

Universidade Estadual Paulista - UNESP
Campus de Jaboticabal

**APLICAÇÃO DE ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA NO
ESTUDO DA IMOBILIDADE TÔNICA E DO
COMPORTAMENTO DE REINTEGRAÇÃO SOCIAL DE
PERDIZES (*Rhynchotus rufescens*)**

Milene Elissa Hata
Zootecnista

Universidade Estadual Paulista - UNESP
Campus de Jaboticabal

**APLICAÇÃO DE ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA NO
ESTUDO DA IMOBILIDADE TÔNICA E DO
COMPORTAMENTO DE REINTEGRAÇÃO SOCIAL DE
PERDIZES (*Rhynchotus rufescens*)**

Milene Elissa Hata

Orientador: Prof^a. Dr^a. Sandra Aidar de Queiroz

Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Sabrina Luzia Caetano

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Genética e Melhoramento Animal.

H361a Hata, Milene Elissa
Aplicação de análise de sobrevivência no estudo da imobilidade
tônica e do comportamento de reintegração social de perdizes
(*Rhybchotus rufescens*) / Milene Elissa Hata. – – Jaboticabal, 2014
xix, 100 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014
Orientador: Sandra Aidar de Queiroz
Banca examinadora: Sabrina Luzia Caetano, Janaina Della Torre
da Silva, Patricia Tholon, Danísio Prado Munari, Isabel Cristina Boreli
Bibliografia

1. Análise de sobrevivência. 2. Comportamento. 3. Perdiz
(*Rhybchotus rufescens*). I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.082:639.124

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

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 grau 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 título de mestre em outubro de 2009. Em agosto de 2010, iniciou o curso de doutorado, como bolsista da CAPES), na mesma faculdade para dar continuidade ao estudo realizado no mestrado, finalizando seus estudos em abril de 2014, com a obtenção do título de doutora em Genética e Melhoramento Animal.

Epígrafe

“Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena”

- Fernando Pessoa

Dedico

Aos meus pais Takuo Hata e Kinuko Hata
que sempre me deram apoio às minhas escolhas.

Ao meu irmão Alberto
que sempre me confortou com palavras positivas.

Ao meu namorado, também amigo e conselheiro, Jack
que foi o meu maior incentivador para a realização desta conquista.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais por terem batalhado e terem sido incansáveis para que eu pudesse chegar até aqui.

À minha orientadora Profa. Dra. Sandra Aidar de Queiroz pela oportunidade do aperfeiçoamento profissional.

À Profa. Dra. Sabrina Caetano pelos ensinamentos repassados com muita paciência.

Aos meus avós pela atenção e preocupação.

Às minhas amigas Lenice, Larissa, Paula, Valdecy e Iara por terem proporcionado dias de alegria, mesmo nos momentos de dificuldade.

Às companheiras de trabalho Michaela e Letícia por terem me ajudado.

Aos funcionários do Setor de Animais Silvestres Dijalma, Beterraba e Toninho.

À Capes por ter concedido bolsa de estudos.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho - Unesp / FCAV.

Aos membros da banca de qualificação, Profa. Dra. Sandra Aidar de Queiroz, Prof. Dr. Humberto Tonhati, Prof. Dr. Danísio Prano Munari, Dr. Marcos Eli Buzanskas e Dr. Rusbel Raul Aspilcueta Borquis.

Aos membros da banca de defesa, Profa. Dra. Sabrina Luzia Caetano, Profa. Dra. Patricia Tholon, Profa. Dra. Janaina Della Torre da Silva, Profa. Dra. Isabel Cristina Boleli e Prof. Dr. Danísio Prado Munari.

SUMÁRIO

	Página
GLOSSÁRIO	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	6
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	6
2. OBJETIVOS	7
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
3.1 Imobilidade tônica	7
3.2. Comportamento de Reintegração Social (CRS)	11
3.3. Análise de sobrevivência	14
3.4. Características da perdiz (<i>Rhynchotus rufescens</i>)	20
3.5. Estrutura da população	22
4. REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO 2: ESTIMAÇÃO DE KAPLAN-MEIER E MODELO DE COX PARA ESTUDAR O TEMPO DE PERMANÊNCIA EM IMOBILIDADE TÔNICA DE PERDIZES (<i>Rhynchotus rufescens</i>)	32
Resumo	32
1. INTRODUÇÃO	32
2. MATERIAL E MÉTODOS	34
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4. CONCLUSÕES	57
5. REFERÊNCIAS	58
CAPÍTULO 3: EFEITOS AMBIENTAIS SOBRE O COMPORTAMENTO DE REINTEGRAÇÃO SOCIAL DE PERDIZES (<i>Rhynchotus rufescens</i>) USANDO ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA	62
Resumo	62
1. INTRODUÇÃO	62
2. MATERIAL E MÉTODOS	64
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
4. CONCLUSÃO	82
5. REFERÊNCIAS	82

CAPÍTULO 4 – ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS DO TEMPO EM IMOBILIDADE TÔNICA E DO COMPORTAMENTO DE REINEGRAÇÃO SOCIAL EM PERDIZES (<i>Rhynchotus rufescens</i>) POR ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA.....	84
Resumo	84
1. INTRODUÇÃO.....	84
2. MATERIAL E MÉTODOS	86
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	90
4. CONCLUSÃO	98
5. REFERÊNCIAS	98

GLOSSÁRIO

Acurácia – Confiança que pode ser depositada na estimativa do valor genético. Representa a correlação entre o valor genético predito e o valor genético verdadeiro do indivíduo.

Análise de sobrevivência – Metodologia estatística geralmente utilizada em estudos em que a variável resposta é uma medida do tempo.

Censuras – São observações incompletas. Para a característica imobilidade tônica (IT), as censuras foram atribuídas às perdizes que não se levantaram até 1200 segundos. Para o comportamento de reintegração social (CRS), as censuras se referiram às perdizes que não chegaram ao 4º quadrante no período de 300000 milissegundos.

Falha – Significa evento de interesse. No experimento de IT a falha correspondeu ao despertar das perdizes do estado catatônico e, no estudo de CRS, a falha foi observar as perdizes chegarem ao 4º quadrante.

Fragilidade – Efeito aleatório. Em ambos os estudos de IT e de CRS, as informações dos reprodutores foram incluídas no modelo como fragilidade.

Herdabilidade – Representa a proporção da variação fenotípica devida aos efeitos aditivos dos genes.

Tempo de sobrevivência – Período decorrido do início do experimento até a ocorrência de uma falha. O tempo de sobrevivência nas avaliações de IT correspondeu ao período entre o início das observações até as aves levantarem e, nas avaliações de CRS, ao período entre o início das observações até as aves atingirem o 4º quadrante.

Valor genético – Valor de cada indivíduo como reprodutor. Corresponde ao efeito médio dos genes aditivos que o indivíduo possui em seu genótipo.

APLICAÇÃO DE ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA NO ESTUDO DA IMOBILIDADE TÔNICA E DO COMPORTAMENTO DE REINTEGRAÇÃO SOCIAL EM PERDIZES (*Rhynchotus rufescens*)

RESUMO - O estudo dos comportamentos de imobilidade tônica (IT) e de reintegração social (CRS) pode revelar as interações homem-animal e animal-animal, refletindo no bem-estar dos animais no ambiente de cativeiro, acarretando, assim, em respostas positivas ou negativas para a produção e lucratividade do sistema de criação. Visando entender o nível de medo e a manifestação de sociabilidade em perdizes (*Rhynchotus rufescens*), a metodologia de análise de sobrevivência foi utilizada para estimar o tempo de permanência em IT e o tempo transcorrido para um animal se unir com seu conspecífico. Para isto, perdizes criadas no Setor de Animais Silvestres - FCAV - Unesp submetidas às avaliações de IT e de CRS, no período de 2006 a 2010, foram utilizadas. As observações de IT foram realizadas em 539 aves e os resultados revelaram que os efeitos de ano de nascimento, mês e peso corporal da ave na época da medida de IT foram importantes fontes de variação na duração do tempo em catatonia. Além disso, aves com maior peso corporal tenderam a permanecer maior tempo em IT. Observações de CRS realizados em 503 aves mostraram que as mais velhas levaram mais tempo para unir-se ao conspecífico. O efeito aleatório de pai foi significativo ($p < 0,05$) para IT e a herdabilidade estimada (h^2) empregando-se o *software* Survival Kit foi igual a 0,37. A h^2 para CRS foi 0,31, entretanto supõe-se alto erro-padrão associado a esta estimativa devido ao efeito aleatório de pai não ter sido significativo ($p < 0,05$). A correlação entre os valores genéticos de IT e de CRS foi 0,0598 ($p = 0,1491$), evidenciando a inexistência de genes de efeito aditivo comuns entre estes dois comportamentos na população analisada. É possível aplicar a seleção nas aves para diminuir o tempo de permanência em IT, sem alterar o nível de socialização.

Palavras – chave: características comportamentais, distribuição de Weibull, estimador de Kaplan-Meier, modelo de Cox, parâmetros genéticos

SURVIVAL ANALYSIS STUDY ON TONIC IMMOBILITY AND SOCIAL REINSTATEMENT BEHAVIOR IN RED-WINGED TINAMOU (*Rhynchotus rufescens*) REARED IN CAPTIVITY

ABSTRACT - The study of tonic immobility (TI) and social reinstatement behavior (SRB) can reveal interactions between man-animal and animal-animal. Those interactions reflect on the welfare of captive animals and may result in positively or negatively effects on the production and profitability of production system. Aiming at understanding the level of fear and the manifestation of sociability in red-winged tinamou (*Rhynchotus rufescens*), the survival analysis was applied to estimate the time in TI and also the time expent to an animal join with its conspecific. For this, red-winged tinamous reared in the Setor de Animais Silvestres – FCAV – Unesp hatched from 2006 to 2010 underwent TI and SRB evaluations. The observations of TI were performed in 539 birds and the results revealed that the effects of year of birth, month, and body weight of the bird at the time the measure of TI were important sources of variation for the time in catatonia; furthermore, birds with higher body weight tended to remain longer in TI. The SRB observations made in 503 birds showed that the older birds spent more time then the younger to join with their conspecific. The random effect of sire was significant ($p < 0.05$) for TI and the estimated heritability (h^2) by Survival Kit software was equal to 0.37. The h^2 for SRB was 0.31, however the estimate is supposed to have a high standard error associated with due to the random effect of sire being not significant. The correlation between the predicted breeding values of TI and SRB was 0.0598 ($p = 0.1491$), evidencing the non existence of common additive genes between these two traits in the studied population. Therefore, selection to decrease the time in TI could be applied on TI, without changing the level of socialization in this population.

Keywords - Keywords: behavioral traits, Cox model, Kaplan-Meier estimator, Genetic parameters, Weibull distribution

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Várias pesquisas, dentre elas, a de Belyaev (1979), relataram que os animais domésticos são mais dóceis do que seus supostos ancestrais selvagens. Assim, o estudo comportamental de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas em cativeiro também pode ser representativo da evolução da domesticação das espécies.

Consequências negativas de medo e estresse em aves incluem: desperdício de energia, perda de peso, baixa conversão alimentar, tamanho do ovo reduzido, diminuição da produção e qualidade do produto, maturidade sexual tardia, eclodibilidade comprometida, sistema imunológico comprometido, instabilidade do desenvolvimento corporal, maior arranque de penas, maior probabilidade de lesão, dor, e até mesmo a morte (JONES, 1996; JONES e HOCKING, 1999). Portanto, a redução do medo e estresse em aves é importante devido aos efeitos negativos desses estados sobre o desempenho e bem-estar animal (HEMSWORTH e BARNETT, 1989; MILLS e FAURE, 1990; JONES, 1996).

Nas espécies domesticadas, o medo e a sociabilidade são traços particularmente influentes e a constatação de que estas características respondem à seleção artificial pode ter implicações importantes no desempenho e bem-estar de aves (MILLS e FAURE, 2000), pois esses comportamentos possuem forte componente genético (MILLS e FAURE, 1990; MILLS e FAURE, 1991).

Ghareeb et al. (2008) confirmaram que tanto a imobilidade tônica (IT), quanto o comportamento de reintegração social (CRS) podem ser avaliadas nas aves individualmente e utilizadas no programa de melhoramento para selecionar animais com características de personalidade mais desejável. Também, as correlações entre estas duas características encontradas por esses autores revelaram que a seleção das aves com menor tempo em IT favorecia a geração de aves com maior CRS.

Entretanto, Mills e Faure (1991) constataram que IT e CRS são características não correlacionadas em linhagens de codornas japonesas sob seleção divergente tanto para elevar como para diminuir CRS e IT. Verificou-se que esse padrão foi mantido em aves adultas, em que o teste de IT revelou não haver diferença significativa ($>0,05$) entre linhagens selecionadas para aumentar e diminuir CRS.

Assim, a investigação de comportamento de medo e da motivação social em perdizes criadas em sistema de produção semelhante ao de frangos pode esclarecer

essas divergências encontradas e acrescentar maior conhecimento sobre a influência destes dois comportamentos nas características de interesse zootécnico e também no bem-estar animal. Para avaliação dos comportamentos de IT e CRS de perdizes, o emprego da análise de sobrevivência é apropriado já que, muitas vezes, o interessante para o pesquisador é o tempo até a ocorrência de um evento e não apenas se o evento ocorre (ALLORE et al., 2001).

Além disso, animais com informações incompletas, ou seja, a não ocorrência do evento de interesse antes do fim de um experimento, são excluídos dos bancos de dados para a análise, pois, métodos mais usuais como regressão ou análise de variância apresentam restrições para analisá-los (ALLISON, 1995). Em adição, como dados comportamentais de perdizes são restritos devido ao reduzido número de animais em razão da dificuldade de reprodução desta espécie em cativeiro, o uso da análise de sobrevivência é atraente pelo fato de não excluir registros que restringiriam ainda mais as informações que explicariam as diferenças comportamentais.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve por finalidade investigar as variáveis que afetam o comportamento de medo e sociabilidade de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas em cativeiro, em sistema semelhante ao adotado em frangos de corte, bem como estimar parâmetros genéticos para essas características, usando o modelo de análise de sobrevivência.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Imobilidade tônica

Os diversos tipos de comportamento, inclusive o medo, são exemplos de características quantitativas complexas influenciadas por múltiplos genes, bem como por diversos fatores ambientais e são bastante estudadas em programas de melhoramento, nos quais, o bem-estar animal tem grande importância (SCHÜTZ et al., 2002). O medo é uma emoção desencadeada pela percepção do perigo (JONES, 1996), mais especificamente, esta sensação é um estado emocional resultante de estímulos aversivos e conduzem a alterações comportamentais e fisiológicas que ajudam o animal a lidar com esse estímulo (MOBERG, 1985).

Segundo Dwyer (2004), em ambiente natural o medo pode favorecer no valor adaptativo do indivíduo e aumentar a probabilidade de escapar do perigo. Todavia, o medo pode ser uma grande fonte de estresse relacionado a doenças em animais de cativeiro. Por exemplo, os seres humanos podem ser considerados como potenciais predadores pelos animais quando estes não estão habituados ao ambiente e, portanto, o cativeiro pode ser uma fonte de manifestação do medo.

A seleção de aves com reduzido medo aos seres humanos afetará outras características, pois segundo Agnvall et al. (2012), o comportamento de medo está geneticamente correlacionado aos comportamentos de forrageamento e de exploração, indicando que estes serão provavelmente herdados em conjunto.

Bertin, Annick e Yri (2004) também enfatizaram a influência do ambiente de criação no comportamento das aves. Eles recomendaram o fornecimento de alimentos palatáveis como recompensa (sementes, por exemplo), manejo brando, contato visual com os humanos e se possível, presença da mãe com nível de medo menos acentuado na mesma gaiola. Tudo isto visando tornar as codornas (*Coturnix japonica*) mais mansas, independente da idade, ou seja, o fenômeno de habituação pode ser obtido também em aves adultas.

Assim, o medo reduzido provavelmente foi um pré-requisito para o sucesso na domesticação, podendo-se deduzir que a reatividade aos seres humanos e outros eventos potencialmente perigosos foram os primeiros objetivos da seleção, intencionalmente ou não. Assim, animais com menor resposta ao medo estariam mais aptos a lidar com o cativeiro e, portanto, tiveram sobrevivência potencialmente maior durante o início da domesticação (CAMPLER, JÖNGREN e JENSEN, 2009).

Considerando-se a questão de sobrevivência, os comportamentos requerem custos energéticos, sendo importante que o animal selecionado para produção não gaste recursos em comportamentos que não melhoram a sua adaptabilidade ao ambiente onde a seleção é realizada (DEERENBERG e OVERKAMP, 1999). Isto é, a realocação de recursos para características relacionadas à produção pode diminuir as reservas biológicas deixadas para outros processos, como por exemplo, enfrentar o medo e o estresse aos novos estímulos, significando que a motivação social *versus* motivação de exploração pode estar relacionada com várias características ligadas à produção, tais como crescimento e consumo alimentar residual em aves (VÄISÄNEN, LINDQVIST e JENSEN, 2005).

Como exemplo, pode-se citar o trabalho de Campler, Jöngren e Jensen

(2009) que mostraram que galos selvagens vermelhos (*Gallus gallus*) - ancestrais de todas as raças de galinha doméstica - foram mais amedrontados do que aves White Leghorn (*Gallus gallus domesticus*) - raça comumente utilizada para a produção de ovos - indicando que a seleção para baixo nível de medo tem sido um elemento importante na domesticação. Sobre esses dois grupos de aves, fato semelhante já tinha sido visualizado por Schütz et al. (2004), mostrando que reações ao medo foram claramente afetadas pela domesticação e seleção artificial.

Mecanismo como pleiotropia pode atuar provocando respostas correlacionadas à seleção (JENSEN, 2010; WIREN e JENSEN, 2011). Além do efeito de pleiotropia, diferenças comportamentais entre animais também podem ser influenciadas por deriva genética (CRAIG, CRAIG e DAYTON, 1983). Em adição, efeitos pleiotrópicos de QTLs (locos de característica quantitativa) podem oferecer os mecanismos genéticos para seleção correlacionada de características produtivas e comportamentais. Schütz et al. (2002, 2004), na varredura do genoma de galinhas, encontraram no cromossomo 1 QTL para duração de IT localizado na mesma posição de QTL para maior crescimento, sugerindo efeito pleiotrópico de um único QTL que influencia ambas as características.

Também, durante a domesticação, a seleção para aumentar peso do ovo e taxa de crescimento em galinha, pode ter simultaneamente causado as modificações de comportamento social e emocional, devido a um QTL maior no cromossomo 1, que provavelmente influencia tanto a produção quanto características comportamentais (WIREN e JENSEN, 2011). Assim, as análises de QTL poderiam auxiliar na detecção de marcadores ligados a genes que estejam envolvidos na regulação e no controle do comportamento (ANDERSSON, 2001).

Devido à existência de correlação genética entre características produtivas e comportamentais, a seleção para produção elevada deu origem a algumas respostas correlacionadas indesejadas nos animais de exploração em relação às características comportamentais (SCHÜTZ et al., 2002) e, como consequência, pode haver efeitos colaterais imprevisíveis sobre a capacidade de aves lidarem com os desafios ambientais em cativeiro (VÄISÄNEN, LINDQVIST e JENSEN, 2005). Associações entre características de produção e comportamentais foram mais evidentes em populações cuja pressão de seleção para aumentar a produção tem sido mais intensa, de acordo com Väisänen, Lindqvist e Jensen (2005).

Richard et al. (2010) estudaram o comportamento de medo em codornas

(*Coturnix japonica*) e sugeriram que a reatividade aos seres humanos é somente uma das causas do medo, ou seja, as bases genéticas e neurobiológicas envolvidas com o medo aos seres humanos e a outros tipos de medo devem ser diferentes e este conhecimento deve ser levado em consideração em programas de seleção genética para reduzir o medo ou para investigar os fundamentos neurais deste comportamento.

Pesquisas apontam o tálamo e o hipotálamo como estruturas do encéfalo envolvidas nas respostas de medo e estresse, sendo que ambos mudaram significativamente durante a domesticação (SCHÜTZ et al., 2002). Ainda, em relação à anatomia do encéfalo, o nível de medo pode estar relacionado com a expressão de genes específicos do cérebro, dos quais vários parecem estar relacionados a funções neurobiológicas (JÖNGREN et al., 2010).

Pesquisas relacionadas à seleção mostram que as respostas de medo possuem elevada herdabilidade, e podem, portanto, serem moduladas em um tempo evolutivo relativamente curto. Os resultados dessas pesquisas evidenciam uma série de respostas correlacionadas, o que indica que o medo está relacionado com vários fatores fisiológicos e neurais (CAMPLER, JÖNGREN e JENSEN, 2009).

Para selecionar animais de acordo com o nível de medo, a técnica da observação de imobilidade tônica (IT) é bastante aceita. A IT é uma resposta ao medo potencializada (GALLUP, 1977), podendo ser induzida pela restrição física e caracteriza-se pela capacidade de resposta reduzida a estímulos externos (JONES e FAURE, 1981). A IT é representativa do comportamento de medo, sendo que o tempo de permanência em IT indica o nível de medo, isto é, quanto maior for o tempo de permanência no estado catatônico, mais amedrontado será o animal observado (JONES, 1996).

Na natureza, o comportamento de IT pode ajudar o animal a escapar dos predadores e influenciar na sua sobrevivência. Desta forma, também é conhecido como comportamento de morte fingida ou anti-predador (NAKAYAMA e MIYATAKE, 2010).

Edelaar et al. (2012) observaram o comportamento de duas espécies de aves selvagens da ordem passeriformes e demonstraram que a IT representa audácia ou coragem das aves quando estão diante do predador, sendo, assim, útil em estudos de personalidade e comportamento de antipredação em população selvagem.

Pelhaitrea et al. (2012) também afirmaram que a seleção de animais com

menor tempo em IT deve evitar níveis elevados de medo e melhorar a capacidade das aves de se adaptarem a desafios no ambiente de produção. Esta afirmação foi provada por meio do teste de IT em duas populações de frangos de corte (*Gallus gallus domesticus*), em que a seleção divergente foi aplicada para aumentar (D+) diminuir (D-) a digestibilidade. Além da alteração na morfologia destas duas populações, as aves apresentaram diferenças no comportamento, em que as da linhagem D+ permaneceram maior tempo em IT. Assim, os autores sugeriram que para aperfeiçoar a seleção de características de produção, como digestibilidade, deverão ser incluídas avaliações de IT, visando considerar o bem-estar aos animais.

Codornas selecionadas para diminuir (CIT) e aumentar o tempo em IT (LIT) exibiram comportamento de medo semelhante quando foram apresentadas a um estímulo novo com intervenção humana reduzida, enquanto diferiram notadamente em suas reações de medo quando a situação envolveu manipulação humana (RICHARD et al., 2010), evidenciando que diferentes tipos de situações acarretam diferentes tipos de comportamento, sendo que o medo provocado pela presença humana deve ser minimizado em ambiente de criação visando maior adaptação dos animais em cativeiro.

3.2. Comportamento de Reintegração Social (CRS)

O aumento da densidade de animais na mesma área de criação pode elevar o estresse e afetar negativamente a produtividade animal, a saúde e o bem-estar de aves criadas em sistemas modernos de produção, assim, é importante compreender a influência da densidade co-específica sobre os comportamentos sociais que podem refletir o medo ou a angústia ou ambos (GUZMAN et al., 2009). A grande quantidade de aves criadas por m² pode trazer consequências negativas à lucratividade do produtor e ao bem-estar dos animais, sendo necessário selecionar animais tranquilos, não muito emotivos e que tolerem os seus co-específicos (FORMANEK et al., 2008).

Sabe-se que perdizes adultas (*Rhynchotus rufescens*) vivem isolada a maior parte do tempo de suas vidas, procurando o convívio com seus co-específicos somente em época reprodutiva. Espera-se que os machos dessa espécie sejam mais tolerantes ao convívio social, uma vez que são os responsáveis pela incubação dos ovos e pela criação dos perdigotos (SICK, 1997). Assim sendo, para a domesticação dessa ave, a seleção de animais apresentando maior tolerância social

é fundamental para diminuir o estresse na produção de perdizes, que vem sendo criada em sistema de produção semelhante ao de frangos de corte.

Testes que avaliam respostas ao comportamento de reintegração social (CRS) podem ser utilizados como indicativos de sociabilidade em aves, bem como a capacidade das aves fazerem distinções sociais (VALLORTIGARA, CAILOTTO e ZANFORLIN, 1990; JONES et al., 1999; VÄISÄNEN e JENSEN, 2004). O baixo nível de sociabilidade das aves pode dificultar o convívio em grupos sociais, principalmente se forem muito numerosas ou alojadas em área reduzida (GUZMAN e MARIN, 2008).

Na maioria das espécies, a dependência do filhote em relação à mãe para aquecimento, nutrição, proteção contra predadores e vários outros recursos que contribuem para a sobrevivência, geralmente, tende a diminuir com a idade. Semelhante ao que ocorre na natureza, nos sistemas de produção de aves, espera-se que animais criados sem a mãe, tenham maior apego ao grupo social em que vivem e que o grupo cumpra papel similar ao da mãe no desenvolvimento da ave (SUAREZ e GALLUP, 1983). Assim, a sociabilidade de um animal, ou então, a motivação para estar perto de indivíduos da mesma espécie, deve significar uma resposta que forneça proteção contra os predadores (LIMA, 1995). As aves domésticas também são capazes de reconhecer entre um companheiro de gaiola e uma ave estranha que não foi criada junta (GUZMAN e MARIN, 2008).

Launay, Mills e Faure (1993) observaram que as aves selecionadas para CRS alta aceitaram melhor os membros da mesma espécie, contribuindo para a criação destas em ambiente onde há um número muito grande de indivíduos devido à facilidade de adaptação.

Geralmente, a avaliação de CRS é feita em labirinto de campo aberto e, de acordo com Gallup e Suarez (1980), o comportamento apresentado em testes de campo aberto pode ser considerado como um indicativo de medo, isto porque, normalmente, estes testes são precedidos por contato humano, em que ocorre a remoção do animal da gaiola de criação para ser colocado no aparelho de teste, fazendo com que os humanos sejam considerados como predadores pelos animais. Este teste também implica na separação social dos companheiros da mesma gaiola, resultando no seu isolamento social, e consequentemente, o teste pode ser tendencioso por induzir o animal em avaliação a restabelecer contato com membros da mesma espécie. Em suma, o comportamento em campo aberto de aves,

representa tanto a reintegração social como a fuga contra o predador (GALLUP e SUAREZ, 1980; FAURE, JONES e BESSEI, 1983; JONES, 1996).

Além disso, Suarez e Gallup (1983), em experimento em campo aberto, demonstraram que o comportamento de reintegração social diminui com a idade e que as estratégias anti-predação se tornam mais pronunciadas com o avanço da idade.

Os vínculos sociais entre os indivíduos da mesma espécie podem ser afetados pelo tamanho do grupo, assim como as interações sociais em aves domésticas. Schweitzer, Lévy e Arnoud (2011) verificaram que filhotes de codorna selecionados para maior CRS e menor CRS vivendo em grupos com mais de dois indivíduos, foram capazes de formar vínculos sociais e reconhecer um indivíduo dentro de um grupo de 30 animais como sendo familiar da mesma espécie. Porém, este estreitamento de vínculos sociais com co-específicos familiares diminuiu à medida que o tamanho do grupo aumentou (SCHWEITZER, LÉVY e ARNOUD, 2011).

Em estudos de melhoramento animal, aves selecionadas para nível reduzido de estresse tem maior aptidão para lidar com situações em que a densidade ou o número de animais é variável. Esta flexibilidade social pode ser considerada como uma vantagem adicional do programa de seleção, principalmente, em espécies que são muitas vezes alojados em densidades elevadas, como galinhas ou perus (GUZMAN et al., 2009).

Animais com baixa tolerância ao convívio social podem resultar em graves consequências na produção de aves, como arranque de penas e canibalismo, comportamentos muito prejudiciais ao bem-estar e ao retorno econômico da atividade avícola, sendo problemas relatados com frequência na avicultura atual (NORDQUIST et al., 2011). A bicagem de penas pode resultar em dor, sofrimento e morte devido ao canibalismo, tornando-se preocupação ligada ao bem-estar e econômica (ANGEVAARE et al., 2012). O problema de bicagem das penas poderia ser evitado com o processo de debicagem das aves, entretanto esta prática vem sendo abolida em diversos países europeus, principalmente devido às injúrias causadas pelo processo (KUENZEL, 2007; VAN HORNE e ACHTERBOSCH, 2008).

Assim, o estudo de comportamentos sociais de aves de produção está sendo mais investigado e enfatizado na criação, visando trazer melhorias ao sistema de produção que resultem em maior lucratividade e melhor aproveitamento dos

recursos energéticos pelos animais.

3.3. Análise de sobrevivência

Particularidades

A principal variável em análises de sobrevivência é o “tempo de sobrevivência”, que é um termo usado para denominar o período de tempo de um ponto de partida até a ocorrência de um evento (LEE e GO, 1997). O tempo de sobrevivência é uma variável aleatória contínua e não negativa do intervalo de tempo medido a partir de uma origem até a ocorrência de um determinado evento (BASTOS e ROCHA, 2006). Devido a algumas particularidades, não é possível analisar o tempo de sobrevivência utilizando métodos estatísticos convencionais, isto porque, pode apresentar período maior ou menor do que a duração do tempo de estudo (ou tempo de observação), denominado de censura. Além disso, o tempo de sobrevivência, na maioria das vezes, segue uma distribuição assimétrica, isto é, que não é a normal (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

A distribuição do tempo de sobrevivência pode ser caracterizada por qualquer uma das seguintes funções definidas por Bastos e Rocha (2006):

1. Função densidade de probabilidade: chama-se função densidade de probabilidade, $f(t)$, à função definida por:

$$f(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P(t < T \leq t + \Delta t)}{\Delta t}, 0 \leq t < \infty$$

É também conhecida como taxa de falha incondicional. No contexto da análise de sobrevivência, a função $f(t)$ pode ser interpretada como a probabilidade de um indivíduo sofrer o acontecimento de interesse no intervalo $(t, t + \Delta t)$, em que $\Delta t \rightarrow 0$.

2. Função de distribuição: a função de distribuição representa a probabilidade $F(t)$ de ocorrência do acontecimento de interesse até ao instante t e é definida por: $F(t) = P(T \leq t)$, $0 \leq t < \infty$.

3. Função de sobrevivência: denomina-se função de sobrevivência, $S(t)$, à probabilidade de ocorrência do acontecimento de interesse após o instante t . É definida por $S(t) = P(T > t) = 1 - F(t)$, em que $F(t)$ é a função de distribuição de T . $S(t) = 1$ quando $t = 0$ e $S(t) = 0$ quando $t = \text{infinito} (\infty)$. O gráfico de $S(t)$ é conhecido como curva de sobrevivência que se inicia com $S(t) = 1$ e decresce até 0 quando t tende ao ∞ . Em termos clínicos, a função de sobrevivência representa a

probabilidade de um indivíduo sobreviver para além do instante t .

