



SAMANTHA MESQUITA FAVORETTO

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS, ULTRASSONOGRÁFICOS E
RADIOGRÁFICOS ÓSSEOS E OCULARES DE NINHEGOS DE
GARÇAS-VAQUEIRAS (*Bubulcus ibis*)**

LAVRAS – MG

2019

SAMANTHA MESQUITA FAVORETTO

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS, ULTRASSONOGRÁFICOS E
RADIOGRÁFICOS ÓSSEOS E OCULARES DE NINHEGOS DE
GARÇAS VAQUEIRAS (*Bubulcus ibis*)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Antônio Carlos Cunha Lacrete Júnior

Orientador

LAVRAS – MG

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Favoretto, Samantha Mesquita.

Aspectos morfológicos, ultrassonográficos e radiográficos
ósseos e oculares de ninhegos de garças-vaqueiras (*Bubulcus ibis*) /
Samantha Mesquita Favoretto. - 2019.

126 p. : il.

Orientador(a): Antonio Carlos Cunha Lacreta Junior.

Coorientador(a): Flademir Wouters.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Morfologia. 2. Aves. 3. Diagnóstico por Imagem. I. Lacreta
Junior, Antonio Carlos Cunha. II. Wouters, Flademir. III. Título.

SAMANTHA MESQUITA FAVORETTO

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS, ULTRASSONOGRÁFICOS E
RADIOGRÁFICOS ÓSSEOS E OCULARES DE NINHEGOS DE
GARÇAS VAQUEIRAS (*Bubulcus ibis*)**

**MORPHOLOGICAL, ULTRASSONOGRAPHIC AND RADIOGRAPHIC
FEATURES OF CATTLE EGRET'S CHICKS (*Bubulcus ibis*)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias para obtenção do título de Doutor.

Aprovada em 20/11/2019

Dr. Carlos Eduardo do Prado Saad	UFLA
Dr. Flademir Wouters	UFLA
Dr. Nelson Rodrigo da Silva Martins	UFMG
Dr. German Arturo Bohórquez Mahecha	UFMG

Dr. Antonio Carlos Cunha Lacrete Junior

Orientador

LAVRAS – MG

2019

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Medicina Veterinária pela oportunidade.

À CAPES e ao CNPQ.

À minha mãe, por ser meu exemplo de vida, batalhadora, excelente profissional e mãe carinhosa e coruja. Obrigada pelo suporte nesse período do doutorado, seja me abrigando em sua casa durante o período que residi em São Paulo, seja me ajudando no cuidado com as crianças em Lavras e mesmo na leitura e correção do texto da tese. Obrigada.

Aos meus filhos e esposo querido por aguentarem dias sem minha presença para que este trabalho se realizasse e por me acompanharem em contagens de garças nos finais de tarde.

À minha irmã Thais pelo apoio e pela compreensão.

À meus orientados de iniciação científica, Renata, Maria Eduarda, Beatriz e Murilo pelo auxílio com a parte prática do trabalho, pelo convívio intenso sob o ninhal, pelas risadas e tombos e por me ensinarem o que é orientar.

Aos Professores Fladimir e Angélica que muito me auxiliaram na confecção deste trabalho e na orientação dos alunos de graduação.

Ao professor Gregório que topou o desafio de orientar o trabalho acerca dos centros de ossificação.

Ao Neilor, técnico do setor de Diagnóstico por Imagem por toda a ajuda com os cadáveres e as radiografias.

Aos residentes que passaram pelo Setor de Diagnóstico por Imagem no período de confecção deste trabalho, obrigada pela ajuda e compreensão.

Ao Grupo de Estudo de Animais Selvagens da UFLA, meus filhos, companheiros e colegas de trabalho tão queridos.

Ao querido mestre e amigo Prof. Antonio Carlos Cunha Lacrete Junior, por ter aceitado a orientação deste trabalho, por fomentar a implantação de um Ambulatório de Animais Selvagens e a criação do Grupo de Estudo de Animais Selvagens. Por ser um exemplo de professor, orientador e gestor dentro da Universidade.

À Universidade Federal de Lavras em especial ao Departamento de Medicina Veterinária por todo suporte na execução deste projeto e todo apoio na implantação do serviço de atendimento de animais selvagens.

À todos que participaram e contribuíram para execução deste trabalho, meu muito obrigada.

RESUMO GERAL

A garça-vaqueira é uma espécie cosmopolita, no entanto ainda há lacunas na literatura sobre o desenvolvimento de seus filhotes e mesmo sobre parâmetros morfológicos em animais adultos. Sabe-se que a garça-vaqueira é uma espécie semi-altricial, dependendo dos pais nos seus primeiros 50 dias de vida. Os filhotes começam a andar pelos galhos com 14 dias e saem do ninho aos 30 dias. Durante este período ocorre seu desenvolvimento ósseo, com a ossificação de seus ossos longos. São escassos os estudos acerca do aparecimento de centros de ossificação pós eclosão em aves e do momento de fechamento da placa epifisária de ossos longos. Foi realizado estudo com animais de uma colônia de pelecaniformes situada em Lavras – Mg. Filhotes de garça-vaqueira que caíam dos ninhos eram recolhidos e radiografados, sendo parte dos animais utilizados para estudo através de coloração com azul de alciano, alizarina red S, diafanização (n= 13) e radiografias (n=109) para avaliação de seus centros de ossificação com aparecimento pós-eclosão. Relacionou-se o momento de aparecimento dos centros de ossificação pós-eclosão em ossos longos e o fechamento da placa epifisária com o tipo de dependência paternas. A garça-vaqueira apresenta aparecimento dos centros de ossificação pós eclosão e fechamento da placa epifisária em idade precoce quando comparado a espécies precociais. Foi observado no ano de 2015 uma grande quantidade de filhotes caídos dos ninhos (207) e demonstrando osteodistrofia fibrosa. Observou-se também filhotes com lesões cortocontusas sugerindo bicadas. Acredita-se que no ano estudado tenha ocorrido uma falta de alimento em quantidade suficiente e em adequada composição. Entre os anos estudados houve diferença quando da época de início do período chuvoso e da pluviometria média mensal durante o período de reprodução das aves. Foi realizado um terceiro estudo acerca dos parâmetros morfométricos oftálmicos dos filhotes de garças-vaqueiras. Observou-se que os parâmetros morfométricos à macroscopia e a ultrassonografia foram semelhantes aos de outras aves diurnas. A histologia dos olhos se demonstrou semelhante aos de outras espécies aviárias.

Palavras-chave: ossificação, doença osteometabólica, morfologia oftálmica.

GENERAL ABSTRACT

Cattle egret is a cosmopolitan species. There are few studies on the development of cattle egret's chicks and morphology of the species. Cattle egret is a semi-altricial species that depends on its parents for the first 50 days of life. Chicks start walking on the branches within 14 days and leave the nest within 30 days. During this period long occurs. Studies on the presence of post-hatching ossification centers appearance in birds are scarce. This study was realized with animals from a pelecaniform colony located in Lavras - Mg. Cattle egret's chicks that fell from the nests were collected and radiographed. A study to determine post-hatching ossification centers appearance by staining and radiographs was conducted. Timing of post-hatching ossification centers appearance of hind limb bones, and epiphyseal plate closure was related to paternal dependence. Cattle egret post-hatching ossification center appearance and epiphyseal plate closure occurs at an early age compared to precocial species. In 2015, there was a higher number of chicks that fell from the nests and some of them showing fibrous osteodystrophy. Also, some birds exhibit cut-blunt lesions suggesting pecks. It is suggested that in year of the study there was a lack of sufficient food and the food given for the chicks by their parents was with an inadequate composition. Between the years studied there was a difference between the beginning of the rainy season and the average monthly rainfall during the breeding period of the birds that could explain the scarcity of food or of some items such as vertebrates. A third study was performed on the ophthalmic morphometric parameters of the cattle egret's chicks. Macroscopy and ultrasound parameters were similar to other diurnal birds. The histology of the eyes was similar to other avian species.

Keywords: ossification, metabolic bone disease, ophthalmic morphology.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE

1	INTRODUÇÃO.....	1
2.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
2.1	A garça-vaqueira.....	1
2.2	Colonização das Américas pela garça-vaqueira.....	2
2.3	Biologia da garça-vaqueira.....	3
2.3.1	Dieta	3
2.3.2	Biologia reprodutiva	5
2.4	A garça-vaqueira em ambiente urbano.....	7
2.5	Morfologia da garça-vaqueira.....	10
2.6	Osteologia de aves.....	11
2.6.1	Anatomia.....	11
2.6.2	Ossificação de ossos longos.....	12
2.6.3	Remodelamento ósseo.....	16
2.6.4	O osso medular.....	18
2.6.5	Regulação do metabolismo ósseo de aves.....	19
2.6.5.1	Paratormônio.....	20
2.6.5.2	Peptídeo relacionado ao PTH.....	21
2.6.5.3	Calcitonina.....	22
2.6.5.4	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina.....	23
2.6.5.5	Vitamina D.....	24
2.6.5.6	Estrógeno.....	24
2.6.6	Doenças osteometabólicas em aves – Osteopenias.....	25
2.6.6.1	Raquitismo.....	27
2.6.6.2	Osteomalácia.....	29
2.6.6.3	Osteoporose.....	30
2.6.6.4	Osteodistrofia fibrosa.....	33
2.7	Oftalmologia de aves – Morfologia.....	35
2.7.1	Órbita.....	35
2.7.2	Músculo extraoculares.....	36

2.7.3	Pálpebras.....	36
2.7.4	Glândulas.....	36
2.7.5	Bulbo ocular.....	37
2.7.6	Segmento anterior do olho.....	38
2.7.7	Segmento posterior do olho.....	39
3	MATERIAL E METODOS.....	41
3.1	Área de estudo.....	41
3.2	Autorizações.....	41
3.3	Censo populacional.....	41
3.4	Animais.....	42
3.5	Estudo radiográfico.....	42
3.6	Estudo do olho.....	43
3.6.1	Exame ultrassonográfico do globo ocular.....	43
3.6.2	Morfologia microscópica do globo ocular.....	43
3.7	Necrópsias e avaliação histopatológica.....	44
3.8	Estudo dos centros de ossificação com aparecimento pós-eclosão.....	44
3.9	Colheita de material para estudo epidemiológico.....	44
4	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	45
	REFERÊNCIAS.....	46
<u>SEGUNDA PARTE</u>		
ARTIGO 1: OSTEODISTROFIA FIBROSA EM GARÇA VAQUEIRA		
	(<i>Bubulcus ibis</i> - Linnaeus 1758) EM MINAS GERAIS-BRASIL.....	69
1.	INTRODUÇÃO.....	72
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	73
3.	RESULTADOS.....	74
4.	DISCUSSÃO.....	80
	REFERÊNCIAS.....	85
ARTIGO 2: ESTUDO DOS CENTROS DE OSSIFICAÇÃO PÓS		
2.	ECLOSÃO EM GARÇA VAQUEIRA (<i>Bubulcus ibis</i> - Linnaeus 1758):	
	AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA E MORFOLÓGICA.....	89
1.	INTRODUÇÃO.....	92
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	93
3.	RESULTADOS.....	94

