, sendo criados em ambientes agradáveis sem dor e sofrimentos.

Em muitos países da União Européia, estão sendo eliminadas formas de alojamento de galinhas poedeiras em baterias de gaiolas e o confinamento individual de porcas, em grande parte como consequência de provas científicas do estudo da etologia (JENSEN et al., 2008). Tradicionalmente, o bem estar animal tem sido avaliado usando-se medidas fisiológicas tais como a verificação dos níveis de corticosterona ou

teores de proteína em choques de calor; ou medidas comportamentais como imobilidade tônica (IT) em aves domésticas (MOLLER & MANNING, 2003).

### **Comportamento de medo e imobilidade tônica (IT)**

Ampla investigação tem sido realizada com o objetivo de estudar o comportamento natural dos animais domésticos e, em muitos casos, esta revelou que os aspectos fundamentais do comportamento diferem apenas marginalmente dos antepassados selvagens (JENSEN et al., 2008).

Para KEER-KEER et al. (1996), vários fatores são conhecidos por induzir ou influenciar o medo em aves domésticas: separação de indivíduos da mesma espécie, exposição a um novo ambiente ou a um objeto desconhecido, abordagem ou proximidade de um ser humano. O medo é considerado como resposta adaptativa psicológica e fisiológica para a percepção do perigo e, portanto, é um componente importante de estresse (JONES et al., 1988).

O medo dos animais aos humanos pode ser importante fonte de estresse podendo causar sérios prejuízos na produtividade, aumentando problemas de manejo e resultando em injúrias ao animal e ao tratador e reduzindo o bem estar animal. Grande parte deste medo é o resultado de certas formas de manejo que são aversivos aos animais e que podem ser função do desconhecimento de métodos de tratamento mais adequados. Manejo dócil e frequente, particularmente a partir da idade juvenil, podem ajudar a superar os efeitos negativos desses procedimentos aversivos que são, em parte, necessários à criação dos animais, como por exemplo, casqueamento, debicagem, captura e contenção para vacinação e também podem contribuir à redução de medo (RUSHEN, 1999).

A redução no nível de medo, provavelmente, é um pré-requisito para a domesticação bem sucedida. Imagina-se que os animais com menor reação de medo teriam maior capacidade de lidar com estresse do cativeiro e, assim, ter tido, potencialmente, maior adaptabilidade durante o início da domesticação (CAMPLER et al, 2009). Trabalho realizado por estes autores comparando raça de galinha de postura

domesticada (White Leghorn) com seu ancestral (Red Junglefow) mostrou um efeito significativo da raça sobre o nível de medo em uma série de diferentes testes, destinados para medir as reações aos diferentes tipos de estímulo assustador, em que os pintinhos da raça domesticada mostraram menor nível de medo do que seus ancestrais. Isto indica que domesticação tem sido associada com a seleção, intencionalmente ou não, para menor nível de medo em aves, indicando que a seleção para baixo nível de medo foi elemento importante na domesticação.

O medo é, provavelmente, um estado em dormência no animal (JONES, 1987). Alguns animais reagem de modo ativo, enquanto outros mostram comportamento inibido durante a reação de medo (KOOLHAS et al., 1999). Neste último caso, os animais cessam toda atividade em curso e imediatamente ficam imóveis quando a causa de perigo é detectada, reduzindo deste modo, a capacidade de avaliar e reagir diante dos predadores (HAZARD et al., 2008). Desta forma, em meio natural, a reação de medo aumenta a sobrevivência do animal, pois, geralmente, são induzidas por situações que podem, de algum modo, estarem relacionadas à situação predador-vítima (SUAREZ & GALLUP, 1983), ambiente não familiar, especialmente em grandes campos abertos (GRIGOR, 1993), objetos novos, bem como a presença de humanos, som e odores (DUNCAN, 1985; JONES, 1986).

Contudo, a reação de medo em sistemas de criação de animais pode ser prejudicial (FORMANEK et al., 2008), visto que, o medo e a ansiedade são considerados estados emocionais indesejáveis que podem reduzir o bem-estar, o crescimento e o desempenho reprodutivo em animais domésticos. Assim, o melhoramento ambiental é essencial para reduzir o medo em aves domésticas (JONES, 1996) e pode ter uma significância ética e econômica (SALVATIERRA & ARCE, 2001).

Uma técnica que tem sido usada em muitos estudos para medir o nível de medo (JONES, 1986) é o método de imobilidade tônica (IT) também conhecido como simulação de morte, que é um estado de sensibilidade reduzida pela imobilização física. A duração do tempo em IT tem sido correlacionada positivamente com o nível de medo medido pelo nível de corticosterona plasmática e outras medidas fisiológicas, bem como a proporção de heterófilo/linfócito (JONES et al., 1988).

Pesquisa realizada por JONES et al. (1997), que avaliou o comportamento de medo em codornas, constatou que as linhagens de baixo peso corporal apresentaram mais fugas de um novo objeto, maior tempo em IT e maior silêncio durante restrição mecânica do que as aves de maior peso corporal, deduzindo que o medo intenso ou prolongado pode arriscar seriamente o desempenho e o bem-estar das aves domésticas.

HEIBLUM et al. (1998) constataram que, em aves de postura, ocorre menor reação de medo nos primeiros três dias de vida sendo possível fazer uma pré-seleção de animais menos amedrontados, destacando a importância deste período, pois é nesta fase em que a característica de “imprinting” é mais acentuada. Isto pode ser explicado pela existência de forte correlação entre comportamento fenotípico de aves jovens e adultas que tem sido demonstrado em linhagens de codornas selecionadas para ação emotiva: o nível de medo de um indivíduo persiste para toda a vida (LAUNAY et al., 1993). JONES (1995) em seu experimento, também observou que as aves que foram habituadas a terem contato somente com um tratador mostraram menos medo às outras pessoas que foram vestidas similarmente. Esses relatos possibilitam inferir que é válido planejar e adequar o sistema de manejo dos animais de produção, influenciando, assim, no retorno produtivo a longo prazo.

O fato de que IT já é bem desenvolvida na idade de 7 dias da ave doméstica da raça White Legorn, a torna uma ferramenta útil para avaliar o efeito de diferentes tratamentos de pré e pós eclosão sobre o comportamento de medo de pintos, bem como de escolha precoce para a seleção de baixo nível de medo em aves (HEIBLUM et al., 1998).

Para enfatizar a importância dos primeiros dias de vida das aves, COLLETE et al. (2000) em pesquisas realizadas com filhotes de papagaios amazonenses (*Amazona amazônica*), comprovaram que as aves manejadas no período neonatal eram mais dóceis, fáceis de serem manejadas, observando maior facilidade no manuseio, empoleiraram-se quando se ofereceu dedo e maior aproximação, enquanto que as aves não manejadas precisavam ser contidas com auxílio de uma toalha no momento de serem examinadas pelos veterinários ou outros humanos. Para BOLHUIS (1991), aves

jovens podem memorizar os seres humanos e outros objetos nos primeiros dias de vida.

Em aves domésticas, o estado de ansiedade crônica ou estresse pode causar prejuízos ao organismo do indivíduo e efeito desfavorável na produção de ovos, taxa de crescimento e conversão alimentar (CRAIG & ADANS, 1984) Em codornas, o estresse pode contribuir ao aparecimento de comportamentos indesejáveis como agressividade, depressão e desvio social, que podem afetar tanto a saúde das aves como a produtividade (DUNCAN, 1981; JONES, 1989; MILLS & FAURE, 1990).

Em sistemas de criação, a tecnologia moderna, aliada ao melhoramento genético e adaptação ambiental, permitiu a produção em massa devido ao maior número de animais alojados/m<sup>2</sup>. Entretanto, o tamanho do grupo pode ter um grande impacto sobre o comportamento dos animais, especialmente em espécies em que o tamanho do grupo na natureza é muito diferente do tamanho utilizado nas explorações zootécnicas (RONDERBURG & KOENE, 2007). Por exemplo, para aves e suínos, o tamanho do grupo encontrado no estado selvagem é geralmente muito menor do que o tamanho do grupo encontrado em condições comerciais (COLLIAS et al., 1966; GONYOU, 2001) e isso pode refletir-se negativamente no comportamento animal.

RONDERBURG & KOENE (2007) estudaram o efeito do grupo sobre o comportamento de galinhas e constatou que grupo de maior dimensão levou a níveis mais elevados de comportamentos prejudiciais (como canibalismo e bicagem da penas) e aumentou o nível de medo e estresse em aves. Para minimizar estes problemas, os autores sugeriram melhoria no sistema de alojamento e de manejo. Os resultados encontrados por estes autores estão de acordo com o trabalho de BILČÍK et al. (1998), que estudaram o efeito do tamanho do grupo sobre a IT em galinhas poedeiras em grupos de 15, 30, 60 e 120 aves. Eles descobriram que a duração da IT foi maior nos grupos de 120 do que em grupos de 15 aves, provavelmente devido ao aumento da concorrência em grandes grupos. Este trabalho evidenciou que o tamanho do grupo afetou o nível de medo nos animais, concluindo que embora a função da IT seja a redução da chance do animal ser morto por predadores, o ambiente social é o fator imediato que afeta o tempo em IT em aves domésticas.

Já no trabalho publicado por BUCHWALDER & HUBER-EICHER (2005), foi constatado que grupos de peru, criados juntos desde a idade jovem, reagiram diferentemente a um peru introduzido posteriormente no grupo, dependendo do tamanho do grupo. Os membros de grupos pequenos constituídos por 6 animais iniciaram mais brigas e bicadas mais agressivas contra uma ave desconhecida do que membros de grupos grandes com 30 animais. Isto pode ser explicado pelo fato de que membros de um grupo pequeno apresentam maior familiaridade e reconhecimento das aves de seu grupo do que membros de um grupo grande. Além disso, a hierarquia dentro de um pequeno grupo é estabelecida de forma mais rápida e fácil. LINDBERG & NICOL (1996) chegaram a conclusões similares, relatando que galinhas poedeiras domésticas se comportaram de maneira diferente dependendo de estar ou não familiarizadas com aves do grupo. Estas aves foram muito agressivas umas com as outras quando foram colocadas juntas pela primeira vez em pequenos grupos, mas tornaram-se gradualmente familiares e formaram dominância hierárquicas estáveis em que os níveis de agressão eram muito inferiores. Isso sugere que membros de um pequeno grupo de galinhas poedeiras podem distinguir entre os membros do grupo e não-membros do grupo.

Os diferentes tipos de manejos adotados nas granjas também podem influenciar a característica IT. Trabalho realizado por ZULKIFLI et al. (2000) sobre o manejo pré-abate de frangos de corte, constatou que aves apanhadas pelas patas fazendo com que as aves fiquem na posição invertida (de cabeça para baixo) apresentaram maior tempo em IT quando comparadas com aves que foram manejadas de forma que os animais fiquem na posição vertical.

Pesquisa com frangos de corte, realizada por AKPA et al. (2007), analisaram o tipo de alimentação (3 tipos de ração pastosa e 1 tipo peletizada) e efeito do sexo sob a característica IT e mostraram que aves alimentadas com ração peletizada mostraram menor tempo de permanência em IT do que as aves alimentadas com outros três tipos de ração. Estas aves que foram alimentadas com ração peletizada também apresentaram melhor condição de plumagem e obtiveram menor tempo em IT, acreditando-se também que melhor é o sistema imunológico destas aves. O efeito do

sexo sobre a IT mostrou que machos apresentaram menor tempo em IT do que fêmeas, embora estes valores não foram estatisticamente significativos, confrontando com os resultados encontrados por CAMPO & CARNICER (1993) e JONES & FAURE (1982) que trabalharam com aves poedeiras e constataram que machos permaneceram maior tempo em IT do que fêmeas, resultando em maior índice de medo nos machos.

CAMPO et al. (2005), em trabalho de IT e relação H/L, para verificar a influência dos estímulos sonoros específicos em galinhas de postura, concluíram que ocorreu influência negativa significativa de ruído (90 dB versus 65 dB) sobre o estresse e medo de galinhas. A música clássica (75 versus 65 dB) não afetou o nível de estresse das galinhas, mas apresentou um efeito crescente sobre o seu medo, comprometendo o bem estar das aves. Desta forma, a crença de que a exposição ao ruído provoca estresse nos animais de produção parece ser verdade, mas a alegação de que a música pode proporcionar bem estar não, com estes estímulos sonoros específicos.

Portanto, as pesquisas realizadas para avaliar a característica de IT permitem concluir que a variação do tempo em IT está relacionada com diversos fatores, tanto genéticos como ambientais.

### **Relação heterófilo/linfócito (H/L)**

GROSS & SIEGEL (1983) propuseram que a relação H/L pode ser usada para medir mudanças fisiológicas, enquanto que a concentração de corticosterona no sangue é afetada por muitos fatores antes de ocorrerem alterações fisiológicas. Portanto, a relação H/L deve ser uma melhor medida de mudança de ambiente a longo prazo, e a concentração de corticosterona no sangue deve ser uma melhor medida de alterações a curto prazo. Para isto, estes autores, em pesquisas com frangos de corte, compararam o efeito da concentração de corticosterona plasmática e a relação heterófilo/linfócito (H/L) para vários agentes estressores e observaram que a relação H/L foi o melhor indicador para observar a importância do estresse crônico em aves domésticas, enquanto que a concentração de corticosterona no sangue foi afetada por muitos fatores antes da ocorrência da alteração fisiológica. Em resposta ao estresse,

ocorreu aumento do número de heterófilos e um decréscimo no número de linfócitos e a relação de H/L foi menos variável que a taxa de heterófilos e linfócitos. GROSS & SIEGEL (1983) também definiram que a relação H/L com valor em torno de 0,2 indica baixo nível, 0,5 médio e 0,8 alto nível de estresse dos animais.

De acordo com JONES et al. (1988) e JONES (1996), o estresse crônico pode causar aumento do medo, redução da resistência a doenças, diminuição na produção de ovos, no crescimento e na qualidade do produto. Os estímulos para desencadear o estresse não são necessariamente dolorosos, mas também podem desencadear estados psicológicos, conhecidos como emoções, como medo ou ansiedade, que ativam respostas fisiológicas. Na maioria dos casos, o estresse descreve uma condição que é prejudicial ao bem estar dos animais e deve ser evitado (JENSEN et al., 2008).

Os leucócitos formam a base do sistema imune dos vertebrados, tendo a principal função de proteção contra os patógenos e com o próprio sistema imune atuam como um mecanismo de proteção inicial não específica de ampla região durante o estágio inicial de infestação.