4. Função de risco (*hazard function*): fornece a taxa de falha condicional. Também chamada de taxa de falha instantânea ou taxa de falha de idade específica, representa a taxa instantânea de morte de um indivíduo no instante t , sabendo que sobreviveu até esse instante.

$$h(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P[(t \leq T < t + \Delta t) | T \geq t]}{\Delta t} = \frac{f(t)}{S(t)}$$

5. Função de risco cumulativa: mede o risco de ocorrência do acontecimento de interesse até ao instante t . A função de risco cumulativa, que é uma função monótona não decrescente, pode ser obtida a partir da função de sobrevivência, uma vez que: $S(t) = \exp(-H(t)) \Leftrightarrow H(t) = -\ln S(t)$.

Censura

A principal característica da análise de sobrevivência é a utilização de todas as informações disponíveis, a partir de animais vivos ou mortos no momento em que a análise é realizada, sendo que estes desenvolveram o evento ou foram censurados (DUCROCQ, BESBES e PROTAIS, 2000; BOTELHO, SILVA e CRUZ, 2009). Os tempos verdadeiros de observações censuradas não são exatamente conhecidos (RADKE, 2003). A censura ocorre quando não é possível observar o evento de interesse, denominado “falha”, durante o período de tempo em que o indivíduo está em observação (BASTOS e ROCHA, 2006). Há diferentes tipos de censura e esta depende exclusivamente da história do estudo e de mecanismos aleatórios, externos ao estudo em questão. A censura pode ser classificada nos seguintes tipos, segundo Colosimo e Giolo (2006):

1. Censura à direita: o tempo de ocorrência do evento de interesse está à direita do tempo registrado, ou seja, ocorre devido à perda da unidade ou do acompanhamento devido a razões não relacionados ao evento de interesse ou término do estudo.

2. Censura à esquerda: ocorre quando o tempo de vida é menor ou igual ao tempo observado, isto é, a unidade de estudo já experimentou o evento quando foi observada pela primeira vez.

3. Censura intervalar: ocorre quando não conhecemos o instante exato de morte de um indivíduo, mas, sabemos que esta ocorreu dentro de um determinado

intervalo de tempo.

4. Censura de tipo I: o tempo de duração de um determinado estudo é definido no início, ou seja, a data final é pré-determinada. Neste caso, só tem o conhecimento do tempo de vida de um indivíduo se a morte ocorrer antes do instante pré-definido. Neste tipo de censura, o número de mortes observadas é aleatório.

5. Censura de tipo II: são colocados em estudo n indivíduos, mas o estudo termina quando se der a r -ésima morte, sendo r um número pré-definido ($1 \leq r \leq n$). A amostra obtida consiste nas r primeiras estatísticas e os restantes $n - r$ indivíduos são censurados no instante $t(r)$. Aqui, o tempo de duração do estudo é uma variável aleatória.

6. Censura aleatória: os tempos de censura são variáveis aleatórias mutuamente independentes e ainda independentes dos tempos de vida. Este tipo de censura ocorre quando um indivíduo é retirado do estudo por uma causa alheia ao próprio estudo.

7. Censura independente ou não informativa: a ocorrência dessa censura é independente do mecanismo que provoca a morte e este tipo de censura deve ser fortemente evitada, pois um indivíduo censurado no instante t , não é representativo de todos os indivíduos que com as mesmas características, com ele sobreviveram até esse instante.

Variáveis explanatórias ou covariáveis

Em análise de sobrevivência, o tempo de vida dos indivíduos pode ser influenciado por inúmeros fatores que são chamados de variáveis explanatórias, concomitantes ou covariáveis (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

Decidir quais covariáveis devem ser mantidas no modelo estatístico não é tarefa simples na análise de dados. Por exemplo, em ensaios clínicos, em aplicações biológicas e biomédicas, muitas variáveis podem estar disponíveis para a análise inicial e covariáveis inadequadas podem aumentar o erro de predição (LIANGA e ZOU, 2008).

A estimação dos efeitos das covariáveis na curva de sobrevivência é realizada por meio do método de máxima verossimilhança (MV). Entretanto, a construção da função de MV requer uma abordagem diferente para modelos paramétricos e semi-paramétricos (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

O modelo de Cox vem sendo repetidamente utilizado em melhoramento animal, pois não requer o conhecimento sobre a distribuição do tempo de sobrevivência, a qual é desconhecida em muitos casos (VUKASINOVIC, 1999). A escolha da distribuição de Weibull resulta da simplicidade da função de sobrevivência Weibull ($S_0(t) = \exp(-(\lambda t)^p)$). Combinado com esta flexibilidade, uma regressão de Weibull pode conter modelo de risco constante ($p = 1$), crescente ($p > 1$) e decrescente ($p < 1$). Se uma aproximação de $\lambda_0(t)$ for possível, futuras análises podem ser grandemente facilitadas. Uma vantagem adicional do modelo de Weibull é a fácil extensão para modelos mistos de sobrevivência que podem incluir efeitos aleatórios correlacionados bem como parentesco entre touros (DUCROCQ e CASELLA, 1996)

As covariáveis podem ser constantes ou dependentes do tempo. A covariável é constante quando uma variável indica, por exemplo, o tipo de tratamento. Se a covariável é fixa, ou seja, a covariável em si não muda ao longo do tempo, mas seu efeito varia ao longo do tempo, então pode-se explorar este efeito de tempo dependente dividindo-se o período de tempo em intervalos distintos. Em seguida, ajusta-se modelos de riscos proporcionais para a sobrevivência em cada intervalo e compara-se os coeficientes para cada covariável através dos diferentes intervalos de tempo. Se o coeficiente muda com o tempo tem-se a evidência de riscos não proporcionais (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

Por outro lado, as covariáveis podem mudar ao longo do tempo. Neste caso, o período de sobrevivência para cada indivíduo é dividido em uma sequência de curtos períodos de sobrevivência, cada um caracterizado por uma entrada e uma saída de tempo em que os valores das covariáveis permanecem fixos. Assim, os dados de cada indivíduo são representados por uma série de intervalos curtos censurados e, possivelmente, um intervalo de término com o evento de interesse (STEVENSON, 2009).

A análise de um conjunto de variáveis é importante para se escolher corretamente aquelas que devem ser incluídas no modelo de sobrevivência. Para as categóricas, devem-se incluir estimativas Kaplan-Meier das funções de grupos específicos de sobrevivência. Já as variáveis contínuas deverão ser divididas em quartis (ou outros grupos biologicamente significativos) e os testes de significância devem ser aplicados (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

Interações

O passo final para a determinação do modelo consiste em verificar se os termos de interação são necessários. Um termo de interação é uma nova variável que é produto de duas outras variáveis no modelo. O efeito da adição de um termo de interação deve ser avaliado usando o teste de razão de probabilidade parcial. Todas as interações importantes devem ser incluídas no modelo de efeitos principais (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

A estatística Wald de P-valores pode ser usada como guia para selecionar interações que podem ser eliminados do modelo, com significância verificada pelo teste de razão de verossimilhança parcial. Neste ponto, tem-se o “modelo preliminar” e o próximo passo é avaliar sua adequação e aderência ao pressuposto (STEVENSON, 2009).

Modelos de análise de dados de sobrevivência

Após a coleta dos dados de tempo de eventos é importante descrevê-los por análise de métodos gráficos, utilizando-se a curva de sobrevivência. Esta visualização permite avaliar o padrão temporal dos dados e também ajuda a identificar uma forma adequada da distribuição para os dados (STEVENSON, 2009).

Os tempos coletados podem ser classificados como não paramétricos, semiparamétricos e paramétricos. Os avanços nos programas estatísticos e na capacidade de armazenamento e velocidade de processamento de dados pelos computadores conduziram ao rápido desenvolvimento e popularidade de procedimentos não paramétricos em relação aos paramétricos. O primeiro requer condições menos rigorosas, mas se as premissas para métodos paramétrico forem atendidas, as estimativas resultantes tem menores erros-padrão e são mais fáceis de serem interpretadas (LEE e GO, 1997).

Assim, se os dados são consistentes com uma distribuição paramétrica, então os modelos parâmetros podem ser usados para descrever eficientemente o padrão de sobrevivência e a inferência estatística pode ser baseada na distribuição escolhida. Já os métodos não-paramétricos são utilizados quando nenhuma distribuição teórica ajusta-se adequadamente aos dados. Existem três métodos não-paramétricos para descrever dados de tempo de eventos: (1) o método de Kaplan-Meier, (2) o método tabela de vida e (3) o método de Nelson-Aalen (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

O método de Kaplan-Meier (KM) é baseado em tempos de sobrevivência individual e assume que a censura é independente do tempo de sobrevivência, ou seja, a razão pela qual uma observação é censurada não está relacionada com a causa de falha (evento de interesse). Este método é útil para a obtenção de uma primeira indicação do formato do tempo para a curva do evento, para ajustamento de modelos mais complexos (KAPLAN e MEIER, 1958). É também, semelhante à técnica não-paramétrica de estimativa de máxima verossimilhança e a estimativa de sobrevivência obtida é o produto de uma série de probabilidades condicionais.

O estimador de KM para o tempo t é mostrado na equação:

$$S(t) = \prod_{j:t_j \leq t}^n \frac{(r_j - d_j)}{r_j}, \text{ para } 0 \leq t \leq t^+$$

O estimador KM é preferível aos de tabela de vida e de Nelson-Aalen, pois é não viesado para amostras grandes e é fracamente consistente, isto é, converge assintoticamente para um processo gaussiano (estimador de Máxima Verossimilhança de $S(t)$).

Assim, o método de Kaplan-Meier para estimar a função de sobrevivência e o modelo de Cox para identificar fatores de risco e obter taxas de risco ajustados são os mais empregados nas análises estatísticas. Nos casos em que as pressuposições de riscos proporcionais não são sustentáveis, os dados podem ser estratificados e um modelo ajustado com diferentes funções básicas em cada estrato (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

O teste de *logrank* (também conhecido como teste Mantel log-rank, teste Cox-Mantel e teste Mantel-Haenszel) é o mais comumente utilizado para a comparação de distribuições de sobrevivência. É aplicável a dados onde há censura progressiva e dá um peso igual a falhas precoces e tardias. Assume que as funções de risco para os dois grupos são paralelas (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

Aplicação da análise de sobrevivência em melhoramento animal

A análise de sobrevivência vem sendo cada vez mais utilizada desde o trabalho pioneiro de Smith e Quass, 1984. Esta metodologia vem sendo aplicada com bastante eficiência em característica relacionado à longevidade animal. Trabalho realizado por Essl (1998) afirmou que a análise de sobrevivência é o método adequado para avaliação genética de características de longevidade.

Como exemplo, em rebanho leiteiro, análise de longevidade na lactação como forma adequada de contabilizar o estágio de lactação, deu melhor ajuste do modelo pela análise de sobrevivência em comparação com a análise convencional da longevidade, sendo que a razão para isto foi, provavelmente, a descrição melhor dos dados, com base em riscos diferentes em lactações diferentes (ROXTRÖM, DUCROCQ e STRANDBERG, 2003).

Pesquisa realizada por Samoré et al. (2003), que estudaram a relação entre escores de células somáticas e longevidade produtiva de vacas leiteiras da raça Holstein-Friesian, também constataram benefícios da análise de sobrevivência na predição do valor genético dos animais para longevidade, bem como na estimação da correlação entre estas características.

Ainda, a avaliação genética de bovinos de corte para longevidade produtiva empregando análise de sobrevivência foi capaz de fornecer estimativas de sobrevivência para cada dia durante toda a vida produtiva e não apenas em alguns momentos específicos, como ocorre quando se emprega um modelo linear. Além disso, a análise de sobrevivência foi capaz de analisar todas as informações disponíveis, tanto de vacas em produção como das descartadas e fornecer valores genéticos mais acurados, sem perder informações úteis. Outra vantagem da análise de sobrevivência foi a capacidade de explicar o efeito de rebanho-ano e a variação no tamanho do rebanho, que são variáveis tempos dependentes e que afetam a longevidade da vaca (FORABOSCO et al., 2006).

A análise de sobrevivência também foi utilizada com eficiência para demonstrar a taxa de mortalidade na criação de galinhas na qual o melhoramento genético é aplicado, sendo que os animais podem ser geneticamente melhorados quanto a sua viabilidade (DUCROCQ, BESBES e PROTAIS, 2000).

3.4. Características da perdiz (*Rhynchotus rufescens*)

Segundo SICK (1997), 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.

O período reprodutivo da *R. 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.

A maturidade sexual nesta espécie acontece aos 302 dias de idade, em média, sendo que a precocidade ocorre em aves mais pesadas (MORO, ARIKI e MALHEIRO, 2002). Como não possuem dimorfismo sexual aparente, a identificação do sexo é realizada pelo método de sexagem por reversão da cloaca para verificar a presença ou não do órgão copulador (MORO, GIANNONI e PAULILLO, 1994). Além disto, do mesmo modo que as galinhas domésticas, as perdizes também são dependentes do fotoperíodo para entrarem em ovulação e, portanto, a quantidade de luz que recebem é essencial para a produção de ovos.

A massa da musculatura do vôo desenvolvida é a principal razão pela qual a perdiz possui alto valor cinegético e quando sentem o perigo é de hábito comum os tinamídeos ficarem imóveis, fingindo-se de mortos quando são alvos de caçada humana e escutam barulho de tiros (SICK, 1997). Normalmente as fêmeas são mais pesadas, sendo que em cativeiro podem apresentar peso médio de 500,83 g e os machos peso de 389,16 g à 10ª semana de idade (CARNIO, MORO e GIANNONI, 1999).

Nogueira Neto (1973) já relatava que os tinamídeos são resistentes às doenças que acometem populações de galinhas domésticas. De fato, estudos realizados com perdizes criadas em cativeiro, apontaram nenhuma *Salmonella* através de cultura de amostras retiradas da cloaca (MARQUES et al., 2012). Também, quando as perdizes foram infectadas experimentalmente com o vírus da doença de *Newcastle*, estas não apresentaram sinais clínicos nem vieram a óbito, mas, como são portadoras do vírus, foram capazes de transmitir a doença para as galinhas (PAULILLO et al., 2005). Entretanto, se forem criadas dentro da distância recomendada com o propósito de biossegurança, não representa risco à criação comercial de frangos de corte ou galinhas poedeiras (MARQUES et al., 2012).

3.5. Estrutura da população

Alojamento dos reprodutores

O galpão de reprodução, disposto em sentido leste-oeste, possui instalações semelhantes a galpões avícolas comerciais com área total de 400 m², 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 havia 100 boxes de dimensões de 2,0x1,0x1,95 m, divididos por uma mureta com altura de 45 cm e cercados por tela de arame, com piso concretado e coberto por cama de feno de gramínea “croast cross” (*Cynodon dactylon*).

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 alojado 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.

Ciclo 2007/2008

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.

Ciclo 2008/2009

A escolha dos animais foi realizada ao acaso para a formação de 100 famílias. 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.

Ciclo 2009/2010

A mesma estrutura de alojamento realizado no ciclo reprodutivo anterior (2008/2009) foi adotada, somente substituindo aves que vieram a óbito.

As gerações foram contínuas sendo que alguns reprodutores e matrizes foram utilizados em mais de um ciclo reprodutivo, pois o número de descendentes foi insuficiente para compor o plantel de reprodução do ciclo seguinte, resultando na permanência de algumas aves. Isto se deve ao fato da eficiência reprodutiva da perdiz aumentar com a idade sendo que no primeiro ciclo ela é bem baixa (BRUNELI et al., 2005).

Manejo reprodutivo

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 (BRUNELI et al., 2005). O sistema de acasalamento foi por monta natural e também 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 bicadas, 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, considerados 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 nos box para se ter melhor controle do ciclo reprodutivo. 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 foram desinfetados com solução de formol a 5% e foram tomados o peso, as medidas longitudinais e verticais dos eixos 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-eclodido. 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.

Manejo dos recém-nascidos

A eclosão ocorreu por volta de 21 dias após a postura (Figura 1C). Após o nascimento, os perdigotos foram pesados e receberam anilhas provisórias constituídas por abraçadeiras coloridas na pata, cuja combinação de cores correspondia ao número do ovo a que pertenciam. Os perdigotos foram 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. Os perdigotos receberam ração farelada contendo em sua formulação 28% de proteína bruta e 2800 kcal/EM/kg, água *ad libitum* com 1 gota de Vita Gold e após 5 a 10 dias alojados nestas criadeiras, foram 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 tinha área de 300 m², no qual foram instalados 28 boxes com 20 m² de área, com possibilidade de divisão em 56 boxes para experimentos, com 10 m² de área.

Durante a primeira semana no galpão de recria, os perdigotos receberam água com Terramicina[®] 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 m² 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^a semana, as aves foram transferidas para box com 20 m² 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 kcal de EM/kg) *ad libitum* era realizado 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 três vezes por semana, 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. Em casos de infestações por “piolho” (espécies da ordem Mallophaga), a cama era trocada e Bolfo® 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.

4. REFERÊNCIAS

- AGNVALL, B.; JÖNGRN, M.; STRANDBERG, E.; JENSEN, P. Heritability and Genetic Correlations of Fear-Related Behaviour in Red Junglefowl—Possible Implications for Early Domestication. **PLos One**, v. 7, e 35162, 2012.
- ALLISON, P. D. **Survival Analysis Using the SAS System: A Practical Guide**. Cary NC: SAS Institute, 1995.
- ALLORE, H.G.; WARNICK, L.D.; HERTL, J.; GRÖHN, Y.T. Censoring in survival analysis: a simulation study of the effect of milk yield on conception. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 49, p. 223 – 234, 2001.
- ANDERSSON, L. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. **Nature Reviews Genetics**, v. 2, p. 130 - 138, 2001.
- ANGEVAARE, M. J.; PRINS, S.; STAAY, F. J.; NORDQUIST, R. E. The effect of maternal care and infrared beak trimming on development, performance and behavior of Silver Nick hens. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 140, p. 70– 84, 2012.
- BASTOS, J.; ROCHA, C. Análise de Sobrevivência: Conceitos Básicos. **Arquivos de Medicina**, v. 20, p. 185 – 187, 2006.
- BELYAEV, D. K. Destabilizing selection as a factor in domestication. **The Journal of Heredity**, v.70, p. 301-308, 1979.

BERTIN, A.; ANNICK, M.; YRI, R. Mothers' fear of human affects the emotional reactivity of young in domestic Japanese quail. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 89, p. 215 -231, 2004.

BOTELHO, F.; SILVA, C.; CRUZ, F. Epidemiologia explicada – Análise de Sobrevivência. **Acta Urológica**, v. 26; p. 33-38, 2009.

BRUNELI, F. A. T.; THOLON, P.; ISAAC, F. L.; DAMASCENO, P. R.; TONHATI, H.; QUEIROZ, S. A. Caracterização da reprodução de perdizes (*rhynchotus rufescens*) em cativeiro. **ARS VETERINARIA**, v. 21, p. 272-280, 2005.

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

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

CARNIO, A.; MORO, M.E.G.; GIANNONI, M. L. Estudos para a criação e reprodução em cativeiro da ave silvestre, *Rhynchotus rufescens* (TINAMIFORMES), com potencial para a exploração zootécnica. **Ars Veterinaria**, v. 15, p. 140-143, 1999.

COLOSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. **Análise de Sobrevivência Aplicada**. 1.ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2006. 370 p.

CRAIG, J.V., CRAIG, T.P., DAYTON, A.D. Fearful behavior by caged hens of two genetic stocks. **Applied Animal Ethology**, v. 10, p. 263 - 273, 1983.

DEERENBERG, C., OVERKAMP, G. J. F. Hard work impinges on fitness: an experimental study with zebra finches. **Animal Behaviour**, v. 58 p. 173–179, 1999.

DUCROCQ, V.; BESBES, B.; PROTAIS, M. Genetic improvement of laying hens viability using survival analysis. **Genetics Selection Evolution**, v. 32, p. 23 – 40, 2000.

DUCDROCQ V., CASELLA G. A bayesian analysis of mixed survival models. **Genetics Selection Evolution**, v. 28, p. 505 – 529, 1996.

DWYER, C. How has the risk of predation shaped the behavioural responses of sheep to fear and distress? **Animal Welfare**, v. 13, p. 269 - 281, 2004.

EDELAAR, P.; SERRANO, D.; CARRETE, M.; BLAS, J.; POTTI, J.; TELLAA, J. L. Tonic immobility is a measure of boldness toward predators: an application of Bayesian structural equation modeling. **Behavioral Ecology**, v. 23, p. 619 - 626, 2012.

ESSL, A. Longevity in dairy cattle breeding: a review. **Livestock Production Science**, v. 57, p. 79–89, 1998.

FAURE, J. M.; JONES, R. B.; BESSEL, W. Fear and social motivation as factors in open-field behaviour of the domestic chick. **Biology of Behaviour**, v. 8, p. 103–116, 1983.

FORABOSCO, F.; BOZZI, R.; FILIPPINI, F.; BOETTCHER, P.; VAN ARENDONK, J.A.M.; BIJMA, P. Linear model vs. survival analysis for genetic evaluation of sires for longevity in Chianina beef cattle. **Livestock Science**, v. 101, p. 191– 198, 2006.

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

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

GALLUP, G. G. JR.; SUAREZ, S. D. An ethological analysis of open-field behavior in chickens. **Animal Behaviour**, v. 28, p. 368-378, 1980.

GHAREEB, K.; AWAD, W. A.; NIEBUHR, K.; BÖHM, J.; TROXLER, J. Individual differences in fear and social reinstatement behavior in laying hens. **International Journal of Poultry Science**, v.7, p. 843 – 851, 2008.

GUZMAN, D. A.; MARIN, R. H. Social reinstatement responses of meat-type chickens to familiar and unfamiliar conspecifics after exposure to an acute stressor. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110, p. 282–293, 2008.

GUZMAN, D. A.; SATTERLEE, D. G.; KEMBRO, J. M.; SCHMIDT, J. B.; MARIN, R. H. Effect of the density of conspecifics on runway social reinstatement behavior of male Japanese quail genetically selected for contrasting adrenocortical responsiveness to stress. **Poultry Science**, v. 88, p.2482 - 2490, 2009

HEMSWORTH, P. H.; BARNETT, J. L. Relationships between fear of humans, productivity and cage position of laying hens. **British Poultry Science**, v. 30, p. 505 - 518, 1989.

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. Domestication, selection, behaviour and welfare of animals - genetic mechanisms for rapid responses. **Animal Welfare**, v. 19, p. 7 - 9, 2010.

JONES, R. B.; FAURE, J. M. Tonic immobility (“righting time”) in laying hens housed in cages and pens. **Applied Animal Ethology**, v. 1, p. 369 - 372, 1981.

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

JONES, R. B.; MARIN, R. H.; GARCIA, D. A.; ARCE, A. T-maze behaviour in

domestic chicks: a search for underlying variables. **Animal Behaviour**, v. 58, p. 211 - 217, 1999.

JONES, R. B.; HOCKING, P. M. Genetic selection for poultry behaviour: Big bad wolf or friend in need? **Animal Welfare**, v. 8, p. 343 - 359, 1999.

JÖNGREN, M.; WESTANDER, J.; NÄTT, D.; JENSEN, P. Brain gene expression in relation to fearfulness in female red junglefowl (*Gallus gallus*). **Genes, Brain and Behavior**, v. 9, p. 751 - 758, 2010.

KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observation. **Journal of the American Statistical Association**, v.53, n. 282, p.457-481, 1958.

KUENZEL, W. J. Neurobiological basis of sensory perception: welfare implications of beak trimming. **Poultry Science**, v. 86, p. 1273 – 1282, 2007.

LAUNAY, F.; MILLS, A. D.; FAURE, J. M. Effects of age, line and sex on tonic immobility responses and social reinstatement behaviour in Japanese quail *Coturnix japonica*. **Behaviour Process**, v. 29, p. 1 - 16, 1993.

LIANGA, H.; ZOU, G. Improved AIC selection strategy for survival analysis. **Computational Statistics & Data Analysis**, v. 52, p. 2538 – 2548, 2008.

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

LEE, E. T.; GO, O. T. Survival analysis in public health research. **Annual Review of Public Health**, v. 18, p. 105 – 34, 1997.

LIMA, S. L. Back to the basics of anti-predatory vigilance: the group-size effect. **Animal Behaviour**, v. 49, p. 11 - 20, 1995.

MARQUES, M. V. R.; FERREIRA JUNIOR, F. C.; ANDERY, D. A.; FERNANDES, A. A.; ARAÚJO, A. V.; RESENDE, J. S.; DONATTI, R. V.; MARTINS, N. R. S. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 43, p. 539–548, 2012.

MILLS, A. D., FAURE, J. M. The treadmill test for the measurement of social motivation in Phasianidae chicks. **Medical Science Research**, v. 18, p. 178 - 180, 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, 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**, v. 69, p. 125 – 134, 2000.

MOBERG, G.P. **Biological response to stress: key to assessment of animal welfare**, in: Animal Stress. Bethesda, USA: American Physiological Society, 1985. P.

27-49.

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, p. 37-40, 1994.

MORO, M. E. G.; ARIKI, J.; MALHEIRO, E. B. Avaliação dos níveis de proteína da dieta sobre a idade à maturidade sexual e produção de ovos de perdiz (*Rhynchotus rufescens* Temminek). **Acta Scientiarum**, v. 24, p. 997 – 1000, 2002.

NAKAYAMA, S.; MIYATAKE, T. A Behavioral syndrome in the adzuki bean beetle: genetic correlation among death feigning, activity and mating behavior. **Ethology**, v. 116, p. 108 - 112, 2010.

NORDQUIST, R. E.; HEERKENS, J. L.T.; RODENBURG, T. B.; BOKS, S.; ELLEN, E. D.; VAN DER STAAY, F. J. Laying hens selected for low mortality: Behaviour in tests of fearfulness, anxiety and cognition. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 131, p. 110–122, 2011.

ORIAN, G. H. On the Evolution of Mating Systems in Birds and Mammals. **The American Naturalist**, v. 103, p. 589-603, 1969.

PAULILLO, A.C.; SILVA, G.S.; DORETTO JUNIOR, L.; GAMA, N.M.S.Q.; NISHIZAWA, M.; SCHOCKEN-ITURRINO, F. Importância das perdizes (*Rhynchotus rufescens*) como fonte potencial de vírus patogênico da doença de newcastle para aves domésticas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.3, p.313-317, 2005.

PELHAITREA, A.; MIGNON-GRAUSTEAU, S.; BERTIN, A. Selection for wheat digestibility affects emotionality and feeding behaviours in broiler chicks. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 139, p. 114 - 122, 2012.

RADKE, B. R. A demonstration of interval-censored survival analysis. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 59, p. 241–256, 2003.

RICHARD, S.; LAND, N.; SAINT-DIZIER, H.; LETERRIER, C.; FAURE, J.M. Human handling and presentation of a novel object evoke independent dimensions of fear in Japanese quail. **Behavioural Processes**, v. 85, p. 18 - 23, 2010.

ROXTRÖM, A; DUCROCQ, V; STRANDBERG E. Survival analysis of longevity in dairy cattle on a lactation basis. **Genetics Selection Evolution**, v. 35, p. 305-318, 2003.

SAMORÉ, A.B.; SCHNEIDER, M. del P.; CANAVESI, F.; BAGNATO, A.; GROEN, A.F. Relationship between somatic cell count and functional longevity assessed using survival analysis in Italian Holstein–Friesian cows. **Livestock Production Science**, v. 80, p. 211 - 220, 2003.

SCHÜTZ, K.; KERJE, S.; CARLBORG, Ö.; JACOBSSON, L.; ANDERSSON, L.; JENSEN, P. QTL analysis of a red junglefowl x White Leghorn intercross reveals trade-off in resource allocation between behaviour and production traits. **Behavior**

Genetics, v. 32, p. 423 - 433, 2002.

SCHÜTZ, K.; KERJE, S.; JACOBSSON, L.; FORKMAN, B.; CARLBORG, Ö.; AANDERSSON, L.; JENSEN, P. Major Growth QTLs in Fowl Are Related to Fearful Behavior: Possible Genetic Links Between Fear Responses and Production Traits in a Red Junglefowl × White Leghorn Intercross. **Behavior Genetics**, v. 34, p. 121 - 130, 2004.

SCHWEITZER, C.; LÉVY, F.; ARNOUD, C. Increasing group size decreases social bonding in young Japanese quail, *Coturnix japonica*. **Animal Behaviour**, v. 8, p. 535 - 542, 2011.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. Edição revista e ampliada por José Fernando Pacheco. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. Cap. 10, p. 153 - 157.

SMITH, S. P.; QUAAS, R. L. Productive lifespan of bulls progeny groups: failure time analysis. *Journal Dairy Science*, v. 67, p. 2999 – 3007, 1984.

STEVENSON, M. **An Introduction to Survival Analysis**. EpiCentre, IVABS, Massey University. June 4, 2009.

SUAREZ, S. D.; GALLUP, G. G. JR. Social reinstatement and open-field testing in chickens. **Animal Learning & Behavior**, v. 11, p. 119 - 126, 1983.

VÄISÄNEN, J.; JENSEN, P.; Responses of young red jungle fowl (*Gallus gallus*) and White Leghorn layers to familiar and unfamiliar social stimuli. **Poultry Science**, p. 83, v. 335 - 343, 2004.

VÄISÄNEN, J.; LINDQVIST, C.; JENSEN, P. Co-segregation of behaviour and production related traits in an F3 intercross between red junglefowl and White Leghorn laying hens. **Livestock Production Science**, v. 94, p.149 - 158, 2005.

VAN HORNE, P. L. M.; ACHTERBOSCH, T. J. Animal welfare in poultry production systems: impact of EU standards on world trade. **World's Poultry Science Journal**, v. 64, p. 40 - 51, 2008.

VUKASINOVIC, N. Application of survival analysis in breeding for longevity. **Interbull Bulletin**, v. 21, 1999.

WIREN, A.; JENSEN, P. A growth QTL on chicken chromosome 1 affects motionality and sociality. **Behaviour Genetics**, v. 41, p. 303 - 311, 2011.

CAPÍTULO 2: ESTIMAÇÃO DE KAPLAN-MEIER E MODELO DE COX PARA ESTUDAR O TEMPO DE PERMANÊNCIA EM IMOBILIDADE TÔNICA DE PERDIZES (*Rhynchotus rufescens*)

Resumo: Com o intuito de caracterizar as covariáveis que influenciaram o tempo de permanência em imobilidade tônica (IT) de perdizes (*Rhynchotus rufescens*), a metodologia da análise de sobrevivência foi aplicada. Para isto, registros de observações de IT, realizadas no Setor de Animais Silvestres – FCAV no período de 2006 a 2010 foram avaliados, sendo usadas mensurações de 539 perdizes. A análise exploratória dos dados foi realizada por estatística não paramétrica via estimador de Kaplan-Meier (KM) e depois de serem estabelecidas as covariáveis significativas sobre IT, o ajuste no modelo de Cox foi aplicado. As covariáveis incluídas foram mês de nascimento aninhado em ano de nascimento e peso corporal da ave. Perdizes mais pesadas permaneceram maior tempo em IT, significando que este efeito desacelerou a função de risco. Também, no modelo de Cox foi incluído o efeito aleatório de progenitor como termo de fragilidade (modelo reprodutor). O efeito de reprodutor foi significativo ($p < 0,05$), evidenciando que diferentes pais foram responsáveis por variação no tempo em IT.