4.	DISCUSSÃO.....	98
	REFERÊNCIAS.....	104
	ARTIGO 3: MORFOMETRIA DOS OLHOS DE GARÇAS-VAQUEIRAS	
	(<i>Bubulcus íbis</i>- Linnaeus 1758) FILHOTES: AVALIAÇÃO	
	ULTRASSONOGRÁFICA E MORFOLÓGICA.....	106
1.	INTRODUÇÃO.....	109
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	110
3.	RESULTADOS.....	113
4.	DISCUSSÃO.....	119
	REFERÊNCIAS.....	124

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO

A garça-vaqueira é uma espécie de ardeídeo da ordem dos Pelecaniformes. Suas populações parecem estar em crescimento podendo esta espécie se tornar uma modelo para estudos a serem aplicados a outros ardeídeos com risco de extinção. O conhecimento morfológico e epidemiológico sobre as espécies silvestres nativas é essencial, seja para a prática da clínica veterinária ou mesmo para o estudo de filogenia, comportamento e evolução das espécies. Sendo assim este trabalho teve como objetivo o estudo de ninhegos de uma população de garças-vaqueira (*Bubulcus ibis*) em Minas Gerais a fim de elucidar possíveis alterações patológicas acometendo os animais, e estudos morfológicos e de diagnóstico por imagem nesta espécie de ardeídeo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A garça-vaqueira

A garça-vaqueira pertence à família dos Ardeídeos, antes classificados na ordem Ciconiforme, em 2010 a família passou à ordem Pelecaniformes (CHESSER et al., 2017). A classificação de gênero da espécie também foi por muito tempo debatida, sendo a espécie incluída nos gêneros *Ardea*, *Bubulcus* e *Egretta* (PAYNE; RISLEY; ARBOR, 1976).

Até recentemente reconhecia-se 3 subespécies com base em sua distribuição geográfica e coloração da plumagem reprodutiva: *B. ibis ibis* (Linnaeus 1758) encontrada na África, Madagascar, sul da Europa até o Mar Cáspio e Américas; *B. i. coromanda* (Boddaert 1783) com ocorrência na Ásia e Austrália, Nova Zelândia e Japão e *B. i. seychellarum* (Salomonsen 1934) nas Ilhas Seychelles, Oceano Índico. Em 2018, no entanto, a espécie foi subdividida em 2 espécies: *B. ibis* e *B. coromandus* a última de ocorrência no sudoeste da Ásia e Australásia (FOTOLULU 2018).

A garça-vaqueira é uma espécie originária da África e Europa porém hoje é considerada cosmopolita (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2016). Este ardeídeo tem cada vez mais sido relatado em ambientes urbanos e periurbanos com a utilização destes locais para procura por alimento assim como para nidificação.

2.2 Colonização das Américas pela garça-vaqueira

Encontrada antes apenas na África central e sul e oeste Asiático na região dos trópicos (BROWN; URBAN; NEWMAN, 1982) *B. ibis* se espalhou para outras regiões e continentes no início do século XX. Nas Américas a espécie foi primeiramente avistada na fronteira da Guiana com o Suriname em 1877. Em 1948 a espécie iniciou o estabelecimento de ninhais e a reprodução no continente Sul Americano. Em 1952 *B. ibis* já estava presente nos Estados Unidos (CROSBY, 1972).

No Brasil foi registrada pela primeira vez em 1964 na Ilha de Marajó (SICK 1997). Em 1970 colonizou a região amazônica e em 1973 foi reportada no Rio Grande do Sul (BELTON 1994). Estudos genéticos afirmam que a colonização do Brasil pela garça-vaqueira não ocorreu em apenas uma onda norte-sul. Foi uma colonização aleatória com a região sul tendo sido colonizada antes do Nordeste (CAMPANINI, 2011). Atualmente a espécie ocorre em todo território Brasileiro (SILVA, 2013).

A garça-vaqueira não apresenta comportamento migratório transatlântico e não há registros de garças em embarcações vindas do sudoeste da Europa ou da África ao continente americano. Sendo assim, presume-se que a espécie alcançou o continente voando, em uma migração errática. A garça vaqueira foi classificada primeiramente como migrante parcial (MASSA; DOYLE; CALLICÓ FORTUNATO, 2014; MCKILLIGAN, 1987). Jovens se dispersam mais de 5000 km da área natal (HASAN, 2010) confirmando assim, sua capacidade de voar por longas distâncias. Estudos meteorológicos também corroboram a probabilidade dessas aves voarem até região das Guianas desde a África central e sugerem o auxílio de correntes de vento (MASSA; DOYLE; CALLICÓ FORTUNATO, 2014).

Após sua chegada ao continente americano, sua expansão e crescimento populacional parece estar relacionada à expansão da pecuária. A destruição de florestas no final do século 1800 e a contínua alteração do ambiente para o estabelecimento de bovinos que ocorreu entre 1940 e 1950 resultou em uma disseminação da espécie no continente. Há locais em que se relata crescimento da população de 350% entre 1910 e 1960 (ARENDRT; ARENDRT, 1988).

A relação da garça-vaqueira aos bovinos se dá devido a facilidade de captura dos insetos, suas presas principais, quando da movimentação dos animais pelo pasto. Ao andar, os mamíferos espantam os insetos na forragem que pulam ou voam e assim a ave os captura. A garça vaqueira também tem o costume de forragear sozinha, no entanto quando acompanha bovinos capturam 1,25 a 1,5 mais presas (DINSMORE, 1973; HEATWOLE, 1965). Garças na África central se moviam e se alimentavam próximas a elefantes, rinocerontes e outros grandes

animais, evitando animais como gazelas e girafas (BURGER; GOCHFELD, 1993). Dos animais domésticos já foram vistas forrageando junto a ovelhas, burros e cavalos, no entanto sua relação com os bovinos parece ser a mais comum (SKEAD, 1966). A relação da garça-vaqueira aos bovinos é relatada em todos as suas áreas de ocorrência. É uma relação de mutualismo, tendo sido a garça-vaqueira classificada até mesmo como comensal obrigatória no passado (RICE, 1956).

2.3 Biologia da garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*)

2.3.1 Dieta

A garça-vaqueira é uma espécie predadora, primariamente insetívora (BELLA; AZEVEDO-JÚNIOR, 2007).

Na maioria dos locais de ocorrência a dieta da garça-vaqueira é formada majoritariamente por insetos, com estudos encontrando frequências destes animais em 98% da dieta no Marrocos (VALVERDE, 1955), 89% na África do Sul (SIEGFRIED, 1972), 96% no Mississippi, EUA (HANEBRINK; DENTON, 1969), 89% na Flórida, EUA (JENNI, 1969), 94% na Espanha (HERRERA, 1974) e 97% na Algéria (GHERBI-SALMI; DOUMANDJI; VOISIN, 2012). Dentre os insetos a maioria é da ordem ortóptera, 80,5% do volume total de alimentos na Flórida - EUA (FOGARTY; HETRICK, 1973): 58% em termos de massa na Algéria (GHERBI-SALMI 2012). Na Louisiana- EUA grilídeos compunham 56% da dieta, outros ortópteros 21%, aranhas 10%, dípteros e tabanídeos 9% (BURNS; CHAPIN, 1969). Já na África do Sul, as garças foram encontradas predando lepdópteras (borboletas e mariposas) e anelídeos (SIEGFRIED, 1972).

A dieta também varia sazonalmente e localmente. As garças-vaqueiras possuem comportamento oportunista, se alimentado de qualquer presa disponível. Na Índia observou-se a ingestão de grande quantidade de anelídeos na estação das chuvas (NOVEL KOUR, 2012). No Japão em plantações de arroz irrigadas, observou-se que quando houve escassez de invertebrados, especialmente gafanhotos, as garças se alimentavam de girinos (LANE; FUJIOKA, 1998). Na África do Sul, anelídeos foram 60% em massa da dieta na época das chuvas, entretanto estavam ausentes como constituintes da dieta nos animais analisados no restante do ano. Nas chuvas também se observou a ingestão de lepidópteras. Em termos de frequência na ingesta, no meio da estação das chuvas houve uma frequência semelhante de

aracnídeos, anelídeos, dípteros, coleópteros, e lepidópteros, com menor frequência de ortópteros e vertebrados. Na seca lepidópteros e ortópteros foram os itens mais encontrados nos conteúdos estomacais (SIEGFRIED, 1972). Garças tem sido observadas se alimentando em lixões e aterros sanitários. Nestes locais dípteros compõem 100% da dieta dos animais com predominância para larvas de Muscidae e Calliphoridae (KURANCHIE et al., 2013).

Durante a reprodução observou-se que, a despeito de serem predadores oportunistas, as garças-vaqueiras selecionam as espécies de presas capturadas para alimentar os filhotes. Apesar da disponibilidade de gastrópodes, coleópteros e himenópteros, na Argélia, as garças predaram majoritariamente ortópteros. No entanto, na mesma localização observou-se, quando da seca de um rio, os animais alimentando-se de peixes e lagartos, presas mais disponíveis devido a alteração na quantidade das águas, demonstrando assim sua característica oportunista (GHERBI-SALMI; DOUMANDJI; VOISIN, 2012).

Dentre os ortópteros as famílias mais frequentemente encontradas são Acrididae, Gryllidae e Tettigonidae. MCKILLIGAN (1997) afirma que a ingestão de uma maior quantidade de Acrididae na dieta de filhotes pode predizer o sucesso reprodutivo das garças. Em seu estudo observou que a ingestão de acridídeos tende a ser maior em anos com menor mortalidade de filhotes e ninhadas maiores.

No Brasil em Pernambuco, em estudo mais completo acerca da dieta da garça-vaqueira, ortópteros constituíam 53% do total de itens identificados, 16,3% eram acarinos, 14,6% aranhas e outros invertebrados somaram 13,4%. Registrou-se 2,8% dos itens identificados na dieta sendo vertebrados, com predominância de anfíbios (80%) seguido de lagartos (20%). Apresentaram-se como componentes constantes da dieta ao longo dos meses analisados (época das chuvas), os ortópteros (famílias Tettigonidae, Gryllidae, Acrididae e Romaleidae), as Araneae (famílias Lycosidae e Araneidae), os Acarina (Ixodida), os Amphibios (Leptodactylidae) e os lagartos (Squamata, Scincidae). No entanto os ortópteros foram os itens mais frequentes independentemente do mês estudado constituindo quase que 100% em frequência nos meses de setembro e outubro (BELLA, 2003).

Bubulcus ibis é avistada normalmente próximo a bovinos e outros ungulados quando em alimentação. Quando junto ao bovino, para sua alimentação, as garças examinam pernas, flanco e cabeça em busca de moscas e muitas vezes pousam sobre o dorso do animal (HANEBRINK; DENTON, 1969). No entanto conseguem um maior número de presas através do acompanhamento dos passos do bovino, alimentando-se dos insetos que se levantam sobre o capim após o pisoteio.