Os parâmetros hematológicos podem fornecer instrumentos úteis para investigação ecológica. No entanto, os dados de aves selvagens são ainda escassos devido às dificuldades em obter amostras representativas (MASELLO, 2009). Trabalho realizado por este autor com papagaio da patagônia (*Cyanoliseus patagonus*) mostrou que a relação observada foi positiva, ou seja, os filhotes desta espécie em melhor condição corporal apresentaram menor relação H/L. Isto foi causado pelo aumento do número de heterófilos em aves com melhor condição corporal. Como o número de linfócitos foi independente da condição corporal, como resultado, observou-se aumento do número total de leucócitos em relação aos eritrócitos e o referido aumento de H/L.

A revisão realizada por MAXWELL (1993) também destacou a confiabilidade da relação heterófilo/linfócito como índice biológico de estresse em espécies aviárias. Esta confirmação foi relatada por ELROM (2000), enfatizando que a concentração de corticosterona no plasma é um indicativo efetivo do estresse agudo em aves, enquanto que os números de heterófilos e linfócitos podem ser utilizados como indicadores do estresse crônico.



Pesquisas realizadas com pingüins de adélia (*Pygoscelis adeliae*) mostraram que fatores estressantes como privação de alimentos e água, temperaturas extremas, luz constante e exposição ao convívio social são situações em que há elevação do número de heterófilos porque eles participam no combate a infecções e diminuição do número de linfócitos como parte de uma resposta ao estresse (VLECK et al., 2000). ANTHONY et al. (1988) também observaram que o aumento dos níveis de comportamentos agonísticos aumentou a relação H/L em galinhas poedeiras.

GROSS & SIEGEL (1986) demonstraram que a relação H/L foi reduzida após jejuns repetidos indicando que frangos acostumam-se, ou seja, jejuns repetidos são menos desgastantes do que iniciar um novo jejum. MAXWELL (1993) concordou que as aves se tornam mais acostumadas a longos períodos de restrição alimentar, mas dependendo da gravidade do estímulo que causa estresse, diferentes respostas celulares podem ser esperados.

Trabalho com linhagens de aves de postura, realizado por ALTAN et al. (2005), revelou que a relação heterófilo/linfócito foi significativamente maior em machos do que em fêmeas, sendo que neste trabalho foi verificado que os machos permaneceram maior tempo em IT do que as fêmeas.

CAMPO et al. (2008) constataram que animais que apresentaram marcas de bicadas pelo corpo apresentaram maior proporção de heterófilo/linfócito em comparação com animais que não possuíam ferimentos, em decorrência de bicagem. Em animais machucados por bicadas, houve aumento de número de heterófilo e diminuição de linfócitos. O tempo em IT também foi maior nas aves com marcas de bicadas pelo corpo, indicando assim que ocorreu diferença consistente entre grupos de animais machucados e não machucado pelas bicadas de aves.

SILVA (2003) evidenciou que o sistema nervoso central é capaz de influenciar a resposta do sistema imunológico pela mediação que exerce sobre as funções neurovegetativas durante o estresse. Estudos com ratos expostos a situação de estresse mostraram que estes eram mais susceptíveis a infecções (NALIBOFF et al., 1991), evidenciando que o estresse foi capaz de afetar a imunidade humoral e celular.

EL-LETHEY et al. (2003), compararam grupo de galinhas criadas em camas com material forrageiro e outro grupo de aves que foram criadas em gaiolas sem acesso a material forrageiro e concluíram que o alojamento das aves em gaiolas resultou em maior relação H/L, maior duração da IT e alterou ligeiramente, mas não significativamente os níveis de corticosterona e os ganhos de peso corporal.

Os heterófilos são responsáveis pela defesa contra as bactérias, enquanto que os eosinófilos possuem papel defensivo contra parasitas, como vermes e protozoários. Em aves, os basófilos são menos conhecidos, mas, em contraste com o homem, uma de suas funções é a manifestação como mediador no início da resposta inflamatória. Os linfócitos auxiliam no reconhecimento e destruição de muitos tipos de agentes patogênicos enquanto monócitos (que amadurecem para se tornarem tecidos macrófagos) são cruciais para a defesa contra parasitas intracelulares, como vírus e certas bactérias (MAXWELL, 1993).

### **Seleção divergente**

A seleção é o processo de melhoramento que atua fazendo com que os indivíduos portadores de determinados genes ou combinações gênicas favoráveis deixem mais filhos do que outros que não possuem tais genes ou combinações gênicas. A seleção é efetiva enquanto a população apresentar dois ou mais genótipos que se perpetuem em taxas diferentes (com seleção natural), ou entre os quais o melhorista pode escolher os pais da geração seguinte (em seleção artificial) (PEREIRA, 2008).

A seleção artificial busca identificar indivíduos portadores de genes desejáveis expressos em seus fenótipos. Todavia, o fenótipo não representa somente a constituição genética do indivíduo, mas, o meio ambiente e a interação dos genes com vários efeitos não genéticos também influenciam no valor fenotípico do animal. Assim, é necessário saber a precisão por meio da qual o valor fenotípico representa o valor genotípico do animal. Esse indicador de precisão é chamado herdabilidade.

MILLS & FAURE (1991), estimaram herdabilidades variando entre 0,09 a 0,23 para

característica tempo em IT, em codornas selecionadas por 8 gerações. THOLON et al. (2002), que também analisaram o tempo de permanência em IT em perdizes, obteve a herdabilidade igual a 0,30, valor de média magnitude.

A seleção provoca mudanças na média da população, pois a progênie herda, em média, metade do valor genético aditivo dos pais. Assim, a seleção tem provado ser uma ferramenta útil para a pesquisa do comportamento de medo em aves. Linhagens de codornas japonesas têm sido submetidas à seleção divergente para longa (LIT) ou curta (CIT) duração em imobilidade tônica (MILLS & FAURE, 1991). Seleção divergente é o método no qual a população usada para a predição da resposta à seleção não é uma população não selecionada, mas é selecionada na direção oposta. Cada linhagem é selecionada como controle para a outra linha e a resposta é medida como a divergência, ou seja, a diferença entre as duas linhagens. Através deste método, a precisão relativa da resposta medida pelo uso de um controle pode ser melhorada (FALCONER & MACKAY, 1996).

Deste modo, aves selecionadas para longa duração de imobilidade tônica (LIT) apresentam maior reação de medo se comparadas com as aves selecionadas para curta duração de IT (CIT), uma vez que estudos realizados por JONES et al. (1991) e JONES et al. (1994) relataram que codornas LIT mostraram maior comportamento de medo após exposição ao estímulo alarmante do que codornas CIT.

JONES et al. (1991) concluíram que a duração da imobilidade tônica é potencializada pela exposição a estímulos assustadores e é positivamente correlacionada com as outras medidas de medo em aves: codornas da linhagem LIT ficam mais tempo imóveis, vocalizam e movem menos em um “campo aberto”, do que codornas da linhagem CIT. Análises realizadas por RICHARD et al., (2000), com codornas das linhagens LIT e CIT, também indicaram que as duas linhagens divergiram em suas respostas fisiológicas ao medo, mas a natureza dessa diferença variou com a intensidade do estímulo.

Entre as várias pesquisas publicadas sobre o comportamento animal, MINVIELE et al. (2002) estudaram a reação de medo e características econômicas em codornas japonesas. Neste estudo, os autores observaram que a linhagem selecionada para

menor duração de Imobilidade tônica (CIT) apresentou maior peso corporal e maior número de ovos postos do que a linhagem selecionada para maior duração de imobilidade tônica (LIT). Os ovos postos pela linhagem LIT tiveram maior conteúdo de albúmen, mas menor porcentagem de casca do que a linhagem CIT, concluindo que houve uma relação entre índice de medo e produtividade nas codornas sob seleção divergente para CIT ou LIT.

HAZARD et al. (2008) verificaram o comportamento de medo em codornas e observaram que houve correlação entre o nível de corticosterona e o tempo de duração em IT, ou seja, aves com genótipo CIT apresentam maior nível de corticosterona do que nas aves com LIT, sugerindo assim, que, a reação de medo afeta o nível de corticosterona e, conseqüentemente, influi na resposta da relação hipotálamo-hipófise-glândulas adrenais. Estes resultados concordam com os obtidos por HAZARD et al. (2005), que relataram que as codornas LIT eram potencialmente mais sensíveis a eventos estressantes que podem ocorrer durante o período de criação, e a eventos estressantes prévios que podem aumentar suas capacidades subseqüentes para dar conta de diferentes situações estressantes e têm limitada ativação do eixo hipotálamo-hipófise-glândulas adrenais. Os mesmos resultados foram identificados em espécies de patos (FAURE et al. 2003). Entretanto, HAZARD et al. (2008) sugeriram que mais estudos devem ser realizados para esclarecer o funcionamento do sistema endócrino em aves selecionadas para CIT ou LIT.

Estudo realizado por MILLS & FAURE (2000), mostrou que a seleção para menores níveis de medo, ou seja, animais selecionados para CIT foram menos perturbados pela presença humana do que animais selecionados em direção oposta. Os animais com o genótipo CIT eram mais facilmente capturados e manejados pelos tratadores do que animais com genótipo LIT. Este fato pode ser explicado pela redução de medo aos humanos, mostrando que essa seleção genética pode ser usada para reduzir a reação negativa aos seres humanos e melhorar o bem estar e a produtividade animal.

HAZARD et al. (2008) verificaram a reação de medo em codornas submetidas ao experimento de retenção, relatando que aves da linhagem CIT debateram-se com muito

mais freqüência do que da linhagem LIT, especialmente no início da retenção. Além disso, as codornas da linhagem LIT raramente mostraram comportamento de valentia durante o período de retenção, propondo assim, que esta linhagem tem maior medo sob a situação de contenção. Em conclusão, estes autores sugeriram que a seleção divergente para imobilidade tônica em codornas resultou no desenvolvimento de diferentes estratégias de luta em resposta ao estresse causada pela retenção entre codornas LIT e CIT.

Portanto, como afirmou JONES (1996), a seleção emergiu como uma forma promissora de reduzir as respostas de medo indesejáveis, que podem comprometer seriamente tanto o bem-estar e o desempenho de aves domésticas em sistemas de criação intensiva. No entanto, um programa de seleção destinado a reduzir o medo seria prejudicial se simultaneamente prejudicar a capacidade de percepção (conhecimento, compreensão, entendimento) das aves, virtude que é essencial para a adaptação ao seu ambiente (RICHARD, 2000).

## **Estrutura da população**

### **Alojamento dos reprodutores**

O experimento foi conduzido no Setor de Animais Silvestres do Departamento de Zootecnia da FCAV – UNESP.

O galpão de reprodução, disposto em sentido leste-oeste, possui instalações semelhantes a galpões avícolas comerciais com área total de 400m<sup>2</sup>, paredes de alvenaria e telhas de fibro-cimento, sendo que algumas telhas são de fibra de vidro translúcido que permitem a entrada de luz. As laterais do galpão são revestidas por cortina de plástico que possuem abertura de cima para baixo possibilitando a melhora na qualidade da iluminação no interior do galpão e oferece proteção contra chuva e frio. Neste galpão há 100 boxes de dimensões de 2,0x1,0x1,95m, divididos por um murinho com altura de 45cm e cercados por tela de arame, com piso concretado e coberto por cama de feno de gramínea “croast cross” (*Cynodon dactylon*).

### **Experimento de seleção divergente**

A população original de perdizes foi subdividida em duas sub-populações constituídas pela escolha casual de seus indivíduos. Uma sub-população será selecionada pelo critério duração do tempo de permanência em imobilidade tônica (IT) e foi composta por 40 machos e 80 fêmeas. Este grupo de animais será submetido à seleção divergente, sendo 20 machos e 40 fêmeas selecionados para aumentar o tempo de permanência em IT e o restante para diminuir o tempo em IT. Serão adotados os mesmos procedimentos e a mesma intensidade de seleção em ambos os grupos.

Um segundo grupo de animais, composto por 20 machos e 40 fêmeas, será mantido como população controle, sem sofrer seleção artificial, visando manter a variabilidade genética original.

#### ***Ciclo 2006/2007***

A formação de 100 famílias foi realizada escolhendo aleatoriamente 256 fêmeas e 164 machos evitando-se somente a endogamia. O número de aves alojadas em cada box e a proporção de machos para cada fêmea para formação das famílias variou, sendo que foram alojados de 3 a 5 animais/box. As aves deste ciclo deram origem à população base na qual seriam separadas as linhagens de seleção cujos critérios eram tempo de permanência em imobilidade tônica, comportamento de reintegração social e controle (não selecionada).

#### ***Ciclo 2007/2008***

Em julho de 2007, foram escolhidos aleatoriamente 354 aves, 234 fêmeas e 120 machos, para a formação do plantel de reprodução. A escolha dos machos e fêmeas para a formação de 112 famílias foi realizada ao acaso evitando-se somente a endogamia. A proporção de machos (M) para cada fêmea (F) para formação das famílias constituiu de 1M:1F, 1M:2F, 1M:3F, 2M:2F, 2M:3F e 3M:3F.

A postura foi de 3224 ovos, porém, 548 ovos estavam bicados, quebrados ou de casa mole, restando 2676 ovos viáveis para incubação. O embriodiagnóstico realizado com ovos não eclodidos revelaram que 920 estavam férteis e 1000 inférteis, sendo

assim, o nascimento neste ciclo foi de 469 perdigotos. Porém, somente 100 chegaram aos 90 dias de idade, podendo ser realizadas as medidas de IT.

Com os dados, foi possível a elaboração das estatísticas descritivas do tempo de permanência em IT, avaliado em segundos, e peso avaliado, em gramas, pelo procedimento MEANS do programa SAS<sup>®</sup>. Foram eliminados todos os animais sem informação, como a identificação do sexo e animais que eram filhos únicos.

A análise de variância foi realizada utilizando-se o procedimento GLM (SAS<sup>®</sup>). Foram adotados também as seguintes fórmulas para calcular as taxas de fertilidade, eclodibilidade, eclosão e o número de ovos postos por fêmea:

- Taxa de fertilidade =  $\frac{\text{Número de ovos férteis}}{\text{Número de ovos incubados}} \times 100$
- Taxa de eclodibilidade =  $\frac{\text{Número de ovos eclodidos}}{\text{Número de ovos férteis}} \times 100$
- Taxa de eclosão =  $\frac{\text{Número de ovos eclodidos}}{\text{Número de ovos incubados}} \times 100$
- Número de ovos postos por fêmea =  $\frac{\text{Número de ovos postos}}{\text{Número de fêmeas}}$

### **Ciclo 2008/2009**

Em julho de 2008, por ocasião do alojamento das aves para reprodução, foram formadas as três sub-populações para os experimentos de seleção. A designação das aves a cada sub-população foi totalmente ao acaso de modo que a variabilidade existente na população base estivesse representada em cada uma das linhas experimentais.