Palavras chave: ano de nascimento, análise de sobrevivência, ave silvestre, peso corporal.

1. INTRODUÇÃO

As perdizes são aves nativas da América do Sul e amplamente difundidas pelo Brasil (SICK, 1997). São selvagens, porém, é de interesse domesticá-las por terem valor cinegético, alto rendimento de carcaça, principalmente de peito (QUEIROZ et al., 2013) e adaptação à ração comercial (FELIPE et al., 2010).

A exploração comercial de perdizes, visando atender um mercado consumidor ávido por carnes exóticas, poderia ser realizada em condições similares à do frango de corte, desde que essa espécie possa ser criada adequadamente em condições de cativeiro, isto é, que seja domesticada. Para tanto, o comportamento dessa ave em cativeiro deve ser estudado, principalmente, com o intuito de encontrar animais mais calmos e adaptáveis à situação de cativeiro. Cabe ressaltar que o processo de domesticação atua não somente alterando o comportamento animal, mas também, interferindo sob outras características fenotípicas, como a morfologia e a fisiologia que são modificadas pela prática da seleção artificial (RUBIN et al., 2010).

Proporcionar bem-estar e qualidade de vida aos animais de criação é de fundamental importância para melhorar a eficiência do sistema de produção. Assim, no processo de domesticação, a inclusão de características comportamentais no programa de seleção dos animais pode ser estratégia interessante, já que a genética mostrou ser eficaz para o aperfeiçoamento do bem-estar animal (DAWKINS e

LAYTON, 2012).

Estudos sobre a evolução dos animais domésticos apontaram que a reação de medo em menor escala foi fator crítico à adaptação das espécies para enfrentarem o estresse dentro da estrutura de criação imposta pelo homem (CAMPLER, JÖNGREN e JENSEN, 2009). Porém, o medo manifestado pelos animais, principalmente contra os humanos ainda tem sido o principal causador de muitas injúrias dentro do sistema de produção, indicando que os animais não estão totalmente habituados ao cativeiro (AL-AQIL et al., 2013). Em criações comerciais, como as de frangos de corte, o medo pode prejudicar a produtividade, pois influencia negativamente nos processos fisiológicos no animal, devendo ser evitado (RUSHEN, TAYLOR e PASSILLE, 1999).

Uma maneira de avaliar o grau de medo apresentado pelo animal é mediante a tomada do tempo em que este permanece em imobilidade tônica (IT), que é um comportamento natural expressado em situações de perigo, em que os estímulos nervosos agem bloqueando o sistema motor transitoriamente (MIYATAKE et al., 2009). A IT também é conhecida como congelamento dos músculos, perda de sentido, catatonia, tanatose e morte fingida, sendo que o animal apresenta capacidade reduzida de reagir contra os agentes externos (JONES, 1986; GALLUP, 1974; TOLEDO, SAZIMA e HADDAD, 2010; EDELAAR et al., 2012). O comportamento de IT está presente em várias classes de animais, e as pesquisas com aves domésticas nessa área têm enfatizado mais os aspectos de bem-estar (GALLUP e RAGER, 1996).

Na natureza, a IT pode favorecer a sobrevivência do indivíduo, em especial, quando este está diante do predador, pois a capacidade de permanecer imóvel simula situação de morte, acarretando no desinteresse do predador à caça, possibilitando maiores chances de fuga (RUXTON, 2006). Neste contexto, a manifestação do comportamento de IT é conveniente, entretanto, revela grau elevado de medo, visto que, quanto maior o tempo de permanência em IT, mais amedrontado é o animal (JONES e FAURE, 1981; MILLS e FAURE, 2000).

Geralmente, a tomada do tempo em IT é feita individualmente induzindo a ave ao estado de catatonia pelo investigador, sendo-lhe permitido permanecer imóvel por determinado período e quando não se recuperar naturalmente dentro deste tempo pré-estabelecido, a ave é retirada do transe.

Esse tipo de conjunto de dados, em que parte dos indivíduos apresenta o

valor fenotípico observado e outra parte apresenta o valor máximo possível para aquele fenótipo, dado que permaneceria em estado catatônico por mais tempo que o prazo máximo estipulado pelo investigador, é denominado por dado censurado e uma das melhores maneiras de analisá-lo é mediante o emprego de análise de sobrevivência (COLOSIMO e GIOLO, 2006). Esta análise é adequada para investigar mensurações que tenham o propósito de compreender o período de tempo percorrido desde o início do estudo até a ocorrência do evento de interesse, denominado falha, e pode ser empregada para a determinação das fontes de variação que atuam sobre a característica em consideração, bem como, na estimação e predição de parâmetros e valores genéticos.

O objetivo desse trabalho foi identificar as covariáveis que atuam sobre o tempo em IT de perdizes criadas em cativeiro para adequação do modelo a ser usado nas análises genéticas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os dados foram provenientes de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas em cativeiro no Setor de Animais Silvestres do Departamento de Zootecnia da UNESP - FCAV, onde também foram realizadas as observações do tempo de permanência em imobilidade tônica (IT). Estas informações de IT dataram dos anos de 2006 a 2010.

As observações de IT foram realizadas em ambiente silencioso e em local diferente de onde estavam sendo mantidas as aves com a finalidade de reduzir as influências ambientais que poderiam prejudicar a colheita dos dados. Assim, as aves foram retiradas do galpão de crescimento, onde eram criadas dentro dos box com área de 20 m², nos quais estavam alojadas aproximadamente 15 aves/box e levadas à uma sala anexa ao galpão de reprodução. Antes das observações, as aves foram pesadas e mantidas individualmente em caixas de PVC durante 10 minutos.

Para a avaliação de IT, a metodologia descrita por Jones e Faure (1981) foi reproduzida, a qual consiste em colocar a ave, individualmente, em decúbito dorsal, restringindo-a sobre uma estrutura de madeira no formato de V para, finalmente, induzir o estado catatônico. Na sequência, o tempo foi aferido por cronômetro (marca Technos, modelo YP2151/8P) pelo observador que se manteve a distância de 1 metro da ave.

O tempo máximo em IT admitido foi de 1200 segundos (s) ou 20 minutos

(min). Desta forma, as aves que não saíram do estado catatônico no intervalo determinado foi computado como medida censurada. Assumindo o tempo limite para este estudo, a censura foi do tipo I, já que as observações foram finalizadas após período pré-estabelecido de tempo.

Ainda, informações sobre data da medida de IT, sexo da ave, ano de nascimento da ave, mês, idade e peso da ave no momento da tomada da medida de IT foram tomadas e, posteriormente, utilizadas como covariáveis para explicar a discrepância da variável resposta. Assim, animais sem os registros descritos foram retirados do banco de dados. Do mesmo modo, foram descartados indivíduos cujo pai não gerou mais de um filho (ou seja, indivíduos sem irmãos) e com pai desconhecido, procedimentos estes importantes para posterior análise genética. Por fim, o banco de dados continha informações referentes a 539 perdizes.

Acerca das covariáveis utilizadas, o ano de nascimento (AN) indicou o ciclo reprodutivo em que as aves nasceram, no qual, na espécie *R. rufescens* tem início em setembro e estende-se até abril do ano seguinte. Como os dados foram obtidos no período de 2006 a 2010, correspondeu a 4 anos de nascimentos: AN1 = setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010. As observações da característica IT foram realizadas em diferentes meses, exceto no período de agosto a outubro, e este efeito foi considerado como covariável “mês”.

As idades das aves que variaram de 41 a 263 dias quando o teste de permanência em IT foi aplicado, foram divididas em classes para proceder-se a análise não paramétrica. Para isto, foram realizadas inferências estatísticas utilizando o teste *logrank* da análise de sobrevivência a fim de formar grupos de animais de acordo com a idade. A princípio foi verificado se havia influência da idade reprodutiva que se inicia, aproximadamente aos 240 dias nas perdizes, sob a característica IT. Consequentemente, a curva de sobrevivência do grupo de aves com idade igual ou superior (média e desvio padrão) a 240 dias ($252,00 \pm 6,10$) foi comparada com a do grupo de aves com idade até 239 dias ($125,06 \pm 38,60$) revelando resultado não significativo ao nível de 5%. Ressalta-se que somente 16 aves, correspondendo a 2,78% da população total, apresentaram idades maiores que 240 dias, apesar de que, na análise de sobrevivência, o desbalanceamento entre as parcelas não influencia nos resultados (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

Por fim, foram formados dois grupos conforme a classe de idade (média e desvio padrão): Grupo 1 = animais entre 41 e 139 dias de idade ($99,45 \pm 15,82$) e Grupo 2 = 140 a 263 dias de idade ($175,96 \pm 31,12$). Esse mesmo procedimento foi aplicado para a formação de classes de peso corporal (média e desvio padrão) das perdizes, resultando na formação de dois grupos: Grupo 1 = animais pesando entre 196 a 638 gramas (g) ($482,81 \pm 101,48$) e Grupo 2 = 640 a 882 g ($718,16 \pm 51,32$).

Estabelecidas as covariáveis, a análise não paramétrica dos dados foi executada aplicando-se o estimador de Kaplan-Meier (KM) para a função de sobrevivência da variável resposta tempo em IT. O tempo de falha correspondeu ao período em que as perdizes permaneceram imóveis, desta forma, a função e a curva de sobrevivência foram estimadas com a finalidade de visualizar os tempos de permanência em IT nas parcelas ou grupos formados por cada covariável. O estimador KM é também conhecido como estimador limite produto (DER e EVERITT, 2001). A curva da função de sobrevivência estimada ($\hat{S}(t)$) forma uma escada com saltos somente nos tempos de falha. Isto porque, em sua construção, considera tantos intervalos de tempo quantos forem os números de falhas distintas, ou seja, os limites dos intervalos de tempo são os tempos de falhas da amostra. O emprego da metodologia de KM também é vantajoso, porque é um estimador não-viesado para a função de sobrevivência em grandes amostras (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

A preparação e a análise exploratória dos arquivos de dados foram executadas pelo *software* SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2.). Para a análise de sobrevivência, empregou-se o procedimento LIFETEST (SAS, Statistical Analysis System, versão 9.2.), que gerou estimativas não paramétricas, bem como o gráfico da função sobrevivência da variável resposta tempo em IT, pelo método KM. A finalidade da curva formada pelo estimador de KM é informar a probabilidade estimada de sobrevivência para determinado tempo.

O estimador KM para o estudo do comportamento de IT pode ser descrito por:

$$\hat{S}(t) = \prod_{j:t_j < t} \left(1 - \frac{d_j}{n_j}\right)$$

em que:

- $t_1 < t_2 \dots < t_k$ foram os k tempos distintos e ordenados de IT;
- d_j representou o número de encerramentos do tempo IT em t_j , $j = 1, \dots, k$;
- n_j representou o número de aves sob risco em t_j , ou seja, aquelas que não saíram do estado imóvel e não foram censuradas até o instante imediatamente

anterior a t_j .

Para verificar a hipótese da igualdade das curvas, a estatística *logrank* foi utilizada assumindo-se distribuição qui-quadrado (χ^2) com um grau de liberdade e nível de significância de 5%, em comparações do grupos dois a dois.

A função taxa de risco (*hazard rate*) foi obtida pelo mesmo procedimento utilizando o programa SAS. Em estudos médicos, a função de risco ($h(t)$) avalia a taxa de risco de falha, ou seja, analisa as chances de um indivíduo falhar (evento de interesse) dentro de uma população que está viva em um determinado tempo. Assim, também é conhecido como taxa de falha instantânea ou taxa de falha idade específica (BASTOS e ROCHA, 2006).

A função taxa de risco é dada pela expressão:

$$h(t) = P \{ t < T < (t + \Delta t) | T > t \}$$

Em termos matemáticos, é a probabilidade do indivíduo (T) morrer ou falhar no período entre t e $(t + \Delta t)$, dividida pela probabilidade de um indivíduo ter sobrevivido além do tempo t ($T > t$). Na prática, a função taxa de risco quantifica o risco instantâneo de um evento ocorrer no tempo t , uma vez que o sujeito resistiu ao tempo t (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

Na análise do tempo de permanência em IT, a taxa de risco, ou seja, o número de perdizes propenso a sair de IT foi determinado a cada 60 s, sendo útil para avaliar a probabilidade das perdizes despertarem do estado catatônico no decorrer do tempo. Isto é, conhecendo-se a quantidade de aves que permaneceram em IT a cada 60 s, foi possível determinar a quantidade de aves que saíram de IT no minuto anterior até ser encerrada a observação em 1200 s.

Em seguida, as rotinas no *software* estatístico R (version 2.13.0 Copyright (C) 2011. The R Foundation for Statistical Computing) foram realizadas para a análise semi-paramétrica empregando-se a regressão de Cox, na qual a função de risco é modelada. Esta metodologia utiliza os parâmetros da regressão de forma similar aos modelos lineares generalizados e a expressão geral do modelo de regressão de Cox é representada por:

$$\lambda(t) = \lambda_0(t) \exp\{x'\beta\}$$

Na qual:

- $\lambda_0(t)$ representou o risco basal;
- $\exp\{x'\beta\} = \exp\{\beta_1 x_1 + \dots + \beta_p x_p\}$;

- x representou o vetor para os valores das covariáveis e
- β o vetor de parâmetros associados às covariáveis.

Na regressão de Cox, o vetor de parâmetros β é estimado a partir de uma função de verossimilhança parcial e somente as covariáveis são multiplicadas pelo risco (parte paramétrica), sem adotar nenhuma distribuição estatística para a função de risco base $\lambda_0(t)$. Ou seja, a função de verossimilhança não depende do risco basal (CARVALHO et al., 2005), denominando-se esta regressão como modelo semiparamétrico. Ainda, o modelo de Cox permite analisar os dados provenientes de estudos do tempo de vida em que a ocorrência de um evento de interesse é ajustada pelas covariáveis que possuem o efeito de acelerar ou desacelerar a função de risco.

A regressão de Cox também é conhecida como modelo de riscos proporcionais, devido a razão das taxas de falha de dois indivíduos ser constante ao longo do tempo, ou seja, não dependente do tempo, dada pela expressão:

$$\frac{\lambda_i(t)}{\lambda_j(t)} = \frac{\lambda_0(t) \exp \{x'_i \beta\}}{\lambda_0(t) \exp \{x'_j \beta\}} = \exp \{x'_i \beta - x'_j \beta\}$$

Assim, a suposição para o uso do modelo de Cox é que as taxas de falha acumuladas sejam proporcionais, independente do tempo.

A metodologia de Cox foi aplicada para testar os modelos criados a partir das análises prévias realizadas pela estimativa de KM. Para eleger o melhor modelo que explicasse as variações da característica tempo de permanência em IT, o teste de razão de verossimilhança parcial (TRV) foi aplicado. Com a finalidade de testar a proporcionalidade dos riscos e atender a pressuposição básica para o uso da regressão do modelo de Cox, os resíduos padronizados de Schoenfeld foram calculados. Este método consiste em atribuir vetor de resíduos de Schoenfeld a cada indivíduo e definido para cada falha e não para censuras. A suposição de riscos proporcionais é válida quando o teste de hipóteses não permite a rejeição do H_0 de riscos proporcionais (todos os valores p superiores ao nível de significância):

$$\begin{cases} H_0: \text{há proporcionalidade dos riscos} \\ H_a: \text{não há proporcionalidade dos riscos} \end{cases}$$

Para a realização do teste de hipóteses, é calculado o coeficiente de correlação de Pearson (ρ) entre os resíduos padronizados de Schoenfeld. Em seguida, observam-se os valores de ρ e aqueles próximos de zero determinam a não rejeição da hipótese nula da suposição de riscos proporcionais.

Por fim, o modelo de fragilidade gama, no contexto multivariado, foi testado também pelo modelo de Cox. O termo fragilidade correspondeu à inclusão do efeito aleatório de reprodutor, ou seja, os pais das aves que foram submetidas ao teste de IT (“modelo reprodutor”).

A introdução de um efeito aleatório não observado na função de risco determina os modelos de fragilidade. O modelo de fragilidade em um contexto multivariado é útil para descrever as possíveis associações entre os tempos de sobrevivência (HOUGAARD, 1995). As associações dentro de cada agrupamento ou família são modeladas a partir da fragilidade compartilhada por apresentar risco comum. Neste caso, a fragilidade pode representar um efeito aleatório que descreve o risco comum compartilhado por indivíduos de um mesmo grupo ou família (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

O princípio do modelo da fragilidade compartilhada é a inclusão de um efeito aleatório para cada grupo ou família no modelo de Cox que atua como ponderador na função de risco. Desta maneira, quanto maior for o valor do efeito aleatório, maior será o risco de uma falha ocorrer, denotando maior fragilidade dos indivíduos. Assim, as famílias com valores elevados de fragilidade deverão experimentar o evento de interesse em tempos menores. Coerentemente, os indivíduos que apresentam tempo de sobrevivência maior, tenderão a pertencer às famílias menos frágeis ao evento de interesse. O modelo de fragilidade gama pode ser útil como ferramenta no processo de seleção (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

A fragilidade foi introduzida no modelo de Cox da seguinte forma:

$$\lambda_{ij}(t) = z_j \lambda_0(t) \exp\{x'_{ij}\beta\},$$

Em que:

- $\lambda_{ij}(t)$ representou a função de risco;
- x'_{ij} representou o vetor de dimensões p de covariáveis ;
- $\lambda_0(t)$ representou uma função de risco base desconhecida;
- β , um vetor de dimensão p de coeficientes de regressão desconhecidos, e
- z_j representou os valores das fragilidades com média 1 e alguma variância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito de Ano de Nascimento (AN)

Na Figura 1 referente à curva da função de sobrevivência obtida pela

estimativa KM, é possível distinguir os tempos de falha da característica IT nos 4 anos de nascimento (AN) testados. Por conseguinte, visualiza-se que a sobrevivência foi menor na população AN1 e maior na AN3, isto é, houve aumento gradativo no tempo de permanência em IT do primeiro até o terceiro ano de nascimento, mas ocorreu queda no último ano de nascimento (AN4). Neste último ano, é igualmente perceptível que a curva de sobrevivência se assemelhou à do AN2 (Figura 1).

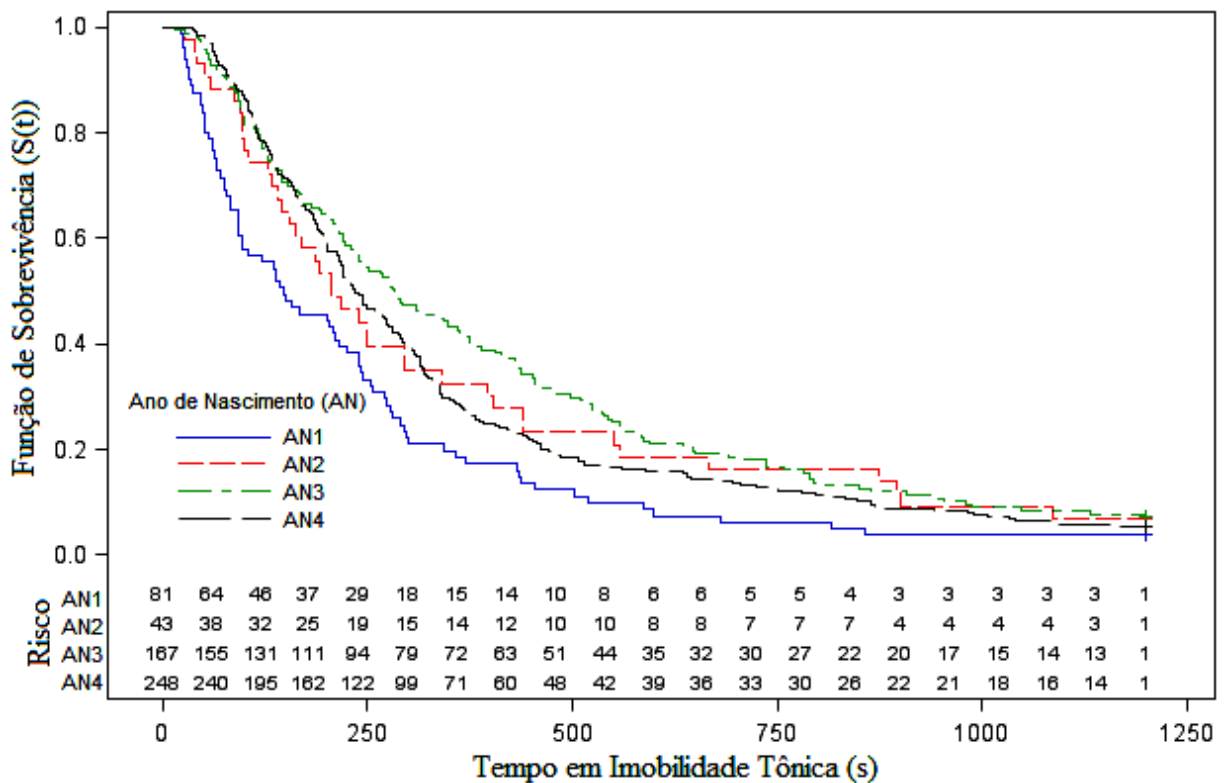


Figura 1. Curvas da função de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier e número de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) em risco (taxa de risco), para o tempo em imobilidade tônica avaliado em diferentes anos de nascimento (AN). AN1 = aves geradas no ciclo reprodutivo de setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010.

O número de perdizes em risco, ou seja, a propensão de saírem da condição imóvel e posicionarem-se de pé, também está na Figura 1. Este conjunto de aves em risco em cada ano de nascimento (AN) foi especificado a cada 60 segundos, dentro do período de 0 a 1200 s. Entende-se que a diminuição no número de aves em risco no decorrer do tempo equivale à quantidade de indivíduos que sobreviveram, isto é, aqueles que restaram na posição de imobilidade depois que alguns se levantaram nos 60 segundos anteriores. Assim, quanto menor o número

de aves em risco em cada minuto, maior a quantidade de aves que saíram de IT, e consequentemente, menor nível de medo na população analisada.

Dessa forma, ao tomarmos os 240 s como referência, constata-se que a quantidade de aves em risco diminuiu mais rapidamente no AN1, pois a permanência de 29 aves significa que 52 aves correspondendo a 64% da população total, já tinham se levantado até este instante. A proporção de aves que saiu da IT diminuiu no AN2, no qual 56% se levantaram restando 19 no grupo de risco e continuou diminuindo no AN3, isto porque, somente 73 perdizes representando 44% da população, tinham despertado da imobilidade nos minutos anteriores. Entretanto, no AN4 ocorreu aumento neste número de aves que saíram de IT, já que 122 restaram no grupo de risco indicando que, ao menos, metade da população já tinham se levantado antes de atingir os 240 s de observação.

O resultado da estatística do teste *logrank* apontou diferenças significativas entre os anos de nascimentos para o tempo em IT ($p = 0,0006$), confirmando que ocorreu variação deste comportamento em diferentes anos. Entretanto, pela comparação de curvas de sobrevivência realizada pelo teste *logrank* para cada par de anos de nascimento, constatou-se que somente o AN1 diferiu das demais ao nível de 5% (Tabela 1). Apesar disso, a comparação entre os AN3 e AN4 evidenciou diferenças marginalmente significativas ($p = 0,0805$, Tabela 1). Por fim, o fato de não haver diferenças significativas entre os tempos em IT entre os anos de nascimentos 2, 3 e 4, sugere que apenas a inclusão desta covariável não foi suficiente para explicar as mudanças nos tempos.

Tabela 1. Resultados do teste *logrank* obtidos para o efeito de ano de nascimento (1 a 4) sobre o tempo de permanência em imobilidade tônica.

Ano de nascimento comparados	Estatística do teste	Valor p
1 x 2	3,8105	0,0509
1 x 3	16,0093	<0,0001
1 x 4	9,2837	0,0023
2 x 3	0,5500	0,4583
2 x 4	0,0221	0,8817
3 x 4	3,0547	0,0805

A constatação de que o tempo de permanência em IT foi menor no AN1 e maior no AN3 foi feita pela comparação dos valores da mediana. Na análise de sobrevivência, a média não é uma medida de tendência central confiável quando o maior valor é uma censura (DER e EVERITT, 2001), caso ocorrido com os testes de

IT em que foi estabelecido o tempo máximo de 1200 s. Assim, as avaliações observando as medianas são mais indicadas e estão especificadas na Tabela 2, juntamente com o resumo dos dados e os respectivos intervalos de confiança a 95%, para os 4 anos de nascimentos.

Tabela 2. Resumo da análise descritiva e das estimativas, obtidas pela metodologia Kaplan-Meier, do tempo em imobilidade tônica, em segundos, observados em diferentes anos de nascimento (AN).

AN	Total	Falhas	Censuras	Censuras (%)	Mediana(s)	I.C. _{.95%}
1	81	78	3	3,70	147,00	(95; 225)
2	43	40	3	6,98	206,00	(155; 295)
3	167	155	12	7,19	283,00	(234; 362)
4	248	235	13	5,24	234,50	(216; 272)
Total	539	508	31	5,75		

AN= Ano de nascimento, I.C._{.95%}=Intervalo de confiança a 95%

A análise de sobrevivência aplicada aos dados de tempo em IT indicou que o medo em perdizes criadas em cativeiro foi amenizado no último AN, embora tenha mostrado nível crescente até o terceiro AN. Este resultado é favorável para a domesticação da espécie *R. rufescens*, pois animais mais adaptados ao cativeiro são propensos a terem menor resposta de medo e maior potencial de *fitness*, ou seja, de copularem e deixarem descendentes dentro do ambiente de criação (CAMPLER, JÖNGREN e JENSEN, 2009). Seguindo o raciocínio do valor adaptativo, também sugere que a população de perdizes desenvolvida no Setor de Animais Silvestres da UNESP/FCAV é passível de habituar-se à presença humana bem como ao ambiente de produção. Porém, outros elementos também podem ter influenciado a característica IT, tais como a idade e o peso corporal no instante da aplicação do teste de IT, bem como o sexo das aves.

Efeito do mês de avaliação de IT

O efeito do mês de avaliação de IT também foi estudado, sendo modelado como covariável visando detectar diferenças na variável resposta. O teste *logrank* para homogeneidade entre os estratos de mês dentro do ano de nascimento não foi significativo, ou seja, dentro de ano de nascimento, as observações de IT em diferentes meses não apresentou variações.

No entanto, diferenças significativas foram detectadas comparando-se meses iguais em gerações distintas, assim, optou-se por aninhar o mês dentro de ano de

nascimento para estudar esse efeito sobre a característica IT. Na Tabela 3 constam as medianas do tempo de permanência em IT em diferentes meses de cada AN.

Tabela 3. Valores da mediana do tempo observado em imobilidade tônica, em segundos, em diferentes meses de janeiro (1) a dezembro (12) e anos de nascimento (AN).

AN	Mês									
	1	2	3	4	5	6	7	10	11	12
1	65	219	243	283	151	x	87	434	x	158
2	x	217	190	992	x	141	x	x	x	x
3	241	347	220	453	x	x	x	x	317	166
4	x	x	x	310	233	x	213	x	x	x

AN = Ano de nascimento. 1 = setembro de 2006 a abril de 2007; 2 = setembro de 2007 a abril de 2008; 3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e 4 = setembro de 2009 a abril de 2010, x = Ausência de observação.

Visualizando a Tabela 3, não foi possível detectar um padrão de oscilação nos tempos de IT, mas, percebem-se variações entre os meses quando se observa os valores dos mesmos meses nos diferentes AN. As diferenças entre ano de nascimento nos meses em que foram tomadas as medidas de IT foram decorrentes da época de nascimento das aves nos diferentes ciclos reprodutivos, que vai de setembro a fevereiro (BRUNELI et al., 2005).

Idade da ave na tomada de IT

Observando-se a curva de sobrevivência, na Figura 2, constata-se que a proporção de indivíduos que permaneceram em IT até o final do tempo limite de 1200 s se elevou conforme aumentou a idade média das aves. Além disto, a taxa de risco diminuiu mais rapidamente ao longo do tempo no grupo composto por animais mais jovens, isto é, ao menos metade das aves com idade até 139 dias saiu da imobilidade antes de 240s do tempo de observação. No grupo de animais com idade superior a 139 dias, a mesma proporção de perdizes que saíram de IT só foi alcançada no segundo 300.

Pelo teste *logrank*, comparando-se os dois grupos, constatou-se diferença ao nível de significância de 5% ($p = 0,02$), indicando que o tempo de permanência em IT foi dependente da idade do animal, com tendência a aumentar à medida que as aves envelhecem, isto é, as perdizes mais velhas apresentaram maior nível de medo do que as mais novas.

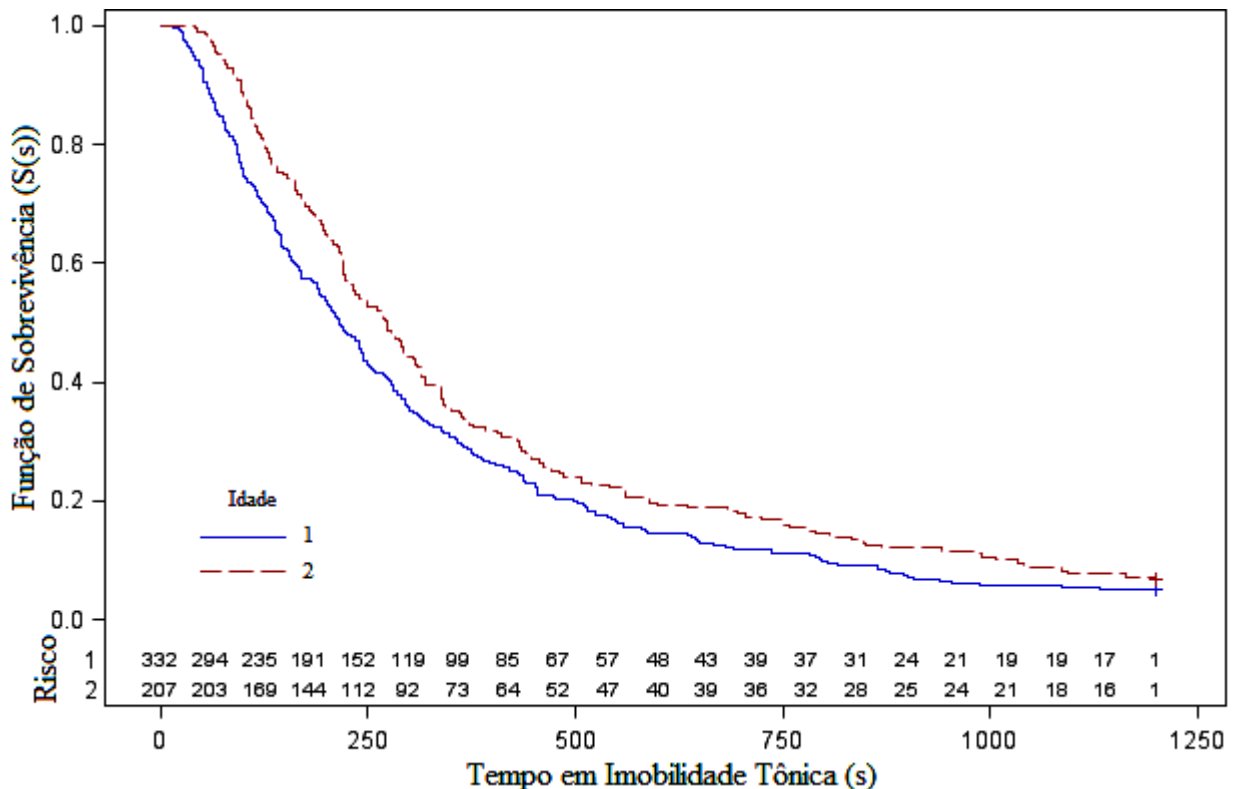


Figura 2. Curvas da função de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier e o número de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) em risco (taxa de risco), para o tempo imobilidade tônica avaliado em 2 grupos com idades diferentes. Grupo 1 = 40 a 139 dias de idade. Grupo 2 = 140 a 263 dias de idade.