O método de forrageio mais comum das garças-vaqueiras é a captura em campo aberto. A ave mantém a cabeça e o pescoço recuado e a cada passo os avança os mesmos à frente do corpo. À medida que as presas são visualizadas a garça movimentada subitamente a cabeça para frente e agarra o alimento da vegetação ou do solo. As garças em forrageamento estão sempre alertas e muitas vezes param para espiar sob as folhas ou o chão, aparentemente tentando localizar um item suspeito (DINSMORE, 1973). Seus olhos lateralizados mantem um campo extenso de visão sob e sobre o bico (180°) e um bom campo de visão binocular (campo de visão do tipo 1) facilitando a identificação do inseto entre a vegetação (KATZIR; MARTIN, 1994).

As garças costumam forragear sozinhas; em grupos; com bovinos na associação de uma garça para um bovino; e em grupo com um bovino. Garças com acompanhamento exclusivo do bovino alcançavam uma maior eficiência no forrageamento e capturavam mais presas por minuto do que aquelas forrageando longe do gado ou aquelas que dividem um bovino (MUKHERJEE, 2013).

2.3.2 Biologia Reprodutiva

Os ardeídeos formam colônias mistas ou monoespecíficas na época de reprodução (RAJNEESH DWEVEDI, ANIKET KUMAR, 2014; RANGLACK; ANGUS; MARION, 1991; SAMRAOUI; MENAÏ; SAMRAOUI, 2007; SI BACHIR et al., 2011).

São relatadas colônias mistas com *B. ibis*, *E. garzetta*, *Ardea melanocephala*, *Anastomus lamelligerus*, *Phalacrocorax africanus*, *Ardea purpurae*, *E. intermedia*, *Nycticorax nycticorax*, *Casmerodius albus* (BURGER, 1985; SAMRAOUI; MENAÏ; SAMRAOUI, 2007; TOLOA et al., 2017).

No Brasil *B. ibis*; *Ardea alba*; *E. thula*, *E. caerulea*; *N. nycticorax*, *Tigrisoma lineatum*, *Butorides striata* na Paraíba (ARAUJO; NISHIDA, 2007), apenas *B. ibis*, *Ardea alba*, *E. thula* na Paraíba (NASCIMENTO, 1999) e *B. ibis*, *E. thula*, *N. nycticorax*, *Phimosus infuscatus*, *Plegadis chihi* no Rio Grande do Sul (PETRY; DA SILVA FONSECA, 2005; SCHERER, 2010).

Os indivíduos de garça-vaqueira iniciam a reprodução quando atingem 1 ano de idade, sendo considerada uma espécie precoce (WESTERSKOV, 1974). Constroem ninhos com todos os tipos de materiais disponíveis tanto elementos vivos como mortos (ARENDRT; ARENDRT, 1988). Os ninhos são estratificados verticalmente na colônia. Em colônias com múltiplas

espécies observa-se que aves maiores constroem seus ninhos em locais mais altos na vegetação (BURGER; GOCHFELD, 1983), no entanto, outros autores pressupõem que os primeiros indivíduos a chegar na colônia reprodutiva, independente da espécie e de seu tamanho, possam escolher os locais para construção de seus ninhos (NAUGLE et al., 1996). A garça vaqueira também parece ser mais agressiva que outras espécies de ardeídeos e pode assim se apoderar de ninhos de outras espécies (BURGER 1982).

B. ibis apresenta comportamento sazonal de reprodução: na Austrália (MCKILLIGAN, 1987), e na Flórida, a reprodução ocorre de abril a agosto (RODGERS, 1987). A reprodução ocorre de abril a julho na Espanha (PROSPER; HAFNER, 1996) e na Itália (DRAGONETTI; GIOVACCHINI, 2009), de março a julho (KOUR; SAHI, 2013; PATANKAR et al., 2007), e junho a agosto no norte da Índia; na região sul deste mesmo país, a reprodução ocorre de novembro a fevereiro (KOUR; SAHI, 2013). O comportamento reprodutivo é verificado de março a maio no Irã (ASHOORI; BARATI, 2013) e abril a agosto no Paquistão (ABDULLAH et al., 2017). O início da reprodução parece estar vinculado ao início da época de chuvas (SKEAD, 1966; WEBER, 1975).

No Brasil é relatada sazonalidade reprodutiva nos estados de São Paulo (agosto a fevereiro – (TOLEDO, 2000), Rio Grande do Sul (BELTON, 1994) e na Bahia (junho a novembro – (FREITAS; FRANÇA, 2009). No estado do Rio de Janeiro é observada a reprodução de forma ininterrupta da espécie (SICK, 1997), assim como no estado de Pernambuco e na Paraíba, próximos a linha do Equador (CARDOSO et al., 2014; NASCIMENTO 1999; BELLA, 2003). Sugere-se que locais onde haja pouca influência de temperatura haja o ambiente propício para que a ave se reproduza ao longo do ano.

A garça vaqueira apresenta dois períodos de reprodução dentro de uma mesma estação reprodutiva por ano (LOWE-MCCONNELL, 1967). Ovipõe com um intervalo de 2 dias, o período de incubação é de 21- 24 dias (WEBER, 1975). A média de ovos de cada ninho é de 2,5 a 3,5 ovos (HILALUDDIN; SHAH; SHAWL, 2003; KOUR; SAHI, 2013; RANGLACK; ANGUS; MARION, 1991; SAMRAOUI; MENAÏ; SAMRAOUI, 2007; SI BACHIR et al., 2012). No entanto, a média de filhotes que sobrevivem e saem do ninho ao final do período de cuidados dos pais é de 1,4 a 2 filhotes (KOUR; SAHI, 2013; RANGLACK; ANGUS; MARION, 1991; SAMRAOUI; MENAÏ; SAMRAOUI, 2007). Em ninhos onde foi observada a eclosão de 3 ovos o último filhote raramente sobrevive (WEBER, 1975). Blaker (1969) observou que o terceiro ou quarto filhote normalmente morre de inanição antes dos 10 ° dia após a eclosão.

A garça vaqueira é uma espécie semi-altricial. Seus filhotes nascem cobertos de plumas e com os olhos abertos, porém incapazes de se mover e sem controle sobre a posição da cabeça (DENIS et al., 2003).

Os pais de garça-vaqueira ensinam o filhote a se alimentar logo após a eclosão. Os pais tocam o bico do filhote com o bolus de alimento para o estimular a pegá-lo. Oferecem novas porções a cada 2 a 5 minutos até que o filhote recuse o alimento. O segundo filhote aprende a comer por imitação do primeiro. Com 4 a 5 dias os filhotes já encostam no bico dos pais e pedem por comida (WEBER, 1975). Filhotes com 14 dias já tentam se aventurar em áreas ao redor do ninho, começam a explorar novos ambientes (BLAKER, 1969; SIEGFRIED, 1972; WEBER, 1975). Com 5 semanas os filhotes já apresentam tamanho de um adulto (WEBER, 1975) e deixam o ninho.

Garças vaqueiras apresentam longevidade de 23 anos (KOPIJ, 2017).

2.4 A garça vaqueira em ambiente urbano

A ocupação de ambientes urbanos para alimentação pela garça vaqueira não é um evento novo. Já foi relatada sua presença em aterros e áreas de depósito de lixo em Uganda (ANNORBAH; HOLBECH, 2012; DEAN, 1978), em Ghana (KURANCHIE et al., 2013) nos EUA (BURGER; GOCHFELD, 1983), na Índia (PRAKASH MEHRA et al., 2017; SEEDIKKOYA; AZEEZ; SHUKKUR, 2013; TULJAPURKAR; BHAGWAT; NAGAR, 2007), em Sri Lanka (JAYARATNE, 2016), Israel (LESHEM; RONEN, 1998), Espanha (BÁRBARA et al., 2017; DUARTE et al., 2011) e no Brasil (BARBOSA-FILHO et al., 2009).

As aves parecem preferir locais onde há a presença de aterros. A oferta de larvas de insetos em grande abundância associada ao baixo gasto de energia que é demandada nestes ambientes para sua alimentação (SEEDIKKOYA; AZEEZ; SHUKKUR, 2013) tem feito dos aterros e depósitos de lixo, locais cada vez mais frequentes de forrageamento. Garças-vaqueiras predam de 100 a 150g de larvas de dípteros por dia em lixões, podendo atuar como um agente de biocontrole nestes locais. Na Índia as principais espécies predadas foram larvas de mosca doméstica (*Musca domestica*) e varejeira (*Calliphora sp.*) (India – (SEEDIKKOYA; AZEEZ; SHUKKUR, 2013), na África além das duas espécies citadas encontrou-se também moscas das flores (Syrphidae sp.) no conteúdo gástrico de garças (KURANCHIE et al., 2013). Apesar da

dieta predominantemente insetívora da garça vaqueira, na Flórida a espécie foi observada se alimentando também de restos de alimentos (BURGER; GOCHFELD, 1983). Tem sido observada a presença de garças vaqueiras em locais próximos a peixaria. No Chile foi relatada competição por restos de pescado entre garças, chimangos e gaivotões (SAZIMA, 2017), no entanto, em outros locais argumenta-se se estes animais estão se alimentando também das larvas de moscas presentes nos restos de peixe (YORIO et al., 2002).

Outro local frequente de ocupação da garça vaqueira para alimentação e onde exerce seu comportamento sinantrópico são os aeroportos. A pastagem aberta associada ao constante corte de grama utilizando-se máquinas roçadeiras motorizadas, expõe grandes quantidades de insetos (BARBOSA-FILHO et al., 2009). A presença de garças em aeroportos já foi relatada no Havaí (FELLOWS; C PATON; PATON, 1988), e em Nova York nos EUA (BURGER, 1985), na África do Sul (VILJOEN; BOUWMAN, 2016) no Kenya (OWINO; BIWOTT; AMUTETE, 2004), na Coreia do Sul (PARK et al., 1996) no Rio de Janeiro e Recife (NASCIMENTO et al., 2005), em Fernando de Noronha - PE (BARBOSA FILHO 2009), em Belo Horizonte - MG (CARVALHO et al., 2016), e em Parnaíba- PI (CARDOSO et al., 2014). Sua presença em aeroportos tornou-se um problema devido a colisão com aeronaves (GOLLER et al., 2018).

Além do uso de zonas urbanas e periurbanas para alimentação, a garça vaqueira também tem nidificado em cidades. Áreas com presença de água e vegetação como é o caso de parques, ou Universidades tem atraído estes animais. Em Kampala, Uganda, cidade com aproximadamente 1,5 milhões de habitantes, foram contabilizados 5 ninhais de garça vaqueira, o total da população em ambiente urbano alcançou 16.000 indivíduos (TOLOA et al., 2017). Na Índia a espécie foi encontrada nidificando no distrito industrial, em área paisagística (PATANKAR et al., 2007). Foram observados em parque junto a um lago em zona urbana na capital do Paquistão (MALIK; ZEB, 2009) e em zona urbana nas Ilhas Virgens Americanas (MCNAIR, 2007). No Brasil estudos científicos constataram a presença de ninhais em ilhas de lagos em parques em zona urbana em Rio Claro-SP (ATHIÊ; DIAS, 2010) e em Jaboticabal-SP (RODRIGUES; ASSIRATI, 2010), e em zona urbana de Porto Alegre-RS, em local que antes abrigava um aterro sanitário (SCHERER et al., 2006). No entanto, tem-se notícias de ninhais em outras cidades pelo país (GURGEL, 2017).