A progênie de cada linha nascida na estação reprodutiva de agosto de 2008 a abril de 2009 (F1), foi submetida à avaliação do tempo de permanência em imobilidade tônica (IT) quando atingiu 90 dias e 120 dias de idade, sendo também realizada a coleta de sangue para obtenção da relação heterófilo/linfócito (H/L). Foram mantidas algumas aves de reserva de cada sub-população para possível reposição de animais que viessem a óbito durante o ciclo reprodutivo.

No **ciclo de Julho/2008 a Abril/2009** foram alojadas 140 fêmeas e 100 machos, totalizando 240 aves distribuídas em 100 boxes, sendo que em 60 boxes a relação de machos e fêmeas foi 1:1 e o restante dos boxes foi 1:2. A postura foi de 1758 ovos, destes 343 estavam quebrados, bicados ou com casca mole, restando 1415 ovos viáveis para incubação, ocorrendo nascimento de 466 perdigotos. Os ovos não eclodidos foram submetidos ao embriodiagnóstico, o que revelou que 527 dos ovos incubados não foram fecundados (ovo claro), 138 ovos apresentaram morte embrionária precoce, 103 morte embrionária intermediária e 181 morte embrionária tardia, totalizando 888 ovos férteis.

A postura de ovos ocorreu em 87 boxes, portanto, 123 fêmeas foram capazes de ao menos produzir 1 ovo. A taxa de mortalidade dos perdigotos foi de 28%, ou seja, do total de 466 nascidos, 333 foram transferidos ao Setor de Animais Silvestres, da FCAV/UNESP quando atingiram, aproximadamente, 10 dias de idade. Após a transfência para o setor, 73 perdigotos morreram, assim, 257 receberam anilha definitiva colocada na asa direita de cada ave, sendo que 137 aves foram avaliadas para o tempo em IT e relação H/L.

Para alcançar a normalidade, os dados do tempo em IT foram transformados, usando-se logaritmo na base 10 ( $\text{Log}_{10}\text{IT}$ ).

### **Manejo reprodutivo**

O sistema de acasalamento foi por monta natural. A estação reprodutiva das aves alojadas no setor inicia-se, geralmente, ao final de agosto, com o aumento do fotoperíodo, sendo considerado seu início a postura do primeiro ovo e prolonga-se até meados de abril do ano seguinte (THOLON, 2006; BRUNELI, 2006; STEIN, 2006).

No ciclo 2008-2009, com objetivo de aumentar a postura dos ovos, foi utilizado programa de luz, com aumento gradual do período de luminosidade, a partir de setembro, atingindo 16 horas de luz contínua em dezembro, como proposto por CAMPOS (1994).

Os animais que ficaram doentes ou que apresentaram injúrias, como sinais de



bicada, foram levados a local reservado e tratados, separadamente, até que melhorassem, voltando, assim, aos respectivos boxes. Os animais mortos foram substituídos.

### **Manejo dos ovos e identificação da genealogia**

Segundo SICK (1997), os ovos são de cor vinácea ou chocolate violáceo, tido como os mais belos que se conhecem, sendo brilhantes e parecidos com porcelana.

Os ovos foram colhidos duas vezes ao dia, uma no período da manhã e outra no período da tarde. Receberam uma etiqueta com informações do número do box de origem, ordem e a data de postura. Estas mesmas informações foram anotadas nas planilhas colocadas em cada box para ter melhor controle. A identificação dos ovos é o procedimento inicial que possibilita a determinação do *pedigree*. Uma das dificuldades na determinação da genealogia materna do indivíduo deve-se ao fato da fêmea não fazer a postura em ninhos, sendo ineficaz o uso de ninho alçapão para esta espécie (HOSHIBA et al., 2002).

As informações dos ovos com casca mole, trincados e quebrados também foram anotados na planilha, para ter o controle de postura de cada box e posterior avaliação do número de ovos postos por fêmea. Esses ovos foram descartados, pois, não estavam viáveis para incubação.

Todos os ovos de casca íntegra foram levados ao Laboratório de Embriologia, do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da FCAV/UNESP para incubação (Figura 1- A e B). Os ovos, então, foram desinfetados com solução de formol a 5% e foram tomados o peso, medidas longitudinais e verticais do eixo e em seguida foram colocados nas incubadoras com giro automático (Figura 1A) a cada hora. A incubação foi realizada diariamente. Após 16 dias, os ovos foram transferidos ao nascedouro (Figura 1B), sendo pesados e colocados individualmente em sacos de filó possibilitando a identificação de origem do perdigoto recém-nascido. Tanto a incubadora quanto o nascedouro eram da marca Premium ecológica com capacidade para até 80 ovos e foram mantidos a temperatura de 36°C e 60% de umidade.

A ovoscopia não foi realizada, pois os ovos de perdizes são de coloração escura, impossibilitando a visualização definida do seu interior. Assim, os ovos que não eclodiram em 26 dias foram retirados dos nascedouros e submetidos ao embriodiagnóstico, avaliando-se morte embrionária precoce (1 a 7 dias), morte embrionária intermediária (8 a 15 dias) ou morte embrionária tardia (desenvolvimento embrionário maior que 16 dias) ou como ovo claro (não fecundado).

### Manejo dos recém-nascidos

A eclosão ocorreu por volta de 21 dias após a postura (Figura 1C). Após o nascimento, os perdigotos eram pesados e recebiam anilhas provisórias constituídas por abraçadeiras coloridas na pata, cuja combinação de cores correspondia ao número do ovo e à linhagem a que pertenciam. Os perdigotos eram abrigados em criadeiras, também instaladas no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, possuindo em seu interior lâmpadas para aquecer os filhotes e bandejas removíveis coletoras de dejetos, possibilitando melhor limpeza que era realizada diariamente pelo tratador. Os perdigotos receberam ração farelada contendo em sua formulação 28% de Proteína Bruta e 2800 kcal/EM/kg e água com 1 gota de Vita Gold, *ad libitum* e após 5 a 10 dias alojados nestas criadeiras, eram pesados e transferidos ao galpão de recria do Setor de Animais Silvestres da FCAV/UNESP.



Figura 1. Ilustração do manejo dos ovos de perdiz (*Rhynchotus rufescens*) e perdigoto. (A) ovos na incubadora com giro automático; (B) Ovos no saco de filó para identificação da genealogia; (C) Nascimento do perdigoto

## **Alojamento dos perdigotos**

Os perdigotos transferidos ao Setor de Animais Silvestres da FCAV/UNESP foram alojados no galpão de recria. Este galpão foi construído em 2003, com área de 300 m<sup>2</sup>, no qual foram instalados 28 boxes com 20 m<sup>2</sup> de área com possibilidade de divisão em 56 boxes para experimentos, com 10 m<sup>2</sup> de área.

Durante a primeira semana no galpão de recria, os perdigotos receberam água com Terramicina<sup>®</sup> e por mais duas semanas receberam aquecimento artificial, mediante o uso de campânulas com lâmpadas de raios infravermelhos de 150W de potência. Inicialmente, os animais foram mantidos em box com 10 m<sup>2</sup> de área, sendo que em cada box foram alojados 15 perdigotos com idades semelhantes e, ao atingirem o peso de cerca de 90 g, era realizado o anilhamento definitivo, colocando-se anilha metálica na asa direita com numeração própria, em substituição à anilha provisória. A anilha definitiva permitia a identificação da genealogia e possibilitava acesso às fichas de controle zootécnico do animal. Por volta da 10<sup>a</sup> semana, as aves eram transferidas para box com 20 m<sup>2</sup> de área, evitando-se assim morte por superlotação e bicagem.

## **Manejo dos animais**

A água era fornecida *ad libitum*, utilizando-se bebedouros tipo cone para os filhotes com até cinco semanas de idade e bebedouros pendulares convencionais para os animais mais velhos. A limpeza dos bebedouros era realizada três vezes por semana. O fornecimento de ração (28% de proteína bruta e 2800 kg de EM/kg) *ad libitum* era realizada três vezes por semana, sendo o alimento peletizado para aves com idade superior a quatro semanas e farelado para animais mais jovens, em comedouros pendulares.

A limpeza dos galpões era realizada ao menos três vezes por semana, para manter o ambiente limpo, bem como objetos organizados e higienizados. A troca da cama de feno (*Cynodon dactylon*) era realizada a cada 90 dias ou conforme a necessidade, sendo que em época de postura a troca de cama era evitada para não causar estresse aos animais em reprodução.

O manejo sanitário incluiu a verificação anual de endo e ectoparasitos. Não foi feito qualquer programa de vacinação nas aves. Segundo SOUSA et al. (1999), a perdiz (*Rhynchotus rufescens*) não manifesta os sintomas da doença de New Castle que acomete as aves de granjas comerciais.

Em casos de infestações por “piolho” (espécies da ordem Mallophaga), a cama era trocada e Bolfo<sup>®</sup> era aplicado nos animais e nas camas. A permanência dos animais nos galpões isolados de outras aves reduziu as chances de contaminação. Para evitar a contaminação dos animais, principalmente dos animais mais velhos em direção aos mais novos, os galpões de reprodução e de crescimento possuíam equipamentos e materiais próprios, não havendo troca entre eles.

Os animais mortos foram levados ao departamento de Patologia da UNESP-FCAV para ser realizada a necropsia.

### **Sexagem**

As perdizes não apresentam dimorfismo sexual aparente, assim, a identificação do sexo é realizada pelo método de sexagem por reversão da cloaca para verificar a presença ou não do órgão copulador (MORO et al., 1994). A sexagem era realizada em época próxima a estação reprodutiva, pois a visualização do falo nos machos fica mais evidente neste período.

Com o desenvolvimento do animal, era feito o corte das penas de vôo (rêmiges secundárias) de uma das asas. Este procedimento é importante para auxiliar na captura e contenção do animal durante as pesagens e as medidas de IT.

### **Imobilidade tônica (IT)**

Os procedimentos para tomada de medidas da IT foram realizados de acordo com a metodologia descrita por JONES & FAURE (1981).

A IT foi medida quando as aves atingiram 90 dias de idade e as aves da terceira geração, ou seja, nascidas no ciclo 2008-2009, a característica IT também foi medida aos 120 dias de idade. Segundo BILČÍK et al. (1998), o ambiente onde é realizada a

medida do tempo em IT afeta o nível de medo nos animais. Portanto, todas as medidas IT foram realizadas no mesmo local, dando-se preferência ao período da manhã quando o clima é mais ameno, evitando-se possível estresse causado pela temperatura.

Inicialmente, as aves eram apanhadas cuidadosamente, colocadas em caixas para serem levadas ao galpão de reprodução, que apresenta uma área isolada das aves alojadas para reprodução e em seguida era anotado o peso de cada ave. Um fator que influencia a duração do estado em imobilidade durante as avaliações experimentais é a ordem em que as aves são capturadas, sendo os primeiros animais capturados os menos estressados, conseqüentemente, estes animais permanecem por menor tempo em imobilidade tônica em relação aos demais (MILLS & FAURE, 1990; GUANDOLINI, 2005). Assim, após a pesagem, as aves eram colocadas individualmente em uma caixa de PVC medindo 50x50x50cm permanecendo dentro desta durante dez minutos, para retirar possíveis efeitos que pudessem causar alterações no estado de permanência em IT. A seguir, a ave era retirada da caixa de PVC e colocada em decúbito dorsal sobre um leito de madeira em formato de V (Figura 2- A, B e C), com a cabeça pendendo para fora deste leito e para que a IT fosse induzida, a ave era contida no peito e na cabeça pelas mãos do avaliador durante 10 segundos. O observador posicionou-se a, aproximadamente, 1 metro da ave, sempre mantendo contato visual com a ave até que esta saísse do estado catatônico. O tempo foi medido em segundos por um cronômetro. O tempo mínimo considerado neste estado foi de dez segundos e se antes deste tempo o animal saísse do estado catatônico, então a IT era novamente induzida. Se o animal não saísse do estado catatônico no período de 40 minutos, então, era retirado desta posição e admitia-se o tempo de 40 minutos para esta ave.

Aos 120 dias de idade da ave, o tempo de permanência em IT foi novamente medido.



Figura 2 – Ave em imobilidade tônica, visualizada por diferentes ângulos. (A) vista geral; (B) vista lateral; (C) vista frontal

### **Relação heterófilo/linfócito (H/L)**

A coleta de sangue bem como o cálculo para obter a relação heterófilo/linfócito (H/L) foi similar ao do trabalho realizado por CAMPO & DÁVILA (2002). Após a última medida do tempo em IT, foram realizados os procedimentos para obter-se a relação H/L. Para isto, a ave foi retirada do box e o sangue coletado imediatamente, através da punção da veia braquial da asa, utilizando-se seringa descartável de 3mL e agulhas de calibre 0,45x13. Para a confecção das lâminas, uma gota de sangue foi depositada sobre a lâmina previamente limpa e foram realizadas extensões sangüíneas com auxílio de uma lamínula, sendo feita duas amostras para cada animal.

Os esfregaços de sangue foram levados ao Laboratório do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da FCAV/UNESP, sendo fixados e corados utilizando o kit panótico. No total, 100 leucócitos, incluindo as granulares – heterófilos, eosinófilos e basófilos – e não granulares – linfócitos e monócitos – foram contadas das lâminas de sangue de cada ave utilizando-se microscópio óptico comum, binocular, com objetiva de 100X e oculares de 10X, e a relação heterófilo/linfócito foi calculada.

A coleta de sangue, bem como os procedimentos adotados para obter a relação H/L, tiveram início no mês de fevereiro de 2009. A determinação da relação H/L permitiu avaliar possível correlação com o tempo em IT.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKPA, G.N.; KOFFI, K.A.; HASSAN, M.R.; KABIR, M.; DURU S.; YASHIM, S.M. Effects of Feed Type, Sex and Plumage Condition on Tonic Immobility and Blood Parameters in Broilers **International Journal of Poultry Science**, v.6, n.3, p.218-222, 2007.

ALTAN, Ö.; SETTAR, P.; ÜNVER, Y.; ÇABUK, M. Heritabilities of Tonic Immobility and Leucocytic Response in Sire and Dam Layer Lines. **Turkey Journal Veterinary Animal Science** v.29, p. 3-8, 2005

ANTHONY, N. B.; KATANBAF, M. N.; SIEGEL, P. B. Responses to social disruption in two lines of White Leghorn chickens. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 21, p. 243-250, 1988.

ARMITGE, F. L. **Domestication of animals**. In: COLE, D. J. A.; BRANDER, G. C. Ecosystems of the world: Bioindustrial ecosystems. Elsevier Sciences, Amsterdam, 1986.