A Tabela 4 contém uma síntese dos resultados da mediana do tempo em IT e a porcentagem de medidas censuradas, corroborando com a ideia de que, em perdizes, o medo foi mais acentuado em idades mais avançadas.

Tabela 4. Resumo dos dados e das estimativas obtidas pela metodologia Kaplan-Meier, do tempo em imobilidade tônica avaliado em segundos de acordo com as classes de idade perdizes (*Rhynchotus rufescens*).

Idade (dias)	Total	Falhas	Censuras	Censuras (%)	Mediana	I.C. _{.95%}
40 - 139	332	315	17	5,12	215	(190; 243)
140 - 263	207	193	14	6,76	272	(230; 307)
Total	539	508	31	5,75		

I.C._{.95%}=Intervalo de confiança a 95%

Launay, Mills e Faure (1993) não observaram efeito significativo ($p > 0,05$) de idade sobre o tempo em IT em codornas (*Coturnix coturnix*). Entretanto, as idades em que estas aves foram submetidas à análise foram de 1 a 6 semanas, isto é, o efeito da característica IT em idades avançadas não foi investigado de forma semelhante à população de perdizes. Em contrapartida, Salzen (1963) já

mencionava que o nível de medo em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) está em grande parte relacionado à experiência adquirida pelo animal. Trabalhos comprovam que as aves tem capacidade de memória (JONES, FACCHIN e McCORQUODALE, 2002), e que, em situações de perigo, o medo pode ativar a memória, colocando os animais em maior estado de alerta (BELZUNG e FILIPPOT, 2007).

Portanto, o fato de perdizes com idade mais avançada apresentarem maior nível de medo pode ser explicada devido a estas terem passado por maiores experiências aversivas dentro do ambiente de criação, como por exemplo, o manejo diário pelos tratadores ou pelo fato de terem sido mais “ansiosas” porque não puderam expressar o comportamento natural que teriam em vida selvagem.

As aves mais jovens tendem a ser mais curiosas, pois precisam explorar o ambiente em que vivem, necessitando serem mais corajosas e, portanto, tendem a apresentar menor tempo em imobilidade. Outro ponto a ser considerado é que perdizes mais jovens tendem a ser mais sociáveis (e menos medrosas) por estarem mais próximas do período em que necessitam compartilhar com conspecíficos o ambiente comum da criação pelo pai e, a medida que vão ficando mais velhas vão se tornando mais individualistas, já que não são aves gregárias.

Efeito do peso corporal na tomada de IT

O teste *logrank* realizado para os grupos formados a partir das classes de peso foi significativo ($p = 0,003$), indicando que o tempo de permanência em IT foi afetado pelo peso corporal das aves. Na curva de sobrevivência apresentada na Figura 3, observa-se que o grupo mais pesado permaneceu maior período em IT. Os valores da mediana e a proporção de aves que permaneceram imóveis depois de 20 min (censuras) foram mais elevados no grupo de aves mais pesadas (Tabela 5).

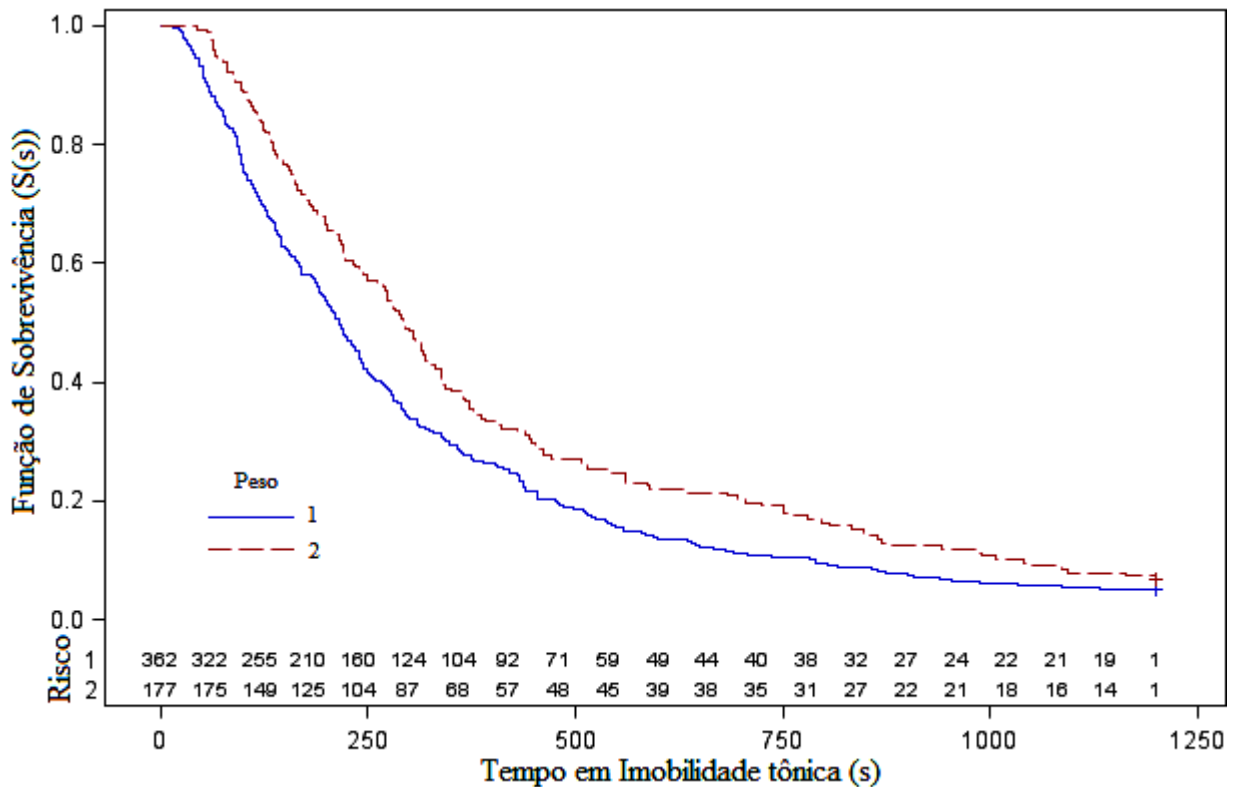


Figura 3. Curvas de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier, com número de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) em risco (taxa de risco), para o tempo imobilidade tônica avaliado em 2 grupos apresentando peso corporal diferentes. Grupo 1 = 196 g a 639 g. Grupo 2 = 640 g a 882 g.

Tabela 5. Resumo dos dados e das estimativas obtidas pela metodologia Kaplan-Meier do tempo em imobilidade tônica, em segundos, de acordo com as classes de peso corporal (g) de perdizes (*Rhynchotus rufescens*).

Peso	Total	Falhas	Censuras	Censuras (%)	Mediana	I.C. _{.95%}
196 - 639	362	343	19	5,25	215	(193;239)
640 - 882	177	165	12	6,78	294	(250; 332)
Total	539	508	31	5,75		

I.C._{.95%}=Intervalo de confiança a 95%

Os resultados (Tabela 5) indicaram que perdizes com maior peso corporal apresentaram maior nível de medo, diferindo de alguns trabalhos. Ghareeb e Böhm (2008) afirmaram que, quando o teste de IT foi aplicado em frangos de corte com 5 e 6 semanas de idade, os mais pesados apresentaram menor nível de medo. Este mesmo padrão de comportamento já tinha sido encontrado em população de codornas submetidas à seleção divergente para maior e menor peso corporal, em que aves da linhagem com alto peso corpóreo permaneceram menor tempo em IT (JONES, SATTERLEE e MARKS, 1997).

Anderson e Jones (2012) mencionaram que, embora a seleção tenha afetado

parâmetros de crescimento, não alterou o comportamento de medo em galinhas de postura. Porém, aves mais velhas tenderam a apresentar maior peso corporal e, portanto, esses dois efeitos poderiam estar confundidos. Na população sob estudo, a correlação de Pearson estimada entre a idade e o peso das perdizes foi igual a 0,7507 ($p = <0,0001$), ou seja, as duas covariáveis foram positivamente correlacionadas, sendo o valor alto. Resumidamente, o tempo de permanência em IT maior nas perdizes mais pesadas pode ter sido consequência destas apresentarem maior idade. Assim, numa posterior análise estatística, seria mais razoável a escolha de somente uma dessas covariáveis para inclusão no modelo.

Efeito do sexo da ave

A função de sobrevivência obtida pela metodologia KM ilustrada na Figura 4 mostra claramente que as curvas foram similares em ambos os sexos, de tal maneira que, o valor p do teste *logrank* foi 0,4358. Além disso, as aves em risco para cada sexo retrocederam quase na mesma proporção conforme o avanço do tempo.

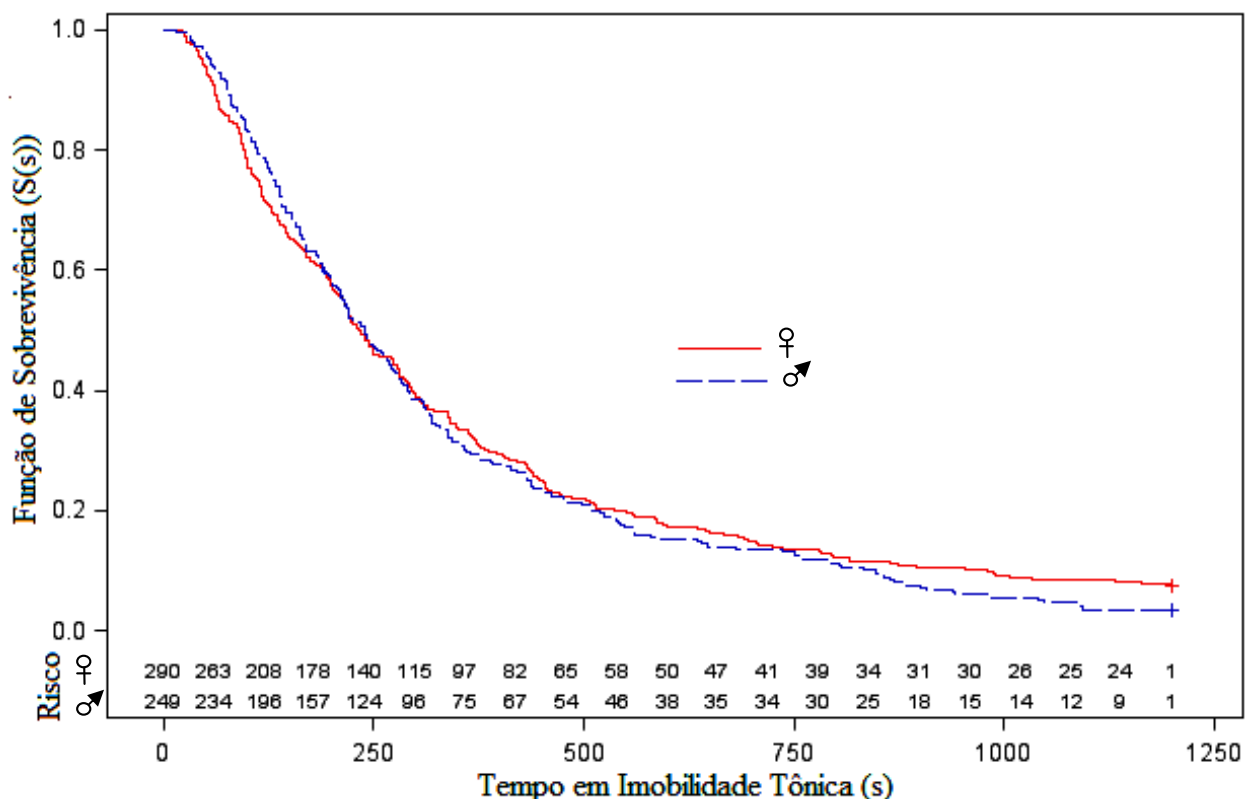


Figura 4. Curvas de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier, com número de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) em risco (taxa de risco), para o tempo imobilidade tônica avaliado em fêmeas e machos.

De acordo com a Tabela 6, verificou-se que o comportamento de IT manifestado por fêmeas e machos foi semelhante. Assim, não foi possível distinguir uma diferença clara no nível de medo entre os sexos, embora o grupo de fêmeas tenha exibido porcentagem maior de permanência em IT e menor valor da mediana do tempo em IT em comparação com o de machos.

Tabela 6. Resumo dos dados e das estimativas obtidas pela metodologia Kaplan-Meier do tempo em imobilidade tônica, em segundos, de acordo com o sexo de perdizes (*Rhynchotus rufescens*).

Sexo	Total	Falhas	Censuras	Censuras (%)	Mediana	I.C. _{.95%}
Fêmea	290	268	22	7,59	233	(210; 274)
Macho	249	240	9	3,61	239	(211; 270)
Total	539	508	31	5,75		

I.C._{.95%}=Intervalo de confiança a 95%

A hipótese de que o sexo poderia ser fator importante na variação do tempo de permanência em IT em perdizes criadas em cativeiro foi descartada pelo teste *logrank* ($p > 0,05$). Entretanto, como os machos incubam os ovos e cuidam da prole durante a fase inicial de vida destas, esperava-se que exibissem menor tempo em IT do que as fêmeas.

Resultados diferentes dos obtidos nesse estudo foram relatados na literatura. Em frangos de corte, com 8 semanas de idade, o período em IT foi mais curto em machos do que em fêmeas (AKPA et al., 2007). Campo e Carnicer (1993) revelaram que, entre 1 a 52 semanas de idade, machos da raça White Leghorn persistiram maior tempo em imobilidade do que as fêmeas e sugeriram que a característica IT pode estar correlacionada com mudanças hormonais, já que entre 12 a 20 semanas de idade, ocorreu uma inversão em que os machos ficaram menos tempo imóveis.

Em perdizes, levando-se em conta que o sistema de acasalamento na natureza é a poliandria (SICK, 1997) - uma fêmea acasala-se com vários machos, sendo estes os responsáveis por chocar os ovos e cuidar da prole - a influência do sexo sobre o comportamento de medo pode ter sido diferente de aves domésticas devido à estrutura comportamental e hierárquica que estas espécies apresentam.

Modelo de Cox

Aplicando-se a regressão de Cox, foram testadas as covariáveis previamente analisadas pela estimativa de Kaplan-Meier (KM). Assim, diferentes modelos foram

construídos com as covariáveis: mês aninhado em ano de nascimento (MAN), peso e idade no momento das observações das aves em IT. Entretanto, uma forte associação entre as covariáveis idade e peso das aves ($r = 0,7507$) impôs a escolha de somente uma delas, sendo a decisão feita por meio do teste de razão de verossimilhança (TRV). O valor de TRV igual a 0,16 ($p = 0,6915$) quando o peso foi excluído do modelo, contra, o valor de TRV igual a 6,72 ($p = 0,0095$), quando a idade foi excluída garantiu a permanência da covariável peso no modelo e a eliminação da idade. Também foi testada a inclusão das duas covariáveis (peso e idade) no mesmo modelo e resultou no efeito não significativo ($p < 0,05$) da idade.

Assim, o modelo de Cox que incluiu as covariáveis MAN e peso foi o de melhor ajuste para explicar as variações da característica IT. Este modelo apresentou poder explicativo (R^2) igual a 10,6% em relação ao máximo possível (100%), sendo que a probabilidade de concordância estimada foi de 60,30%.

Para viabilizar o ajuste do modelo de Cox, foi realizado o cálculo dos resíduos padronizados de Schoenfeld com o intuito de verificar a proporcionalidade dos riscos. Os resultados estão apresentados na Tabela 7, juntamente com os valores dos coeficientes de correlação de Pearson (ρ).

Tabela 7. Testes da proporcionalidade dos riscos no modelo de Cox.

Covariável	ρ	χ^2	Valor p
AN1 Mês 2	0,020	0,196	0,658
AN1 Mês 3	-0,040	0,820	0,365
AN1 Mês 4	0,017	0,146	0,702
AN1 Mês 5	0,009	0,039	0,843
AN1 Mês 7	-0,004	0,008	0,928
AN1 Mês 10	-0,009	0,043	0,836
AN1 Mês 12	0,005	0,013	0,910
AN2 Mês 2	-0,003	0,006	0,937
AN2 Mês 3	-0,004	0,009	0,923
AN2 Mês 4	0,053	1,401	0,237
AN2 Mês 6	0,011	0,067	0,796
AN3 Mês 1	0,025	0,326	0,568
AN3 Mês 2	0,008	0,029	0,865
AN3 Mês 3	-0,045	1,014	0,314
AN3 Mês 4	0,043	0,904	0,342
AN3 Mês 11	0,030	0,447	0,504
AN3 Mês 12	-0,021	0,230	0,631
AN4 Mês 4	0,013	0,092	0,762
AN4 Mês 5	-0,002	0,002	0,965
AN4 Mês 7	0,003	0,006	0,936
Peso	0,025	0,318	0,573
GLOBAL	-	16,280	0,754

ρ = correlação de Pearson. χ^2 = qui – quadrado. AN = Ano de nascimento. AN1 = setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010.

Pela Tabela 7 nota-se que os valores de ρ foram todos próximos de zero, indicando que o ajuste do modelo de Cox é aceitável por apresentar proporcionalidade dos riscos. Além disso, tanto o teste global quanto os testes para cada covariável apresentaram valores de p maiores que 0,05 (não significativos), sujeitando na não rejeição da hipótese nula de riscos proporcionais. Isto quer dizer que o modelo de Cox com a presença das covariáveis MAN e peso corporal foi satisfatório para analisar os dados de tempo em IT.

Deferida a pressuposição de proporcionalidade dos riscos, foram obtidos os valores do ajuste do modelo de Cox (Tabela 8).

Tabela 8. Resultados do ajuste do modelo de regressão de Cox e as correspondentes razões de risco estimadas pela estatística de Wald.

Covariável	Estimativa	Erro-Padrão	Valor p	Razões de Risco (RR)
AN1 Mês 2	-0,8963	0,5410	0,0976	0,4081
AN1 Mês 3	-2,0037	0,6514	0,0021	0,1348
AN1 Mês 4	-1,4984	0,5804	0,0098	0,2235
AN1 Mês 5	-1,3796	0,4857	0,0045	0,2517
AN1 Mês 7	-0,7160	0,4595	0,1191	0,4887
AN1 Mês 10	-2,0444	0,5620	0,0003	0,1294
AN1 Mês 12	-0,6149	0,5788	0,2881	0,5401
AN2 Mês 2	-1,6918	0,4872	0,0005	0,1842
AN2 Mês 3	-1,5579	0,4903	0,0015	0,2106
AN2 Mês 4	-2,7406	0,7139	0,0001	0,0645
AN2 Mês 6	-1,3862	0,5677	0,0146	0,2500
AN3 Mês 1	-1,6245	0,4417	0,0002	0,1970
AN3 Mês 2	-1,8801	0,4377	2×10^{-5}	0,1526
AN3 Mês 3	-2,0620	0,6572	0,0017	0,1272
AN3 Mês 4	-2,2239	0,4818	4×10^{-6}	0,1082
AN3 Mês 11	-1,5061	0,4762	0,0016	0,2218
AN3 Mês 12	-1,5706	0,4664	0,0008	0,2079
AN4 Mês 4	-1,4438	0,4576	0,0016	0,2360
AN4 Mês 5	-1,3636	0,4287	0,0015	0,2557
AN4 Mês 7	-1,2061	0,4329	0,0053	0,2993
Peso	-0,0015	0,0006	0,0091	0,9985

AN1 = setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010.

Logo, as funções de sobrevivência e de risco estimadas para o modelo ajustado foram determinadas, respectivamente, como:

$$\hat{S}(t|x) = [\hat{S}_0(t)]^{\exp\{\hat{\beta}_{MAN} + (\hat{\beta}_{peso} \times peso)\}}$$

$$\hat{\lambda}(t|x) = \hat{\lambda}_0(t) \exp\{\hat{\beta}_{MAN} + (\hat{\beta}_{peso} \times peso)\}$$

As funções, conjuntamente com os resultados da Tabela 8, nos quais todos os coeficientes apresentaram valor negativo, indicam que tanto o efeito de MAN quanto o de peso, desaceleraram o tempo de falha, ou seja, houve retardamento no tempo que as aves levaram para sair da IT. Os valores significativos para quase todos os níveis de MAN e do peso indicam a influência destes sobre IT. Assim, para a covariável peso pode ser interpretado que as perdizes mais pesadas permaneceram por mais tempo em IT. Como os coeficientes do modelo de Cox foram calculados tendo como referência o mês 1 aninhado em AN1, então, pressupõe-se que as aves desta classe de MAN tenderam a sair da imobilidade mais rapidamente que as das demais.

Para detectar a probabilidade de permanência em IT entre as diferentes classes de MAN e de peso, foram estimadas as curvas de sobrevivência, apresentadas na Figura 5. Para este propósito, as aves nascidas nos anos AN1 a AN4, pesando 500g e submetidas às observações da característica IT no mês de fevereiro e abril foram analisadas. Pela Figura 5 é possível observar que as curvas apresentaram diferenças entre os meses, comprovando a existência da influência na época de avaliação.

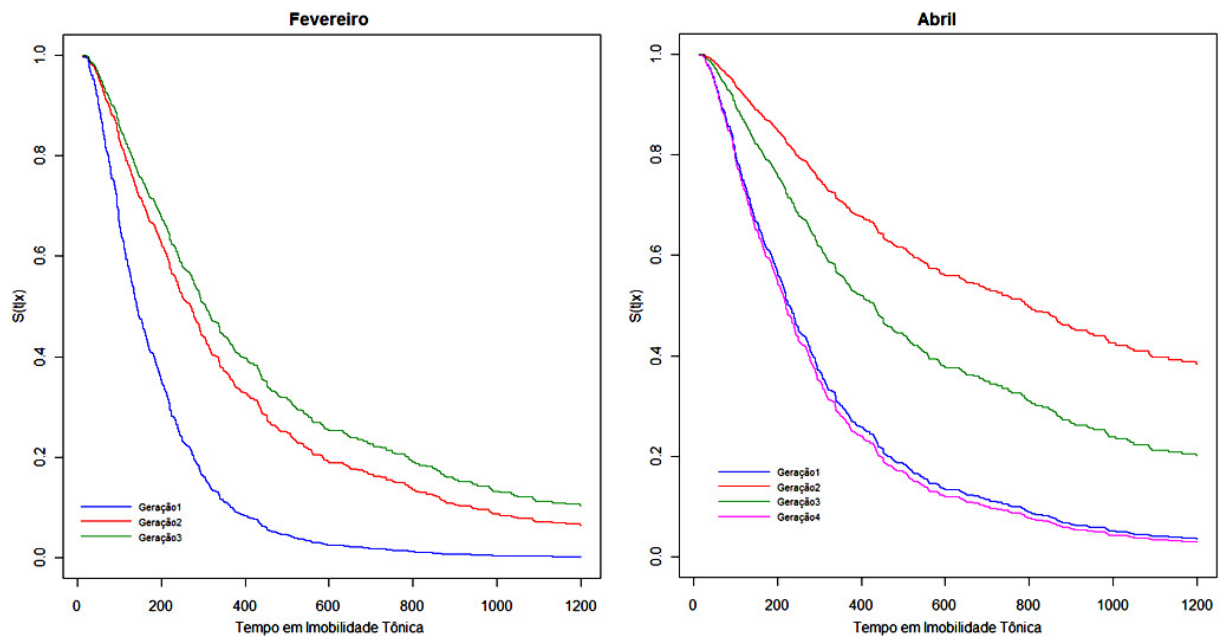


Figura 5. Curvas de sobrevivência estimadas pelo modelo da regressão de Cox para o tempo em imobilidade tônica de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) avaliadas no mês de fevereiro em AN1, AN2 e AN3 e no mês de abril em AN1, AN2, AN3 e AN4, apresentando peso corporal de 500g. AN1 = aves que nasceram no ciclo reprodutivo de setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010.

Para detectar a proporcionalidade dos riscos entre as diferentes classes de MAN e de peso, foram obtidas as curvas de riscos que estão representadas na Figura 6. Nesta figura é visível que o risco, ou seja, as chances das aves levantarem dependeram, além do ano em que nasceram, do mês em que foram realizadas as medidas da característica IT. Isto porque, as observações realizadas no mês de fevereiro, mostraram que as aves do AN3 foram as que apresentaram menor risco, entretanto, no mês de abril, o menor risco foi apresentado pelas aves do AN2. Assim, as curvas de sobrevivência e de risco acumulado confirmam que a covariável MAN foi determinante para encontrar diferenças no tempo de permanência em IT.

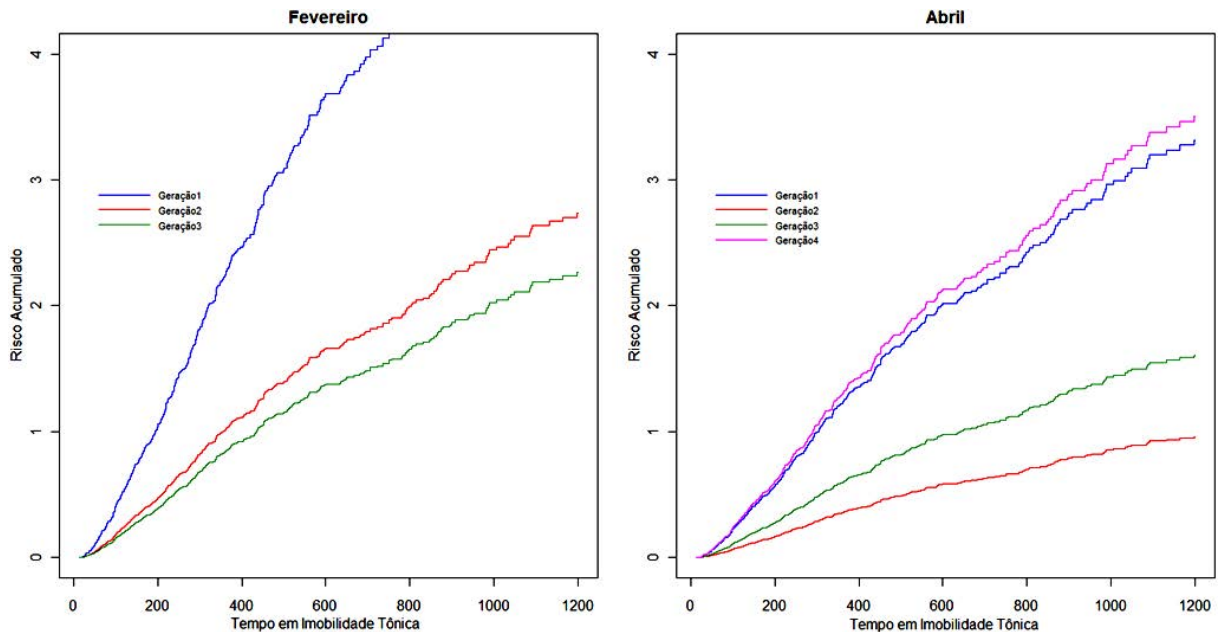


Figura 6. Curvas de risco acumulado estimadas pelo modelo da regressão de Cox para o tempo em imobilidade tônica de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) avaliadas no mês de fevereiro em AN1, AN2 e AN3 e no mês de abril em AN1, AN2, AN3 e AN4, apresentando peso corporal de 500g. AN1 = aves que nasceram no ciclo reprodutivo de setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010.

Para verificar a probabilidade que as aves de uma determinada classe de MAN tiveram para sair da imobilidade, aplicou-se a função razão de risco entre 2 aves i e j que foram testadas apresentando o mesmo peso corporal no mesmo mês, porém, que nasceram em anos diferentes. Por exemplo, para entender melhor a razão de risco entre AN1 e AN2, em que as medidas de IT foram tomadas no mês de fevereiro, quando ambas pesavam 500g, a seguinte equação pode ser resolvida:

$$\frac{\hat{\lambda}(t|x_i)}{\hat{\lambda}(t|x_j)} = \frac{\exp\{\hat{\beta}_{M_2AN_1} + (\hat{\beta}_{peso} * 500)\}}{\exp\{\hat{\beta}_{M_2AN_2} + (\hat{\beta}_{peso} * 500)\}} = \frac{\exp\{\hat{\beta}_{M_2AN_1}\}}{\exp\{\hat{\beta}_{M_2AN_2}\}}$$

Ou, mais facilmente entendida como a razão de risco entre dois anos de nascimentos diferentes:

$$\frac{\hat{\lambda}(t|x_i)}{\hat{\lambda}(t|x_j)} = \frac{RR_{M_2AN_1}}{RR_{M_2AN_2}} = \frac{0,4081}{0,1842} = 2,2155$$

Os valores usados para o cálculo das razões de risco foram obtidos na Tabela 8. O resultado acima mostra que a ave do AN1 apresentou risco 2,21 vezes maior que a ave do AN2 de sair do estado catatônico. De uma maneira geral, ao observarmos os valores da razão de risco (RR) na Tabela 8, as aves do AN1, em

relação às que nasceram em outros anos, foram as que saíram mais rapidamente da IT, apesar de entender que esta tendência pode mudar dependendo do mês em que as observações foram realizadas. Logo, ao compararmos duas aves, uma nascida no AN1 e outra no AN4, cujas medidas de IT foram no mês de abril e que apresentavam o mesmo peso corporal, observa-se que a ave do AN4 ($RR = 0,2235$) teve aproximadamente 3,5 vezes mais chance de despertar do que a nascida no AN1 ($RR = 0,0645$).

Se o interesse está em determinar a razão de risco entre duas aves i e j com pesos diferentes, então, aplica-se a função de risco a ambas. Por exemplo, para calcular a razão de risco entre dois indivíduos do AN1 e mês 4, sendo que um apresentou o peso corporal de 500g e outro com 700g quando foi feita a tomada de IT, faz-se o seguinte:

$$\begin{aligned}\frac{\hat{\lambda}(t|x_i)}{\hat{\lambda}(t|x_j)} &= \frac{\exp\{\hat{\beta}_{M_4AN_1} + (\hat{\beta}_{peso} * 500)\}}{\exp\{\hat{\beta}_{M_4AN_1} + (\hat{\beta}_{peso} * 700)\}} = \exp\{\hat{\beta}_{peso} * (500 - 700)\} \\ &= \exp\{-0,0015 * (-200)\} = 1,35\end{aligned}$$

O resultado mostra que a ave pesando 500g teve 1,35 vezes mais chances de despertar do que aquela com 700g e independentemente do ano que nasceram ou da época em que foram tomadas as medidas de IT, as perdizes mais leves sempre apresentaram maior risco de saírem da IT do que as mais pesadas.