A garça-vaqueira tem avançado sobre novos ambientes, rurais ou urbanos com facilidade. A espécie também sofre baixa pressão de predação o que pode influenciar em seu aumento populacional. Rapinantes e felinos já foram relatados como predadores de garças

vaqueiras nos Estados Unidos (GRANZINOLLI; MOTTA, 2006; LAYNE; LOHRER; WINEGARNER, 1977) e corvos (*Corvus splendens*) predam ovos e filhotes na Índia (PATANKAR et al., 2007). No entanto, a predação acarreta perda de poucos indivíduos dentro de uma colônia, não influenciando a dinâmica populacional: na Argentina, mesmo a predação de ovos e filhotes não teve efeito no tamanho da ninhada e no número final de filhotes no ninho (TORRES; MANGEAUD, 2006).

A espécie se espalhou pelo mundo nas últimas décadas tornando-se cosmopolita, estudos em ambientes insulares, apontam para o crescimento exponencial das populações seja em área urbana ou rural (ARENDRT; ARENDRT, 1988; NUNES et al., 2010). Nas áreas urbanas a oferta constante de alimento, a presença de abrigos e a baixa pressão de predadores faz das cidades ambiente ideal para o estabelecimento e mesmo expansão populacional da espécie.

O estabelecimento de populações em zona urbana intensifica ainda mais o comportamento sinantrópico de garças-vaqueiras seja para alimentação, busca por abrigo ou estabelecimento de ninhais para a reprodução, o que pode trazer riscos à população humana. Nos Estados Unidos a espécie é classificada como migratória e sob proteção. Entretanto, ninhais de garça vaqueira causam devastação em áreas onde são estabelecidos, poluição sonora devido a vocalização das aves e atividades de voo, e odor fétido emitido pelo acúmulo de fezes, carcaças e ovos em decomposição (GRANT; WATSON, 1995). Colisões com aeronaves, destruição de flora sob os ninhais, risco de transmissão de doenças zoonóticas tornam necessários maiores conhecimentos sobre a biologia, anatomia, e enfermidades da espécie. Com sua presença mais frequente no meio urbano, também se torna mais frequente o atendimento de indivíduos dessa espécie em Ambulatórios e clínicas de animais selvagens, corroborando a necessidade de maiores estudos sobre a espécie para a realização da prática clínica veterinária.

2.5. Morfologia da garça-vaqueira

A garça vaqueira é a mais terrestre de sua família. O gênero se sustenta por especializações ecológicas e comportamentais. Sua morfologia não difere de outros ardeídeos como *Egretta* sp. e *Ardeola* sp. (SILVA, 2011). Não há dimorfismo sexual, havendo diferenças apenas entre juvenis e adultos, e adultos em época de reprodução. O adulto não reprodutivo é

totalmente branco, com o bico, íris e tarsos amarelos e dedos pardacentos. As pernas são ardósia esverdeada que à distância se assemelha a preto, as solas dos pés são ocre (BELLA, 2003). Na época de reprodução os adultos apresentam penas no peito e costas cor de ferrugem, bico e pernas fortemente avermelhados (SICK 1997).

Entre as características mais marcantes dessa família estão o pescoço e as pernas longos, o bico quase sempre reto, longo forte, mais alto que largo e pontiagudo (SILVA, 2011). Durante a época de reprodução as garças dos gêneros *Ardeola* e *Bubulcus* exibem plumas especiais tornando-as mais belas, são penas filamentosas alongadas com aspecto de pelos com as barbas livres (HANCOCK; KUSHLAND, 1995). Os ardeídeos possuem áreas no corpo chamadas de plumas de pó, que com seu pó auxiliam na impermeabilização das penas da mesma maneira que a secreção oleosa da glândula uropigiana (BOCK, 1956).

Como particularidade osteológica marcante nos ardeídeos encontramos particularidades funcionais na estrutura da coluna cervical principalmente entre as vertebrae C5 e C8, responsáveis pela flexão e extensão do pescoço, movimentação importante na captura de presas. As vertebrae cervicais nesta região apresentam expansão caudal nas pós-zigapófises (SILVA, 2011).

Estudos recentes têm detalhado a morfologia de *B. ibis*. A osteologia de *B. ibis* diferencia-se de *Ardeola* pelas fossas temporais bem separadas, pela morfologia dos lacrimais e diferentes proporções dos membros (SILVA, 2011). Descrição acerca do esqueleto apendicular e axial confirmam semelhanças com outras espécies da família. Estudos acerca da articulação quadratomandibular também foram realizados (HASSAN, 2012).

O estômago de garças-vaqueiras consiste em três partes: o proventriculo, o ventrículo e a parte pilórica. O trato gastrointestinal se continua com a alça duodenal, jejuno, íleo, ceco, colórectum e cloaca, estando bem caracterizado através de estudos de macroscopia e microscopia (HUSSEIN; REZK, 2016), descrição detalhada da artéria celíaca (KHALIFA, 2014) e da morfologia da orofaringe (MOUSSA; HASSAN, 2013).

2.6 Osteologia de aves

2.6.1 Anatomia

Há vários aspectos particulares do esqueleto de aves. É um esqueleto muito mais leve que o de mamíferos, grande parte de seus ossos contem ar em vez de medula óssea. (DONELEY, 2004).

O número de vértebras varia entre as espécies, principalmente de vertebras cervicais sendo observadas de onze a vinte e três vértebras (COLVILLE; BASSERT; COLVILLE, 2009). O atlas é um pequeno anel que se articula por uma depressão em seu arco ventral com o único côndilo occipital. O número de vértebras torácicas varia: em frangos, observa-se de três a dez (DYCE; SACK; WENSING, 2009). Muitas aves possuem as primeiras três a cinco vertebras torácicas fusionadas para formação do notário. Costelas estão presentes e se dividem em duas partes: vertebral e esternal. O esterno é um osso grande e não segmentado e possui uma quilha proeminente em carinatas (DYCE; SACK; WENSING, 2009).

O cingulo torácico é formado por coracóide, clavícula e escápula. As clavículas se fusionam ventralmente para formar a fúrcula. A escapula é fina e curva, se situa lateral e dorsalmente ao tórax. Os coracóides são o osso mais robusto do cingulo, estão direcionados ventral e caudalmente para articular-se ao esterno (FEDUCCIA, 1986).

O úmero é pneumatizado, a ulna é mais desenvolvida que o rádio. Há uma grande redução dos ossos do carpo em comparação à mamíferos. O carpometacarpo representa três elementos fundidos, os metacárpicos II, III, IV. O metacárpico II é uma pequena projeção no lado radial do carpometacarpo; o III e IV são elementos longos que se fundem em suas extremidades distais e formam entre si um espaço interósseo. O terceiro dígito é o maior e contem normalmente duas falanges (FEDUCCIA, 1986).

O cingulo do membro pélvico é composto pelo osso coxal, formado por ílio, ísquio e púbis sinostosados entre si e ao sinsacro. O sinsacro é a fusão das últimas vértebras torácicas junto as vertebras lombares, sacrais, e primeiras vértebras caudais. O sinsacro é seguido por cinco ou seis vértebras caudais livres e caudalmente pelo pigóstilo composto por vários rudimentos fusionados (DONELEY, 2009).

A presença de patela varia entre espécies. O tibiotarso é o maior dos ossos da perna. É caracterizado por dois côndilos proximais para articulação com o fêmur e pelas grandes cristas cnemiais. A tíbia é fusionada com a primeira fileira dos ossos do tarso para formar o tibiotarso. A fíbula se estende caudalmente ao longo de dois terços do tibiotarso ao qual se funde. O tarsometatarso é formado por ossos metatársicos II, III e IV que se fundem a fileira distal dos tarsos. Distalmente o tarsometatarso apresenta três grandes trócleas para articulação com os

dígitos II, III e IV. Na extremidade distal do tarsometatarso, plantarmente, está localizado o primeiro metatársico que serve para articulação do dedo I, o hálux, que consiste de duas falanges. Os dígitos II, III e IV possuem três, quatro e cinco falanges respectivamente (FEDUCCIA, 1986)

2.6.2 Ossificação de ossos longos

A formação dos ossos longos se inicia com a ossificação pericondral – formação de osso diretamente do tecido conjuntivo. Condrócitos na região da diáfise se hipertrofiam e iniciam a deposição de osteóide abaixo no pericôndrio, forma-se primeiramente uma lamina óssea que se une e forma um cilindro compacto e fino, o anel ósseo. Esse cilindro aumenta em espessura e se torna altamente vascularizado formando então as trabéculas ósseas. Com a progressão da ossificação o colar ósseo avança ao longo da diáfise em direção as extremidades ósseas. Ossos longos das aves não possuem vascularização da cartilagem primária antes da mineralização (NOWLAN et al., 2007).

Após a formação do anel ósseo o crescimento de ossos longos ocorre por ossificação endocondral. Inicialmente ocorre a deposição de cartilagem, sendo esta posteriormente degradada devido a calcificação e invasão de células formadoras de ossos. Esse processo de geração e degeneração ocorre nas extremidades dos ossos longos, na placa de crescimento epifisária (PINES; HURWITZ 1990).

A placa epifisária das aves possui quatro zonas da epífise à medula: zona de proliferação, prehipertrofica, hipertrofica e ossificação (Fig.1) (SCHMIDT et al., 2003; MARTIN; RITCHIE, 1994).

Na zona de proliferação, condrócitos com fenótipo de fibroblastos, se diferenciam em condrócitos proliferativos (Fig.2). Essas células se multiplicam e formam colunas de células achatadas e empacotadas próximas umas às outras dentro de uma matriz extracelular secretadas pelos condrócitos que contem alta concentração de colágeno do tipo II. Essa zona de proliferação de condrócitos é preenchida por capilares epifiseais. Essas células gradualmente se tornam mais separadas dentro de suas colunas a partir da secreção de mais matriz e então iniciam sua diferenciação em seu estado hipertrófico. Elas se tornam redondas e começam a

secretar um novo componente de matriz, o colágeno tipo X (FARQUHARSON; JEFFERIES, 2000).

Além do colágeno, os condrócitos secretam outros componentes da matriz como proteoglicanos e fatores de crescimento. Esses componentes da matriz e fatores de crescimento regulam o desenvolvimento dos próprios condrócitos (WHITEHEAD, 2004).

Entre a zona proliferativa e a hipertrófica há uma camada avascular de condrócitos. A zona hipertrófica recebe suprimento sanguíneo de vasos metafisais. A formação do osso se inicia na parte inferior da zona hipertrófica. Condroclastos reabsorvem matriz e condrócitos hipertrofiados secretam fosfatase alcalina que ajuda a iniciar a formação dos cristais de hidroxiapatita, o mineral ósseo. Os condrócitos então sofrem apoptose e são reabsorvidos. A fosfatase alcalina é essencial para a mineralização, sua inibição interrompe o processo de calcificação (REGISTER; WARNER; WUTHIER, 1984). Apesar de a fosfatase alcalina ativa estar presente no processo de calcificação, a fosfatase alcalina inativa está presente em todas as zonas da fise, o que indica a necessidade de sua ativação para a mineralização da placa de crescimento (ANDERSON; DANYLCHUK, 1980; DE BERNARD et al., 1986).