BELYAEV, D. K. Destabilizing selection as a factor in domestication. **The Journal of Heredity**, v.70, p. 301-308, 1979.

BILČÍK, B.; KEELING, L. J.; NEWBERRY, R. C. Effect of group size on tonic immobility in laying hens. **Behavioural Processes** v.43, p. 53–59, 1998.

BOLHUIS, J. J. Mechanisms of avian imprinting: a review. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 66, p. 303–345, 1991.

BRUNELI, F. A. T. **Concentrações plasmáticas de estradiol, testosterona, progesterona, prolactina e corticosterona em perdizes (*Rhynchotus rufescens*), criadas em cativeiro**. 2006. 75p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Faculdade de Ciências

Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

BUCHWALDER, T.; HUBER-EICHER, B. Effect of group size on aggressive reactions to an introduced conspecific in groups of domestic turkeys (*Meleagris gallopavo*). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 93, p. 251–258, 2005.

CAMPLER, M.; JÖNGREN, M.; JENSEN, P. Fearfulness in red junglefowl (*Gallus gallus*) and domesticated White Leghorn chickens. **Behavioural Processes**, v. 81, p. 39–43, 2009.

CAMPO, J. L.; CARNICER, C. Realized Heritability of Tonic Immobility in White Leghorn Hens: A Replicated Single Generation Test. **Poultry Science**, v. 72, p.2193-2199, 1993.

CAMPO, J. L.; DAVILA, S. G. Influence of mating ratio and group size on indicators of fearfulness and stress in hens and cocks. **Poultry Science** v. 81 n.8, p. 1099–1103, 2002.

CAMPO, J. L.; DÁVILA, S. G. Effect of Photoperiod on Heterophil to Lymphocyte Ratio and Tonic Immobility Duration of Chickens. **Poultry Science** v. 81, p. 1637–1639, 2002.

CAMPO, J. L.; GIL, M. G.; DÁVILA, S. G. Effects of specific noise and music stimuli on stress and fear levels of laying hens of several breeds. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 91, p. 75–84, 2005.

CAMPO, J. L.; PRIETO, M. T.; DÁVILA, S. G. 2008. Association between vent pecking and fluctuating asymmetry, heterophil to lymphocyte ratio, and tonic immobility duration in chickens. **Applied Animal Behaviour Science** v. 113 p. 87–97, 2008.

CAMPOS, E. J. Programa de luz. In **Manejo de matrizes**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1994. p.93-106.



CLUTTON-BROCK, J. **Domesticated animals from early times**. Heinemann. British Museum, London, 1981, 208p.

COLLETTE, J.C.; MILLAM, J.R.; KLASING, K.C.; WAKENELL, P.S. Neonatal handling of Amazon parrots alters the stress response and immune function. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 66, p. 335–349, 2000.

COLLIAS, N. E.; COLLIAS, E.C.; HUNSAKER, D.; MINNING, L. Locality fixation, mobility and social organization within an unconfined population of red jungle fowl. **Animal Behaviour**, v. 14, p. 550–559, 1966.

CRAIG, J. V. Domestication. In: CRAIG, J. V. **Domestic animal behaviour: causes and implication for animal care and management**. New Jersey: Prentice- Hall, v. 1, p. 21-31, 1981.

CRAIG, J. V.; ADAMS, A. N. 1984. Behaviour and well-being of hens (*Gallus domesticus*) in alternative housing environments. **World's Poultry science journal**, v. 40, p. 221-240, 1984.

DENNIS, R. L.; MUIR, W. M.; CHENG, HENG-WEI. Effects of raclopride on aggression and stress in diversely selected chicken lines. **Behavioural Brain Research**, v. 175, p. 104–111, 2006.

DUNCAN, I.J.H. Animal behaviour and welfare. In **Environmental aspects of housing for animal production**. J.A. Clark (ed.), Butterworths, London. p.445-470. 1981.

DUNCAN, I.J.H. S,. In: **How do fearful birds respond?** Proceedings of the Second European Symposium on Poultry Welfare (Ed. Wegner) WPSA, pp. 96–106, 1985.

DUNCAN, I.J.H. Pain, fear and stress. **Global Conference on Animal Welfare: an OIE initiative**. European Communities, Office international des epizooties, 2004.

EDWARDS, J.D. The role of the veterinarian in animal welfare – A global perspective. **Global Conference on Animal Welfare: an OIE initiative**. European Communities, Office international des epizooties, 2004.

EL-LETHEY, H.; HUBER-EICHER, B.; JUNGI, T. W. Exploration of stress-induced immunosuppression in chickens reveals both stress-resistant and stress-susceptible antigen responses. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 95, p. 91–101, 2003.

ELROM, K. Review: Handling and transportation of broilers welfare, stress, fear and meat quality. **Journal of Veterinary Medicine**, Israel, v.55, p.39-45, 2000.

FALCONER, D. S; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4. ed. England: Longman, 1996. p. 464.

FAURE, J. M.; VAL-LAILLET, D.; GUY, G.; BERNADET, MARIE-DOMINIQUE; GUÉMÉNÉ, D. Fear and stress reactions in two species of duck and their hybrid. **Hormones and Behaviour**, v. 43, n. 5, p. 568-572, 2003.

FORMANEK, L.; HOUDELIER, C.; LUMINEAU, S.;BERTIN, A.; CABANES, G.; RICHARD-YRIS, M. A. Selection of social traits in juvenile Japanese quail affects adults' behaviour . **Applied Animal Behaviour Science** v. 112, p. 174–186, 2008.

GONYOU, H. W. 2001. The social behaviour of pigs. In: Keeling, L.J., Gonyou, H.W. (Eds.), *Social Behaviour of Farm Animals*. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom, pp. 147–176.

GRIGOR, P.N. Use of space by laying hens: social and environmental implications for free-range systems. Ph.D. thesis. University of Edinburgh, p. 156. 1993.

GROSS, W. B.; SIEGEL, H. S. Evaluation of the Heterophil/Lymphocyte Ratio as a Measure of Stress in Chickens **Avian Diseases**, v. 27, n. 4, p. 972-979, 1983.

GROSS, W. B.; SIEGEL, P. B. Effects of initial and second periods of fasting on heterophil/lymphocyte ratios and body weight. **Avian Diseases**, v. 30, p. 345-346, 1986.

GUANDOLINI, G.C. **Avaliação de imobilidade tônica e agressividade em codornas nas fases de recria e postura: Efeitos da adição de triptofano na alimentação**. 2005, 29f. Trabalho de Graduação – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

HALE, E. **Domestication and evolution of behaviour**. In: HAFEZ, E.S.E. (ED.) Behaviour of domestic animals. Baillière, Tindall & Cassell, London, 1969.

HAZARD, D.; COUTY, M.; FAURE, J. M.; GUÉMÉNÉ, D. Relationship between hypothalamic- pituitary- adrenal axis responsiveness and age, sexual maturity status and sex in Japanese quail selected for long or short duration of tonic immobility. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, p. 1913-1919, 2005.

HAZARD, D.; COUTY, M.; RICHARD, S.; GUÉMÉNÉ, D. Intensity and duration of corticosterone response to stressful situations in Japanese quail divergently selected for tonic immobility. **General and Comparative Endocrinology** v.155, n.2, p.288-297. 2008.

HAZARD, D. ; LECLAIRE, S. ; COUTY, M. ; GUÉMÉNÉ, D. Genetic differences in coping strategies in response to prolonged and repeated restraint in Japanese quail divergently selected for long or short tonic immobility. **Hormones and Behavior**, v. 54,

p. 645–653, 2008.

HEIBLUM, R.; AIZENSTEIN, O.; GVARYAHU, G.; VOET, H.; ROBINSON, B. Tonic immobility and open field responses in domestic fowl chicks during the first week of life. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 60, p. 347-357, 1998.

HOFMANN, H. A. Functional genomics of neural and behavioral plasticity. **Journal of Neurobiology**, v. 54, p. 272–282, 2003.

HOSHIBA, M. A.; THOLON, P. A.; TANAKA, A. L. R.; QUEIROZ, S. A.; DUARTE, J. M. B.; TONHATI, H. Horário e local de postura de perdizes (*Rynchotus rufescens*) em cativeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE GENÉTICA DE AVES NEOTROPICAIS, 2008, São Carlos, **Anais....** CDRom. 2002.

JENSEN, P., ANDERSSON, L. Genomics meets ethology: a new route to understanding domestication, behaviour and sustainability in animal breeding. **Ambio**, v. 34, p. 320–324, 2005.

JENSEN, P. Domestication—From behaviour to genes and back again. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 97, p. 3–15, 2006.

JENSEN, P.; BUITENHUIS, B.; KJAER, J.; ZANELLA, A.; MORME, P.; PIZZARI, T. Genetics and genomics of animal behaviour and welfare—Challenges and possibilities. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 113, p. 383–403, 2008.

JONES, R. B; FAURE, J. M. Tonic immobility («righting time») in laying hens housed in cages and pens. **Applied Animal Ethology**, v. 7, p. 369-372, 1981.

JONES, R. B.; FAURE, J.M.: Tonic Immobility in the Domestic Fowl as a Function of Social Rank. **Biology Behaviour**, v. 7, p. 27-32, 1982.

JONES, R. B. The tonic immobility reaction of the domestic fowl: a review. **World's Poultry Science Journal**, New York, v. 42, n. 1, p. 82-96, 1986.

JONES, R. B. Assessment of fear in adult laying hens: correlational analysis of methods and measures. **Brasilian Poultry Science**, v. 28, p. 319–326, 1987.

JONES, R. B., BEUVING, G.: BLOKHUIS, H. J. Tonic immobility and the heterophil/lymphocyte responses of the domestic fowl to corticosterone infusion. **Physiology and Behaviour**, v. 42, n. 3, p. 249–253, 1988.

JONES, R. B. Avian open-field research and related effects of environmental novelty: an annotated bibliography. **Psychological Record**, v.39, p.397-420, 1989.

JONES, R. B.; MILLS, A. D.; FAURE, J. M. Genetic and experiential manipulation of fearrelated behavior in Japanese quail chicks (*Coturnix coturnix japonica*). **Journal of Comparative Psychology**, v. 105, n.1, p. 15–24, 1991.

JONES, R. B.; MILLS, A. D.; FAURE, J. M.; WILLIAMS, J. B. Restraint, fear, and distress in Japanese quail genetically selected for long or short tonic immobility reactions. **Brasilian Poultry Science**, v. 56, n. 3, p. 529–534, 1994.

JONES, R. B. Regular handling and the domestic chick's fear of human beings: generalization of response. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 42, 261–269, 1995.

JONES, R. B.; SATTERLEE, D. G. Threat-induced behavioural inhibition in Japanese quail genetically selected for contrasting adrenocortical response to mechanical restraint. **Brasilian Poultry Science** , v. 37, p. 465–470, 1996.

JONES, R. B. Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives.

**World's Poultry Science Journal**, v. 52, p. 131–174, 1996.

KEER-KEER, S.; HUGHES, B. O.; HOCKING, P. M.; JONES, R. B. Behavioural comparison of layer and broiler fowl: measuring fear responses. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 49, p. 321-333, 1996.

KOOLHAAS, J. M.; KORTE, S. M.; DE BOER, S. F.; VAN DER VEGT, B. J.; VAN REENEN, C. G.; HOPSTER, H.; DE JONG, I. C.; RUIS, M. A. W.; BLOKHUIS, H. J. Coping styles in animals: current status in behaviour and stress-physiology. **Neuroscience Behaviour Review.**, v. 23, p. 925-935, 1999.

LAUNAY, F., **Conséquences comportementales et physiologiques de sélections pour l'émotivité et l'attractivité sociale chez la caille japonaise (Coturnix japonica)**. Thèse, Université de Rennes I, 1993.

LIEBERMANN, J. **Monografía de las tinamiformes argentinas y el problema de su domestication**. Buenos Aires: Editora Tallares Gráficos, 1936.

LINDBERG, A. C.; NICOL, C. J. Effects of social and environmental familiarity on group preferences and spacing behaviour in laying hens. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 49, p. 109-123, 1996.

MASELLO, J. F. R.; CHOCONI, G.; HELMER, M.; KREMBERG, T.; LUBJUHN, T.; QUILLFELDT, P. Do leucocytes reflect condition in nestling burrowing parrots *Cyanoliseus patagonus* in the wild? **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 152, p. 176–181, 2009.

MAXWELL, M. H. Avian blood leucocyte responses to stress. **World's Poultry Science Journal** v. 49, p. 34–43, 1993.

MILLS, A. D.; FAURE, J. M. Panic and hysteria in domestic fowl: a review. In: Social stress in domestic animals. R. Zayan and R. Dantzer (eds), **Kluwer Academic Publisher**, Dordrecht, p.248-272, 1990.

MILLS, A. D.; FAURE, J. M. Divergent Selection for duration of Tonic immobility and Social Reinstatement Behavior in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Chicks. **Journal of Comparative Psychology**, v. 105, n. 1, p. 25-38, 1991.

MILLS, A. D.; FAURE, J. M. Ease of capture in lines of Japanese quail (*Coturnix japonica*) subjected to contrasting selection for fear or sociability. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 69, n. 2, p. 125-134, 2000.

MINVIELLE, F.; MILLS, A. D.; FAURE, J. M; MONVOISIN, J. L, GOURICHON, D. Fearfulness and performance related traits in selected lines of japanese quail (*Coturnix japonica*). **Poultry Science**, v.81, n.3, p.321-326, 2002.

MOLLER, A. P.; MANNING, J. Growth and development instability. **The Veterinary Journal**, London, v. 166, n. 1, p. 19-27, 2003.

MORO, M. E. G.; GIANNONI, M. L.; PAULILLO, A. C. Estudos da *Rhynchotus rufescens*-Perdiz (Aves:Tinamiformes) em cativeiro. 1. Sexagem. **Ars Veterinária**, v. 10, n. 1, p. 37-40, 1994.

MORO, M. E. G. **Desempenho e características de carcaça de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas com diferentes programas de alimentação na fase de crescimento**. 1996. 75p. Tese (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

MORO, M. E. G; TAVARES, F. A; LIMA, C. G. Desempenho Produtivo da Perdiz

(*Rhynchotus rufescens*) Submetida a Rações com Diferentes Níveis Energéticos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 2, n. 1, 2000.

MORO, M. E. G.; ARIKI, J.; SOUZA, P. A. *et al.*. Rendimento de carcaça e composição química da carne da perdiz nativa (*Rhynchotus rufescens*). **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.258-262, 2006.