Assim, a aplicação do modelo da regressão de Cox para os dados do tempo de permanência em IT em perdizes, revelou que as covariáveis MAN e peso foram importantes para explicar as variações no comportamento de medo, sendo possível formular as expressões para as funções de sobrevivência e de risco.

A ideia de estudar a característica IT na espécie *R. rufescens* em cativeiro surgiu, principalmente, com o intuito de selecionar aquelas que apresentassem menor nível de medo para auxiliar no processo de domesticação, pois, animais mais calmos são mais adaptados ao homem e ao ambiente que ele fornece, favorecendo o bem-estar e, conseqüentemente, aumentando a produtividade (BELYAEV, 1979). Assim, o fato de que as perdizes mais pesadas tenderam a permanecer mais tempo em imobilidade, talvez, não seja favorável para a seleção das menos amedrontadas para serem criadas em cativeiro, porque, acarretaria na escolha de aves mais leves, diminuindo a média do peso corporal da população.

Entretanto, Price (2002) relatou que mudanças morfológicas são uma das conseqüências do processo de domesticação, descrevendo casos de animais, como

patos domésticos, que apresentaram tamanho corporal menor em relação aos seus homólogos selvagens. Este fenômeno pode ser explicado pelo esqueleto mais leve e tamanho do cérebro reduzido devido a mudanças fisiológicas, já que, em cativeiro os animais tem fácil acesso ao alimento e são protegidos dos predadores.

Então, em espécies ainda não domesticadas efetivamente, é compreensível observar que a diminuição do peso após algumas gerações é um processo natural e o nível de medo reduzido seria o reflexo da adaptação no ambiente de cativeiro, levando ao raciocínio de que em algum momento no processo de domesticação, os animais mais leves permaneceriam menor tempo em IT.

Mesmo assim, para as perdizes que estão sendo criadas no Setor de Animais Silvestres, é necessário ter muita precaução em afirmar que estas estão passando pelo processo de domesticação somente por ter detectado que as aves com menor peso foram as que ficaram menor período em imobilidade, visto que, outros fatores como a reprodução influenciam no processo. Além do mais, ainda que a meta fosse medir o tempo em IT quando as perdizes completassem 90 dias, muitas foram avaliadas com idade diferente, ocasionando na observação de aves mais pesadas.

Contudo, é possível afirmar que o ajuste nas funções de sobrevivência e de risco estimados pelo modelo de Cox foi eficaz para o detalhamento do comportamento de IT em perdizes criadas em cativeiro. É notável, por exemplo, que dependendo do mês que foram feitas as medidas de IT, as perdizes do AN4 tiveram menor nível de medo pelo fato de terem apresentado maior risco de saírem do estado imóvel. Assim, é admissível dizer que a população de perdizes venha mostrando uma possível adaptação no ambiente de cativeiro, habituando-se à presença de humanos e com o sistema implantado por eles.

Portanto, uma vez que foi comprovada a importância deste estudo comportamental para as perdizes é válido enfatizar que investir em melhorias no sistema de criação é útil para uma adaptação cada vez mais rápida desta ave selvagem no ambiente de cativeiro, favorecendo a domesticação. Também, os consumidores de produtos de origem animal estão mais informados sobre a necessidade de se criar os animais considerando os aspectos de bem-estar, sendo assim, observar o comportamento e oferecer qualidade de vida às perdizes antes mesmo de serem produzidas como mais uma opção de carne avícola, pode acrescentar maior prestígio no mercado como produto final.

Inclusão do termo Fragilidade

As estimativas de herdabilidade de IT indicam que há variação genética aditiva na característica (MILLS e FAURE, 1991; ALTAN et al., 2005; AGNVALL et al., 2012). Também, o comportamento de medo apresentou variação genética comprovada pela detecção do QTL no cromossomo I de galinhas domésticas (*Gallus domesticus*) (SCHÜTZ et al, 2004) e de codornas (*Coturnix japonica*) (MINVIELLE et al., 2005) por meio do mapeamento genético. Ainda, o processo de domesticação requer mudanças comportamentais para adaptação dos animais no ambiente de cativeiro (PRICE, 2002) sugerindo a existência de variação genética necessária para a seleção.

Na análise de sobrevivência, a investigação se o comportamento de IT em perdiz possui embasamento genético, pode ser feita incluindo o termo de fragilidade no modelo da regressão de Cox. Um período mais curto de permanência em IT significa baixo nível de medo, portanto, fenótipo desejável em criação em cativeiro. Assim, a aplicação do modelo de fragilidade gama é cabível para identificar reprodutores que gerem aves que despertem mais rápido de IT.

Como esperado, a inclusão da fragilidade no modelo de Cox não alterou significativamente os efeitos e as interpretações dos efeitos fixos já presentes no modelo. Logo, as interpretações foram as mesmas: as covariáveis MAN e peso foram importantes para a variação do tempo IT, sendo que as mais leves apresentaram maior disposição de retornarem do estado de catatonia.

Por sua vez, o propósito da inclusão do efeito aleatório foi trazer informações adicionais. Isto porque, o teste da fragilidade revelou haver associação significativa entre os tempos dos descendentes de um mesmo pai ($p = 0,013$ com $\chi^2 = 39,47$ e $\sigma^2 = 0,082$), o que indicou a existência de diferenças entre os reprodutores. Além disso, a concordância do modelo foi de 65,9% com poder explicativo (R^2) de 20,4%. A Figura 7 ilustra as estimativas de Z_i que age como ponderador no risco base, segundo a fórmula $\lambda_{ij}(t) = Z_i \lambda_0(t) \exp\{x'_{ij}\beta\}$. Desta forma, valores de Z_i iguais ou muito próximos a 1 não alteram significativamente o risco, enquanto que, valores maiores que 1 indicam aumento de risco.

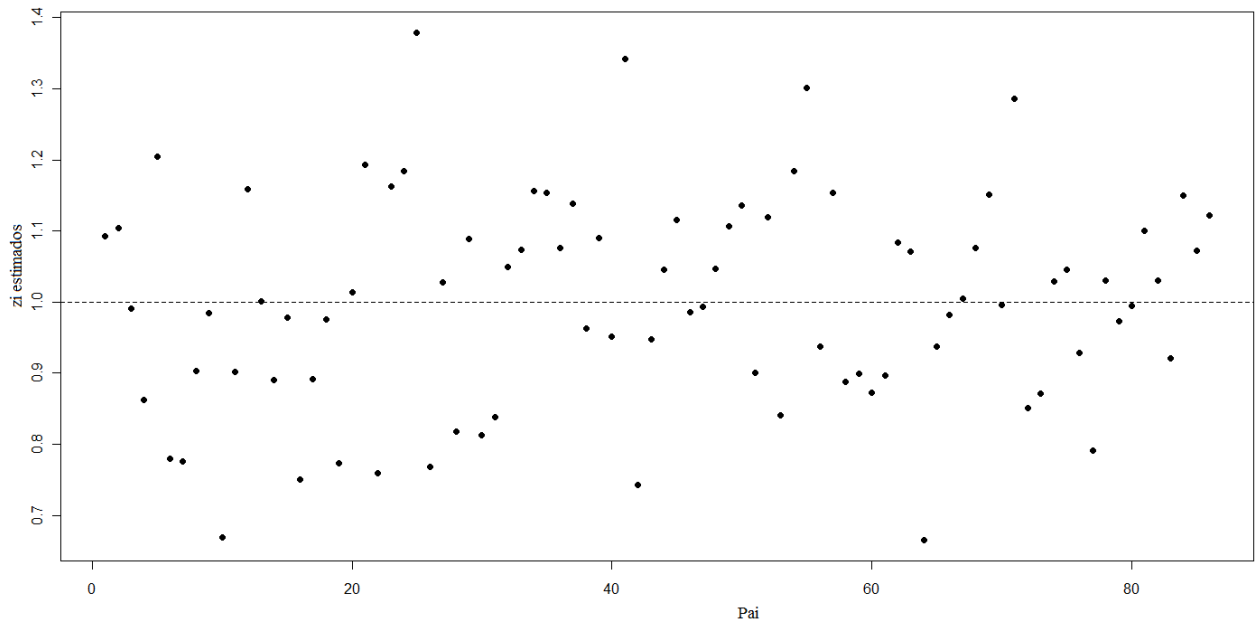


Figura 7. Estimativas dos parâmetros de fragilidade (z_i) obtidas através da inclusão de informação dos pais (reprodutores) no modelo de Cox.

No banco de dados havia 86 pais diferentes. Desta forma, o modelo de fragilidade gama estimou 86 valores de Z_i . Estas estimativas variaram entre 0,66 a 1,38, comprovando, assim, a possibilidade de diminuir o medo na criação de perdizes selecionando os melhores. Neste estudo é conveniente que o risco seja alto, posto que é mais interessante as perdizes ficarem o menor tempo possível em IT. Assim, reprodutores com maiores valores de z_i são desejáveis podendo ser incluídos no programa de seleção para gerar descendentes com menor medo.

Contudo, devido à grande variação dos z_i estimados, é possível não somente praticar a seleção convencional escolhendo somente perdizes com baixo nível de medo, mas, também é possível aplicar a seleção divergente, incluindo animais que apresentam maior nível de medo no programa de melhoramento. Nesse último caso, os reprodutores com menores valores de z_i seriam adequados para produzirem progênie destinada ao repovoamento de parques e outras áreas naturais. Além disso, a seleção divergente permite que a medida de resposta seja mais precisa, pois as duas populações são selecionadas em direções opostas, uma servindo de controle para a outra (FALCONER e MACKAY, 1996).

4. CONCLUSÕES

Os efeitos de ano de nascimento, mês e peso corporal no momento da tomada da medida de imobilidade tônica atuam sobre a variação do tempo em que a

perdiz permanece em catatonia e devem ser incluídos no modelo de análise;

O sexo não influencia na variação do tempo em imobilidade tônica de perdizes e pode ser desconsiderada no modelo de análise dessa característica;

Há influência de genes aditivos no tempo de permanência em imobilidade tônica que pode ser constatada pela inclusão do efeito reprodutor no modelo de análise desta característica.

5. REFERÊNCIAS

AGNVALL, B.; JÖNGRIN, M.; STRANDBERG, E.; JENSEN, P. Heritability and Genetic Correlations of Fear-Related Behaviour in Red Junglefowl—Possible Implications for Early Domestication. **PLoS One**, v. 7, e 35162, 2012.

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.

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, p. 218 – 222, 2007.

AL-AQIL, A.; ZULKIFLI, I.; BEJO, M. H.; SAZILI, A. Q.; RAJION, M. A.; Somchit, M. N. Changes in heat shock protein 70, blood parameters, and fear-related behavior in broiler chickens as affected by pleasant and unpleasant human contact. **Poultry Science**, v. 92, p. 33 - 40, 2013.

ANDERSON, K.E.; JONES, D.R. Effect of genetic selection on growth parameters and tonic immobility in Leghorn pullets. **Poultry Science**, v. 91, p.765–770, 2012.

BASTOS, J.; ROCHA, C. Análise de Sobrevivência: Conceitos Básicos. **Arquivos de Medicina**, v. 20, p. 185 – 187, 2006.

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

BELZUNG, C.; PHILIPPOT, P. Anxiety from a Phylogenetic Perspective: Is there a Qualitative Difference between Human and Animal Anxiety? **Neural Plasticity**, v. 2007, p. 1-1, 2007.

BRUNELI, F. A. T.; THOLON, P.; ISAAC, F. L.; DAMASCENO, P. R.; H. TONHATI, DE QUEIROZ, S. A. Caracterização da reprodução de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) em cativeiro. **Ars Veterinaria**, v. 21, n 2, p. 272-280, 2005.

CAMPLER, M.; JÖGREN, M.; JENSEN, P. Fearfulness in red junglefowl 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.

CARVALHO, M. S.; ANDREOZZI, V. L.; CODEÇO, C. T.; CAMPOS, D. P.; BARBOSA, M. T. S.; SHIMAKURA, S. E. Análise de sobrevivência: teoria e aplicações em saúde. Rio de Janeiro: Instituto Fiocruz, 2005. Disponível em: <<http://sobrevida.fiocruz.br/material.html>>. Acesso em: 25 set. 2013.

COLOSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. **Análise de Sobrevivência Aplicada**. 1.ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2006. 370 p.

DAWKINS, M.S.; LAYTON, R. Breeding for better welfare: genetic goals for broiler chickens and their parents. **Animal Welfare**, v.21, p. 147-155, 2012.

DER, G.; EVERITT, B. S. **A handbook of statistical analyses using SAS**. 2nd.ed. Florida: Chapman and Hall / CRC Press, 2001. 360 p.

EDELAAR, P.; SERRANO, D.; CARRETE, M.; BLAS, J.; POTTI, J.; TELLA, J. L. Tonic immobility is a measure of boldness toward predators: an application of Bayesian structural equation modeling. **Behavioral Ecology**, v. 23, p. 619 – 626, 2012.

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

FELIPE L.; SANTOS, E.C.; TAVIAN, A. F.; GOES, P. A. A.; MORAES, V. M. B.; TONHATI, H.; BOLELI, I. C.; MALHEIROS, E. B.; BARNABE, V. H.; QUEIROZ, S. A. Effect of crude protein levels and organic selenium supplementation in the diets fed during the breeding season on reproductive parameters of red-winged tinamous (*Rhynchotus rufescens*). **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, p. 63-71, 2010.

GALLUP, G. G., JR. Genetic influence on tonic immobility in chickens. **Animal Learning & Behavior**, v. 2, p. 145-147, 1974.

GALLUP, G. G., JR; RAGER, D.R. **Tonic immobility as a model of extreme states of behavioral inhibition**. New Jersey (NY): Humana Press, 1996. p. 57–80.

GHAAREB, K.; BÖHM, J. Fear behaviour, ease of capture and performance traits of growing meat type chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 7, p. 1185 – 1189, 2008.

HOUGAARD, P. Frailty Models for Survival Data. **Lifetime Data Analysis**, v. 1, p. 255-273, 1995.

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

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.; SATTERLEE, D. G.; MARKS, H. L. Fear-related behaviour in Japanese quail divergently selected for body weight. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 52, p. 87-98, 1997.

JONES, R. B.; FACCHIN, L.; McCORQUODALE, C. Social dispersal by domestic chicks in a novel environment: reassuring properties of a familiar odourant. **Animal Behaviour**, v. 63, p. 659–666, 2002.

KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observation. **Journal of the American Statistical Association**, v.53, n. 282, p.457-481, 1958.

LAUNAY, F.; MILLS, A. D.; FAURE, J. M. Effects of age, line and sex on tonic immobility responses and social reinstatement behaviour in Japanese quail *Coturnix japonica*. **Behaviour Process**, v. 29, p. 1 - 16, 1993.

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**, v. 69, p. 125-134, 2000.

MINVIELLE, F.; KAYANG, B. B.; INOUE-MURAYAMA, M.; MIWA, M.; VIGNAL, A.; GOURICHON, D.; NEAU, A.; MONVOISIN, J. L.; ITO, S. Microsatellite mapping of QTL affecting growth, feed consumption, egg production, tonic immobility and body temperature of Japanese quail. **Bio Med Central Genomics**, v. 6, p. 1-9, 2005.

MIYATAKE, T.; NAKAYAMA, S.; NISHI, Y.; NAKAJIMA, S. Tonically immobilised selfish prey can survive by sacrificing others. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 276, p. 2763–2767, 2009.

PRICE, E. O. **Animal domestication and behavior**. New York: CABI Publishing, 2002. 307p.

QUEIROZ, F. A. de; CARVALHO, M. M. DE; SUGUI, J.K.; NUNES, J.; FELIPE, L.; SANTOS E. C. dos; TONHATI, H; BOIAGO, M.M.; HATA, M. E.; THOLON, P. QUEIROZ, S. A. de. Meat and carcass traits of the red-winged tinamou (*Rhynchotus rufescens*). **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.15, n.2, p.113-118, 2013.

RUBIN, C.J.; ZODY, M. C.; ERIKSSON, J.; MEADOWS, J. R. S.; SHERWOOD, E.; WEBSTER, M. T.; JIANG, L.; INGMAN, M.; SHARPE, T.; KA, S.; HALBÖÖK, F.; BESNIER, F.; CARLBORG, Ö.; BED’HOM, B.; TIXIER-BOICHARD, M.; JENSEN, P.; SIEGEL, P.; LINDBLAD-TOH, K.; ANDERSSON, L. Whole-genome resequencing reveals loci under selection during chicken domestication. **Nature**, v. 464, p. 587 – 591, 2010.

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.

RUXTON, G. Grasshoppers don't play possum. **Nature**, v. 440, p. 880, 2006.

SALZEN, E. A. Imprinting and the immobility reactions of domestic fowl. **Animal Behaviour**, v. 11, p. 66-71, 1963.

SCHÜTZ, K. E.; KERJE, S.; JACOBSSON, L.; FORKMAN, B.; CARLBORG, Ö.; ANDERSSON, L.; JENSEN, P. Major Growth QTLs in Fowl Are Related to Fearful Behavior: Possible Genetic Links Between Fear Responses and Production Traits in a Red Junglefowl × White Leghorn Intercross. **Behavior Genetics**, v. 34, 121 - 130, 2004.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. Edição revista e ampliada por José Fernando Pacheco. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. Cap. 10, p. 153 - 157.

TOLEDO, L. F.; SAZIMA, I.; HADDAD, C.F.B. Is it all death feigning? Case in anurans. **Journal of Natural History**, v. 44, p. 1979 – 1988, 2010.

CAPÍTULO 3: EFEITOS AMBIENTAIS SOBRE O COMPORTAMENTO DE REINTEGRAÇÃO SOCIAL DE PERDIZES (*Rhynchotus rufescens*) USANDO ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA

Resumo: A sociabilidade é imprescindível em criação de aves comerciais, uma vez que a densidade populacional é muito alta e a melhor convivência dos animais em grupo reduz o estresse do cativeiro. Assim, o estudo do comportamento de reintegração social (CRS) em perdizes (*Rhynchotus rufescens*) pode auxiliar na melhor compreensão acerca da formação e organização dos grupos quando são criadas em cativeiro, já que na natureza, são aves solitárias que procuram o parceiro somente em épocas de reprodução. Desta forma, informações sobre CRS de 506 perdizes criadas no Setor de Animais Silvestres – Unesp/ FCAV no período de 2006 a 2010 foram avaliadas aplicando-se análise de sobrevivência. CRS foi analisado inicialmente pelo emprego do estimador de Kaplan-Meier para posteriormente prosseguir com os ajustes no modelo de Cox. O melhor modelo que explicou as variações de CRS incluiu a interação das covariáveis idade da ave e mês de observação aninhado em ano de nascimento. Os resultados indicaram que aves mais velhas e avaliadas nos meses de abril a junho tenderam a levar mais tempo para reintegrar com seu conspecífico, significando menor manifestação de CRS. Quando o termo de fragilidade foi incluído no modelo, o efeito aleatório de progenitor (“modelo reprodutor”) não foi significativo ($p > 0,05$), indicando não haver relação do tempo para reintegrar entre indivíduos oriundos de pais diferentes.

Palavras – chave: bem-estar animal, função de risco, função de sobrevivência, modelo de Cox.

1. INTRODUÇÃO

As perdizes (*Rhynchotus rufescens*) são aves nativas da América do Sul, com ampla distribuição geográfica no Brasil. São selvagens, mas, vem sendo estudadas com intenção de domesticá-las, principalmente, devido ao rendimento de carcaça competitivo com ao do frango (MORO et al., 2006; QUEIROZ et al., 2013).

Como em outras espécies selvagens criadas em cativeiro, um dos principais desafios a serem contornados no processo de domesticação é melhorar a taxa reprodutiva (PRICE, 2002). Além disso, na natureza, as perdizes são aves solitárias que só procuram a convivência com conspecíficos durante a época de reprodução. Esse comportamento é limitante para a criação em cativeiro, que requer o alojamento de grande número de aves em ambiente restrito, causando a necessidade de convivência e interações sociais. Assim, para possibilitar o sucesso na domesticação desta espécie, uma estratégia adequada seria estudar o comportamento das aves em cativeiro, principalmente, daquelas características ligadas ao medo e à convivência em grupo.

O propósito de avaliar o comportamento de reintegração social (CRS) é

observar no animal a aceitação de seu conspecífico, porque reflete a capacidade de viver em comunidade, característica importante em criações comerciais, em que, normalmente a densidade populacional é alta (FORMANEK, 2008). Consequentemente, é interessante que em avaliações de CRS, o indivíduo se aproxime de seu semelhante no tempo mais curto possível.

Para a mensuração de CRS, medidas tomadas em labirinto de “campo aberto” (*open field*) são de grande utilidade pois, as condições oferecidas nestes testes podem causar nos animais reações comportamentais como medo e estresse (HOEKSTRA et al., 1998), que são componentes importantes das situações de criação em cativeiro. Além disso, o comportamento em campo aberto em aves representa a reintegração social e a fuga contra o predador (GALLUP e SUAREZ, 1980; FAURE, JONES e BESSEI, 1983; JONES, 1996).

O menor movimento em campo aberto pode ser indicativo de maior nível de estresse nos animais (MAHBOUB, MÜLLER e VON BOREL, 2004), que é uma emoção negativa expressada pelos animais, consistindo em resposta fisiológica aos estímulos de ameaça, afetando o metabolismo e o comportamento do indivíduo (AGNVALL et al., 2012). O estresse ativa o eixo hipotálamo – pituitária – adrenal (HPA) ocasionando aumento nos níveis do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e da corticosterona, resultando em alterações fisiológicas (SATTERLEE e MARIN, 2006). Sabe-se que altos níveis de estresse provocam comprometimento do bem-estar e os animais ficam mais susceptíveis a doenças devido ao sistema imunológico comprometido.

A maior ou a menor demonstração de CRS é definida de acordo com o tempo percorrido pelo animal para aproximar-se de seu conspecífico. Assim, a análise de sobrevivência é adequada para estudos de “tempo para reintegrar”. Inicialmente a análise não paramétrica dos dados pode ser efetuada por meio do estimador de Kaplan-Meier, no qual a função de sobrevivência pode determinar a importância das covariáveis. O modelo de regressão de Cox pode ser utilizado para estimar os coeficientes que medem os efeitos das covariáveis e também para verificar a influência do efeito aleatório pela inclusão do termo de fragilidade no modelo (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

Assim, os objetivos desse trabalho foram estudar as fontes de variação que atuam sobre CRS utilizando a análise de sobrevivência.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As avaliações do comportamento de reintegração social (CRS) da população de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) foram efetuadas no Setor de Animais Silvestres da UNESP/FCAV, sendo que todas as aves foram criadas em galpão de alvenaria, semelhante ao de frangos de corte, com aproximadamente 300 m² de área. O interior do galpão era dividido em 28 boxes, cada um com 20 m², onde foram alojadas cerca de 15 a 20 perdizes/box.

O CRS foi medido em testes conduzidos em labirinto de campo aberto do tipo túnel (Figura 1), onde a motivação social é acessada em termos de velocidade ou distância percorrida pela ave para juntar com conspecífico (MILLS e FAURE, 1990).

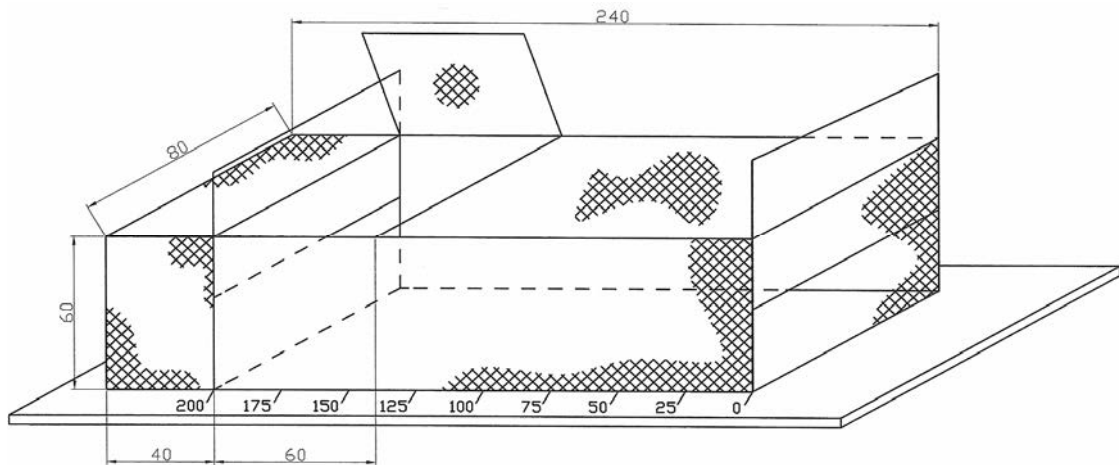


Figura 1. Esquema do labirinto de campo aberto utilizado para avaliar o comportamento de reintegração social de perdizes (*Rhynchotus rufescens*).

O labirinto de campo aberto que foi utilizado para colher os dados utilizados neste estudo foi feito de tela de arame, sendo as dimensões: 240 centímetros (cm) de comprimento, 60 cm de altura e 80 cm de profundidade. Deste total de 240 cm de extensão do comprimento, 200 cm foram divididos em quatro partes iguais, chamadas de quadrantes, sendo que cada quadrante foi identificado por marcação na tela. Os 40 cm restantes localizados em uma das extremidades foram destinados a acomodar uma ave que foi separada por uma divisória, impedida de ter acesso aos quadrantes, mas sendo possível ter o contato visual. Esta ave que somente teve a função de representar um conspecífico foi determinada a ser um macho cego para que não pudesse interagir ou chamar a atenção da outra ave que seria avaliada.

Também, conforme recomendado por Guzman e Marin (2008), a perdiz cega utilizada como estímulo social foi criada em box diferente e não possuía familiaridade com nenhuma ave na qual o CRS foi testado. Para o teste de CRS,

todas as aves que iriam ser observadas foram retiradas dos boxes de criação do galpão de crescimento e levadas ao galpão de reprodução onde os testes ocorreram em uma sala anexa a este galpão. Em seguida, a perdiz submetida à avaliação de CRS, foi introduzida individualmente no túnel pela extremidade livre e a aproximação da ave ao seu conspecífico foi observada durante 5 minutos (min), ou 300000 milissegundos (ms), sendo o tempo marcado pelo *software* EthoLog (Behavioral Transcription Tool, version 2.2. 1999).

As medidas das aves que não alcançaram o último quadrante, o mais próximo do conspecífico, foram definidas como censuras e daquelas que alcançaram como falhas. Desta forma, neste estudo, o tempo de falha correspondeu ao período compreendido entre o início da observação até o momento em que as perdizes atingiram o quadrante mais próximo de seu semelhante, também, denominado como “tempo para reintegrar”.

Devido à estacionalidade reprodutiva das perdizes, o período de reprodução vai de setembro a março, com eclosão dos ovos ocorrendo nos meses entre outubro e maio, já que o período de incubação é de cerca de 21 dias (BRUNELI et al., 2005). O arquivo de dados foi composto por informações de CRS obtidas no período de 2006 a 2010, com as observações realizadas nos meses de janeiro, março, abril, maio, junho, julho e novembro, quando as aves apresentaram idades entre 78 e 327 dias.

Registros de aves sem informações de idade, de sexo e de pai foram retirados do arquivo de dados. Também, foram descartados registros de pais com menos de dois filhos, restando 506 aves no banco de dados.

As fontes de variação não genéticas sobre CRS que foram estudadas na análise de sobrevivência (AS) foram sexo, ano de nascimento (AN), mês e a idade quando foram tomadas as medidas de CRS, sendo essas incluídas como covariáveis. O AN foi atribuído conforme o período reprodutivo em que as aves foram geradas. Assim, as perdizes que nasceram no período de reprodução ocorrido nos meses de setembro de 2006 a maio de 2007 foram identificadas como AN1. As que nasceram entre setembro de 2007 e maio de 2008, como AN2, de setembro de 2008 a maio de 2009, como AN3 e de setembro de 2009 a maio de 2010, como AN4.

A análise de sobrevivência utilizando o estimador de Kaplan-Meier (KM) foi realizada pelo PROC LIFETEST do *software* SAS (Statistical Analysis System,

versão 9.2.). Por este procedimento, os gráficos da curva de sobrevivência foram delineados e as taxas de risco foram calculadas.

Para analisar a covariável idade pela metodologia KM, inicialmente foram formados 2 grupos (média e desvio padrão) de aves que tinham até 239 dias de idade ($157,09 \pm 37,63$) e que tinham igual ou mais do que 240 dias ($279 \pm 41,15$) para comparação das curvas de sobrevivência. A formação destes grupos foi feita para verificar se a idade reprodutiva, que se inicia por volta dos 240 dias de idade na espécie *R. rufescens*, influenciou no tempo para reintegrar. O resultado não significativo ($p > 0,05$) indicou que o fato das aves estarem ou não aptas à reprodução não foi importante na variação do tempo para alcançarem o último quadrante. Mesmo que a proporção de aves observadas na idade reprodutiva tenha sido ínfima, correspondendo 6,52% da população total, a quantidade de indivíduos em cada grupo ou parcela não influencia nos resultados obtidos pela análise de sobrevivência (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

Por fim, os seguintes grupos que pudessem explicar variação no tempo para reintegrar (média e desvio padrão) foram formados: Grupo 1, animais com 78 a 154 dias de idade ($122,15 \pm 18,61$) e Grupo 2, 155 a 327 dias de idade ($195,42 \pm 36,86$). A formação destes grupos foi determinada pela estatística *logrank* que testa a igualdade das curvas de sobrevivência. Da mesma forma, este teste foi utilizado para avaliar as parcelas formadas a partir das covariáveis mês e ano de nascimento.

Após serem definidas as covariáveis para explicar as variações no tempo de falha utilizando o estimador KM, prosseguiu-se com a análise semi-paramétrica para calcular as funções de sobrevivência e de risco ajustados no modelo de Cox. Para eleger o melhor modelo que explicasse as variações da característica tempo para reintegrar, o teste de razão de verossimilhança parcial (TRV) foi aplicado. Para a avaliação da qualidade geral de ajuste do modelo de Cox, a pressuposição de riscos proporcionais foi verificada pela análise dos resíduos padronizados de Schoenfeld. A suposição de riscos proporcionais é válida quando o teste de hipóteses não permite a rejeição do H_0 de riscos proporcionais, sendo que:

$$\begin{cases} H_0: \text{há proporcionalidade dos riscos} \\ H_a: \text{não há proporcionalidade dos riscos} \end{cases}$$

A realização do teste de hipóteses consistiu no cálculo do coeficiente de correlação de Pearson (ρ) entre os resíduos padronizados de Schoenfeld obtidos para cada parcela ou nível que determinaram a não rejeição ou rejeição da hipótese

nula da suposição de riscos proporcionais (COLOSIMO e GIOLO, 2006).