Após a apoptose de condrócitos, os osteoblastos, células de formação do osso, formam as células precursoras da medula óssea. Houve uma longa discussão acerca da origem dos osteoblastos. Roach (1997), observou que em aves condrócitos se diferenciam em células formadoras de osso.

Osteoblastos são células cuboidais localizadas na superfície óssea (FLORENCIO-SILVA et al., 2015) responsáveis pela produção da matriz óssea de fibrilas de colágeno tipo I e aumentam a concentração de íons cálcio e fósforo que resultam na formação dos cristais de hidroxiapatita dentro e envolta da matriz (FARQUHARSON; JEFFERIES, 2000). Células responsáveis pela reabsorção óssea, osteoclastos, também estão ativas nessa área e o remodelamento ósseo, ações de reabsorção osteoclástica seguida de formação de osso por osteoblastos, resulta no desenvolvimento de uma rede de osso trabecular (MARTIN; RITCHIE, 1994). Esse é um osso baseado em uma estrutura irregular de fibrilas. Com o alongamento do osso por proliferação contínua de condrócitos na região distal da placa de crescimento seguido da hipertrofia e mineralização mais a frente, a rede trabecular é reabsorvida para formação da cavidade medular (PINES; HURWITZ 1990).

A mineralização da matriz óssea ocorre em duas fases: a vesicular e a fibrilar. A fase vesicular ocorre quando vesículas são liberadas da membrana apical dos osteoblastos e se ligam

a proteoglicanos e outros componentes orgânicos na recém-formada matriz. Devido a sua carga negativa os proteoglicanos sulfatados mobilizam íons cálcio que são guardados dentro das vesículas (ARANA-CHAVEZ; SOARES; KATCHBURIAN, 1995; YOSHIKO et al., 2007). Neste mesmo momento, componentes contendo fosfato são degradados pela fosfatase alcalina secretada pelos osteoblastos liberando íons de fosfato dentro das vesículas. Fosfato e cálcio se nucleiam e formam os cristais de hidroxiapatita (GLIMCHER, 1998).

A fase fibrilar ocorre quando há supersaturação de cálcio e fosfato dentro das vesículas levando a ruptura das mesmas e liberação dos cristais na matriz (BOIVIN et al., 2008).

A matriz se torna mineralizada porem sempre há uma fina camada de matriz não mineralizada que separa os osteoblastos do osso.

Os ossos longos se alargam por um processo que envolve a ossificação intramembranosa. Os osteoblastos desenvolvem-se no pericôndrio e produzem espículas de osso que formam uma rede de ossos com cavidades revestidas por osteoblastos. Essas cavidades são gradualmente preenchidas por osteoblastos que secretam continuamente camadas concêntricas de osso cortical lamelar. Na superfície endosteal, os osteoclastos reabsorvem o osso, de modo que o osso se alarga como um anel expansivo com formação óssea na superfície externa e reabsorção na superfície interna (WHITEHEAD, 2004)

Outra função dos osteoblastos é a regulação da reabsorção óssea pelos osteoclastos. Osteoblastos possuem receptores para os maiores agentes sistêmicos de reabsorção óssea (FLORENCIO-SILVA et al., 2015). Osteoblastos expressam receptores para vários mediadores como metabolitos da vitamina D, paratormônio, peptídeo relacionado ao paratormônio, esteroides gonadais e adrenais assim como fatores de crescimento e citocinas (HESTER, 2017). Alguns destes agentes estimulam osteoblastos a convocar os osteoclastos para a aumentar a atividade de reabsorção óssea. Adicionalmente enzimas de degradação da matriz produzida pelos osteoblastos podem contribuir para o início da reabsorção óssea (FLORENCIO-SILVA et al., 2015).

Os osteoclastos são responsáveis pela reabsorção óssea no remodelamento ósseo (TULLY, 2002). São células multinucleadas altamente diferenciadas que se originam de células mononucleares da linhagem de células tronco hematopoiéticas. Os osteoclastos digerem a matriz orgânica e inorgânica do osso através da ação de prótons e proteinases e transportam cálcio ionizado do osso a sua membrana basolateral (KIM et al., 2012).

Os osteoclastos ainda desempenham outras funções, como a produção de fatores chamados clastocinas que controlam osteoblastos durante o ciclo de remodelamento (CHARLES; ALIPRANTIS, 2014).

Totalizando 90-95% das células dos ossos estão os osteócitos, estão localizados em uma lacuna envolta pela matriz óssea mineralizada acoplada a ela através de morfologia dendrítica (DALLAS; PRIDEAUX; BONEWALD, 2013). A morfologia do osteócito difere de acordo com o tipo de osso. Os osteócitos possuem processos citoplasmáticos, mais que 50 por célula, que formam pequenos túneis em espaços chamados canalículos formando o sistema laculocanicular dos osteócitos. Esses processos são conectados ao osteócito vizinho por junções gap, assim como se conectam a processos dos osteoblastos e células na superfície óssea. Esse sistema também está próximo ao suprimento sanguíneo, facilitando a nutrição dos osteócitos. O sistema laculocanicular dos osteócitos é responsável pela detecção mecânica de forças e pressão com os osteócitos atuando como mecanossensores (ROCHEFORT; PALLU; BENHAMOU, 2010). Devido a esta ação, os osteócitos podem atuar como maestros do remodelamento ósseo através da regulação da atividade de osteoblastos e osteoclastos (DALLAS; PRIDEAUX; BONEWALD, 2013).

As células de superfície óssea são osteoblastos quiescentes que recobrem a superfície óssea onde não correm formação nem reabsorção óssea. Possuem atividade secretória que depende do estado fisiológico do osso, sua função não está totalmente elucidada mas sabe-se que atuam na prevenção da interação direta entre osteoclastos e a matriz óssea e atuam na diferenciação de osteoclastos e junto com outras células formam as unidades básicas multicelulares ou BMU atuando no ciclo de remodelamento (FLORENCIO-SILVA et al., 2015).

O crescimento ósseo de ossos longos com ossificação endocondral e apenas um centro de ossificação ocorre em úmero, rádio, ulna e fêmur. O tibiotarso parece seguir o padrão de ossificação presente em mamíferos. Em mamíferos a maioria dos ossos possui um ou mais centros secundários de ossificação. A formação é similar a ossificação endocondral, com a proliferação ocorrendo em todas as direções até o crescimento pleno. O centro epifiseal é recoberto distalmente pela cartilagem hialina articular e proximalmente pela placa epifisária ou fise até a maturidade (MARTIN; RITCHIE, 1994).

Em espécies aviárias, o principal regulador do crescimento ósseo pós-eclosão é o hormônio do crescimento (TULLY, 2002). Sugere-se que o efeito do hormônio de crescimento no osso ocorre através de aumentos indiretos na produção de factor de crescimento hepático

semelhante a insulina 1 (IGF-1). Receptores para IGF-1 são encontrados predominantemente nos condrócitos proliferantes, mas a maior concentração destes receptores está nas células não diferenciadas (LINDAHL et al., 1987). Além de seu efeito na proliferação de condrócitos, o IGF-1 também estimula a síntese de matriz de colágeno e proteoglicanos. Outros agentes que participam no desenvolvimento da placa de crescimento incluem fator de crescimento de fibroblastos e fator de crescimento transformador beta, ambos sinergicamente estimulam a proliferação e diferenciação de condrócitos (CRABB et al., 1990).

2.6.3 Remodelamento ósseo

O remodelamento ósseo é um ciclo complexo que ocorre através da ação de osteoblastos, osteócitos, osteoclastos e células de superfície. Moléculas como fatores de crescimento, citocinas e prostaglandinas produzidas pelas células ósseas assim como fatores da matriz óssea, atuam localmente nesta fase como fatores autócrinos e parácrinos. Os fatores sistêmicos incluem paratormônio, peptídeo relacionado ao paratormônio, calcitonina, calcitriol, glicocorticoides, andrógenos e estrógenos (FLORENCIO-SILVA et al., 2015)

O remodelamento ósseo ocorre através da ação das unidades básicas multicelulares (BMU), estruturas anatômicas temporárias. Estas unidades são um grupo de osteoclastos a frente formando a zona de corte e um grupo de osteoblastos atrás formando a zona de fechamento associados aos vasos sanguíneos e inervação periférica (MATSUO; IRIE, 2008).

O ciclo de remodelamento ósseo pode ser dividido morfológicamente em: ativação, reabsorção, reversão e formação (PARFITT, 1976). O ciclo se inicia com a ativação. Apesar de não identificado o sinal exato para que ocorra a ativação, acredita-se que a retração de células de superfície ósseas, que normalmente recobrem superfícies inativas do osso seja um evento crucial (MILLER et al., 1989). Com a exposição mineral aos osteoclastos multinucleados, inicia-se a reabsorção óssea em unidades (PARFITT, 1976).

Para reabsorção, os osteoclastos se polarizam, e então quatro tipos de domínio de membrana destas células podem ser observados: a zona de selamento e a borda em escova – que estão em contato com a matriz, os domínios basolateral e de função secretória. A polarização envolve o rearranjo do citoesqueleto e isolamento de uma área da borda em escova (SALTEL et al., 2004). Essa formação ocorre devido ao transporte de componentes lisossomais e endossomais. Na borda em escova há um receptor do tipo vacuolar H ATPase que ajuda a acidificar a lacuna de reabsorção e assim dissolve os cristais de hidroxiapatita (CROCKETT et

al., 2011). Nesta região, prótons e enzimas, tais como a fosfatase ácida resistente ao ácido tartarato (TRAP), catepsina K, e metaloproteinase de matriz (MMP-9) são transportadas em um compartimento chamado lacuna de Howship levando a degradação óssea (MULARI; VÄÄRÄNIEMI; VÄÄNÄNEN, 2003).

A adesão dos osteoclastos à superfície óssea é mediada por uma estrutura em membrana que sela a área de reabsorção do resto do tecido, a zona de selamento. Essa separação permite a criação de um microambiente otimizado para ação das enzimas para dissolução da matriz óssea (BAIN; WATKINS, 1993).

Após a dissolução da matriz óssea há a endocitose e subsequente transcitose dos produtos da degradação e sua liberação a capilares próximos via o domínio de membrana secretório (CROCKETT et al., 2011).

Com a diminuição da atividade dos osteoclastos, células mononucleares atuam nas lacunas deixadas pelos osteoclastos até a chegada dos osteoblastos, esta é a fase de reversão. Nesta fase os osteoblastos são mobilizados para o sítio de remodelamento e a fase de formação se inicia. Os osteoblastos então sintetizam e depositam nova matriz óssea (BAIN; WATKINS, 1993).