NALIBOFF, B. D.; BENTON, B.; SOLOMON, G. F.; MORLEY, J. E.; FAHEY, J. L.; BLOOM, E. T.; MAKINODANT, T.; GILMORE, S. L. Immunological changes in young and old adults during brief laboratory stress. **Psychosom Medical**, v.53, n.2, p.121-132, 1991.

NEWBERRY, R. C.; ESTEVEZ, I.; KEELING, L. J. Group size and perching behaviour in young domestic fowl . **Applied Animal Behaviour Science**, v. 73, p. 117-129, 2001.

ORIAN, G. H. On the evolution of mating systems in birds and mammals. **American Naturalist**, v. 103, n. 4, p. 589-603, 1969.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. 5.ed. Belo Horizonte : FEPMVZ Editora, 2008.

PRICE, E. O. Behaviour aspects of animal domestication. **The Quarterly Review of Biology**, New York, v. 59, p. 1-32, 1984.

PRICE, E. O. Behavioral development in animals undergoing domestication. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 65, p. 245–271, 1999.

PRICE, E. O. 2002. Animal Domestication and Behavior. CABI Publishing, Wallingford.

QUEIROZ, S. A., THOLON, P., FREITAS, E. C., BRUNELI, F. A. T. Comparison of



growth curve models of partridges (*Rhynchotus rufescens*) raised in captivity. In: WORLD'S POULTRY CONGRESS, XXII, Istambul, **Abstracts...**, Istambul: 2004. CD Rom.

REED, C.A. **The pattern of animal domestication in the prehistoric near east.** In: UCKO, P.J.; DIMBLELY, G.W. The domestication and exploration of plant and animals. London. 1969.

REED, C. A. **A model for the origin of agriculture in the near east.** In: REED, C.A. (Ed) *Origins of Agriculture*, pp 543-567, 1977.

RICHARD, S.; DAVIES, D. C.; FAURE, J. M. The role of fear in one-trial passive avoidance learning in Japanese quail chicks genetically selected for long or short duration of the tonic immobility reaction. **Behavioural Processes**, v. 48, p. 165–170, 2000.

RICHARDS, E.J. Inherited epigenetic variation—revisiting soft inheritance. **Nature Reviews Genetics**, v. 7, p. 395–402, 2006.

RODENBURG, T. B.; KOENE, P. The impact of group size on damaging behaviours, aggression, fear and stress in farm animals. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 103, p. 205–214, 2007.

RUSHEN, J.; TAYLOR, A. A.; PASSILLE, A. M. Domestic animals' fear of humans and its effect on their welfare. **Applied Animal Behaviour Science** v. 65, p. 285–303, 1999.

SALVATIERRA N. A., ARCE A. Day-old chicks categorised on latency to peck, exhibit a stable fear pattern until 15 days of age. **Applied animal behaviour science** v. 73, p. 103-116, 2001.

SICK, H. **Ornitologia brasileira, uma introdução**. Brasília: Universidade de Brasília, 1985. v. 1, p. 133-146.

SICK, H. Ordem tinamiformes. In: **Ornitologia Brasileira**. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, p. 153-167. 1997.

SILVA, F.R. **Efeito de benzodiazepínicos sobre a atividade de neutrófilos de ratos avaliados por citometria de fluxo**. Tese (Doutorado) em Patologia Experimental e Comparada. Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, f.21-37, 2003.

SOUSA, R. L. M.; CARDOZO, T. C.; PAULILLO, A. C.; MONTASSIER, H. J.; PINTO, A. A. Antibody response to Newcastle disease vaccination in a flock of young partridges (*Rhynchotus rufescens*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 30, n. 3, p. 459-641, 1999.

STEIN, M.S. **Aspectos reprodutivos e comportamentais de perdizes (*Rhynchotus rufescens*), submetidas a diferentes estratégias de acasalamento**. 2006. 67p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

SUAREZ, S.D., GALLUP JR., G.G. Emotionality and fear in birds: a selected review and reinterpretation. **Bird Behaviour**. v. 5, p. 22–30, 1983.

THOLON, P.; QUEIROZ, S. A; TONHATI, H. Evaluation of time of tonic immobility in captive partridges (*Rhynchotus rufescens*). In: WORLD CONGRESS OF GENETICS APPLIED OF LIVESTOCK PRODUCTION, 7th 2002, Montpellier, **Abstracts**.... 2002. CD Rom

THOLON, P. **Estudo do crescimento de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas em**

**cativoiro**. 2006. 175p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

THOLON, P.; QUEIROZ, S. A. Models for the of growth curves for rearing tinamous (*Rhynchotus rufescens*) in captivity. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.9, n.1., p.23-31, 2007.

THOLON, P.; QUEIROZ, S. A. Utilização de diferentes estruturas de variância residual em modelos de regressão aleatória para descrição da curva de crescimento de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas em cativeiro. **Caatinga**, v.21, p.373-47, 2008.

VLECK, C. M.; VERTALINO, N.; VLECK, D.; BUCHER, T. L. Stress, corticosterone, and heterophil to lymphocyte ratios in free-living adelic penguins. **The Condor** v.102, p. 392–400, 2000.

ZULKIFLI, I.; CHE NORMA, M. T.; CHONG, C. H.; LOH, T. C. Heterophil to Lymphocyte Ratio and Tonic Immobility Reactions to Preslaughter Handling in Broiler Chickens Treated with Ascorbic Acid. **Poultry Science** v. 79, p. 402–406, 2000.

## Capítulo 2 – Efeitos ambientais que afetam o tempo de permanência em imobilidade tônica de perdizes (*Rhynchotus rufescens*)

**Resumo** – A perdiz (*Rhynchotus rufescens*), ave selvagem nativa do continente sul americano, possui propriedades favoráveis para ser criada em escala comercial e a seleção para imobilidade tônica (IT) pode ser uma ferramenta auxiliar na sua domesticação. A característica IT representa o índice de medo, sendo que quanto maior o tempo de permanência em IT, maior será o nível de medo do animal. O objetivo deste trabalho foi verificar quais fontes de variação são importantes para o tempo de permanência em IT em perdizes de três gerações. Para avaliar o tempo de permanência em IT, a ave foi colocada em decúbito dorsal sobre a superfície do leito de madeira em forma de V e o tempo em segundos, neste estado foi mensurado por um cronômetro. As observações foram analisadas pelo método dos quadrados mínimos, usando-se um modelo estatístico que incluiu os efeitos sexo da ave, época de nascimento e co-variável peso no momento da tomada de medida de IT. A média do tempo em IT da população de perdiz foi  $342,50 \pm 341,09$  segundos e a análise identificou a influência do peso corporal, sendo que, animais mais pesados apresentaram maior tempo de permanência em IT ( $b = 0,32 \pm 0,14g, p < 0,05$ ). O efeito da época de nascimento também foi significativo ( $p < 0,05$ ) e indica necessidade de um estudo mais detalhado dos fatores ambientais que compõem esse efeito e que influenciam o nível de medo dessa espécie.

**Palavras-chave:** bem estar animal, comportamento de medo, domesticação

## INTRODUÇÃO

A perdiz (*Rhynchotus rufescens*), ave terrícola, de aparência galinácea, pertence à ordem Tinamiforme, família Tinamidae e subfamília Nothurinae, que compreende um grupo de aves com distribuição restrita ao continente americano. Esta espécie faz parte da avifauna mais antiga do continente e distribui-se por regiões de campo sujo, cerrado e caatinga, apresentando asas bem definidas e arredondadas, e em vida livre, usam o bico forte, longo e curvo para cavar a terra à procura de raízes e tubérculos, além de se alimentarem de insetos (SICK, 1997).

A grande disseminação geográfica, o hábito alimentar onívoro e a capacidade cinegética deste tinamídeo, tornaram-no atrativo, do ponto de vista econômico (CROMBERG et al., 2007). Acredita-se que a domesticação da espécie *Rhynchotus rufescens* seja possível, pois, trabalhos anteriores demonstraram a facilidade destas aves em se adaptarem à alimentação composta por rações industriais fareladas (MORO, 1996) e peletizadas (HOSHIBA et al., 2003), boa viabilidade para produção de carne, com rendimento de carcaça de 74,37% e de peito igual a 36,65% (MORO et al., 2006) e boa velocidade de crescimento (THOLON & QUEIROZ, 2007), demonstrando assim, grande potencial para ser explorada zootecnicamente e a sua domesticação torna-se interessante como uma opção a mais para a produção de carne avícola em larga escala.

A domesticação animal pode ser definida como um processo no qual, os animais em cativeiro se adaptam ao homem e ao ambiente que ele proporciona, por meio da seleção (PRICE, 1984; PRICE, 2002).

O desenvolvimento das linhagens de aves domésticas comerciais tem sido, em grande escala, baseado na seleção para características relacionadas ao desempenho econômico. No entanto, a influência dessa seleção nos caracteres comportamentais e o papel desempenhado pelas características comportamentais no processo de seleção ainda não foram amplamente estudados e essas informações são de extrema importância se características comportamentais, como a reação de medo, forem incluídas no programa de seleção (MINVIELE et al., 2002).

Assim, estudos para verificar o comportamento animal a partir das reações de

medo vem sendo realizados a fim de proporcionar aos animais maior bem estar e otimizar a relação homem-animal, resultando assim, em melhores índices zootécnicos e potencializando a produtividade e desempenho dos animais, com melhor custo benefício.

Segundo JONES (1987) o medo é, provavelmente, um estado em dormência no animal. Alguns indivíduos reagem de modo ativo, ou seja, lutam ou fogem, enquanto outros mostram comportamento inibido durante a reação de medo (KOOLHAS et al., 1999). Na incapacidade de lutar ou fugir, os animais cessam toda atividade em curso e imediatamente ficam imóveis quando a causa de perigo é detectada, reduzindo deste modo, a capacidade de avaliar e reagir diante dos predadores (HAZARD et al., 2008). Desta forma, em meio natural, a reação de medo aumentaria a sobrevivência do animal, pois, geralmente, é induzida por circunstâncias que podem, de algum modo, estarem relacionadas à situação predador-vítima (SUAREZ & GALLUP, 1983); ambiente não familiar, especialmente em grandes campos abertos (GRIGOR, 1993); objetos novos, bem como a presença de humanos, som e odores (DUNCAN, 1985; JONES, 1986).

O medo é um estado emocional com respostas comportamental e fisiológica que são fundamentais para adaptação e sobrevivência. As respostas comportamentais estão ligadas com mecanismos psicológicos de atenção, aprendizagem e motivação. E a resposta fisiológica, ocorre nas mudanças respiratórias e cardiovasculares.

O comportamento de medo estimula o sistema nervoso, fazendo com que o hipotálamo produza mediadores químicos, o hormônio liberador da corticosterona (CRH) que irá atuar sobre a adenohipófise estimulando a produção e secreção do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e de  $\beta$ -endorfinas, sendo que o ACTH irá através da circulação sanguínea até o córtex adrenal estimular a secreção de glicocorticóides, principalmente a corticosterona. O sistema nervoso simpático também é ativado, estimulando a liberação de adrenalina e noradrenalina nos terminais nervosos simpáticos e na medula adrenal (DUKES, 1996).

Uma técnica que tem sido usada em muitos estudos para medir o nível de medo (JONES, 1986) é o tempo de permanência em imobilidade tônica (IT) também conhecido como simulação de morte. Este é um estado de sensibilidade reduzida pela

imobilização física, sendo que aves que permanecem menor tempo em IT apresentam menor nível de medo. Em ambiente natural, a IT é uma reação de defesa do comportamento anti-predador expressa pelo animal quando está em situações de perigo, como por exemplo, quando é capturado (GALLUP, 1977; THOMPSON & LIEBREICH, 1987). Fingindo estar morto, haveria uma grande chance de escapar em um momento de descuido do predador. A reação de IT é, portanto, uma estratégia de adaptação comportamental, presente em muitas espécies de aves (BILČÍK et al., 1998).

A duração do tempo em IT tem sido correlacionada positivamente proporção de heterófilo/linfócito (JONES et al., 1988). GROSS & SIEGEL (1983) determinaram que a relação heterófilo/linfócito (H/L) foi o melhor indicador para analisar a importância do estresse crônico em aves domésticas, observando-se que em resposta ao estresse, ocorreu aumento do número de heterófilos e decréscimo no número de linfócitos e a relação H/L foi menos variável que as taxas de heterófilos e de linfócitos.

A redução no nível de medo, provavelmente, é um pré-requisito para a domesticação bem sucedida. Imagina-se que os animais com menor reação de medo teriam maior capacidade de lidar com estresse do cativeiro e, em consequência, terem apresentado, potencialmente, maior adaptabilidade durante o início da domesticação (CAMPLER et al, 2009). Assim, a mensuração de IT pode ser uma ferramenta auxiliar para a domesticação.

O objetivo deste estudo foi verificar quais são as fontes de variação importantes para a característica tempo em IT em perdizes criadas em cativeiro.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Alojamento dos reprodutores**

#### Ciclo 2006 – 2007

A formação de 100 famílias foi realizada escolhendo aleatoriamente 256 fêmeas e 164 machos evitando-se somente a endogamia. O número de aves alojadas em cada box e a proporção de machos para cada fêmea para formação das famílias variou, sendo que foram alojados de 3 a 5 animais/box. As aves deste ciclo deram origem à população base na qual seriam separadas as linhagens de seleção cujos critérios eram

tempo de permanência em imobilidade tônica, comportamento de reintegração social e controle (não selecionada).

#### Ciclo 2007 – 2008

Em julho de 2007, foram escolhidos aleatoriamente 354 aves, 234 fêmeas e 120 machos, para a formação do plantel de reprodução. A escolha dos machos e fêmeas para a formação de 112 famílias foi realizada ao acaso evitando-se somente a endogamia. A proporção de machos (M) para cada fêmea (F) para formação das famílias constituiu de 1M:1F, 1M:2F, 1M:3F, 2M:2F, 2M:3F e 3M:3F. Neste ciclo somente 100 perdizes chegaram aos 90 dias de idade, podendo ser realizada as medidas de IT.

#### Ciclo 2008 – 2009

No ciclo de Julho/2008 a Abril/2009 foram alojadas 140 fêmeas e 100 machos, totalizando 240 aves distribuídas em 100 boxes, sendo que em 60 boxes a relação de machos e fêmeas foi 1:1 e o restante dos boxes foi 1:2. O tempo de IT foi medido aos 90 e 120 dias de idade da ave e a coleta de sangue foi realizada aos 120 dias de idade da ave após avaliação de IT. As famílias alojadas foram divididas em grupos de 20 famílias sendo que cada um destes grupos passaria a ser selecionado pelos seguintes critérios: maior tempo de permanência em IT menor tempo de permanência em IT, maior comportamento de reintegração social, menor comportamento de reintegração social, e um grupo controle que iria permanecer sem qualquer seleção artificial.