No modelo de Cox, além de terem sido incluídas as covariáveis significativas para explicar as variações no tempo de falha, o efeito aleatório de pai foi incluído para verificar a heterogeneidade entre os diferentes progenitores. Para isto, foi aplicada a seguinte fórmula para obter a função de risco:

$$\lambda_i(t) = Z_i \lambda_0(t) \exp\{x_i' \beta\}$$

Assim, o risco que as aves tiveram para reintegrar, ou seja, chegar ao último quadrante mais próximo do seu conspecífico foi determinado por:

- Z_j : valores das fragilidades de cada reprodutor (efeito aleatório), com média 1 e variância ξ desconhecida.
- $\lambda_0(t)$: função risco base desconhecida;
- x_i' : estimativa das covariáveis fixas; e
- β : vetor de parâmetros associados às covariáveis.

Uma das principais vantagens de se utilizar o modelo incluindo o termo de fragilidade é a visualização das possíveis associações entre os tempos de sobrevivência dentro de cada agrupamento ou família (HOUGAARD, 1995). Todos os ajustes no modelo de Cox foram realizados utilizando-se o *software* R (R version 2.11.1 Copyright (C) 2010. The R Foundation for Statistical Computing).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito de Ano de Nascimento (AN)

A análise de sobrevivência, utilizando a estimativa de Kaplan-Meier (KM), gerou gráfico em que a curva da função de sobrevivência ($S(t)$) e a taxa de risco estão presentes (Figura 2). A taxa de risco para cada AN foi identificada a cada $\frac{1}{4}$ de minutos ou, mais precisamente, 15000 ms.

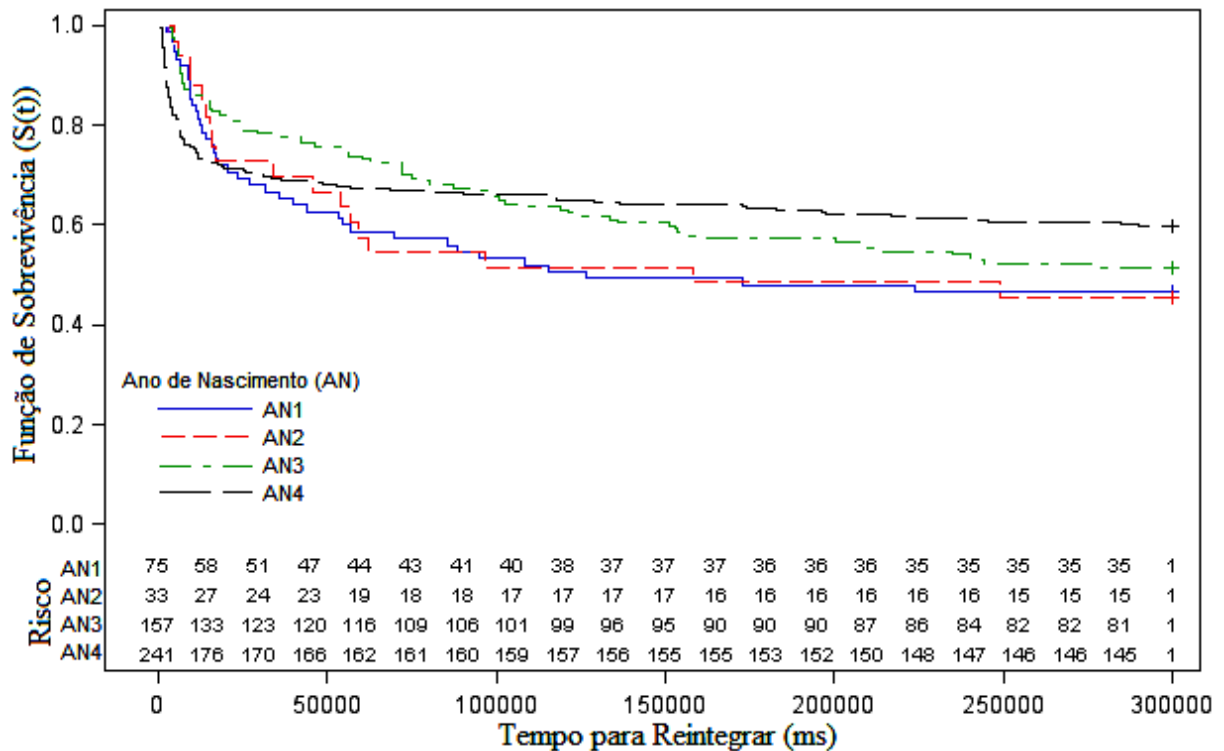


Figura 2. Curvas de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier, contendo o número de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) em risco (taxa de risco), da variável tempo para reintegrar, em diferentes anos de nascimento. AN1 = aves geradas no ciclo reprodutivo de setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010.

Observa-se pelas curvas de sobrevivência (Figura 2) que não houve diferenças entre os AN1 e AN2, sendo estes os que apresentaram menor tendência de sobrevivência, isto é, exibiram maior proporção de aves que chegaram ao quadrante 4, sem contar que estas também foram as que levaram menor tempo para reintegrar. A curva de sobrevivência gerada pelo AN3 variou de forma similar às das duas primeiras, apesar de indicar que as aves demoraram mais tempo para alcançar o último quadrante. A curva do AN4 teve declínio muito rápido até completar o primeiro minuto e depois alcançou estabilidade no restante do tempo, o que significa que, dentro da população que tenderam manifestar o CRS, houve maior proporção de aves que alcançaram o último quadrante no período de 60000 ms.

As tendências das aves chegarem mais próximas de seu conspecífico podem ser também observadas em números (Figura 2). Nota-se que a quantidade de perdizes diminuiu mais rapidamente em AN1 confirmando o fato que, ao aplicar os testes de CRS, o número de aves que chegaram mais próximo de seu semelhante ao longo do tempo estipulado foi maior em AN1 e AN2. Exceto nos primeiros 15000

ms de observação, em que o AN4 deteve o maior número de aves que alcançaram o quarto quadrante.

Um resumo do tempo para reintegrar em cada ano de nascimento está descrito na Tabela 1. Nota-se que a porcentagem total de aves que não chegaram ao quadrante 4 dentro do tempo estabelecido de 300000 ms foi muito alta, ultrapassando a metade das informações utilizadas para este estudo. Este fato induziu à utilização dos valores das médias e seus respectivos erros-padrão para avaliar as tendências entre os anos de nascimento, embora estes valores estejam subestimados devido ao maior valor ser uma censura. Entende-se que, para este estudo de CRS, a mediana não pode ser utilizada pelo simples fato deste valor ocorrer dentro da região de censura, já que o número de mensurações censuradas foi maior que as falhas, principalmente, nos dois últimos anos de nascimento.

Tabela 1. Número de falhas e de censuras, porcentagem de censura e estimativa da média e erro-padrão, obtidos pela metodologia Kaplan-Meier, do tempo para reintegrar em milissegundos (ms), por ano de nascimento (1 a 4).

Ano de nascimento	Total	Falhas	Censuras	Censuras (%)	Média	Erro-Padrão
1	75	40	35	46,67	126961	11411
2	33	18	15	45,45	141191	19438
3	157	76	81	51,59	178405	9216
4	241	97	144	59,75	189427	8455
Total	506	231	275	52,32		

As aves do AN1 apresentaram maior nível de sociabilidade, porque, em média, alcançaram o último quadrante em menor tempo e a porcentagem de censuras foi menor que a porcentagem total apresentada pela população (Tabela 1). Contudo, para validar as diferenças encontradas nas funções de sobrevivência, o teste *logrank* foi executado para comparação das curvas. Pela aplicação deste teste de igualdade, constatou-se não haver diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tempos de censura por AN, não rejeitando a hipótese da nulidade de que as curvas apresentadas pelos 4 diferentes anos de nascimento foram iguais. Os resultados do teste *logrank* realizado entre as gerações duas a duas podem ser visualizados na Tabela 2. Assim, a igualdade das curvas de sobrevivência demonstrou que o efeito de AN não foi suficiente para explicar as variações no tempo para a ave se reintegrar.

Tabela 2. Resultados dos testes *logrank* obtidos para o efeito de ano de nascimento (1 a 4) sobre o tempo para reintegrar de perdizes.

Ano de nascimento comparados	Estatística do teste	Valor p
1 x 2	0,0011	0,9733
1 x 3	1,1657	0,2803
1 x 4	1,9683	0,1606
2 x 3	0,6959	0,4042
2 x 4	1,0632	0,3025
3 x 4	0,5582	0,4550

Efeito do Mês

O efeito de mês (M) aninhado em ano de nascimento (AN) foi analisado para melhor explorar o comportamento de reintegração social apesar da estimativa de KM ter detectado não haver influência ($p > 0,05$) de AN sob CRS. A visualização das curvas de sobrevivência (Figura 3) geradas pela formação do mês aninhado em ano de nascimento (MAN) permite supor que houve tendência das perdizes observadas em abril, maio e junho demorarem mais para se aproximarem do conspecífico se comparadas às aves observadas nos demais meses, independente do ano em que nasceram. Assim, a observação das curvas de sobrevivência possibilitou a formação de dois grupos distintos quanto ao CRS em função do mês de mensuração.

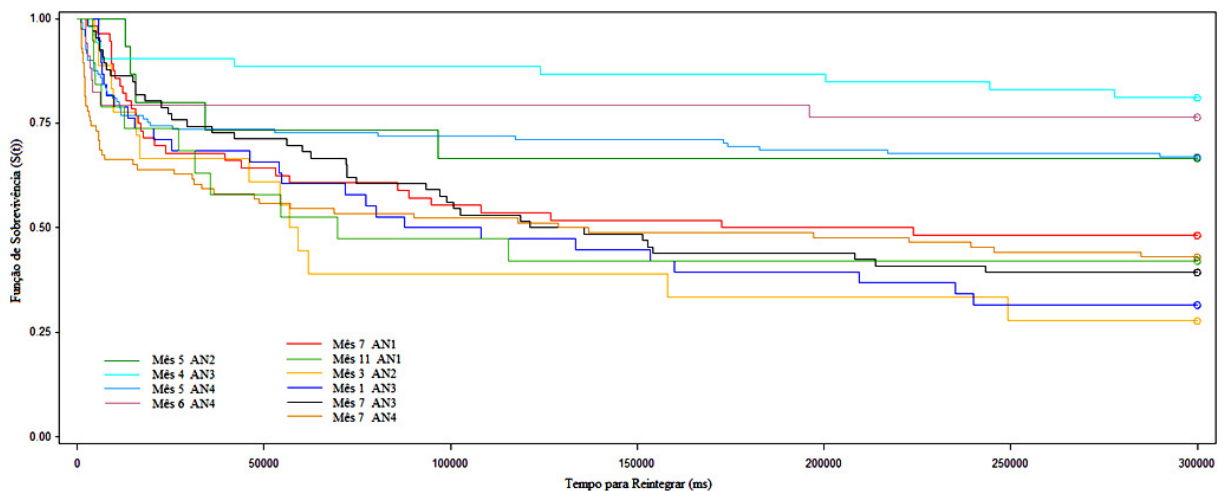


Figura 3. Curvas de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier, com número de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) em risco (taxa de risco), da característica tempo para reintegrar, de acordo com mês e ano de nascimento (AN). AN1 = aves geradas no ciclo reprodutivo de setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010.

Na Tabela 3 observa-se maior porcentagem de censura nos meses de abril a junho, sendo que a média de tempo para reintegrar também foi maior. Estes valores

indicam que as aves tiveram maior dificuldade de demonstrarem o CRS ou que o nível de socialização foi diminuído neste período.

Se for levar em consideração que a espécie *R. rufescens* procura o parceiro somente em época de reprodução, então a variação no tempo para reintegrar está de acordo com o esperado. A estação reprodutiva de perdizes ocorre nos meses de setembro a março (BRUNELI et al., 2005) e as curvas de sobrevivência mostraram que os meses de janeiro, março, julho e outubro foram os períodos em que as aves gastaram menos tempo para alcançar o quarto quadrante. Assim, como na natureza, as perdizes criadas em cativeiro também tiveram tendência a manifestar CRS mais acentuado no período reprodutivo.

Tabela 3. Número de falhas e de censuras, porcentagem de censura e estimativa da média e erro-padrão, obtidos por Kaplan-Meier, do tempo para reintegrar em milissegundos, observado em diferentes meses e anos de nascimento (AN).

Mês	AN	Total	Falhas	Censuras	Censuras (%)	Média	Erro Padrão
7	1	56	29	27	48,21	131517	3220
11	1	19	11	8	42,11	67929	11523
3	2	18	13	5	27,78	110748	25424
5	2	15	5	10	66,67	75936	9962
1	3	38	26	12	31,58	124251	16433
4	3	53	10	43	81,13	242515	12460
7	3	66	40	26	39,39	137649	12274
5	4	121	40	81	66,94	206664	11512
6	4	34	8	26	76,47	156430	14274
7	4	86	49	37	43,02	147640	14340
Total		506	231	275	54,35		

O efeito aninhado de mês dentro de ano de nascimento (MAN) possibilitou a formação de dez classes, significando que seria necessário realizar 45 testes de *logrank* para detectar quais classes difeririam entre si. Assim, optou-se por verificar se haveria diferença dentro do grupo formado pelos meses de abril a junho (grupo 1) e dentro do grupo formado pelo restante dos meses (grupo 2), bem como a verificação entre os grupos. Na Tabela 4 encontra-se um resumo de cada grupo.

Tabela 4. Número de falhas e de censuras, percentagem de censura e estimativa da média e erro-padrão, obtidos pela metodologia Kaplan-Meier, do tempo para reintegrar em milissegundos, de acordo com o grupo formado pelos meses de observação.

Grupo	Total	Falhas	Censuras	Censuras (%)	Média	Erro Padrão
1	223	63	160	71,45	220.711	7.935
2	283	168	115	40,64	148.239	7.408
Total	506	231	275	54,35		

1= CRS medido nos meses de abril a junho; 2= CRS medido nos meses de janeiro, março, julho e novembro.

Pela aplicação do teste *logrank*, não houve diferenças dentro do grupo 1 ($\chi^2 = 4,2204$ e $p = 0,1212$) e nem dentro do grupo 2 ($\chi^2 = 1,7690$ e $p = 0,6217$) mas, houve diferenças estatísticas quando o teste foi realizado para constatar diferenças entre os dois grupos ($\chi^2 = 41,5021$ e $p < 0,0001$). Assim, para analisar o tempo para reintegrar utilizando o ajuste no modelo de Cox, os meses poderão ser agrupados em duas classes, sem a necessidade de calcular o efeito de ano de nascimento. Todavia, cautela deve ser tomada devido a não aplicação dos testes para cada par de classes de MAN.

Efeito da Idade da ave

O efeito da idade da ave na mensuração de CRS apresentou diferença estatística significativa ($\chi^2 = 19,4712$ e $p < 0,0001$). O resultado, bem como a curva de sobrevivência, foi condizente com o encontrado na literatura, já que animais mais jovens são mais propensos a viverem em sociedade (PRICE, 2002).

Na Figura 4 observou-se que o grupo formado por animais mais jovens (grupo 1) demandou menor tempo para se reintegrar socialmente, o que pode ser observado pela curvatura decrescente mais acentuada da função de sobrevivência em comparação àquela apresentada pelo grupo formado por animais mais velhos (grupo 2). Além disso, a taxa de risco foi reduzida mais rapidamente no grupo 1, indicando que maior número de perdizes jovens atingiram o quarto quadrante ao longo do período de avaliação.

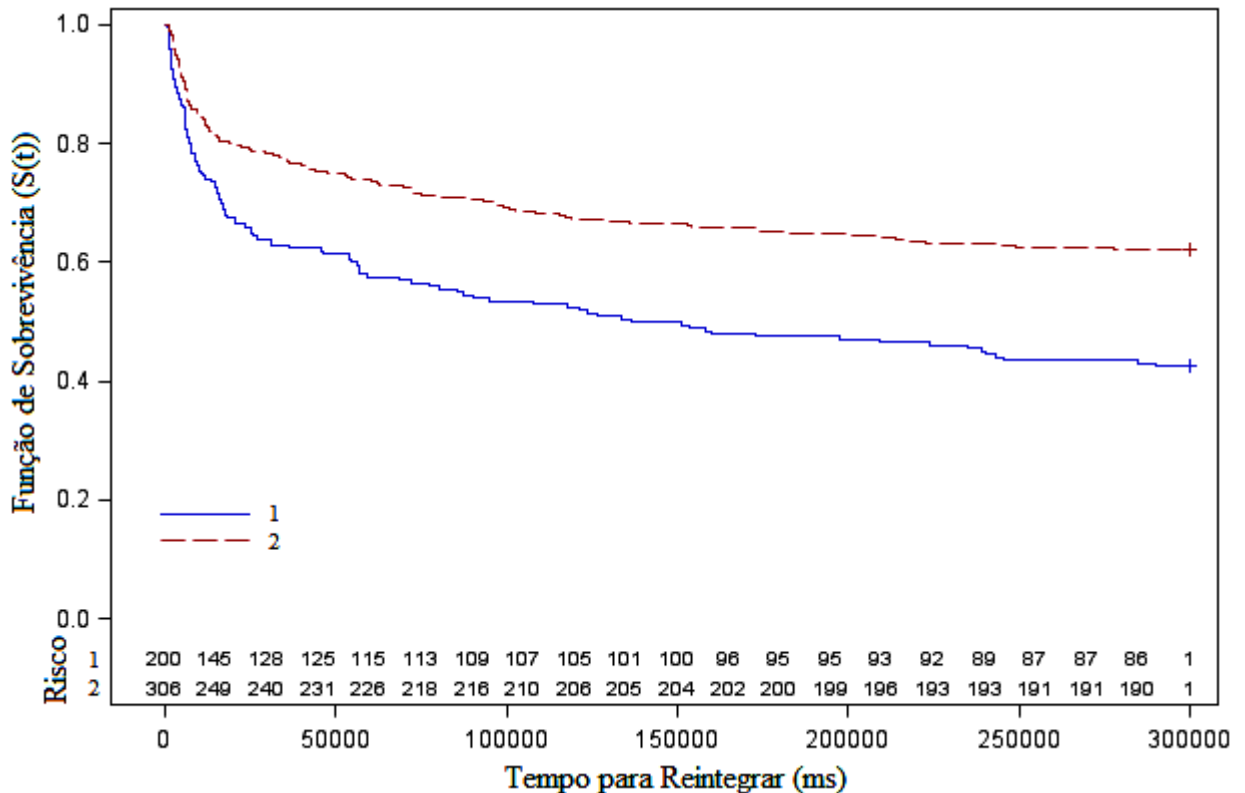


Figura 4. Curvas de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier, com número de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) em risco (taxa de risco), da característica tempo para reintegrar avaliada em dois grupos de idade. Grupo 1: 78 – 153 e Grupo 2: 154 – 327 dias de idade.

Na Tabela 5 encontra-se um resumo das estatísticas do tempo para reintegrar, mostrando que tanto a média quanto a porcentagem de censuras foram menores no grupo 1. No grupo 2, a porcentagem de aves que não chegaram no quarto quadrante representou mais da metade do total do grupo, ou seja, 62%.

Tabela 5. Número de falhas e de censuras, porcentagem de censura e estimativa da média e erro-padrão, obtidas pela metodologia Kaplan-Meier, do tempo para reintegrar em milissegundos, observados em 2 grupos de idade (dias).

Idade	Total	Falhas	Censuras	Censuras (%)	Média	Erro Padrão
78 – 153	200	115	85	42,50	153.236	9.216
154 – 327	306	116	190	62,09	192.009	6.720
Total	506	231	275	54,35		

Os resultados obtidos indicaram que o convívio dos animais jovens em grupo é reflexo da necessidade de se protegerem dos predadores e sobreviverem em ambientes adversos (SUAREZ e GALLUP, 1983). Assim, o comportamento de reintegração social foi mais intenso em aves jovens, já que as estratégias anti-

predação se tornam mais pronunciadas com o avanço da idade. Além disso, aves mais jovens necessitam explorar/conhecer o ambiente em que vivem e estariam mais propensas às interações sociais. Também poderiam estar mais acostumadas à presença de conspecíficos, uma vez que estariam mais próximas das idades em que, na natureza, conviveriam em grupos com seus irmãos e pai.

Efeito de Sexo

O comportamento de reintegração social foi similar em ambos os sexos, sendo que tanto a curva de sobrevivência como a taxa de risco apresentaram tendências semelhantes ao longo do tempo (Figura 4). O teste de *logrank* não detectou diferenças significativas entre os sexos ($\chi^2 = 19,4712$; $p < 0,8061$).

A porcentagem de censuras e a média de tempo para reintegrar também foram semelhantes entre os sexos (Tabela 6), mostrando que fêmeas e machos levaram tempo semelhante para atingirem o quadrante mais próximo ao conspecífico. Portanto, a inclusão do sexo no modelo de Cox não se fez necessária.

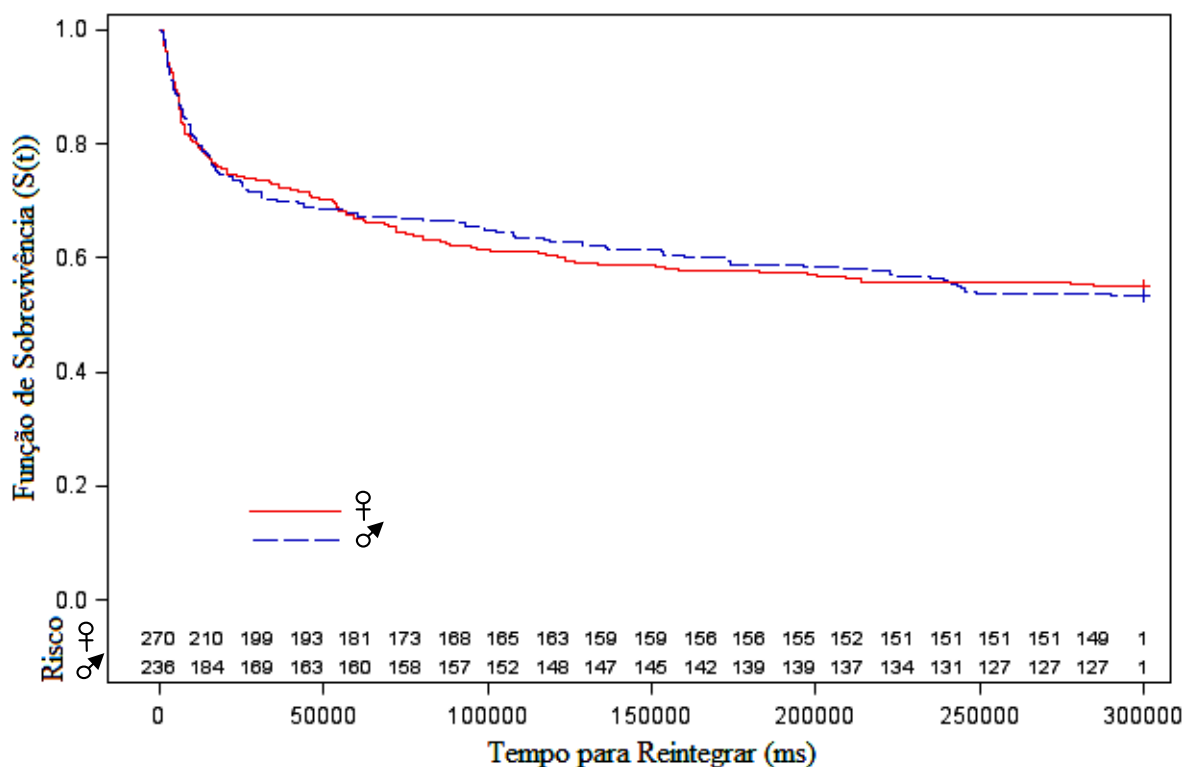


Figura 5. Curvas de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier, com número de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) em risco (taxa de risco), da característica tempo para reintegrar, de acordo com o sexo da ave.

Tabela 6. Número de falhas e de censuras, percentagem de censura e estimativa da média e erro-padrão obtidos pela metodologia Kaplan-Meier, do tempo para reintegrar em milissegundos, de acordo com o sexo.

Sexo	Total	Falhas	Censuras	Censuras (%)	Média	Erro Padrão
Fêmea	270	121	149	55,19	177379	7682
Macho	236	110	126	53,39	182643	8296
Total	506	231	275	54,35		

A espécie *R. rufescens* está apto a reprodução aos 240 dias de idade aproximadamente. Neste estudo, as aves foram observadas com idade média de 165 dias (± 47), assim, o maior CRS em machos não foi constatado como o esperado, já que são os responsáveis por cuidarem da prole (SICK, 2007).

Resultados diferentes foram relatados por Vallortigara, Cailotto e Zanforlin (1990) em aves domésticas (*Gallus gallus*), em que a observação de pintinhos de quatro dias revelou que as fêmeas tiveram maior tendência a apresentar comportamento de reintegração social que os machos.

Modelo de Cox

O estudo das covariáveis analisadas previamente pelo método não paramétrico utilizando as estimativas de Kaplan-Meier (KM) possibilitou o ajuste semi-paramétrico no modelo de Cox. Neste modelo, as covariáveis mês da medida de CRS aninhado em ano de nascimento (MAN) e idade das perdizes foram incluídas como covariáveis.

Embora o emprego do estimador de KM não tenha apontado o AN como importante fator para explicar o CRS, o teste de razão de verossimilhança parcial (TRV) detectou haver interação entre as covariáveis MAN e a idade, encontrando valores para TRV = 31,94 (G.L.= 9 e $p = 0,009$). Os resultados da análise dos resíduos de Schoenfeld para avaliação da qualidade geral do ajuste de modelo de Cox que incluiu as covariáveis mencionadas estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Testes da proporcionalidade de riscos no modelo de Cox com a interação entre as covariáveis mês aninhado em ano de nascimento (AN) e idade da perdiz.

Fatores	ρ	χ^2	Valor p
Mês 3 AN2	-0,0675	11599	0,2815
Mês 5 AN2	0,0469	0,3777	0,5388
Mês 1 AN3	-0,0921	16496	0,1990
Mês 4 AN3	-0,0904	21763	0,1402
Mês 7 AN3	-0,0272	0,1874	0,6651
Mês 5 AN4	0,0413	0,3957	0,5293
Mês 6 AN4	-0,1042	25327	0,1115
Mês 7 AN4	-0,0135	0,0546	0,8152
Mês 11 AN1	0,0521	10209	0,3123
Idade	-0,0156	0,0612	0,8046
Mês 3 AN2 x idade	0,0781	15569	0,2121
Mês 5 AN2 x idade	-0,0477	0,3902	0,5322
Mês 1 AN3 x idade	0,107	22059	0,1375
Mês 4 AN3 x idade	0,0955	24287	0,1191
Mês 7 AN3 x idade	0,0609	0,9446	0,3311
Mês 5 AN4 x idade	-0,0546	0,6932	0,4051
Mês 6 AN4 x idade	0,0891	18544	0,1733
Mês 7 AN4 x idade	0,0062	0,0121	0,9123
Mês 11 AN1 x idade	-0,0538	10720	0,3005
GLOBAL	-	324983	0,0274

AN = Ano de nascimento. AN1 = setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010, ρ = coeficientes de correlação de Pearson, χ^2 = teste qui-quadrado.

Os valores de p associados aos coeficientes de correlação de Pearson (ρ) parecem tornar favoráveis a não rejeição da hipótese nula de riscos proporcionais ao nível de 5% de significância. Entretanto, o fato do valor global ter apresentado p = 0,027, pode significar a violação desta suposição. Então, para comprovar a estatística, foi feita a interpretação gráfica (Figura 6) para averiguar possível inclinação das curvas criadas a partir dos resíduos padronizados *versus* o tempo da reintegração social.

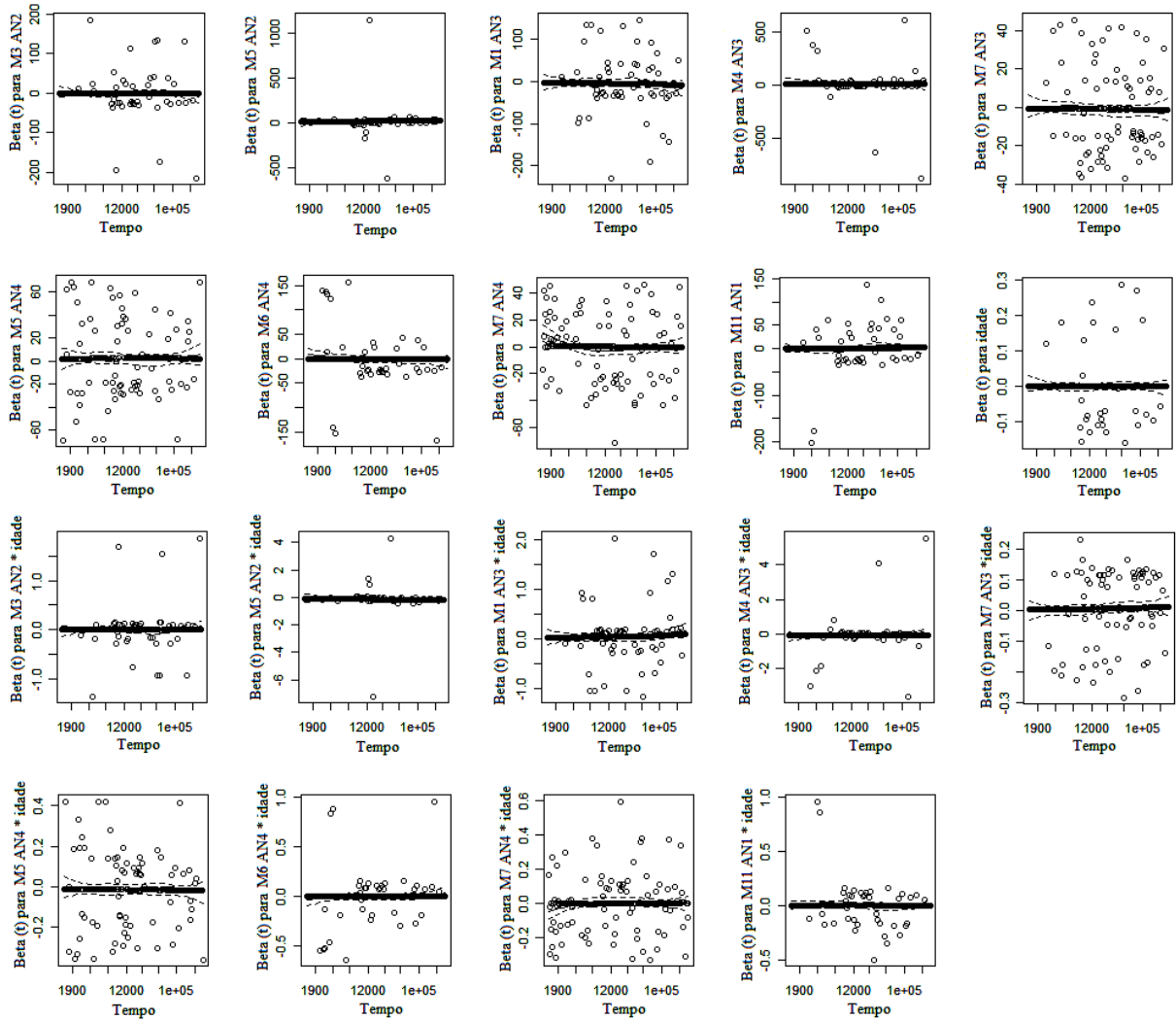


Figura 6. Resíduos padronizados de Schoenfield ($Beta(t)$) para tempo de reintegração para os fatores mês (M) aninhado em ano de nascimento (AN) e idade da ave.