Além da ação de osteoclastos e osteoblastos foi demonstrado que os osteócitos atuam também no ciclo de remodelamento. Os osteócitos agem como maestros do processo, produzindo fatores que influenciam as atividades de osteoclastos e osteoblastos. Por exemplo, estímulos mecânicos estimulam os osteócitos a produzir fatores que exercem atividade anabólica no osso como PGE2, prostaciclina, óxido nítrico, IGF-1. Por outro lado, diminuição de força mecânica sobre o osso diminui os fatores anabólicos e estimula os osteócitos a produzir esclerostina e DKK-1, que são inibidores da atividade osteoblástica. Há evidências que os osteócitos também possam ser a principal fonte de RANKL na promoção da osteoclastogênese (NAKASHIMA et al., 2011).

2.6.4 O osso medular

As fêmeas aviárias têm um metabolismo ósseo peculiar relacionado à formação de ovos. Possuem três tipos de ossos distintos: osso cortical, ossos esponjosos e medular (KIM et al., 2012b). O osso cortical é um osso estrutural compacto, que é estreitamente embalado e altamente organizado. O osso esponjoso, muitas vezes sinonimamente denominada de osso trabecular, é uma arquitetura tridimensional em forma de favo de mel localizada nas

extremidades dos ossos (ODGAARD, 1997). O osso medular, ao contrário dos ossos corticais e esponjosos, é um tipo especial de tecido ósseo presente nas cavidades medulares das aves poedeiras (VAN DEVELDE et al., 1985).

Quando as aves atingem maturidade sexual há uma alteração dramática na biologia dos ossos. A função dos osteoblastos muda da formação de osso cortical lamelar para produção do osso medular. Esse tipo de osso é único nas aves. Funciona como uma reserva de cálcio para a formação da casca do ovo e é formado em espículas na cavidade medular, especialmente em ossos longos. O úmero é um osso pneumático, porém em algumas fêmeas o osso medular pode se formar na superfície endosteal e inclusive preencher toda a cavidade. O osso medular é formado em aves fêmeas no período que precede a oviposição e persiste por todo o período de oviposição. Em aves de produção é um osso presente em tempo contínuo sob condições apropriadas de iluminação (DACHE et al., 1993).

A quantidade de osso medular aumenta rapidamente em poedeiras, com a substituição quase que total de osso estrutural por osso medular (HUDSON et al., 1993). A perda de alguns tipos de ossos estruturais, especialmente o osso trabecular na coluna vertebral e epífise de ossos longos, pode ser marcante no início da oviposição (WHITEHEAD; FLEMING, 2000). A perda do osso cortical é um processo mais lento. Esta perda de osso estrutural é característica de osteoporose e resulta em um esqueleto mais fraco e propenso a fraturas (WHITEHEAD, 2004). Apesar do osso estrutural diminuir o osso medular aumenta. O osso medular é tão radiodenso quanto o osso estrutural, assim medidas via radiografias não constituem uma boa forma de avaliação. Todo esse processo é desfeito quando a fêmea para de ovipor.

Durante o período de formação da casca do ovo ocorre aumento na reabsorção osteoclástica não apenas de osso medular, mas também de osso estrutural. Apesar do osso medular ser importante para a formação da casca do ovo, não há relação direta entre a quantidade de osso medular e a qualidade da casca (WHITEHEAD, 2004).

Quando a ave sai da fase de oviposição o osso medular desaparece gradualmente e ocorre a recomposição da formação óssea estrutural. Este ciclo de regeneração é normal em aves nas quais se segue incubação e nascimento dos filhotes. No entanto, nas galinhas modernas poedeiras, com uma condição reprodutiva contínua, a não recomposição da formação óssea estrutural a torna altamente suscetível à osteoporose (WHITEHEAD, 2004).

Apesar de não ser observada mudança na população de osteoclastos no ciclo de 24 horas em poedeiras, através de avaliações morfométricas e ultraestruturais observou-se mudanças consideráveis na estrutura dos osteoclastos e sua correlação com a necessidade de cálcio durante o ciclo de oviposição (MILLER; BOWMAN, 1981).

Quando o ovo está no infundíbulo, istmo ou magno do oviduto os osteoclastos perdem sua borda em escova e cessa a reabsorção óssea. Entretanto, se o ovo está no local da glândula de produção de casca do oviduto e a casca inicia sua calcificação, os osteoclastos adquirem novamente sua morfologia reabsortiva (KIM et al., 2012a). Em aves com produção de ovo com casca mole observa-se que osteoclastos do osso medular não apresentam borda em escova e assim não suprem a demanda de cálcio para a formação do ovo. Nestas aves a matriz do osso medular é altamente calcificada com estruturas lamelares irregulares, como observado no osso cortical (KIM et al., 2012). Portanto, a população e atividade dos osteoclastos representam o suprimento de cálcio para a formação da casca do ovo, e é amplamente utilizado como critério de metabolismo do cálcio de poedeiras (FLEMING, 2008).

2.6.5 Regulação do metabolismo ósseo

O metabolismo do esqueleto das aves atua a uma taxa amplificada quando comparado ao de mamíferos (GAY 1988). Além de ações diferentes e/ou sensibilidade diferentes de paratormônio, calcitonina e vitamina D, presentes em mamíferos, em aves reconhece-se outros reguladores do metabolismo ósseo (DACKE et al., 1993). Os requerimentos para o crescimento ósseo e metabolismo do cálcio em aves em crescimento é similar ao de mamíferos, no entanto, fêmeas desta classe necessitam calcificar a casca de ovos o que faz com que haja diferenças na regulação do cálcio no organismo (DACKE, 2015).

A quantidade requerida para mineralização da casca do ovo corresponde a 10% de toda reserva de cálcio na ave (KENNY, 1986) e apenas 60% desse valor é conseguido através do alimento (FLEMING, 2008). Esse valor é elevado para 20% em mandarins, ave passeriforme, considerando que aves menores ovipõem proporcionalmente ovos maiores com mais casca (DE MATOS, 2008).

2.6.5.1 Paratormônio (PTH)

A família do paratormônio consiste em um grupo de fatores estruturalmente relacionados que regulam o metabolismo do cálcio e a homeostase óssea. Em mamíferos encontram-se um a dois receptores para esta família, PTH1R e PTH2R, já em peixes há um terceiro receptor (PINHEIRO et al., 2012).

O paratormônio das aves é diferente estruturalmente do paratormônio de mamíferos, mas possui grande similaridade na região de atividade biológica do hormônio. A concentração do paratormônio é considerada baixa em aves em comparação a mamíferos, com elevação apenas na fase de calcificação. O maior estímulo para secreção do PTH é uma queda na concentração plasmática de cálcio, enquanto um aumento no mineral a suprime (DE MATOS, 2008).

A importância do paratormônio é manter os níveis de cálcio. Em mamíferos o PTH envolve o recrutamento e ativação de osteoclastos mediados via receptores nos osteoblastos. Os receptores de paratormônio estão localizados na superfície dos osteoblastos, porém foram considerados ausentes nos osteoclastos (HURWITZ, 1989). Injeções de paratormônio em codornas japonesas aumentam os níveis sanguíneos de cálcio (KENNY; DACKER, 1974). O PTH induz rápidas mudanças em osteoblastos e osteócitos, afeta a área de contato do osteoclastos das aves, induz os osteoclastos a formar a borda em escova (MILLER et al., 1989) e com isso aumentam sua área de contato em 40% após 2 a 4 minutos de sua aplicação (PANDALAI; GAY, 1990). Ainda não se sabe se este é um efeito direto do PTH nestas células, no entanto, reconhece-se que em comparação com mamíferos é uma resposta incrivelmente rápida (DACKER, 1998). Parece haver uma bomba de prótons reabsorvendo o cálcio em um mecanismo que envolve a ação da adelinato ciclase. O estradiol bloqueia a atividade desta enzima (SPEER 2016).

O efeito hipercalcêmico do paratormônio é maior em poedeiras do que em frangos devido a ligação do cálcio a proteínas da gema no plasma ou receptores adicionais de PTH que podem estar presentes no osso medular e oviduto (DACKER 1979). Em poedeiras uma resposta hipercalcêmica ocorre após 8 minutos da administração de PTH (CANDLISH; TAYLOR, 1970) Aves imaturas também possuem resposta rápida e altamente sensível a injeção de PTH (DACKER; KENNY 1973).

A biorreatividade do PTH é maior em aves com uma dieta deficiente em cálcio do que aquelas com uma dieta com alto cálcio. Os níveis foram mais elevados durante a fase de calcificação da casca do ovo do que logo após a ovulação, e observou-se uma relação inversa entre Ca ionizado no plasma sanguíneo e PTH (DACKER, 2015).

O rápido efeito da administração de paratormônio na concentração de cálcio sanguíneo parece estar relacionado mais a inibição da eliminação do cálcio do plasma. Ainda, ocorre inibição da deposição de cálcio no esqueleto. O paratormônio também atua no rim diminuindo

a excreção de cálcio através da reabsorção tubular deste mineral. Também causa o aumento da excreção de fosfato. No rim ele ainda ativa a vitamina D3 (DONELEY 2004).

2.6.5.2 Peptídeo relacionado ao PTH

O peptídeo relacionado ao PTH (PTHrP) possui um grande leque de ações em mamíferos, muitos em comum ao PTH, como estímulo de osteoclastos e reabsorção óssea (MALLETTE, 1991) e parece ser essencial para a formação de osso endocondral (MEDILL et al., 2000). PTH e PTHrP aumentam o cAMP e inibem a síntese de colágeno pelas células da cartilagem da epífise dos ossos (PINES; HURWITZ, 1991). PTHrP é expresso em vários tecidos em embriões de aves (SCHERMER et al., 1991). É expresso no oviduto, no istmo e nas glândulas produtoras da casca do ovo, onde tem ação moduladora da tensão vascular do musculo liso e da motilidade da glândula produtora da casca (THIEDE 1991).

PTHrT foi testado em animais hipercalcêmicos demonstrando pequena atividade agonística com PTH com relação aos níveis sanguíneos de cálcio. No fêmur o peptídeo diminuiu a retirada de cálcio do osso, no entanto, no calvário teve o efeito oposto (DACKE, 2015).

Medill et al. (2001) estudou a expressão de PTHrP na placa epifiseal de pintinhos e concluiu que a maior parte do PTHrP se originava na própria placa de crescimento, sugerindo-se ação parácrina além da regulação da diferenciação dos condrócitos.

2.6.5.3 Calcitonina

A calcitonina em aves, é produzida pelas glândulas ultimobranquiais enquanto em mamíferos é produzida pelas células C da glândula tireoide (HESTER, 2017). Os níveis sanguíneos de calcitonina são maiores nas aves do que em mamíferos (TULLY, 2002), sua função é oposta ao do paratormônio (HESTER 2017). Os estudos não observaram resposta de osteoclastos a calcitonina (DACKE 2015).