#### **Manejo**

A coleta e a incubação dos ovos foram realizadas diariamente. Inicialmente, os perdigotos eram abrigados em criadeiras, instaladas no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, até completarem 7 dias de idade. Após esse período, foram transferidos ao Setor de Animais Silvestres do Departamento de Zootecnia da FCAV – UNESP e instalados em boxes com área total de 10 m<sup>2</sup>, cujo piso concretado foi coberto com cama de feno de gramínea Coast Cross (*Cynodon dactylon*). Em cada box



foram alojados 15 animais com idades semelhantes e, por volta da 10<sup>a</sup> semana, foram transferidos para box com 20m<sup>2</sup>. A ração contendo 28% de proteína bruta e 2800 kcal de energia metabolizável foi fornecida *ad libitum*, na forma farelada para aves com idades até quatro semanas e peletizada para aves superiores a essa idade. O fornecimento de água, também *ad libitum*, foi realizado utilizando bebedouros tipo cone para os filhotes com até cinco semanas de idade e bebedouros pendulares para os animais mais velhos.

### **Imobilidade tônica (IT)**

Os procedimentos para tomada de medidas de IT foram realizados de acordo com a metodologia descrita por JONES & FAURE (1981). As medidas de IT foram realizadas em todas as aves nascidas em cada ciclo quando completaram 90 dias de idade e nas aves da terceira geração, ou seja, que nasceram no ciclo 2008 -2009 também tiveram informações de imobilidade tônica aos 120 dias de idade. Antes da medida de IT, os animais instalados no galpão de crescimento foram retirados dos boxes e pesados, colocando-os em seguida em uma caixa de PVC individualmente, por 10 minutos. Em seguida, a ave foi retirada da caixa e colocada em decúbito dorsal, restringindo-a contra a superfície do leito de madeira por alguns segundos e liberando-a em seguida. O observador, então, posicionou-se sentado cerca de um metro da ave, mantendo contato visual com ela até que a mesma saísse do estado catatônico. O tempo mínimo e máximo admitido neste estado foi 10 segundos e 40 minutos, respectivamente.

### **Análises estatísticas**

Com os dados coletados foi possível a elaboração das estatísticas descritivas do tempo de permanência em imobilidade tônica (IT), avaliado em segundos e peso avaliado em gramas, pelo procedimento MEANS do programa SAS<sup>®</sup> (SAS 9.1, SAS Institute, Cary, North Carolina, USA). Animais que não possuíam informação de sexo e peso e que apresentaram tempo de permanência em IT maior que 2000 segundos foram eliminados, totalizando 134 aves excluídas do banco de dados.

A análise de variância foi feita pelo método dos quadrados mínimos, por meio de

um modelo que considerou o sexo, a época de nascimento dentro de geração e o peso corporal como efeitos fixos, sendo o último incluído como covariável linear. A época de nascimento (EP) foi definida pelo mês e quinzena de nascimento da ave. Os dados de IT foram transformados, usando-se logaritmo na base 10 ( $\text{Log}_{10}\text{IT}$ ) e as análises foram processadas usando-se dados brutos e dados transformados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estatísticas descritivas do tempo em imobilidade tônica de fêmeas e de machos estão apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1.** Número de aves, média, desvio-padrão, valor mínimo e máximo do tempo em imobilidade tônica em segundo das fêmeas e dos machos de perdiz (*Rhynchotus rufescens*).

Sexo	Número de aves	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Fêmea	303	363,15	368,24	13,00	1988,00
Macho	240	316,43	302,12	14,00	1625,00
Total	543	342,50	341,09	13,00	1988,00

Nota-se valores muito altos do desvio-padrão do tempo em IT, indicando irregularidade do conjunto, ou seja, os animais evidenciaram grande variação individual para esta característica.

Na tabela 2 encontram-se as estatísticas descritivas do peso corporal das aves na época da medida de IT.

**Tabela 2.** Número de aves, média, desvio padrão, valor mínimo e máximo do peso corporal em gramas das fêmeas e dos machos de perdiz (*Rhynchotus rufescens*).

Sexo	Número de aves	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Fêmea	303	506,79	103,12	238,00	754,00
Macho	240	460,56	97,83	196,00	724,00
Total	543	486,35	103,31	196,00	754,00

As fêmeas foram, ligeiramente, mais pesadas do que os machos (Tabela 2), confirmando os resultados encontrados por BOKERMANN (1991), que analisou o peso de 35 perdizes capturadas na natureza e constatou que as fêmeas eram mais pesadas do que os machos, apresentando médias de pesos iguais a 886,41 g e 803,33 g respectivamente, sendo as fêmeas 10,34% mais pesadas que os machos. Em estudos desenvolvidos com perdizes em viveiros telados no Rio Grande do Sul, MENEGHETI et al. (1985) relataram que estas aves atingiram com 133 dias de idade, peso de 663 gramas. THOLON & QUEIROZ (2007), para perdizes criadas nas mesmas condições das do presente trabalho, também observaram maior peso corporal das fêmeas desde o nascimento até a maturidade.

Na tabela 3 encontra-se a análise de variância do tempo em imobilidade tônica.

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância do tempo em imobilidade tônica de perdiz (*Rhynchotus rufescens*), em segundos.

FV	GL	QM
SEXO	1	0,0127
EP (GER)	35	0,4855 *
PESO	1	0,7811 *
RESÍDUO	505	0,1816
TOTAL	542	

FV= fontes de variação; GL= grau de liberdade; QM= Quadrado médio; \*  $p < 0,05$ ; EP=época de nascimento; GER= geração a que a ave pertence. Valores entre parêntesis referem-se aos dados transformados por logaritmo na base 10

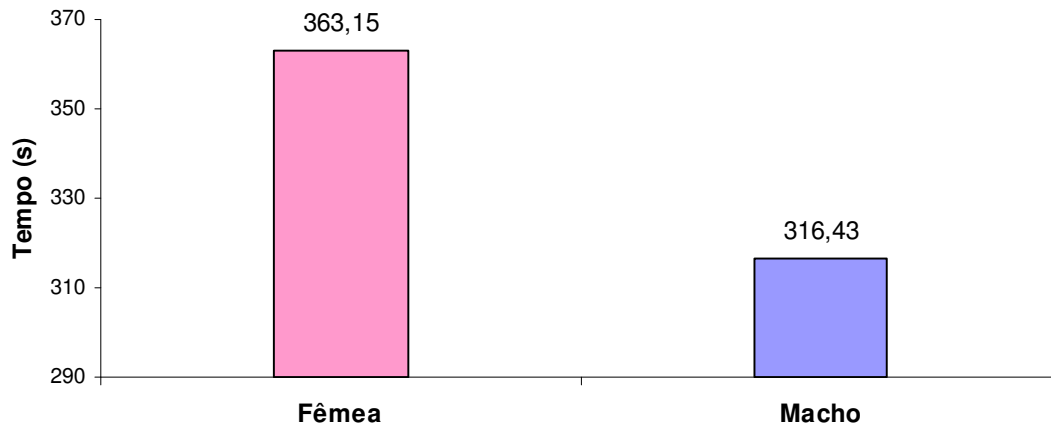
O resultado da análise de variância indicou que a época de nascimento dentro de geração e o peso corporal afetaram a imobilidade tônica ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 4.** Valor do coeficiente de determinação e variação do tempo de permanência em imobilidade tônica (IT) de perdizes (*Rhynchotus rufescens*).

	Transformado
R <sup>2</sup>	0,16
CV	18,32

R<sup>2</sup>= coeficiente de determinação; CV= coeficiente de variação.

A figura 1 representa a média de tempo em IT de fêmeas e machos.



**Figura 1.** Média do tempo de permanência em imobilidade tônica, em segundos, de perdizes (*Rhynchotus rufescens*), de acordo com o sexo.

Observa-se que as fêmeas apresentaram tempo em imobilidade tônica ligeiramente maior do que os machos, embora o efeito de sexo não tenha sido significativo. Este resultado foi semelhante aos obtidos por AKPA et al (2007) que trabalharam com frangos de corte e constataram que os machos foram menos amedrontados, permanecendo menor tempo em imobilidade tônica do que as fêmeas. Resultados discordantes foram relatados por CAMPO & CARNICER (1993) e JONES & FAURE (1982) que trabalharam com poedeiras e, constataram que os machos permaneceram maior tempo em IT do que fêmeas, resultando em maior índice de medo nos machos. Esta diferença entre os trabalhos pode ser devida, em parte, à estrutura hierárquica e/ou comportamental entre as diferentes espécies. Em perdizes, a fêmea, geralmente, apresenta dominância sobre o macho enquanto que, em galinhas, o macho está no topo da pirâmide social e é o responsável pela vigilância e proteção das fêmeas (QUEIROZ & CROMBERG, 2006).

Os resultados da tabela 3 mostram que o peso corporal influenciou a característica IT, sendo que animais mais pesados permaneceram maior tempo em IT ( $b = 0,32 \pm 0,14g$ ,  $p < 0,05$ ), discordando de pesquisas realizadas por JONES et. al.

(1997), que avaliaram o comportamento de codornas com 31 dias de idade, constatando que as aves mais leves apresentaram maior tempo em imobilidade tônica em comparação com as mais pesadas.

A análise de variância identificou a época de nascimento dentro de geração como fonte de variação importante sobre a IT. Foram analisados 36 grupos de animais que nasceram em diferentes épocas, significando que, os fatores ambientais mês e quinzena de nascimento se mostraram importantes na variação do tempo de permanência em IT. Trabalhos realizados por RONDERBURG & KOENE (2007) e BILČÍK et al. (1998) comprovaram que o índice de medo em aves poedeiras criadas em grupos de maior dimensão foi maior do que aves criadas em grupos de menor dimensão. ZULKIFLI et al. (2000) constataram que o manejo pré abate de frangos de corte influenciou no tempo de permanência em IT. Já, AKPA et al. (2007), observaram que aves alimentadas com ração peletizada permaneceram menor tempo em IT do que aves alimentadas com ração pastosa.

Uma das dificuldades da criação de perdizes é a sua reprodução em cativeiro, porém comparando-se o desempenho reprodutivo das fêmeas nos três ciclos (gerações), verificou-se uma leve piora no desempenho das aves no ciclo 2007-2008 com subsequente melhora em 2008-2009 (Tabela 5).

**Tabela 5.** Taxas de fertilidade, eclodibilidade, eclosão e número de ovos postos por fêmea de perdiz, nos três ciclos.

	2006-2007	2007-2008	2008-2009
Fertilidade	44	34	63
Eclodibilidade	54	51	52
Eclosão	24	18	33
Ovos/Fêmea	11,14	13,77	14,29

No ciclo 2007 – 2008 ocorreu queda de produção, podendo ser explicado pelo fato de que várias perdizes morreram e o resultado da necropsia (dados não apresentados) revelou presença de muco no saco aéreo, bem como, nas vias

respiratórias, acusando possível morte causada por pneumonia ou alergia a poeira. Também neste ciclo, o galpão de crescimento teve uma infestação por ectoparasita da ordem Mallophaga, uma espécie de piolhos muito comum em aviários e conseqüentemente, na criação de perdizes. Para controlar este problema, as camas foram trocadas e Bolfo<sup>®</sup> foi aplicado nos animais e nas camas. Porém, as doenças que acometem esta espécie e seus tratamentos são desconhecidas, portanto, ainda não se conhece uma padronização dos manejos profiláticos e de tratamento. Apesar das taxas reprodutivas ainda serem insatisfatórias para uma exploração comercial, no ciclo 2008-09 registrou-se ligeiro aumento da produtividade. Esta melhora pode ter sido devida a pequenas mudanças ocorridas no manejo das aves e no processo de incubação dos ovos.

## CONCLUSÃO

Os efeitos da época de nascimento dentro de geração e do peso corporal da ave devem ser incluídos na análise genética do tempo de permanência em imobilidade tônica de modo a reduzir a variação existente nesta característica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKPA, G.N.; KOFFI, K.A.; HASSAN, M.R.; KABIR, M.; DURU S.; YASHIM, S.M. Effects of Feed Type, Sex and Plumage Condition on Tonic Immobility and Blood Parameters in Broilers **International Journal of Poultry Science**, v.6, n.3, p.218-222, 2007.

BILČÍK, B.; KEELING, L. J.; NEWBERRY, R. C. Effect of group size on tonic immobility in laying hens. **Behavioural Processes** v.43, p. 53–59, 1998.

BOKERMANN, W. C. A. *Observações sobre a biologia do macuco. (Tinamus solitarius)*. 1991. 232p. Tese (Doutorado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1991.

CAMPLER, M.; JÖNGREN, M.; JENSEN, P. Fearfulness in red junglefowl (*Gallus gallus*) and domesticated White Leghorn chickens. **Behavioural Processes**, v. 81, p. 39–43, 2009.

CAMPO, J. L.; CARNICER, C. Realized Heritability of Tonic Immobility in White Leghorn Hens: A Replicated Single Generation Test. **Poultry Science**, v. 72, p.2193-2199, 1993.

CROMBERG, V. U.; STEIN, M. S.; BOLELI, I. C.; TONHATI, H.; QUEIROZ, S. A. Reproductive and behavioral aspects of red-winged tinamous (*Rhynchotus rufescens*) in groups with different sex ratios. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v. 9, n. 3, p. 161-166, 2007.

DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856p.

DUNCAN, I.J.H. S.,. In: **How do fearful birds respond?** Proceedings of the Second European Symposium on Poultry Welfare (Ed. Wegner) WPSA, pp. 96–106, 1985.

GALLUP, JR. G.G. Tonic immobility: the role of fear and predation. **Psychological Record**, v.27, p. 316–317, 1977.

GRIGOR, P. N. Use of space by laying hens: social and environmental implications for free-range systems. Ph.D. thesis. University of Edinburgh, p. 156. 1993.

GROSS, W. B.; SIEGEL, H. S. Evaluation of the Heterophil/Lymphocyte Ratio as a Measure of Stress in Chickens **Avian Diseases**, v. 27, n. 4, p. 972-979, 1983.

HAZARD, D. ; LECLAIRE, S. ; COUTY, M. ; GUÉMÉNÉ, D. Genetic differences in coping strategies in response to prolonged and repeated restraint in Japanese quail

divergently selected for long or short tonic immobility. **Hormones and Behavior**, v. 54, p. 645–653, 2008.