A visualização dos gráficos (Figura 6) permite estabelecer que os riscos foram proporcionais, pois não foi detectada tendência acentuada ao longo do tempo, o que torna favorável a utilização do ajuste do modelo de Cox, incluindo a interação entre as covariáveis MAN e idade para explicar o tempo para reintegrar em perdizes. Esse modelo apresentou poder explicativo absoluto de 13,45% em relação ao máximo possível de 99,60%, em que a probabilidade de concordância estimada foi de 63,90% ($\pm 0,019$), indicando valor discriminatório ou preditivo razoável.

A partir do modelo utilizado, as funções de sobrevivência ($\hat{S}(t|x)$) e de risco ($\hat{\lambda}(t|x)$) estimadas puderam ser ajustadas utilizando as seguintes equações:

$$\hat{S}(t|x) = \hat{S}_0(t) \exp\{\hat{\beta}_{MG} + (\hat{\beta}_{MG*idade} + \hat{\beta}_{idade}) \times idade\}$$

$$\hat{\lambda}(t|x) = \hat{\lambda}_0(t) \exp\{\hat{\beta}_{MG} + (\hat{\beta}_{MG*idade} + \hat{\beta}_{idade}) \times idade\}$$

As estimativas de vetores dos parâmetros associados às covariáveis e as respectivas razões de risco (RR), estão especificadas na Tabela 8.

Tabela 8. Resultados do ajuste do modelo de regressão de Cox para os dados do tempo para reintegrar em perdizes (*Rhynchotus rufescens*) e as correspondentes razões de risco (RR).

Fatores	Estimativas	Erro-padrão	Valor p	RR
Mês 11 AN1	0,464	1,273	0,7155	1,59
Mês 3 AN2	-0,2732	2,007	0,8917	0,761
Mês 5 AN2	15,3	6,622	0,0208	4x10 ⁶
Mês 1 AN3	-5,27	2,629	0,0451	0,0051
Mês 4 AN3	10,76	5,845	0,0656	47230
Mês 7 AN3	-0,8638	0,8219	0,2933	0,4216
Mês 5 AN4	2,162	1,344	0,1076	8,689
Mês 6 AN4	-0,494	1,861	0,7907	0,6103
Mês 7 AN4	0,0595	0,931	0,9491	1,061
Idade	-0,0010	0,0031	0,7396	0,999
Mês 11 AN1 x idade	-0,0008	0,0056	0,8852	0,9992
Mês 3 AN2 x idade	0,0054	0,0154	0,7275	1,005
Mês 5 AN2 x idade	-0,1015	0,0432	0,0189	0,9035
Mês 1 AN3 x idade	0,0482	0,0221	0,0293	1,049
Mês 4 AN3 x idade	-0,0726	0,0360	0,0438	0,93
Mês 7 AN3 x idade	0,0059	0,0045	0,1825	1,006
Mês 5 AN4 x idade	-0,0148	0,0075	0,0482	0,9853
Mês 6 AN4 x idade	-0,0018	0,0091	0,8397	0,9982
Mês 7 AN4 x idade	0,0012	0,0064	0,8547	1,001
Mês 11 AN1 x idade	-0,0008	0,0056	0,8852	0,9992

AN = Ano de nascimento. AN1 = setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010.

Por meio da aplicação da função de risco, foi possível revelar em qual ano de nascimento as aves levaram menor tempo para alcançarem o quadrante 4. Por exemplo, para entender melhor a razão de tempo para reintegrar entre duas perdizes, i e j, sendo uma delas do ano de nascimento 2 e outra do 4, mas, ambas observadas no mês de maio, quando tinham 125 dias de idade, então, dividiu-se as duas funções de risco:

$$\begin{aligned}
 \frac{\hat{\lambda}(t | x_i)}{\hat{\lambda}(t | x_j)} &= \frac{\exp\{\hat{\beta}_{M_5AN_2} + (\hat{\beta}_{idade} + \hat{\beta}_{M_5AN_2*idade}) * 125\}}{\exp\{\hat{\beta}_{M_5AN_4} + (\hat{\beta}_{idade} + \hat{\beta}_{M_5AN_4*idade}) * 125\}} \\
 &= \frac{\exp\{15,30 + (-0,001039 - 0,1015) * 125\}}{\exp\{2,162 + (-0,001039 - 0,01484) * 125\}} = 10,0392
 \end{aligned}$$

O resultado mostra que as perdizes que nasceram na estação reprodutiva de 2007-2008 (AN2) tiveram aproximadamente 10 vezes mais chances de chegar primeiro no quadrante 4, indicando que o CRS foi mais alto.

Para verificar como a idade influenciou no tempo para reintegrar, aplica-se a razão de risco entre dois indivíduos nascidos no mesmo ano e observados no mesmo mês, mas, que apresentaram idades diferentes quando foram observados. Ao comparar duas aves do AN4 que foram testadas no mês de maio, uma aos 125 e outra aos 155 dias de idade, obteve-se:

$$\frac{\hat{\lambda}(t | x_i)}{\hat{\lambda}(t | x_j)} = \frac{\exp\{\hat{\beta}_{M_5AN_4} + (\hat{\beta}_{idade} + \hat{\beta}_{M_5AN_4*idade}) * 125\}}{\exp\{\hat{\beta}_{M_5AN_4} + (\hat{\beta}_{idade} + \hat{\beta}_{M_5AN_4*idade}) * 155\}}$$

$$= \exp\{(\hat{\beta}_{idade} + \hat{\beta}_{M_5AN_4*idade}) * (125 - 155)\} = 1,61$$

Neste caso, a probabilidade que a ave com menor idade teve para chegar ao quarto quadrante foi 1,6 vezes maior em relação à mais velha, significando que as perdizes mais jovens tenderam a expressar o CRS com maior intensidade.

Para comprovar os resultados obtidos, gráficos com curvas da função de risco do tempo para reintegrar em cada fator foram construídos para perdizes com 125 dias e 155 dias de idade quando foram observadas (Figura 7).

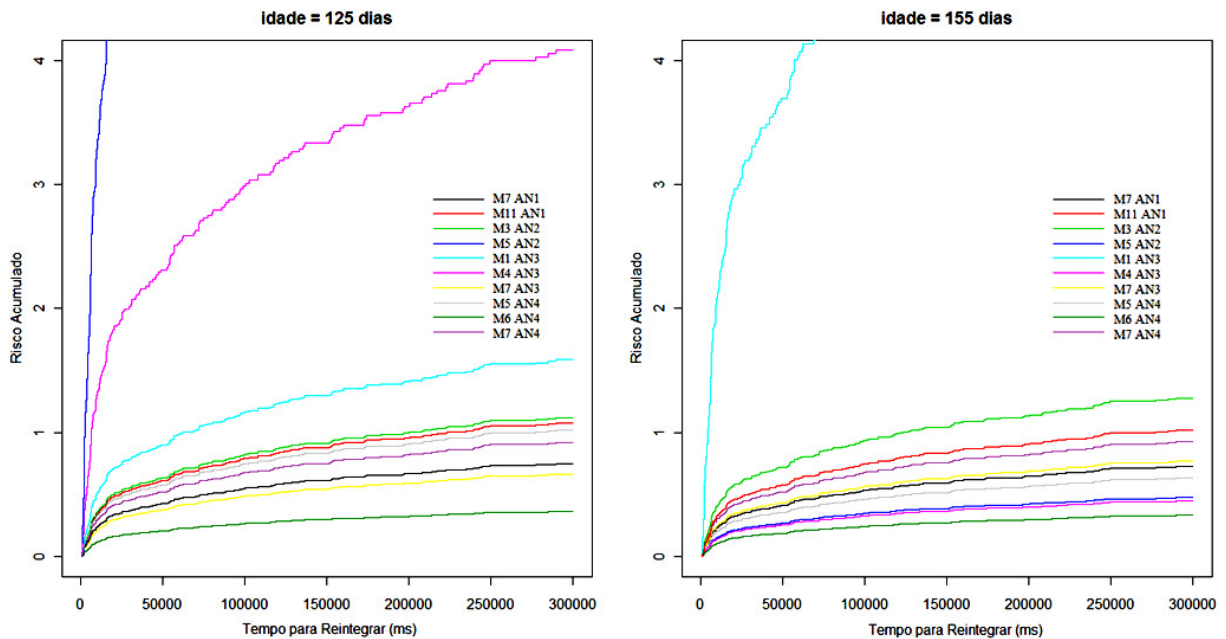


Figura 7: Curvas de risco acumulado estimadas pelo modelo de Cox do tempo para reintegrar de perdizes (*Rhynchotus rufescens*), para cada fator mês aninhado em ano de nascimento (MAN) com idades de 125 e 155 dias.

É nítida a diferença das curvas obtidas entre as duas idades avaliadas,

provando a importância de inserir no modelo as covariáveis mês aninhado em ano de nascimento (MAN) e idade como interação. O afastamento das curvas obtidas pela formação de meses iguais, porém, de gerações diferentes, por exemplo, mês de maio dos anos de nascimento 2 e 4, evidencia que o efeito de AN influenciou no CRS das perdizes. É igualmente possível observar que, de modo geral, as curvas de risco foram diminuídas aos 155 dias de idade, podendo afirmar que, na maioria dos casos, a idade contribuiu negativamente para as aves atingirem o quadrante 4 para reintegrarem com o seu semelhante. Também as correspondentes curvas de sobrevivência foram obtidas e expostas na Figura 8.

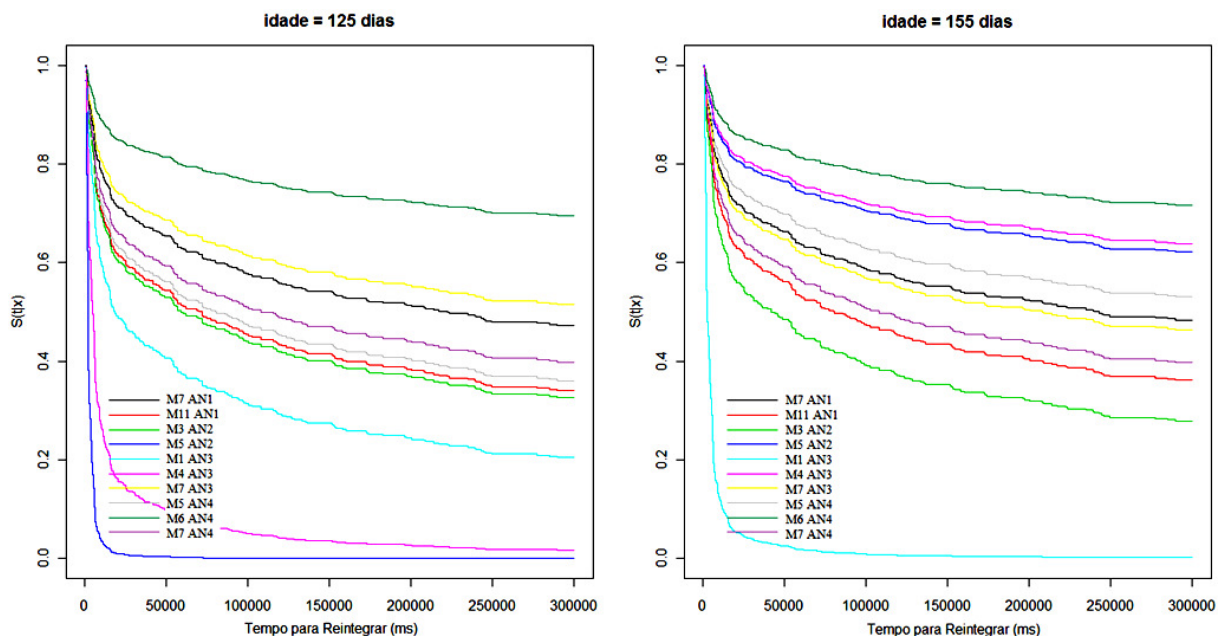


Figura 8. Curvas de sobrevivência estimadas pelo modelo de Cox do tempo para reintegrar de perdizes (*Rhynchotus rufescens*), para cada fator mês aninhado em ano de nascimento (MAN) com idades de 125 e 155 dias.

Sucintamente, pode-se afirmar que o ano de nascimento e o mês em que foi mensurado o CRS influenciaram a característica tempo para reintegrar, validando a análise destas covariáveis como efeito aninhado. A idade da ave no momento da avaliação foi importante fonte de variação, sendo que as mais jovens apresentaram maior capacidade de socialização, já que levaram menor tempo para atingir o quadrante mais próximo ao de seu conspecífico. Esta afirmação é aceitável tendo em vista que o convívio em grupo é uma estratégia para se protegerem, além de serem mais curiosas.

Inclusão do termo de Fragilidade

Espera-se que o efeito aleatório de progenitor no modelo de Cox seja significativo se a intenção é encontrar heterogeneidade entre os grupos formados por pais diferentes. Entretanto, com o resultado da análise incluindo a fragilidade gama para CRS não foram encontradas alegações favoráveis que pudessem rejeitar a hipótese da igualdade entre os pais, em que, $\chi^2 = 0,41$, $p = 0,28$ e ξ (variância do efeito aleatório) = 0,00174.

Considerando que Z_i são os valores das fragilidades para cada progenitor e correspondem aos seus valores genéticos para tempo para integrar, então, para este estudo que envolveu 82 progenitores, foram estimados 82 valores de Z_i , que estão apresentados na Figura 9.

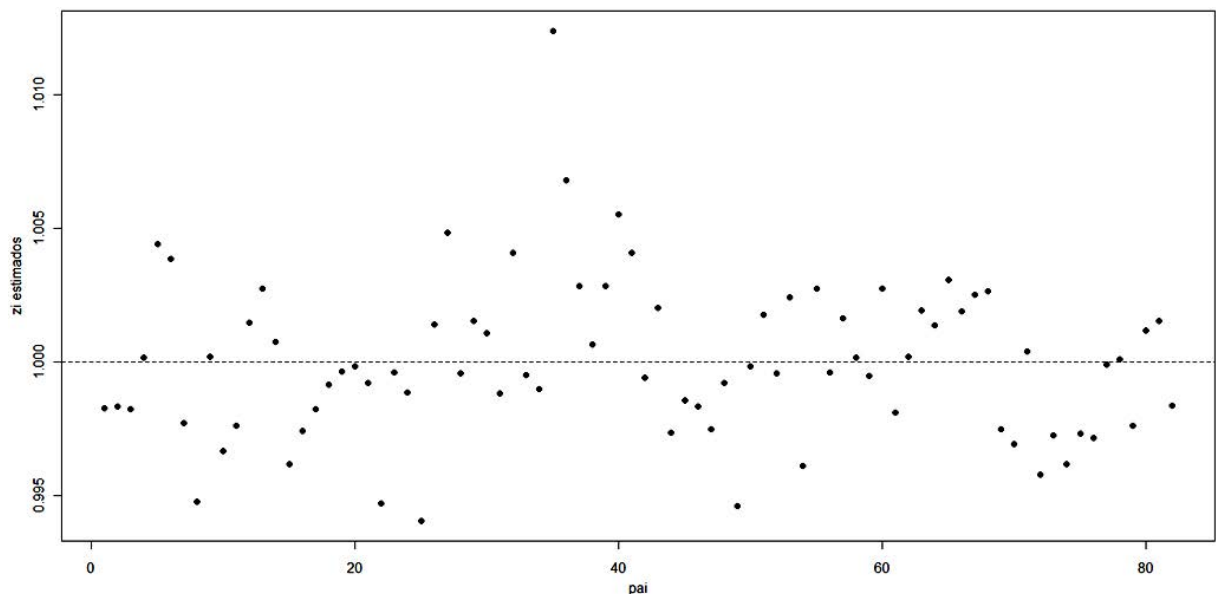


Figura 9. Estimativas de fragilidade (Z_i) para CRS obtidas pela inclusão do efeito de reprodutor no modelo de Cox.

Os valores de Z_i são ponderadores do risco base. Assim, quando forem iguais ou muito próximos de 1, não alteram significativamente o risco. Este fato pode ser observado na Figura 9 em que os Z_i estimados ficaram dispostos muito próximos de 1. Desta forma, para esta população de perdizes criadas em cativeiro, seria razoável inferir que a seleção para CRS não resultaria em alterações consistentes na média da população.

4. CONCLUSÃO

O comportamento de reintegração social de perdizes criadas em cativeiro foi variável de acordo com o ambiente, sendo que o ano de nascimento, o mês e a idade na tomada da medida de CRS foram importantes fatores que influenciaram o tempo para reintegrar;

Os diferentes progenitores não influenciaram na variação da característica CRS, pelo modelo de Cox.

5. REFERÊNCIAS

AGNVALL, B; JÖNGREN, M; STRANDBERG, E; JENSEN, P. Heritability and Genetic Correlations of Fear-Related Behaviour in Red Junglefowl—Possible Implications for Early Domestication. **Plos One**, v. 7, e35162, 2012.

BRUNELI, F. A. T.; THOLON, P.; ISAAC, F. L.; DAMASCENO, P. R.; TONHATI, H.; QUEIROZ, S. A. Caracterização da reprodução de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) em cativeiro. **Ars Veterinaria**, v. 21, p. 272-280, 2005.

COLOSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. **Análise de Sobrevivência Aplicada**. 1.ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2006. 370 p.

DUCROCQ, V.; SÖLKNER, J.; MÉSZÁRO, G. The Survival Kit v6.1: **User's Manual**. 2012. 83p.

FAURE, J. M.; JONES, R. B; BESSEI, W. Fear and social motivation as factors in open-field behaviour of the domestic chick. **Biology of Behaviour**, v. 8, p. 103–116, 1983.

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

GALLUP, G. G. JR.; SUAREZ, S. D. An ethological analysis of open-field behaviour in chickens. **Animal Behaviour**, v. 28, p. 368-378, 1980.

GUZMAN, D. A.; MARIN, R. H. Social reinstatement responses of meat-type chickens to familiar and unfamiliar conspecifics after exposure to an acute stressor. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110, p. 282–293, 2008.

HOUGAARD, P. Frailty Models for Survival Data. **Lifetime Data Analysis**, v. 1, p. 255-273, 1995.

HOEKSTRA, K.A.; IWAMA, G.; NICHOLS, C.R.; GODIN, D.V.; CHENG, K.M. Increased heat shock protein expression after stress in Japanese quail. **Stress**, v. 2, p. 265 - 272, 1998.

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

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

KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observation. **Journal of the American Statistical Association**, v.53, n. 282, p.457-481, 1958.

MAHBOUB, H.D.H.; MÜLLER, J.; VON BORELL, E. Outdoor use, tonic immobility, heterophil/lymphocyte ratio and feather condition in free-rangelaying hens of different genotype. **British Poultry Science**, v. 45, p. 738-744, 2004.

MILLS, A. D., FAURE, J. M. The treadmill test for the measurement of social motivation in Phasianidae chicks. **Medical Science Research**, v. 18, p. 178 - 180, 1990.

MORO, M.E.G.; ARIKI, J.; SOUZA, P.A.; MORAES, V.M.B. Rendimento de carcaça e composição química da carne da perdiz nativa (*Rhynchotus rufescens*). **Ciência Rural**, v. 36, p.258 – 262, 2006.

PRICE, E. O. **Animal domestication and behavior**. New York: CABI Publishing, 2002. 307p.

QUEIROZ, F. A. de; CARVALHO, M. M. DE; SUGUI, J.K.; NUNES, J.; FELIPE, L.; SANTOS E. C. dos; TONHATI, H; BOIAGO, M.M.; HATA, M. E.; THOLON, P. QUEIROZ, S. A. de. Meat and carcass traits of the red-winged tinamou (*Rhynchotus rufescens*). **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.15, n.2, p.113-118, 2013.

SATTERLEE, D. G.; MARIN, R. H. Stressor-Induced Changes in Open-Field Behavior of apanese Quail Selected for Contrasting Adrenocortical Responsiveness to Immobilization. **Poultry Science**, v. 85, p. 404 - 409, 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.

VALLORTIGARA, G.; CAILOTTO, M.; ZANFORLIN, M. Sex Differences in Social Reinstatement Motivation of the Domestic Chick (*Gallus gallus*) Revealed by Runway Tests With Social and Nonsocial Reinforcement. **Journal of Comparative Psychology**, v. 104, n. 4, p. 361-367, 1990.

CAPÍTULO 4 – ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS DO TEMPO EM IMOBILIDADE TÔNICA E DO COMPORTAMENTO DE REINTEGRAÇÃO SOCIAL EM PERDIZES (*Rhynchotus rufescens*) POR ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA

Resumo: A seleção de animais em processo de domesticação utilizando critérios comportamentais pode ser uma alternativa para minimizar os impactos negativos causados pela criação intensiva. Sendo assim, o estudo das características tempo de permanência em imobilidade tônica (IT) e comportamento de reintegração social (CRS) pode auxiliar no melhor entendimento da adaptação dos animais em ambiente de cativeiro. O objetivo deste trabalho foi estimar herdabilidade (h^2) de IT e de CRS, bem como a correlação entre os valores genéticos dos animais para estas características, na população de perdizes criadas em cativeiro. Para isto, os tempos em IT de 539 perdizes (*Rhynchotus rufescens*) nascidas no período de 2006 a 2010 e criadas no Setor de Animais Silvestres – FCAV – Unesp, foram avaliados mediante o uso da metodologia de análise de sobrevivência. Para prever os valores genéticos e estimar a herdabilidade dessa característica, os efeitos de mês da avaliação de IT aninhado em ano de nascimento (MAN) e o peso dos animais quando foram realizadas as medidas de IT foram incluídos como covariáveis. Para a avaliação dos dados de CRS, informações de 506 aves foram colhidas e a interação entre a covariável mês de avaliação de CRS aninhado em ano de nascimento e a covariável idade foram colocadas no modelo como efeitos fixos. Tanto para IT quanto para CRS o modelo utilizado foi o de riscos proporcionais, em que o risco base determinou ser uma distribuição de Weibull. Ainda, as informações dos progenitores foram incluídas no modelo como covariável aleatória. A estimativa de herdabilidade (h^2) para IT foi 0,37, indicando a presença de ação gênica aditiva sobre essa característica. A h^2 para CRS foi igual a 0,31, entretanto, como o efeito aleatório de reprodutor não foi significativo ($p < 0,05$) no modelo de Cox, é provável que o erro-padrão desta estimativa seja alto. A correlação linear entre os valores genéticos de IT e CRS foi 0,0598 ($p = 0,1491$), ou seja, não houve relação genética aditiva entre as duas características. Portanto, a seleção de perdizes que apresentam menor tempo em IT acarretaria na redução do nível de medo da população e em aves mais adequadas à criação em cativeiro, sem alterar o CRS.

Palavras – chave: comportamento de medo, função de risco, parâmetros genéticos, Survival Kit.

1. INTRODUÇÃO

A avaliação genética das características imobilidade tônica (IT) e comportamento de reintegração social (CRS) mediante o uso de análise de sobrevivência ainda não foi explorada. Entretanto, por outras metodologias, IT e CRS mostraram variação genética aditiva suficiente para indicar a seleção para estas características como ferramenta útil para reduzir o medo e aumentar a sociabilidade em aves.

Hazard et al. (2008) formaram duas linhagens de codornas (*Coturnix japonica*), selecionando aves que apresentaram menor período de permanência em

IT (CIT) e maior período de permanência em IT (LIT), constatando que aves da linhagem LIT tinham maior nível de medo e raramente mostravam comportamento de valentia durante o período de contenção, quando comparadas às aves da linhagem CIT.

Mills e Faure (2000) também mostraram que a formação de populações de codornas sob seleção divergente para CIT e LIT pode ser eficaz para entender as reações que envolvem o comportamento de medo, em cativeiro. Estes autores observaram que as aves da linhagem CIT eram menos incomodadas com a presença humana e mais fáceis de serem capturadas do que as da linhagem LIT.

O interesse em selecionar animais a partir de características comportamentais como IT está em obter progresso na produtividade devido à redução das respostas de medo indesejáveis, pois, para Jones (1996), o desempenho produtivo das aves domésticas está diretamente ligado ao bem-estar. Da mesma forma, Minvielle et al. (2002) constataram que as codornas da linhagem selecionada para apresentar menor nível de medo eram mais pesadas e mais produtivas quanto à postura de ovos em relação a linhagem composta por animais mais amedrontados.

Pesquisas apontam que a seleção para alta produtividade das aves resultou em respostas correlacionadas negativas ao bem-estar (PELHAITREA, MIGNON-GRAUSTEAU e BERTIN, 2012; SCHÜTZ et al., 2002), principalmente durante o processo de domesticação de galinhas, no qual, a escolha de aves mais produtivas, acarretou em modificações de comportamento social e emocional (WIREN e JENSEN, 2011). Esta resposta correlacionada no comportamento das aves ocasionada pela seleção para características produtivas pode ser explicada, em parte, pelo efeito pleiotrópico de um único QTL que influencia as características de produção e de comportamento (SCHÜTZ et al., 2004). No entanto, um programa de seleção destinado a reduzir o medo seria prejudicial se, simultaneamente, prejudicasse a capacidade de percepção das aves, atributo essencial à adaptação ao seu ambiente (RICHARD, 2000).

A prática da seleção divergente para formar populações com maior e menor CRS também mostrou ser eficiente para obtenção de aves com características diferentes. Como exemplo, pintinhos de codorna selecionados para maior CRS estabeleceram contato visual mais rapidamente, apresentaram maior interação, procuraram com mais frequência e mais rapidamente o seu conspecífico quando foram colocados em labirinto de campo aberto (LAUNAY, MILLS e FAURE, 1993).

O CRS, portanto, indica maior ou menor grau de socialização do indivíduo (BURN, DOMJAN e MILLS, 1998) que é estabelecido de acordo com o tempo para um indivíduo se aproximar do seu conspecífico (MILLS e FAURE, 1990). Animais mais sociáveis são desejáveis, pois, são menos susceptíveis ao estresse causado pela alta densidade presente em criações comerciais.

O comportamento de reintegração social apresentou influência de genes aditivos, com a herdabilidade variando de 0,16 a 0,38 em população de codornas selecionadas para esta característica durante 8 gerações (MILLS e FAURE, 1991). O tempo de permanência em IT e o tempo para reintegrar mostraram correlação genética positiva, isto é, animais que apresentam menor nível de medo tenderam a aceitar melhor o convívio com o seu conspecífico (JONES, FACCHIN e McCORQUODALE, 2002).

Assim, estudos de características comportamentais, como IT e CRS, podem auxiliar na melhor compreensão do processo da domesticação de espécies selvagens como as perdizes (*Rhynchotus rufescens*). Ainda, a inclusão destas características pode auxiliar na seleção de perdizes mais calmas e mais sociáveis, resultando na formação de população menos reativa ao homem e com maior potencial de adaptação ao ambiente em cativeiro.

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi estimar herdabilidade dos comportamentos de imobilidade tônica e de reintegração social, bem como calcular a correlação linear entre os valores genéticos dessas características, aplicando-se a metodologia de análise de sobrevivência.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As mensurações do tempo de permanência em imobilidade tônica (IT) e do tempo para reintegrar foram colhidas de perdizes criadas no Setor de Animais Silvestres da UNESP – FCAV no período de 2006 a 2010. As medidas de IT foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Jones e Faure (1981). Antes da medida, as aves foram retiradas dos boxes de criação e pesadas, colocando-as 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. 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 medidos em segundos por cronômetro, admitidos neste estado foram 10 segundos (s) e 1200 s, respectivamente. Assim, as perdizes que não se levantaram, isto é, não saíram da imobilidade até 1200 s, foram retiradas artificialmente do estado de IT e seus tempos em IT foram considerados como informações censuradas. Os tempos das aves que saíram naturalmente da catatonia foram considerados como falhas.

Para a constituição do arquivo de análise, o mês (M) em que foi feita a medida de IT foi aninhado em ano de nascimento (AN), originando, assim, a covariável MAN que foi utilizada como efeito fixo. O AN foi atribuído conforme o período reprodutivo em que as aves foram geradas. Assim, as perdizes que nasceram no período de reprodução ocorrido nos meses de setembro de 2006 a maio de 2007 foram identificadas como AN1. As que nasceram entre setembro de 2007 a maio de 2008 como AN2, setembro de 2008 a maio de 2009 como AN3 e setembro de 2009 a maio de 2010 como AN4. O peso da ave obtido antes da indução de IT também foi incluído como efeito fixo do modelo e compreendeu valores de 196 gramas (g) até 882 g (efeito linear).

Para a estimação da herdabilidade da característica IT, somente registros de pais que geraram ao menos 2 filhos foram mantidos no banco de dados. Assim, 86 progenitores e registros de IT referentes a 539 aves compuseram o banco de dados para as análises estatísticas.

O CRS foi medido em testes conduzidos em labirinto de campo aberto do tipo túnel que mediu 240 centímetros (cm) de comprimento, 60 cm de altura e 80 cm de profundidade. A extensão do labirinto foi dividida em quatro partes iguais chamados de quadrantes 1, 2, 3 e 4 e um pequeno compartimento, localizado em uma das extremidades e próximo do quadrante 4, foi destinado para manter um macho cego que teve a função de representar um conspecífico. Esta ave foi separada por uma divisória, impedido de ter acesso aos quadrantes, para que não pudesse interagir ou chamar a atenção da outra ave que seria avaliada, sendo possível somente o contato visual.

A perdiz submetida à avaliação de CRS, foi introduzida individualmente no túnel pelo quadrante 1 para avaliar o tempo desta ave alcançar o quadrante 4, ou

seja, o período decorrido para se aproximar do seu conspecífico. Cada observação teve duração de 5 minutos (min), ou 300000 milissegundos (ms), sendo o tempo marcado pelo *software* EthoLog (Behavioral Transcription Tool, version 2.2. 1999). Foi considerada como efeito fixo a interação entre a covariável mês em que foi feita a medida de CRS aninhado em ano de nascimento (MAN) e a covariável idade quando foi submetida ao teste. Registros de aves sem informações de idade, de sexo e de pai foram retirados do arquivo de dados. Também, foram descartados pais com menos de dois filhos, restando 506 aves no banco de dados.