Injeção de calcitonina em pintinhos de 4 dias causou atenuação da borda em escova dos osteoclastos e uma mudança na localização da anidrase carbônica associada a esta estrutura (ANDERSON; SCHRAER; GAY, 1982). Em pintinhos em dietas pobres em cálcio ou

raquitogênica, respostas de cAMPc foram demonstradas (ELIAM et al., 1988; RIFKIN *et al.*, 1988). In vitro, osteoclastos de pintinhos em dieta deficiente em Ca responderam a calcitonina após 4 minutos com uma redução de 58% de sua área (PANDALAI; GAY, 1990), e da atividade de reabsorção de osso (SUGIYAMA; KUSUHARA, 1996). Osteoclastos isolados de pintinho em dieta com restrição de cálcio possuem receptor para calcitonina e tiveram sua ação de reabsorção inibida pela calcitonina (RIFKIN et al., 1988; ELIAM et al., 1988). No entanto em pintinhos com dietas balanceadas não foram observados receptores para a calcitonina em osteoclastos (ZAMBONIN-ZALLONE 1982). Em condições fisiológicas normais sugere-se que os receptores para calcitonina estejam “down-regulated”. A influência da calcitonina na homeostase do cálcio em aves, no entanto, ainda é questionável (TULLY, 2002).

2.6.5.4 Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina

O peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (PRGC) é encontrado no sistema nervoso central e periférico inclusive na retina de aves, na carótida, medula espinhal de embriões e pintinhos e neurônios ósseos. PRGC tem ação sugerida nos ossos em receptores osteoclasticos de calcitonina e possui efeito hipocalcêmico (ZAIDI et al., 1990). Em coelhos *in vivo* produz hipocalcemia transiente seguida de hipercalcemia sustentada assim como em aves atuando através de curva dose-resposta. Nos ossos de aves demonstrou aumento de reabsorção óssea. Estudos em aves apresentam respostas diversas indicando que o PRGC pode ter efeito variado no osso e no metabolismo do cálcio em aves que envolvem efeitos agudos da movimentação de cálcio depositando-se ou sendo retirado do esqueleto (DACKE, 2015).

2.6.5.5 Vitamina D

A vitamina D é um hormônio esteroide que possui muitas formas. A vitamina D é sintetizada na pele a partir do 7-deidrocolesterol em uma reação catalisada por luz ultravioleta. Alternativamente a vitamina D3 é absorvida a partir da dieta no intestino. O transporte dos metabolitos da vitamina D na circulação ocorre pela ligação não covalente a proteínas. O processamento ocorre no fígado com a hidroxilação em 25-hidroxitamina D3. O segundo órgão importante na transformação da vitamina D é o rim, onde a 25-OH-D3-1 α -hidroxilase introduz um grupo hidroxil gerando uma molécula com 500-1000 vezes mais atividade biológica., a 1,25-dihidroxitamina D3, a forma ativa da vitamina D3 (NORMAN; HURWITZ,

1993). Em indivíduos com hipercalcemia, no entanto, a 25-OH-D3 é hidroxilada em 24,25-(OH)2-D3, diminuindo a concentração sérica da vitamina D ativa (DE MATOS, 2008).

Com relação ao metabolismo do cálcio, a maior ação da 1,25(OH)2D3 ocorre na absorção do cálcio (NORMAN; HURWITZ, 1993). No frango jovem mais de 70% da absorção do cálcio é dependente de vitamina D (HURWITZ, 1989).

Para o osso, tanto 1,25[OH]2D3 quanto 24,25[OH]2D3 são essenciais para os condrócitos e para expressão da fosfatase alcalina da placa de crescimento (SCHWARTZ et al., 1988). Atuam na maturação de condrócitos, sua diferenciação e estimulação de produção de colágeno do tipo II (NORMAN; HURWITZ, 1993). No embrião o sistema endócrino relacionado a vitamina D se torna competente com 6 a 8 dias de incubação. A vitamina D presente na gema é absorvida pelo embrião, com ativação e hidroxilação ocorrendo no rim mesonéfrico. A 1,25[OH]2D3 medeia a captação de cálcio de gema pela membrana do saco vitelino nos estágios iniciais de desenvolvimento. À medida que a incubação avança, o embrião em desenvolvimento requer maiores quantidades de cálcio para o esqueleto em desenvolvimento. Neste momento, a 1,25[OH]2D3 promove a absorção de cálcio da casca através da membrana corioalantóide (DE MATOS, 2008). Ainda, a vitamina D está relacionada a formação da cartilagem pelos embriões.

Os efeitos de 1,25[OH]2D3 no osso dos adultos são dependentes da concentração sanguínea de cálcio e fosforo. Em animais eucalcêmicos esse metabolito estimula a formação de osso através da indução da síntese de proteínas pelos osteoblastos. Em períodos de hipocalcemia, com aumento de PTH, e hipofosfatemia, 1,25[OH]2D3 possui efeito oposto promovendo diferenciação osteoclástica e ativação de liberação de cálcio e fósforo na circulação (DE MATOS, 2008).

Poedeiras alimentadas com dietas deficientes em vitamina D tem como resposta a reabsorção de osso medular enquanto em aves fora da reprodução ocorre osteodistrofia (WILSON; DUFF, 1990). 1,25(OH)2D3 parece facilitar a formação do osso através da biossíntese de osteocalcina. A função biológica da osteocalcina ainda é obscura, porem ela se liga ao cálcio e demonstra afinidade pela hidroxiapatita, sugerindo seu envolvimento na dinâmica mineral do osso (HAUSCHKA et al., 1989). Osteocalcina é liberada na circulação e fornece um parâmetro fidedigno do “turn over” do osso refletindo a formação de novos osteoblastos (NYS 1993), ela regula a concentração sérica do cálcio aumentando-o com o auxílio do paratormônio

Aproximadamente 30 a 40% da casca do ovo é derivada do osso medular. A formação da matriz do osso medular é induzida por esteroides sexuais independente do status de vitamina

D na ave. No entanto o osso medular só se torna totalmente mineralizado quando estão presentes tanto os hormônios sexuais quanto a vitamina D3 (TAKAHASHI et al., 1983).

Aves também utilizam 24,25-dihidroxycolecalciferol, que é inativo em mamíferos. Este metabolito apesar de considerado uma fase na inativação da vitamina D, inibe a secreção de PTH e é essencial para crescimento normal da placa de crescimento (TULLY, 2016).

2.6.5.6 Estrógeno

O estrógeno em animais com níveis normais de vitamina D3 atua na homeostase do cálcio em vários pontos. Ele é necessário para a ativação de 25(OH)2-1 α -hidroxilase e a ativação da vitamina D (TANAKA et al., 1978), regula os receptores da mucosa intestinal de 1,25D3 (WU et al., 1994) e é necessário para a síntese de CaBP-D28K na mucosa intestinal (NYS et al 1992). Os receptores de estrógeno envolvidos na resposta intestinal são intracelulares ou intranucleares e atuam no nível de transcrição ou genômico (SCHWARTZ et al., 1988; WELSHONS; LIEBERMAN; GORSKI, 1984). Apesar da entrada de cálcio no organismo ser através do intestino e fatores locais como receptores de 1,25D3, receptores de estrógeno e CaBP-D28K etc, serem essenciais no controle do elemento (HURWITZ, 1989), o maior regulador da homeostase do cálcio é o rim, onde ocorre regulação direta e indireta e em ambos há influência do estrógeno. Primeiramente o estrógeno atua ativando a vitamina D3 25(OH)2-1 α -hidroxilase no rim (TANAKA et al., 1978). Para que isso ocorra ele aumenta os receptores de PTH no rim tornando o PTH acessível para a adenilato ciclase dependente de PTH necessário para ativação de 25(OH)2-1 α -hidroxilase (FORTE et al., 1983).

Normalmente 98% do cálcio filtrado é reabsorvido nos túbulos do rim das aves, o estrógeno atua aumentando a reabsorção do cálcio no rim via ação do PTH (ELAROUSSI et al., 1993). O estrógeno ainda atua no osso através da diminuição da absorção óssea pelos osteoclastos (VAANANEN; HARKONEN, 1996). A ação do estrógeno nos osteoclastos parece ocorrer em receptores específicos (OURSLEER et al., 1991). O estrógeno também parece atuar através do bloqueio da proteína quinase em osteócitos inibindo a estimulação pelo PTH para a formação de osteoclastos (KANATANI et al., 1998). Sabe-se também que há receptores de estrógeno em osteoblastos em galinhas, entretanto sua ação exata não está elucidada (OHASHI; KUSUHARA; ISHIDA, 1990).

Quando a galinha alcança maturidade sexual a concentração de estrógeno aumenta gradativamente, com o maior aumento ocorrendo entre 16 a 20 semanas de idade (MADISON et al., 2002). A concentração se mantém alta nas semanas seguintes com picos diários 4 a 6 horas antes da ovulação (ETCHES; CHENG, 1981). Sabe-se que o nível sérico de estrógeno

diminui após o primeiro ano (JOHNSON, 1986), diminui ainda mais com a muda de penas (HOSHINO et al., 1988) e aumenta novamente e assim as aves retornam a produção (JOHNSON, 1986). Esta variação está relacionada a aves de produção nas quais há o declínio no número de ovos. Quando há diminuição em 80% da produção as aves são colocadas em regime de muda (de 68 a 72 semanas de idade), para um período de descanso e então retorno para um segundo ciclo de postura (BECK; HANSEN, 2004).

A formação do osso medular é estimulada pela ação de andrógenos e estrógenos acompanhando a maturação dos folículos ovarianos (MILLER; BOWMAN, 1981). Em machos de codorna japonesa, estrógeno induz a diferenciação de células endosteais a formação de osteoblastos e diminui o número de osteoclastos na superfície endosteal (KUSUHARA; SCHRAER, 1982). Receptores de estrógeno foram localizados em núcleos de osteoblastos e osteócitos e também no núcleo de pré-osteoblastos em machos tratados com estrógeno de codorna japonesa (OHASHI; KUSUHARA; ISHIDA, 1990). Outros autores encontraram, in vitro, sítios nucleares de ligação do estrógeno e reportam que o esteroide inibe diretamente a reabsorção osteoclástica do osso (OURSLER et al., 1991).

2.6.6 Doenças osteometabólicas em aves - Osteopenias

O esqueleto das aves exhibe duas características importantes que diferem de outras classes de animais: a leveza e a resistência. A leveza é fornecida por um sistema de sacos aéreos que adentra alguns ossos do esqueleto tornando-os pneumatizados. A resistência, se dá através da fusão e supressão de alguns ossos. Em membros pélvicos são observadas fusão e supressão associadas (DUMONT, 2010). Uma terceira característica importante do esqueleto das aves é a existência de um tipo diferente de osso, o osso medular, formado durante o ciclo reprodutivo pela produção de hormônios gonadais na fêmea (WHITEHEAD, 2004). Os ossos, além de elementos estruturais são um tecido de reserva de cálcio e fósforo. Qualquer alteração que interfira no metabolismo do cálcio irá refletir no metabolismo ósseo.

Seja pela maior pressão para o rápido crescimento de frangos, ou por maior produção de ovos em aves de granja ou pelo aumento de animais dessa classe tidos como pet, o homem transformou o ambiente, o porte e a alimentação destes animais e isto refletiu diretamente em seu sistema esquelético.