HOSHIBA, M. A.; THOLON, P. A.; TANAKA, A. L. R.; QUEIROZ, S. A.; DUARTE, J. M. B.; TONHATI, H. Horário e local de postura de perdizes (*Rynchotus rufescens*) em cativeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE GENÉTICA DE AVES NEOTROPICAIS, 2008, São Carlos, **Anais....** CDRom. 2002.

JONES, R. B; FAURE, J. M. Tonic immobility («righting time») in laying hens housed in cages and pens. **Applied Animal Ethology**, v. 7, p. 369-372, 1981.

JONES, R. B.; FAURE, J.M.: Tonic Immobility in the Domestic Fowl as a Function of Social Rank. **Biology Behaviour**, v. 7, p. 27-32, 1982.

JONES, R. B. The tonic immobility reaction of the domestic fowl: a review. **World's Poultry Science Journal**, New York, v. 42, n. 1, p. 82-96, 1986.

JONES, R.B. Assesment of fear in adult laying hens: correlational analysis of methods and measures. **Brasilian Poultry Science**, v. 28, p. 319–326, 1987.

JONES, R. B., BEUVING, G.: BLOKHUIS, H. J. Tonic immobility and the heterophil/lymphocyte responses of the domestic fowl to corticosterone infusion. **Physiolgy and Behaviour**, v. 42, n. 3, p. 249–253, 1988.

JONES, R. B.; SATTERLEE, D. G.; MARKS, H. L. Fear related behaviour in Japanese Quail divergently selected for body weight. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 58, p. 87-530, 1997.

KOOLHAAS, J. M.; KORTE, S. M.; DE BOER, S. F.; VAN DER VEGT, B. J.; VAN REENEN, C. G.; HOPSTER, H.; DE JONG, I. C.; RUIS, M. A. W.; BLOKHUIS, H. J.



Coping styles in animals: current status in behaviour and stress-physiology. **Neuroscience Behaviour Review.**, v. 23, p. 925-935, 1999.

MENEGHETI, J. O., FROZI, M., BURGER, M.I. The growth curve of the Red-winged Tinamou (*Rhynchotus rufescens*, TEMMINCK, 1815) (AVES, TINAMIDAE). **Iheringia (Misc.)**, v.1, p.47-54, 1985.

MINVIELLE, F.; MILLS, A. D.; FAURE, J. M; MONVOISIN, J. L, GOURICHON, D. Fearfulness and performance related traits in selected lines of japanese quail (*Coturnix japonica*). **Poultry Science**, v.81, n.3, p.321-326, 2002.

MORO, M. E. G. **Desempenho e características de carcaça de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas com diferentes programas de alimentação na fase de crescimento**. 1996. 75p. Tese (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

MORO, M. E. G.; ARIKI, J.; SOUZA, P. A. *et al.*. Rendimento de carcaça e composição química da carne da perdiz nativa (*Rhynchotus rufescens*). **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.258-262, 2006.

PRICE, E. O. Behaviour aspects of animal domestication. **The Quarterly Review of Biology**, New York, v. 59, p. 1-32, 1984.

PRICE, E. O. 2002. Animal Domestication and Behavior. CABI Publishing, Wallingford.

QUEIROZ, S. A.; CROMBERG, V. U. Aggressive behavior in the genus Gallus sp. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2006.

RODENBURG, T. B.; KOENE, P. The impact of group size on damaging behaviours,

aggression, fear and stress in farm animals. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 103, p. 205–214, 2007.

SICK, H. Ordem tinamiformes. In: **Ornitologia Brasileira**. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, p. 153-167. 1997.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS - SAS. **User's guide**: Version 9.1 ed. Cary: 2009.

SUAREZ, S. D., GALLUP JR., G. G. Emotionality and fear in birds: a selected review and reinterpretation. **Bird Behaviour**. v. 5, p. 22–30, 1983.

THOLON, P.; QUEIROZ, S. A. Models for the of growth curves for rearing tinamous (*Rhynchotus rufescens*) in captivity. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.9, n.1., p.23-31, 2007.

THOMPSON, K. R., LIEBREICH, M. Adult chicken alarm calls enhance tonic immobility in chicks. **Behavavioural Processes**, v.14, p. 49–61, 1987.

ZULKIFLI, I.; CHE NORMA, M. T.; CHONG, C. H.; LOH, T. C. Heterophil to Lymphocyte Ratio and Tonic Immobility Reactions to Preslaughter Handling in Broiler Chickens Treated with Ascorbic Acid. **Poultry Science** v. 79, p. 402–406, 2000.

### **Capítulo 3 – Estimação dos componentes de variância e parâmetros genéticos e fenotípicos da imobilidade tônica em perdizes (*Rhynchotus rufescens*)**

**Resumo** – A seleção para características comportamentais pode ser eficiente no processo de domesticação de uma espécie selvagem. O nível de medo pode ser avaliado pelo tempo de permanência em imobilidade tônica (IT), sendo que quanto maior tempo em IT maior é o medo do animal. O objetivo deste trabalho foi estimar componentes de variância e parâmetros genéticos e fenotípicos para IT na espécie *Rhynchotus rufescens*, usando-se aves de três gerações. Informações de IT de 506 aves, nascidas no período de 2006 a 2009 foram analisadas pelo método de máxima verossimilhança restrita, empregando-se um modelo animal que considerou como efeitos fixos época de nascimento dentro de geração e peso corporal, e como aleatório os efeitos genético e de ambiente temporário de animal. A característica IT apresentou repetibilidade igual 0,29 e correlação com a relação heterófilo/linfócito de 0,063. A herdabilidade estimada para característica IT foi igual a  $0,29 \pm 0,016$  evidenciando influência do ambiente sobre o tempo de permanência em IT. Contudo, a seleção de animais com menores índices de medo pode ser eficiente se for praticada por várias gerações.

**Palavras-chave:** ação gênica aditiva, adaptação, domesticação.

## INTRODUÇÃO

A perdiz faz parte da avifauna mais antiga do continente americano, com distribuição restrita à América do Sul e apresenta asas bem definidas e arredondadas, e em vida livre usam o bico forte, longo e curvo para cavar a terra à procura de raízes e tubérculos, além de se alimentarem de insetos (SICK, 1997). Esta ave apresenta boa velocidade de crescimento (THOLON & QUEIROZ, 2007), excelente desempenho no rendimento de carcaça e de peito (MORO et al., 2006) e adapta-se facilmente, a alimentação com rações fareladas (MORO, 1996) e peletizadas (HOSHIBA et al., 2003). Assim, a domesticação desta espécie e sua criação para produção de carne em escala comercial proporcionariam mais uma opção de fonte de proteína.

O desenvolvimento das linhagens de aves domésticas comerciais tem sido baseado na seleção de características relacionadas ao desempenho econômico, mas, nos anos recentes, a preocupação com o bem-estar animal trouxe algumas mudanças nos critérios de seleção, fazendo com que haja necessidade do estudo de características comportamentais, como a reação de medo, para inclusão nos programas de seleção (MINVIELE et al., 2002).

O comportamento é parte integrante da regulação biológica e fator importante para a produção e o bem estar animal. As características comportamentais são complexas e a variabilidade dos indivíduos é resultado da influência da interação de vários genes e de fatores ambientais. O fenótipo do animal refere-se ao número de diferentes características comportamentais e biológicas que facilitam a adaptação dos animais domesticados ao ambiente, incluindo redução do comportamento de reação contra os humanos e seus conspecíficos, agressividade, estresse e facilidade no manejo (MORMÈDE, 2005). JENSEN et al. (2008) afirmaram que os aspectos fundamentais do comportamento animal diferem apenas marginalmente dos antepassados selvagens.

O medo dos animais aos humanos pode ser importante fonte de estresse, causando sérios prejuízos na produtividade, aumentando problemas de manejo e resultando em injúrias ao animal e ao tratador e reduzindo o bem estar animal.

Segundo MILLS & FAURE (1990; 1991), o comportamento de medo tem forte componente genético e a seleção desta característica tem sido desenvolvida em codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), que pode ser um modelo interessante para se investigar o bem estar animal.

O medo pode ser avaliado pelo tempo de duração em imobilidade tônica (IT), que é o período variável em que o animal permanece imóvel, induzido manualmente pelo homem, sendo que menor permanência em IT indica menor índice de medo e maior facilidade de adaptação em cativeiro (JONES & FAURE, 1981).

A duração do tempo em IT tem sido correlacionada positivamente com a proporção de heterófilo/linfócito (JONES et al., 1988). GROSS & SIEGEL (1983) determinaram que a relação heterófilo/linfócito (H/L) foi o melhor indicador para analisar a importância do estresse crônico em aves domésticas, observando-se que em resposta ao estresse, ocorreu aumento do número de heterófilos e decréscimo no número de linfócitos. Os heterófilos são responsáveis pela defesa contra as bactérias e os linfócitos auxiliam no reconhecimento e destruição de muitos tipos de agentes patogênicos (MAXWELL, 1993).

Trabalho com linhagens de aves de postura, realizado por ALTAN et al. (2005), revelou que a relação heterófilo/linfócito foi significativamente maior em machos do que em fêmeas, sendo que os machos também permaneceram maior tempo em IT do que as fêmeas. CAMPO et al. (2008) constataram que animais que apresentaram marcas de bicadas pelo corpo apresentaram maior proporção de heterófilo/linfócito em comparação com animais que não possuíam ferimentos em decorrência de bicagem. Em animais machucados por bicadas, houve aumento de número de heterófilo e diminuição de linfócitos. O tempo em IT também foi maior nas aves com marcas de bicadas pelo corpo, indicando assim que ocorreram diferenças consistentes entre grupos de animais machucados e não machucado pelas bicadas de aves.

A seleção é o processo de melhoramento que atua fazendo com que os indivíduos portadores de determinados genes ou combinações gênicas favoráveis deixem mais filhos do que outros que não possuem tais genes ou combinações gênicas (PEREIRA, 2008). Esta provoca mudanças na média da população, pois a progênie

herda, em média, metade do valor genético aditivo dos pais. Assim, a seleção tem provado ser uma ferramenta útil para a pesquisa do comportamento de medo em aves. MILLS & FAURE (1991) provaram que é possível a seleção divergente para comportamento de codornas selecionando-as para curto (CIT) e longo (LIT) período em IT mostrando que, ao final de 20 gerações, a média e desvio padrão foram  $248 \pm 79$  s,  $9 \pm 16$  s e  $57 \pm 39$  s para as linhagens LIT, CIT e controle, respectivamente. A seleção destas codornas ocorreu baseando-se nos dados de IT medidos aos 7 e 8 dias de idade.

Análises realizadas por RICHARD et al., (2000), com codornas das linhagens LIT e CIT também indicaram que as duas linhagens divergiram em suas respostas fisiológicas ao medo, mas a natureza dessa diferença variou com a intensidade do estímulo. Este fato pode ser explicado pelo trabalho realizado por MINVIELE et al. (2002) em que se constatou que a linhagem selecionada para menor duração de Imobilidade tônica apresentou maior peso corporal e maior número de ovos postos do que a linhagem selecionada para maior duração de imobilidade tônica. Os ovos postos pela linhagem LIT tiveram maior conteúdo de albúmen, mas, menor porcentagem de casca do que os da linhagem CIT, concluindo que houve uma relação entre índice de medo e produtividade nas codornas sob seleção divergente.

Estudo realizado por MILLS & FAURE (2000), mostrou que animais selecionados para CIT eram menos perturbados pela presença humana e mais facilmente capturados e manejados pelos tratadores do que aqueles selecionados em direção oposta, concluindo que essa seleção pode ser utilizada para reduzir a reação negativa aos seres humanos e melhorar o bem estar e a produtividade animal.

HAZARD et al. (2008) verificaram a reação de medo em codornas submetidas ao experimento de retenção, relatando que aves da linhagem CIT debateram-se com muito mais frequência do que da linhagem LIT, especialmente no início da retenção. Além disso, as codornas da linhagem LIT raramente mostraram comportamento de valentia durante o período de retenção, evidenciando que esta linhagem tinha maior medo sob a situação de contenção. Em conclusão, estes autores sugeriram que a seleção divergente para imobilidade tônica em codornas resultou no desenvolvimento de

diferentes estratégias de luta em resposta ao estresse causada pela retenção entre codornas LIT e CIT.

Portanto, como afirmou JONES (1996), a seleção emergiu como uma forma promissora de reduzir as respostas de medo indesejáveis, que podem comprometer seriamente tanto o bem-estar e o desempenho de aves domésticas em sistemas de criação intensiva. No entanto, um programa de seleção destinado a reduzir o medo seria prejudicial se, simultaneamente, prejudicasse a capacidade de percepção (conhecimento, compreensão, entendimento) das aves, virtude que é essencial para a adaptação ao seu ambiente (RICHARD, 2000).

O objetivo deste trabalho foi estimar componentes de variância e parâmetros genéticos e fenotípicos da característica tempo em imobilidade tônica de perdizes (*Rhynchotus rufescens*), criadas em condições semelhantes à criação de frango de corte.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Setor de Animais Silvestres do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, onde foram coletadas 549 informações de imobilidade tônica (IT) de 506 perdizes (*Rhynchotus rufescens*) pertencentes a três gerações, nascidas nas estações reprodutivas de 2006-2007, 2007-2008 e 2008-2009. As aves dos ciclos 2006-2007 e 2007-2008 deram origem à população do ciclo 2008-2009, que foi separada aleatoriamente, em três subgrupos, compostos por 20 famílias cada, e que serão selecionadas para maior tempo em imobilidade tônica (LIT), menor tempo em IT (CIT) e controle (CON). Foram necessários dois ciclos reprodutivos para gerar as aves do experimento de seleção, pois, as perdizes são aves de reprodução sazonal (setembro a março) e apresentam baixa eficiência reprodutiva na primeira estação de acasalamento.

O galpão onde as aves foram criadas possuía área total de 300m<sup>2</sup>, onde foram instalados 28 boxes de 20 m<sup>2</sup>, sendo possível a subdivisão destes em 56 boxes com 10 m<sup>2</sup>. O interior do box apresentava piso concretado e forrado com cama de feno (*Cynodon dactylon*). Aves foram abrigadas em boxes com 10m<sup>2</sup> até a 10<sup>a</sup> semana de

idade e então, transferidas para boxes de 20m<sup>2</sup>, nos quais foram alojadas 15 aves/box com idades semelhantes.

A ração, contendo 28% de proteína bruta e 2800 kcal de energia metabolizável, foi fornecida *ad libitum*, na forma farelada para aves com idades até quatro semanas e peletizada para aves com idades superiores a essa. O fornecimento de água, também *ad libitum*, foi realizado utilizando-se bebedouros tipo cone para os perdigotos com até cinco semanas de idade e bebedouros pendulares convencionais para os animais mais velhos.