Tanto para IT quanto para CRS, o efeito de progenitor foi modelado como aleatório, ou seja, os diferentes pais foram determinantes nas diferenças genéticas entre os animais, com os pressupostos de que a variável apresentasse distribuição normal multivariada, com média zero e variância $\mathbf{A}\sigma^2$, em que σ^2 representou a variância entre os reprodutores e $\mathbf{A}$ a matriz de parentesco.

Registros da ave, do sexo, da mãe e do pai da ave foram incluídos no arquivo de pedigree para formar a matriz de parentesco. Todas as covariáveis fixas e aleatórias (termo de fragilidade) foram previamente analisadas e definidas utilizando o estimador de Kaplan-Meier (KM), e uma vez significativas ($p < 0,05$) no modelo ajustado de Cox, foram incluídas no Survival Kit (SK) para a análise genética das características IT e CRS.

A função de risco base foi determinada de acordo com a distribuição de Weibull que é um modelo de regressão bastante comum utilizado em dados biológicos (SÖLKNER e DUCROCQ, 1999), assim, o seguinte modelo de riscos proporcionais foi utilizado para IT e CRS:

$$\lambda_{ij}(t) = \lambda_0(t) \exp \{ \mathbf{x}'_{ij} \boldsymbol{\beta} + \mathbf{z}(t)' \mathbf{u} \}$$

Nas quais, os vetores:

$\lambda_{ij}(t)$ descreveu a função de risco de uma perdiz sair da IT, ou seja, a probabilidade de se levantar no tempo t dado que estava em imobilidade pouco antes deste tempo. Para os dados de CRS, $\lambda_{ij}(t)$ representou a função de risco de uma perdiz atingir o quadrante 4;

$\lambda_0(t)$ correspondeu ao risco base;

$\mathbf{x}'_{ij}$ indicou as covariáveis fixas;

$\boldsymbol{\beta}$ indicou um vetor de coeficientes de regressão desconhecidos;

$\mathbf{z}(t)'$ indicou a covariável aleatória de pai (progenitor) com o correspondente vetor de

parâmetros $\mathbf{u}$.

A covariável aleatória $\mathbf{z}(t)'$ descreveu uma distribuição normal multivariada na qual a estrutura da covariância entre os indivíduos foi modelada por meio da matriz genética de parentesco para obter valores genéticos aditivos dos indivíduos. Devido ao termo de fragilidade ser representado pelo pai, a covariável aleatória no vetor $\mathbf{u}$ apresentou distribuição normal multivariada, na qual, a estrutura de covariância entre os indivíduos foi modelada pela matriz de parentesco para definir o valor genético de cada indivíduo.

O risco base ($\lambda_0(t)$) foi adotado como sendo distribuição de Weibull, já que o estudo de curvas apontou a distribuição de Weibull como a mais adequada para descrever o comportamento de IT e de CRS. Então, $\lambda_0(t) = \lambda \rho (\lambda t)^{\rho-1} = \rho t^{\rho-1} \exp(\rho \ln \lambda)$, em que λ e ρ foram os parâmetros de forma e escala da distribuição de Weibull que definiram o tempo t .

Para escolher a função risco base, foi verificada a dispersão dos tempos de permanência em IT e dos tempos para reintegrar. Inicialmente foram realizadas as estimações das funções de sobrevivência ajustadas pelos modelos exponencial ($\hat{S}_e(t)$) e de Weibull ($\hat{S}_w(t)$). Em seguida, cada modelo foi comparado por gráfico com a estimativa de Kaplan-Meier (KM) para a função de sobrevivência ($\hat{S}(t)$). Esta comparação foi realizada colocando-se, no mesmo gráfico, as estimativas $\hat{S}(t)$ *versus* $\hat{S}_e(t)$ e $\hat{S}(t)$ *versus* $\hat{S}_w(t)$. O melhor modelo escolhido foi aquele em que os pontos no gráfico ficaram mais próximos da reta $y = x$, nos quais, $x = \hat{S}(t)$ e $y = \hat{S}_e(t)$ ou $\hat{S}_w(t)$.

Para comprovar que a escolha do modelo probabilístico foi adequada para assegurar a correta interpretação do risco base, foi realizada a linearização da função de sobrevivência para os modelos. Assim, quando $-\log(\hat{S}(t))$ *versus* t for aproximadamente linear, indica que o modelo exponencial foi o mais adequado, e quando $\log(-\log(\hat{S}(t)))$ *versus* $\log(t)$ for semelhante ao linear, então, o modelo de Weibull é o mais adequado, salientando que t representou o tempo de permanência em IT ou o tempo para reintegrar. Quando o modelo exponencial for o mais adequado, significa que o risco base que deve ser adotado no SK será o de Cox. Todos os métodos gráficos foram realizados de acordo com o proposto por Colosimo e Giolo (2006), utilizando o software R (R version 2.11.1 Copyright (C) 2010. The R Foundation for Statistical Computing).

Finalmente, o emprego do *software* Survival kit (SK) possibilitou calcular a variância dos valores genéticos atribuída ao efeito do reprodutor (σ_s^2) para, em seguida, estimar a herdabilidade da característica, aplicando-se a fórmula estabelecida por Yazdi et al. (2006):

$$h^2 = \frac{4\sigma_s^2}{\sigma_s^2 + 1}$$

Também, foi possível calcular a confiabilidade predita do modelo de Weibull ($R_{weibull}$) utilizando as mensurações não censuradas (n_{ncens}) e a σ_s^2 :

$$R_{weibull} = \frac{(n_{ncens})}{n_{ncens} + 1/\sigma_s^2}$$

A confiabilidade determina a acurácia dos valores genéticos preditos pelo modelo de Weibull. O critério de convergência adotado foi 10^{-8} para a característica IT e 10^{-6} para CRS.

As estimativas dos coeficientes de correlação de Spearman e de Pearson entre os valores genéticos das características IT e CRS foram realizadas utilizando o *software* SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2.).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Imobilidade Tônica (IT)

O modelo probabilístico que melhor explicou os dados da característica IT em perdizes criadas em cativeiro foi escolhido pela visualização dos métodos gráficos, que segundo Colosimo e Giolo (2006), é a forma mais fácil de interpretação. Assim, primeiramente foram criadas curvas de função de sobrevivência, ilustradas na Figura 1, utilizando os modelos exponencial e de Weibull, para serem comparadas com o estimador Kaplan-Meier (KM).

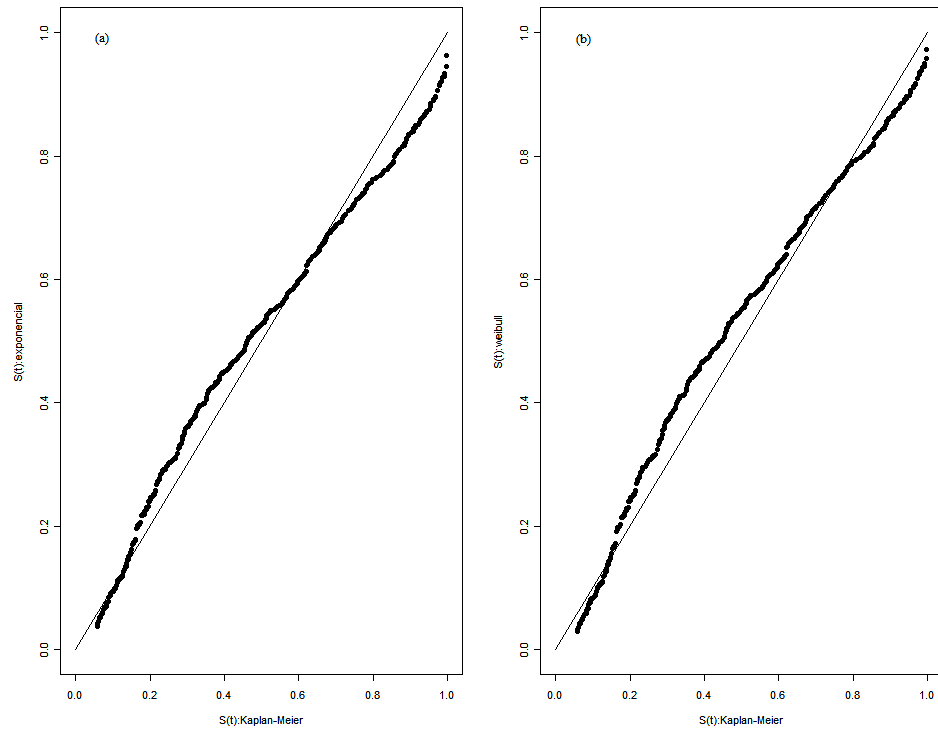


Figura 1. Comparação dos pontos da função de sobrevivência estimada pelo modelo exponencial (a) e de Weibull (b) com a função de sobrevivência obtida pelo estimador de Kaplan-Meier (reta).

A partir da visualização das curvas na Figura 1, o modelo de Weibull foi o mais adequado, pois foi o que mais se aproximou da estimativa obtida por KM, apesar dos pontos no gráfico obtidos pela exponencial também estarem próximos da reta. Então, um segundo gráfico, apresentado na Figura 2, foi construído para auxiliar na escolha entre os dois modelos.

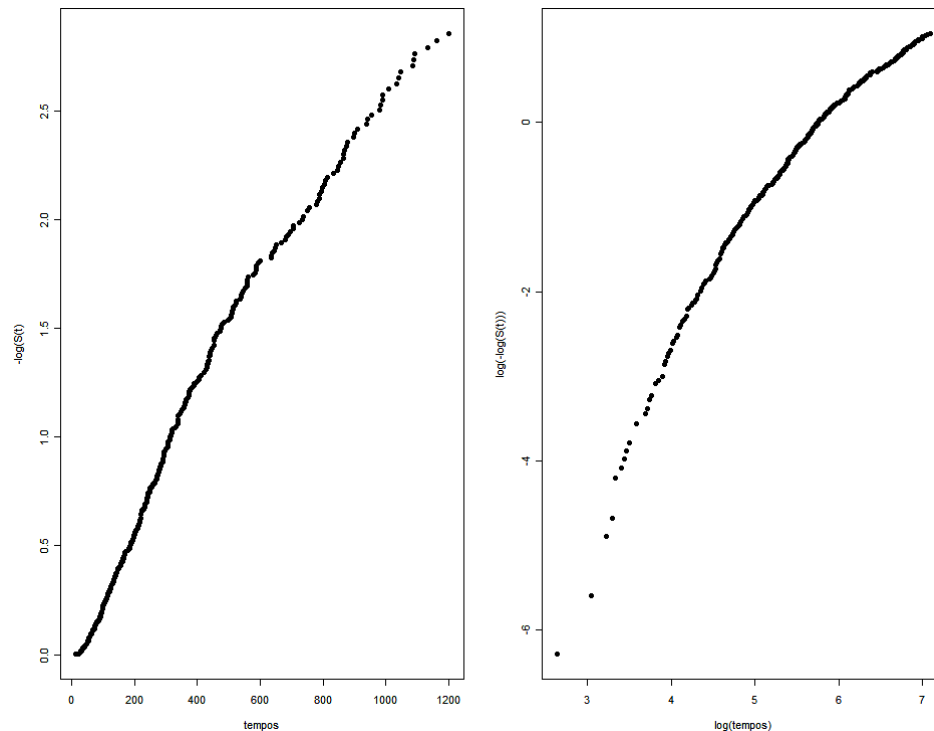


Figura 2. Dispersão do tempo IT (tempos) em relação a função $-\log(\hat{S}(t))$ para verificar a linearização no modelo exponencial (a) e dispersão $\log(\text{tempos})$ em relação a função $\log(-\log(\hat{S}(t)))$ para verificar a linearização no modelo de Weibull (b) e $\hat{S}(t)$ a função de sobrevivência obtida pelo estimador Kaplan-Meier.

Os gráficos linearizados (Figura 2) foram obtidos colocando as respectivas funções de sobrevivência geradas pelo modelo exponencial e de Weibull *versus* o tempo de permanência em IT. A intenção foi construir uma reta, já que, uma forte violação na linearização da função de sobrevivência desqualificaria o modelo proposto. Novamente, os gráficos apresentados na Figura 2 não detectaram desvios acentuados de uma reta, permitindo prosseguir com a proposta de se utilizar o modelo de Weibull.

Após definir que o risco base segue distribuição de Weibull pelos métodos gráficos, foi realizada a análise genética utilizando o SK. Verificou-se que as covariáveis MAN e peso foram significativas pelo teste χ^2 ($p < 0,05$). A média do tempo para sair da IT, ou seja, o tempo de falha, foi igual 294,256 s. O total de censuras correspondeu a 5,75% indicando que do total de 539 perdizes, 31 não despertaram do estado catatônico. O arquivo de pedigree registrou 637 animais.

O Survival Kit permite a identificação do grupo base e é aquele que contém maior número de falhas e sempre apresentará taxa de risco igual a 1, para servir de comparação às taxas de risco apresentados pelo restante dos grupos. Neste

trabalho, o grupo base foi representado pelo efeito do mês de maio (5) aninhado em AN4, significando que esta classe de MAN apresentou maior número de aves que saíram de IT (Tabela 1).

Tabela 1. Estimativas do modelo de riscos proporcionais adotando distribuição de Weibull para o risco base para o tempo de permanência em imobilidade tônica (IT) de perdizes (*Rhynchotus rufescens*), utilizando análise de sobrevivência.

Covariável	Estimativa	Erro Padrão	Taxa de Risco	Falhas
AN1 Mês 1	1,4135	0,5529	4,110	6
AN1 Mês 2	0,2129	0,5307	1,237	8
AN1 Mês 3	-1,0376	0,8048	0,354	4
AN1 Mês 4	-0,3435	0,5536	0,709	6
AN1 Mês 5	-0,0123	0,4052	0,988	17
AN1 Mês 7	0,5383	0,3845	1,713	24
AN1 Mês 10	-0,8594	0,5347	1,351	7
AN1 Mês 12	0,8214	0,6035	0,423	6
AN2 Mês 2	-0,3735	0,4008	0,688	16
AN2 Mês 3	-0,4976	0,3851	0,608	14
AN2 Mês 4	-2,3943	0,7219	0,091	3
AN2 Mês 6	0,1892	0,5676	1,208	7
AN3 Mês 1	-0,3488	0,2459	0,706	39
AN3 Mês 2	-0,8516	0,2489	0,427	50
AN3 Mês 3	-1,1878	0,6388	0,305	4
AN3 Mês 4	-1,0388	0,3513	0,354	18
AN3 Mês 11	-0,1229	0,2461	0,884	23
AN3 Mês 12	-0,3159	0,2998	0,729	21
AN4 Mês 4	-0,3248	0,2094	0,723	35
AN4 Mês 5	0,000	-	1,000	135
AN4 Mês 7	0,3011	0,1702	1,351	65
Peso	-0,0019	0,0007	-	508

AN = ano de nascimento; AN1 = aves que nasceram no ciclo reprodutivo de setembro de 2006 a abril de 2007; AN2 = setembro de 2007 a abril de 2008; AN3 = setembro de 2008 a abril de 2009 e AN4 = setembro de 2009 a abril de 2010.

As comparações apresentadas na Tabela 1 indicaram que aves do AN1 avaliadas no mês de janeiro foram as que tiveram maior probabilidade de saírem da IT em relação ao grupo base, indicando taxa de risco de 4,1. O mês de abril do AN2 apresentou taxa de risco de 0,09, ou seja, as aves pertencentes a esta classe de MAN tiveram chance de aproximadamente 11,11 (1/0,09) vezes menor de saírem da IT em relação ao grupo base.

A estimativa da covariável peso foi -0,0019 com erro padrão de $\pm 0,00071$, significando que animais mais pesados apresentaram menor probabilidade de saírem da IT. Mais precisamente, isto significou que a adição de 1 g no peso

corporal das aves reduziu o risco de falha em 0,19%.

O valor do parâmetro de forma de Weibull (ρ) foi 1,32, indicando aumento do risco da ave se levantar conforme avançou o tempo de observação da característica IT. O intercepto, também definido como média geral do tempo de falha ($\rho \ln \lambda$), foi igual a -6,44. Estes resultados descreveram a função de risco base e também a função de sobrevivência $S(t) = \exp\{-(\lambda t)^\rho\}$.

A variância genética entre pais foi igual a 0,103 e a herdabilidade estimada pela fórmula de Yazdi et al. (2002) foi de 0,37, valor este de magnitude moderada. A confiabilidade predita (acurácia) da avaliação genética pelo modelo de Weibull (R_{weibull}) também foi bastante representativa, 0,98. Estes resultados indicam a possibilidade de seleção para a característica IT, já que evidenciou ação gênica aditiva na determinação desta característica. A Tabela 2 contém um resumo das estimativas dos parâmetros do modelo de sobrevivência para o tempo de permanência em IT.

Tabela 2. Parâmetros estimados para o tempo de permanência em imobilidade tônica (IT) de perdizes (*Rhynchotus rufescens*), utilizando a análise de sobrevivência.

Parâmetros	IT
Herdabilidade	0,37
Intercepto ($\rho \ln \lambda$) e erro-padrão	-6,44 (0,32)
Forma (ρ) da distribuição de Weibull e erro-padrão	1,32 (0,04)
Escala (λ) da distribuição de Weibull	0,0076
Confiabilidade predita do modelo de Weibull (R_{weibull})	0,98

A herdabilidade estimada para o tempo em IT de perdizes foi superior aos valores encontrados para codornas por Mills e Faure (1991), que obtiveram valores variando entre 0,09 a 0,23 em aves selecionadas por 8 gerações. Estimativas diferentes para a herdabilidade desta característica foram relatadas 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, encontraram valores iguais a $0,07 \pm 0,07$ para a linhagem macho e $0,55 \pm 0,23$ para a linhagem fêmea. Nessa pesquisa, mesmo a espécie avaliada sendo igual, a linhagem definiu totalmente a diferença no nível de medo, indicando que o processo de domesticação ou a seleção para a característica de produção, influenciou na manifestação do comportamento.

Em trabalho mais recente, Agnavall et al. (2012), após 8 gerações praticando

seleção para IT, estimaram herdabilidade do ancestral da ave doméstica (*Gallus gallus*), igual a $0,08 \pm 0,08$, estimativa bem menor que a obtida para perdizes nessa pesquisa.

Essas diferenças nas estimativas podem ter ocorrido devido à utilização de metodologias diferentes, já que neste presente trabalho foi empregada a análise de sobrevivência. Além disso, as diferentes espécies podem apresentar variações no nível de medo, portanto, é também compreensível obter diferenças nas estimativas de herdabilidade.

Observa-se na Figura 3, variação muito grande entre as diferenças esperada na progênie (DEPs) dos animais. Então, se a finalidade for reduzir o nível de medo da população de perdizes criadas em cativeiro, a seleção de pais com menores DEPs é favorável para compor os reprodutores de futuras gerações.

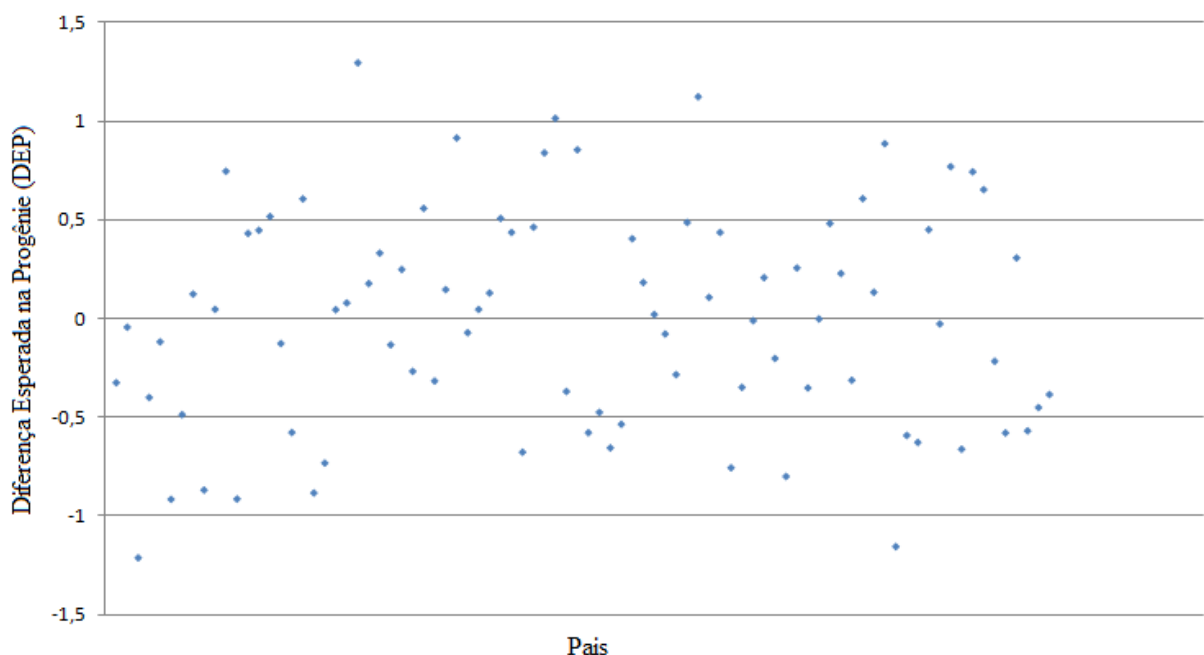


Figura 3. Diferença esperada na progênie para a imobilidade tônica de perdizes, de acordo com o reprodutor (pai).

Comportamento de Reintegração Social (CRS)

Apesar do resultado não significativo ($p > 0,05$) do efeito de reprodutor no modelo de Cox, a pequena variância estimada para esse efeito foi utilizada para estimar a herdabilidade e os valores genéticos para CRS nessa população. A distribuição de Weibull foi atribuída à função risco base pelo teste gráfico, em que a função de sobrevivência estimada pelo modelo de Weibull foi a que mais se

assemelhou à função de sobrevivência dada pelo estimador de Kaplan-Meier (Figura 4).

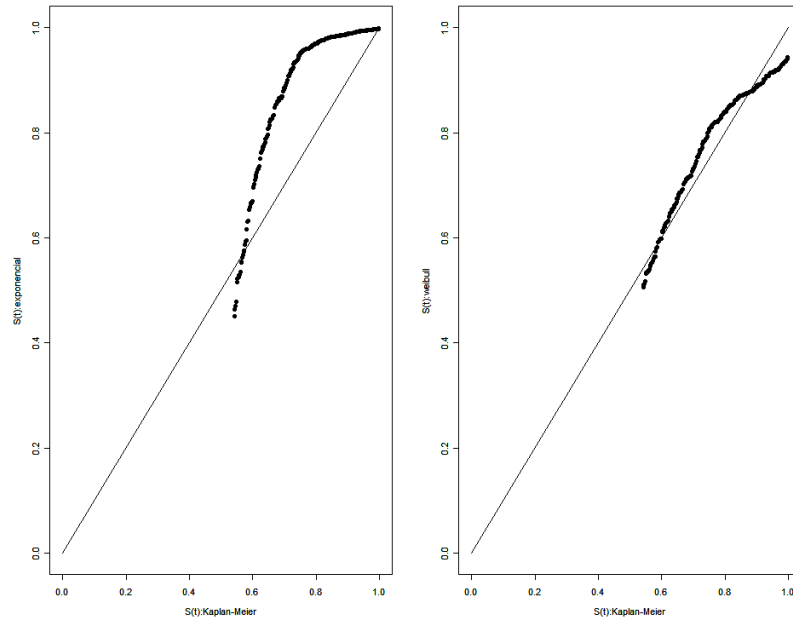


Figura 4. Comparação dos pontos da função de sobrevivência estimada pelo modelo exponencial (a) e de Weibull (b) com a função de sobrevivência obtida pelo estimador de Kaplan-Meier (reta).

Assim, as análises foram realizadas no *software* Survival Kit (SK), utilizando-se a distribuição de Weibull. Os efeitos das covariáveis fixas mês aninhado em ano de nascimento (MAN) e idade da ave foram significativos ($p < 0,05$). Os dados censurados corresponderam a 54,35%, ou seja, do total de 506 registros de CRS de perdizes, 271 aves não chegaram ao quarto quadrante.

Segundo os resultados que descreveram a função de risco base, o valor do parâmetro de forma de Weibull (ρ) obtido foi de 0,45, indicando o aumento do risco da ave se aproximar de seu conspecífico conforme avançou o tempo de observação de CRS. A média geral do tempo de falha, ou seja, o intercepto ($\rho \ln \lambda$) foi igual a -5,89.

A variância de reprodutor foi 0,085 sendo possível a aplicação da fórmula de Yazdi et al. (2002) para estimar a herdabilidade de CRS, que foi igual a 0,31, valor moderado, sugerindo a presença de ação gênica aditiva e que indicaria que a seleção poderia alterar a média fenotípica da população nas gerações futuras. A confiabilidade predita da avaliação genética pelo modelo de Weibull (R_{weibull}) também foi bastante alta (0,95), indicando que a seleção para CRS seria efetiva. Entretanto,

como a variância estimada pelo modelo reprodutor foi utilizada para o cálculo da estimativa de herdabilidade e, para tanto, a variância genética obtida deve ser multiplicada por 4 (parentesco entre meio-irmãos = $\frac{1}{4}$), a estimativa de 0,31 pode estar inflada por componentes não genéticos que possivelmente não foram removidos pelos efeitos fixos incluídos no modelo de análise. Além disso, a análise de sobrevivência não possibilita calcular o erro-padrão associado a herdabilidade, mas, há indícios de ser alto devido ao efeito de reprodutor não ter sido significativo no modelo de Cox, evidenciando não haver diferenças genéticas entre os pais.

A Tabela 3 contém um resumo das estimativas dos parâmetros pelo modelo de sobrevivência de CRS.

Tabela 3. Parâmetros genéticos estimados do tempo para reintegrar (CRS) de perdizes (*Rhynchotus rufescens*), utilizando análise de sobrevivência.

Parâmetros	CRS
Herdabilidade	0,31
Intercepto ($\rho \ln \lambda$) e erro-padrão	-5,89 (0,35)
Forma (ρ) da distribuição de Weibull e erro-padrão	0,45 (0,03)
Escala (λ) da distribuição de Weibull	$2,07 \times 10^{-6}$
Confiabilidade predita do modelo de Weibull (R_{weibull})	0,95

A estimativa da herdabilidade para CRS em perdizes foi próxima ao valor encontrado por Mills e Faure (1991), que estimaram valores entre 0,16 e 0,38 para o comportamento de reintegração social em codornas (*Coturnix japonica*).

Segundo Ghaareb e Böhm (2008), o comportamento de reintegração social está correlacionado positivamente com o comportamento de imobilidade tônica (IT), ou seja, aves que permanecem menor tempo em IT tendem a juntar-se com seu conspecífico mais rapidamente. Em outras palavras, aves com menor nível de medo são mais sociáveis manifestando o CRS com maior intensidade.

Todavia, a estimativa de correlação entre os valores genéticos de CRS e IT detectou a inexistência de associação genética aditiva entre as características comportamentais avaliadas em perdizes, sendo o valor estimado igual a 0,0598 ($p = 0,1491$) para o coeficiente de Pearson. Cabe destacar que os valores genéticos dos reprodutores para CRS (Z_i) obtidos pelo modelo de Cox foram muito próximos de zero, ou seja, pouco variáveis, justificando o pequeno valor estimado para a correlação entre os valores genéticos preditos para as duas características.

O coeficiente de Spearman estimado entre os valores genéticos de IT e CRS

foi igual a 0,1095 ($p = 0,0081$), evidenciando fraca associação entre as posições de classificação dos animais.

4. CONCLUSÃO

É possível selecionar perdizes criadas em cativeiro com menor nível de medo a partir de observações da característica imobilidade tônica (IT). Igualmente, se o objetivo for entender melhor os fatores que influenciam o nível de medo, é possível a escolha de animais que permanecem maior tempo em IT por meio da prática da seleção divergente.

O comportamento de reintegração social (CRS) apresentou ação gênica aditiva suficiente para responder à seleção direta, mas, devido a não significância do efeito de reprodutor pelo modelo de Cox, esse aspecto deve ser melhor investigado em futuras pesquisas;

As características CRS e IT não são geneticamente associadas na população de perdizes estudada.

5. REFERÊNCIAS

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

BURNS, M.; DOMJAN, M.; MILLS, A. D. Effect of genetic selection for fearfulness or social reinstatement behavior on adult social and sexual behavior in domestic quail (*Coturnix japonica*). **Psychobiology**, v. 26, p. 249 – 257, 1998.

COLOSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. **Análise de Sobrevivência Aplicada**. 1.ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2006. 370 p.

DUCROCQ, V.; SÖLKNER, J.; MÉSZÁRO, G. The Survival Kit v6.1: **User's Manual**. 2012. 83p.

GHAAREB, K.; BÖHM, J. Fear behaviour, ease of capture and performance traits of growing meat type chickens. **International Journal of Poultry Science**, v.7, p. 1185–1189, 2008.

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.

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

JONES, R.; FACCHIN, L.; McCORQUODALE, C. Social dispersal by domestic chicks in a novel environment: reassuring properties of a familiar odourant. **Animal Behaviour**, v. 63, p. 659–666, 2002.

LAUNAY, F.; MILLS, A.D.; FAURE, J.M. Social motivation in Japanese quail *Coturnix coturnix japonica* chicks selected for high or low levels of treadmill behaviour. **Behavioural Processes**, v. 24, p. 95-110, 1991.

MILLS, A. D., FAURE, J. M. The treadmill test for the measurement of social motivation in Phasianidae chicks. **Medical Science Research**, v. 18, p. 178 - 180, 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, 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.

PELHAITREA, A.; MIGNON-GRASTEUAU, S.; BERTIN, A. Selection for wheat digestibility affects emotionality and feeding behaviours in broiler chicks. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 139, p. 114 - 122, 2012.

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.

SCHÜTZ, K.; KERJE, S.; CARLBORG, Ö.; JACOBSSON, L.; ANDERSSON, L.; JENSEN, P. QTL analysis of a red junglefowl x White Leghorn intercross reveals trade-off in resource allocation between behaviour and production traits. **Behavior Genetics**, v. 32, p. 423 - 433, 2002.

SCHÜTZ, K.; KERJE, S.; JACOBSSON, L.; FORKMAN, B.; CARLBORG, Ö.; ANDERSSON, L.; JENSEN, P. Major Growth QTLs in Fowl Are Related to Fearful Behavior: Possible Genetic Links Between Fear Responses and Production Traits in a Red Junglefowl × White Leghorn Intercross. **Behavior Genetics**, v. 34, p. 121 - 130, 2004.

SÖLKNER, J.; V. DUCROCQ. The Survival Kit: a tool for analysis of survival data. Workshop on Genetic Improvement of Functional Traits in Cattle - Longevity, May 9-

11, 1999, Jouy-en-Josas, France. **Interbull Bulletin**, v. 21, p. 11 – 16, 1999.

WIREN, A., JENSEN, P. A growth QTL on chicken chromosome 1 affects motionality and sociality. **Behaviour Genetics**, v. 41, p. 303 - 311, 2011.

YAZDI, M.H.; VISSCHER, P.M.; DUCROCQ, V.; THOMPSON, R. Heritability, reliability of genetic evaluations and response to selection in proportional hazard models. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.6, p.1563–1577, 2002.