O manejo sanitário incluiu a verificação anual de endo e ectoparasitos. Não foi feito qualquer programa de vacinação nas aves. Segundo SOUSA et al. (1999), a perdiz (*Rhynchotus rufescens*) não manifesta os sintomas da doença de *New Castle* que acomete as aves de granjas comerciais.

As medidas do tempo em IT foram realizadas quando os animais atingiram 90 dias de idade e os animais que nasceram na terceira geração, foram submetidos novamente, à IT aos 120 dias de idade quando também foram colhidas amostras de sangue para o cálculo da relação heterófilo/linfócito (H/L).

A coleta de sangue foi similar a do trabalho de CAMPO & DÁVILA (2002). A ave foi retirada do box e o sangue coletado imediatamente, mediante punção da veia braquial da asa, utilizando-se seringa descartável de 3mL e agulhas de calibre 0,45x13. Para a confecção das lâminas, uma gota de sangue foi depositada sobre a lâmina previamente limpa e foram realizadas extensões sangüíneas com auxílio de uma lamínula, sendo feita duas amostras para cada animal.

No total, 100 leucócitos, incluindo as granulares – heterófilos, eosinófilos e basófilos – e não granulares – linfócitos e monócitos – foram contadas das lâminas de sangue de cada ave utilizando-se microscópio óptico comum, binocular, com objetiva de 100X e oculares de 10X, e a relação heterófilo/linfócito foi calculada.

A medida de IT foi realizada de acordo com a metodologia descrita por JONES & FAURE (1981). Antes da medida de IT, os animais foram retirados dos boxes e pesados, colocando-os em seguida em uma caixa de PVC, individualmente, por 10 minutos. Em seguida, a ave foi retirada da caixa e colocada em decúbito dorsal sobre



um leito de madeira em formato de V, com a cabeça pendendo para fora deste leito e para que a IT fosse induzida, a ave era contida no peito e na cabeça pelas mãos do avaliador durante 10 segundos, restringindo-a contra a superfície do leito de madeira e liberando-a em seguida. O observador, então, posicionou-se sentado a, aproximadamente, um metro da ave, mantendo contato visual com ela até que a mesma saísse do estado catatônico. O tempo mínimo e máximo, medido, em segundos, por um cronômetro, admitido neste estado foi 10 segundos e 40 minutos, respectivamente.

O programa SAS<sup>®</sup> (SAS 9.1, SAS Institute, Cary, North Carolina, USA) foi utilizado na montagem do arquivo de dados e na formação dos grupos de aves, de acordo com a época de nascimento, eliminação de animais que não possuíam informações de peso e que apresentaram tempo de permanência em IT maior que 2000 segundos.

Para estimar os componentes de variância, necessários para estimar a herdabilidade e os valores genéticos dos animais, foi utilizado o método de máxima verossimilhança restrita, com algoritmos livres de derivadas, sob um modelo animal, que considerou como efeitos fixos as variáveis independentes época de nascimento do animal (composta pelo ano e a quinzena de nascimento) dentro de geração e o peso corporal, como co-variável linear, e como aleatórios os efeitos genético e de ambiente temporário de animal. Para tanto, utilizou-se o programa MTDFREML (Multiple Trait Derivative-Free Restricted Maximum Likelihood), desenvolvido por BOLDMAN et al (1995).

Foi usado o seguinte modelo animal:  $Y = X\beta + Z_1a + Z_2p + e$

Em que:

Y = vetor de observações;

X = matriz de incidência associada aos efeitos fixos;

Z<sub>1</sub> e Z<sub>2</sub> = matrizes de incidência associadas aos efeitos aleatórios;

β = vetor de efeitos fixos;

a = vetor de efeitos aleatórios do animal;

p = vetor de efeitos aleatórios de ambiente permanente do animal;

$e$  = vetor de efeitos residuais.

Este modelo obedeceu as seguintes pressuposições:

$$E(Y) = X\beta; E(a) = 0; E(p) = 0; E(e) = 0; Cov(a,p) = 0; Var(a) = A\sigma_a^2; Var(p) = I_{NP}\sigma_{ep}^2 \text{ e } Var(e) = I_N\sigma_e^2.$$

Em que:

$A$  = número de animais da matriz de parentesco;

$I$  = matriz identidade;

$NP$  = número de perdiz;

$N$  = número de registros;

$\sigma_a^2$  = estimativa da variância genética aditiva;

$\sigma_{ep}^2$  = estimativa da variância de ambiente permanente;

$\sigma_e^2$  = estimativa da variância residual.

A repetibilidade foi estimada de acordo com a seguinte equação:

$$t = \sigma_a^2 + \sigma_{ep}^2 / \sigma_a^2 + \sigma_{ep}^2 + \sigma_e^2$$

Foram utilizadas 542 medidas da característica IT de 407 perdizes, com 498 animais na matriz de parentesco. O critério de convergência admitido foi igual a  $10^{-6}$ .

Para estimar correlação entre a característica IT e relação H/L, foi realizada análise bicaracterística utilizando dados de perdiz da terceira geração, ou seja, nascida na estação reprodutiva de 2008 – 2009.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estatísticas descritivas da relação heterófilo/linfócito (H/L) estão apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1.** Número de aves, média, desvio-padrão, valor mínimo e máximo da relação H/L de perdiz (*Rhynchotus rufescens*) com 120 dias de idade.

Número de aves	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
139	0,5116	0,2580	0,0778	1,0000

A média da relação H/L encontrada neste trabalho foi ligeiramente maior do que os valores obtidos em aves poedeiras por GROSS & SIEGEL (1983), que estimaram a relação em aves com 8 semanas de idade e obtiveram o valor de  $0,42 \pm 0,13$ . ALTAN et al. (2005) avaliaram o comportamento de aves com 48 semanas de idade e encontraram relação H/L igual  $0,37 \pm 0,01$  para fêmeas e  $0,42 \pm 0,01$  para machos. Estes resultados indicam que a perdiz apresenta maior índice de estresse do que aves domesticadas, podendo ser explicada, em parte, pelo fato dessa espécie ainda não estar adaptada ao ambiente de cativeiro.

O valor da correlação entre a relação H/L e a característica IT foi  $-0,10$ , valor de baixa magnitude. Resultado discordante foi relatado por ALTAN et al. (2005), que encontraram valor para o coeficiente de correlação fenotípica igual  $0,35$  para os machos e  $-0,06$  para as fêmeas, sendo que o último valor não foi significativo.

Os componentes de variância e a herdabilidade do tempo de permanência em IT de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Estimativas dos componentes de variância, herdabilidade e repetibilidade da característica tempo em imobilidade tônica (IT) de perdiz (*Rhynchotus rufescens*).

Componentes de variância	IT
$\sigma^2_a$	35546,8200
$\sigma^2_{pe}$	0,4807
$\sigma^2_e$	85165,2658
$h^2$	$0,29 \pm 0,016$
t	0,29

$\sigma^2_a$  = Estimativa de variância genética aditiva;  $\sigma^2_{pe}$  = Estimativa da variância de ambiente permanente  $\sigma^2_e$  = Estimativa de variância residual;  $h^2$  = Coeficiente de herdabilidade; t = Coeficiente de repetibilidade.

A herdabilidade encontrada para IT foi igual a  $0,29 \pm 0,016$ , valor que pode ser considerado de magnitude moderada, indicando que a seleção para esta característica poderá ser eficiente para diferenciar a população original em dois grupos distintos, com maiores e menores tempos de permanência em IT, já que existe evidência de ação gênica aditiva na determinação desta característica. THOLON et al. (2002), que trabalharam com aves desta mesma espécie, em situação de criação semelhante, mas com idades mais avançadas, relataram estimativa semelhante. Este valor foi superior ao obtido por MILLS & FAURE (1991), que estimaram herdabilidades variando entre 0,09 a 0,23 para característica tempo em IT, em codornas (*Coturnix coturnix japonica*) selecionadas por 8 gerações.

Valores diferentes para a herdabilidade desta característica foram relatados por ALTAN et al. (2005), que estudaram a característica IT em duas linhagens, fêmea e macho, de aves de postura, selecionadas durante 12 gerações para produção de ovos e encontraram valores iguais a  $0,07 \pm 0,07$  para a linhagem macho e  $0,55 \pm 0,23$  para a linhagem fêmea.

A repetibilidade encontrada para característica IT foi 0,29, valor igual a herdabilidade pois, a variância de ambiente permanente foi muito pequena, ou seja, não teve efeito na variação do tempo de permanência em IT.

Os valores genéticos dos animais da terceira geração, que farão parte do ciclo reprodutivo para formação das famílias da primeira linhagem de perdizes selecionadas para maior tempo em imobilidade tônica (LIT), menor tempo em IT (CIT) e controle (CON), variaram de -211,144 a +411,222 segundos para LIT, -217,346 a +201,013 segundos para CIT e de -195,888 a +195,539 segundos para CON.

## **CONCLUSÃO**

A característica imobilidade tônica apresentou ação gênica aditiva possibilitando a seleção das aves para maior e menor tempo de permanência.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTAN, Ö.; SETTAR, P.; ÜNVER, Y.; ÇABUK, M. Heritabilities of Tonic Immobility and Leucocytic Response in Sire and Dam Layer Lines. **Turkey Journal Veterinary Animal Science** v.29, p. 3-8, 2005.

BOLDMAN, K.G.; KRIESE, L.A.; Van VLECK, L.D. et al. **A manual for use for MTDFREML. A set of programs to obtain of variance and covariances [DRAF]**. Lincoln: Agricultural Research Service, 1995. 120p.

CAMPO, J. L.; DÁVILA, S. Estimation of heritability for heterophil:lymphocyte ratio in chickens by restricted maximum likelihood. Effects of age, sex, and crossing. **Poultry Science** v. 81, p. 1448-1453, 2002.

CAMPO, J. L.; PRIETO, M. T.; DÁVILA, S. G. Association between vent pecking and fluctuating asymmetry, heterophil to lymphocyte ratio, and tonic immobility duration in chickens. **Applied Animal Behaviour Science** v. 113 p. 87–97, 2008.

GROSS, W. B.; SIEGEL, H. S. Evaluation of the Heterophil/Lymphocyte Ratio as a Measure of Stress in Chickens **Avian Diseases**, v. 27, n. 4, p. 972-979, 1983.

HAZARD, D.; COUTY, M.; RICHARD, S.; GUÉMÉNÉ, D. Intensity and duration of corticosterone response to stressful situations in Japanese quail divergently selected for tonic immobility. **General and Comparative Endocrinology** v.155, n.2, p.288-297. 2008.

HOSHIBA, M. A.; THOLON, P. A.; TANAKA, A. L. R.; QUEIROZ, S. A.; DUARTE, J. M. B.; TONHATI, H. Horário e local de postura de perdizes (*Rynchotus rufescens*) em cativeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE GENÉTICA DE AVES NEOTROPICAIS, 2008, São Carlos, **Anais....** CDRom. 2002.

JENSEN, P.; BUITENHUIS, B.; KJAER, J.; ZANELLA, A.; MORME, P.; PIZZARI, T. Genetics and genomics of animal behaviour and welfare—Challenges and possibilities. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 113, p. 383–403, 2008.

JONES, R. B.; FAURE, J. M. Tonic immobility («righting time») in laying hens housed in cages and pens. **Applied Animal Ethology**, v. 7, p. 369-372, 1981.

JONES, R. B., BEUVING, G.; BLOKHUIS, H. J. Tonic immobility and the heterophil/lymphocyte responses of the domestic fowl to corticosterone infusion. **Physiology and Behaviour**, v. 42, n. 3, p. 249–253, 1988.

JONES, R. B. Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives. **World's Poultry Science Journal**, v. 52, p. 131–174, 1996.

MAXWELL, M. H. Avian blood leucocyte responses to stress. **World's Poultry Science Journal** v. 49, p. 34–43, 1993.

MILLS, A. D.; FAURE, J. M. Panic and hysteria in domestic fowl: a review. In: Social stress in domestic animals. R. Zayan and R. Dantzer (eds), **Kluwer Academic Publisher**, Dordrecht, p.248-272, 1990.

MILLS, A. D.; FAURE, J. M. Divergent Selection for duration of Tonic immobility and Social Reinstatement Behavior in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Chicks. **Journal of Comparative Psychology**, v. 105, n. 1, p. 25-38, 1991.

MILLS, A. D.; FAURE, J. M. Ease of capture in lines of Japanese quail (*Coturnix japonica*) subjected to contrasting selection for fear or sociability. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 69, n. 2, p. 125-134, 2000.

MINVIELLE, F.; MILLS, A. D.; FAURE, J. M.; MONVOISIN, J. L, GOURICHON, D. Fearfulness and performance related traits in selected lines of japanese quail (*Coturnix japonica*). **Poultry Science**, v.81, n.3, p.321-326, 2002.

MORMÈDE, P. Molecular genetics of behaviour: research strategies and perspectives for animal production. **Livestock Production Science**, v. 93, p. 15–21, 2005.

MORO, M. E. G. **Desempenho e características de carcaça de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas com diferentes programas de alimentação na fase de crescimento**. 1996. 75p. Tese (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

MORO, M. E. G.; ARIKI, J.; SOUZA, P. A. *et al.*. Rendimento de carcaça e composição química da carne da perdiz nativa (*Rhynchotus rufescens*). **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.258-262, 2006.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. 5.ed. Belo Horizonte : FEPMVZ Editora, 2008.

RICHARD, S.; DAVIES, D. C.; FAURE, J. M. The role of fear in one-trial passive avoidance learning in Japanese quail chicks genetically selected for long or short duration of the tonic immobility reaction. **Behavioural Processes**, v. 48, p. 165–170, 2000.

SICK, H. Ordem tinamiformes. In: **Ornitologia Brasileira**. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, p. 153-167. 1997.

SOUZA, R. L. M.; CARDOZO, T. C.; PAULILLO, A. C.; MONTASSIER, H. J.; PINTO, A. A. Antibody response to Newcastle disease vaccination in a flock of young partridges

(*Rhynchotus rufescens*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 30, n. 3, p. 459-641,1999.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS - SAS. **User's guide**: Version 9.1 ed. Cary: 2009.

THOLON, P.; QUEIROZ, S. A; TONHATI, H. Evaluation of time of tonic immobility in captive partridges (*Rhynchotus rufescens*). In: WORLD CONGRESS OF GENETICS APPLIED OF LIVESTOCK PRODUCTION,7th 2002, Montpellier, **Abstracts**.... 2002. CDRom

THOLON, P.; QUEIROZ, S. A. Models for the of growth curves for rearing tinamous (*Rhynchotus rufescens*) in captivity. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.9, n.1, p.23-31, 2007.