Afecções osteometabólicas são comumente relatadas em animais de produção e mesmo em animais pet. Doenças que acometem o esqueleto resultam numa taxa de mortalidade entre

2 e 8% no crescimento frangos de corte, sendo a maior incidência encontrada em machos mais velhos (8 semanas) (RIDDELL; CLASSEN, 1992; RIDDELL; SPRINGER, 1985). Mortalidade por causas similares em perus em crescimento são de aproximadamente 3 a 4% (RIDDELL, 1981). Fragilidade óssea em galinhas selecionadas para alta produção de ovos leva a fraturas ósseas (RIDDELL; SPRINGER, 1985) e estima-se que aproximadamente 30% das poedeiras apresentem fraturas ósseas ao final do ciclo (GREGORY; WILKINS, 1989).

Doenças osteometabólicas é um termo amplo utilizados para condições patológicas afetando múltiplos ossos. São usualmente causadas por anormalidade genéticas, hormonais, desequilíbrios nutricionais que afetam o crescimento ósseo e seu remodelamento (UHL, 2018). As doenças osteometabólicas ou osteodistrofias podem ser divididas em osteopenias e osteomegalias, segundo uma classificação morfopatogênica (CARCIOFI; OLIVEIRA, 2007). Para o diagnóstico correto da afecção muitas vezes se faz necessária a avaliação histopatológica, visto que, em muitos casos, principalmente aqueles relacionados com deficiências nutricionais, é difícil especificar qual a doença, visto que múltiplas condições podem estar presentes (UHL, 2018).

As osteopenias incluem osteoporose, raquitismo, osteomalácia (decorrente da falta de fósforo ou da deficiência de vitamina D em adultos) e osteodistrofia fibrosa (hiperparatireoidismo nutricional/renal secundário). As osteomegalias decorrem de processos multifatoriais, podendo ter etiologia genética, nutricional ou ambiental (CARCIOFI; OLIVEIRA, 2007)

2.6.6.1 Raquitismo

O raquitismo é uma doença metabólica de aves jovens caracterizada pela baixa mineralização. Há acúmulo de osteóide e espessamento da placa de crescimento (WEISBRODE, 2007). As causas mais comuns do raquitismo são a deficiência de vitamina D e fósforo. Enquanto o cálcio é necessário para a mineralização, ele não parece ser um fator limitante considerando que qualquer diminuição deste íon leva a ação do paratormônio e vitamina D (CRAIG et al., 2016). Uma deficiência crônica de cálcio na dieta tende a ocasionar a osteodistrofia fibrosa devido ao hiperparatireoidismo e reabsorção óssea excessiva (UHL, 2018).

Em estudos com pintinhos, LONG et al., (1984a, 1984b, 1984c) observaram diferenças em animais mantidos em dietas com deficiência de cálcio, deficiência de fósforo ou deficiência de vitamina D. Radiograficamente animais com deficiência de cálcio não demonstravam metáfise alongada de maior radioluscência, mas uma área radioluscente que avançava longitudinalmente em direção a diáfise. Em animais com **deficiência** de fósforo observaram diminuição de radiopacidade da extremidade proximal de tibiotarso e região inferior da metáfise com maior radiopacidade. Em animais com deficiência de vitamina D as alterações eram mais severas com aumento da zona metafisária e esta, de menor radiopacidade, perda da definição do córtex ósseo e fraturas em galho verde. Quanto a lesões macro e microscópicas puderam observar a formação de duas zonas pré hipertróficas (com condrócitos em proliferação) com uma zona hipertrófica intermediária aumentada em animais com deficiência de cálcio. Nestes animais, as colunas de cartilagem estavam ausentes em algumas áreas; na zona pré-hipertrófica inferior as células apresentavam-se picnóticas, com áreas não coradas (lacunas) achatadas a ovoides, a matriz se corava pobremente e os vasos epifisais estavam necróticos. Em animais com deficiência de fósforo as colunas de cartilagem estavam alongadas, a zona prehipertrofica e de degeneração hipertrófica estavam normais e a zona hipertrófica estava aumentada. Em animais com deficiência de vitamina D as alterações foram dependentes da fase de desenvolvimento da doença, mas a progressão se assemelhava a deficiência de cálcio.

Estudo com outras espécies com dieta com excesso de cálcio e deficiência de fosforo com aumento da placa metafisária e alongamento da zona de cartilagem hipertrofiada corrobora os estudos de Long (1984) (GRÖNE; SWAYNE; NAGODE, 1995). Definiu-se, portanto que em aves, ocorre o raquitismo hipocalcêmico, e neste a placa epifisária está aumentada em tamanho devido ao acúmulo de condrócitos em proliferação (JANDE; DICKSON, 1980) acompanhado de aumento do comprimento de vasos sanguíneos epifisais. Já no raquitismo hipofosfatêmico ocorre o acúmulo de condrócitos hipertrofiados (LACEY; HUFFER, 1982). Acredita-se que na deficiência de vitamina D haja expansão de ambas as zonas devido à hipocalcemia inicial, seguida por hipofosfatemia resultante do aumento da atuação do paratormônio, ou seja, os efeitos da deficiência de vitamina D na morfologia da placa são em grande parte indiretos, através de alterações no metabolismo do cálcio e do fosfato (COUSQUER; DANKOSKI, 2007; JANDE; DICKSON, 1980).

Apesar de ser evidente a diferenciação dos tipos de raquitismo com base na avaliação da placa epifisária, observou-se que esta diferenciação somente pode ser feita quando avaliada a placa epifisária proximal do tibiotarso. Análises de outros ossos observaram inconsistência

para a realização de tal diferenciação (DINEV, 2011). Acredita-se que isto ocorra por ser a região proximal do tibiotarso um dos locais de crescimento mais acelerado nas aves (ANGEL 2007). O diagnóstico histopatológico ainda pode ser difícil em situações de campo visto que o raquitismo hipofosfatêmico e hipocalcêmico podem estar associados (THORP, 1994).

O raquitismo ainda é um problema econômico importante para aves de produção (DINEV, 2011). Ocorre em aves entre 2 a 4 semanas de vida e pode ser induzido por distúrbios no cálcio, fósforo e metabolismo da vitamina D (ITAKURA et al., 1978; WISE, 1974). O raquitismo subclínico é comum em frangos de corte. Em estudo na Austrália observou-se que 50% dos animais tinham lesões de raquitismo em tibiotarso com 2 semanas de idade (VAIANO et al., 1994). Casos de raquitismo também foram relatados devido a erros na mistura das rações. Em frangos de corte a causa mais comum para o espessamento da placa de crescimento foi o excesso de fósforo. Níveis baixos de cálcio porém marginais não levaram ao raquitismo mas provocaram discondroplasia. O excesso de magnésio também pode causar lesões semelhantes ao raquitismo (RIDDELL; CLASSEN, 1992).

Em estudo com frangos de corte na Bulgária, observou-se o raquitismo hipocalcêmico ou hipofosfatêmico, a depender da granja avaliada. Níveis séricos dos íons eram acompanhados de alterações histopatológicas específicas na placa de crescimento. O raquitismo comumente estava associado a outras doenças/lesões como osteomielite, fraturas, espondilolistese, discondroplasia, síndrome ascítica e necrose da cabeça femoral. As alterações clínicas mais importantes foram observadas aos 35 dias de idade (DINEV, 2011).

Em aves pet é comum o oferecimento de dietas desbalanceadas podendo levar ao raquitismo. Aves de estimação são em sua maioria granívoras e em cativeiro ainda são alimentadas apenas com sementes. Sementes, frutas e insetos apresentam quantidades baixas de cálcio, inferior a 0,1% na matéria seca, e apresentam alta quantidade de fósforo (FOWLER 1986). A deficiência de cálcio na dieta é extrema e por tempo prolongado o que leva a associação do raquitismo à osteodistrofia fibrosa. Em caso de raquitismo em Biguás observou-se à histopatologia da placa de crescimento, zonas de cartilagem proliferativa e hipertrófica aumentadas. As poucas trabéculas presentes consistiam de osteóide pouco mineralizado. Nos ossos longos havia extensa fibrose periosteal e áreas de fibrose na cavidade medular (NICHOLS et al., 1983) corroborando a associação do raquitismo à osteodistrofia fibrosa.

2.6.6.2 Osteomalácia

A osteomalácia é decorrente de mineralização óssea diminuída, ocorrendo um acúmulo de osteoide e se caracterizando pela presença de ossos moles (WEISBRODE, 2007).

A osteomalacia pode ser decorrente de deficiência de cálcio ou fósforo na dieta e deficiência de vitamina D e ocorre apenas em animais adultos. Uma dieta com baixo fósforo durante a oviposição pode levar a alta incidência de fadiga de gaiola, diminuição de cinzas ósseas, aumentar a severidade da osteoporose e diminuir a resistência óssea (SIMPSON et al., 1964). A baixa quantidade de fósforo na dieta também pode afetar o desenvolvimento ósseo em estágios críticos do desenvolvimento (RAO et al., 1995). Durante a fase de oviposição as aves são mais sensíveis a deficiência de fósforo do que na fase de filhote, devido a condição fisiológica de diminuição do osso estrutural e de sua força (WILSON; DUFF 1990).

A causa da osteomalacia pode não ser apenas a concentração de cálcio e fósforo na dieta, mas a fonte destes minerais, sua biodisponibilidade e a dieta dos animais durante a fase de crescimento (WHITEHEAD; FLEMING, 2000). A osteomalacia também pode ser causada por deficiência de vitamina D3 (ANTILLON et al., 1977; FROST, 1990). Há evidências de que poedeiras podem metabolizar quantidade suficiente de 1,25 dihidrocolecalciferol a partir da vitamina D3 para a manutenção da qualidade da casca do ovo, mas não o suficiente para manter a resistência de tibiotarso (FROST, 1990).

Na osteomalácia assim como no raquitismo há o acúmulo de osteoide não mineralizado. A osteomalácia afeta o remodelamento ósseo resultando em deposição excessiva de osteóide não mineralizado onde as forças mecânicas são maiores. O resultado é que osso afetado possui uma resistência mecânica diminuída se tornando susceptíveis a fraturas (CRAIG et al., 2016; UHL, 2018).

2.6.6.3 Osteoporose

A osteoporose em aves poedeiras é um problema comum (MANSOORI; MODIRSANEI; KIAEI, 2008) e que leva a perdas econômicas. Estima-se que 15 a 30% da mortalidade de frangos de corte seja decorrente de osteoporose (MCCOY et al., 1996). Na Inglaterra observou-se, ao final da produção, 29% de animais com um ou mais ossos fraturados (GREGORY; WILKINS, 1989) provavelmente decorrente de osteoporose.

A origem da osteoporose não está bem definida, Whitehead e Wilson (1992) sugerem que parte do problema em aves comerciais é genético, em decorrência da seleção de

animais leves e energeticamente eficientes para manter uma alta taxa de postura por um período prolongado. A maioria das linhagens modernas é susceptível a osteoporose enquanto linhagens mais antigas são relativamente resistentes (RENNIE; WHITEHEAD, 1996). A osteoporose também está relacionada ao ambiente da ave. Estudos demonstraram que dependendo do material, tamanho, enriquecimento da gaiola, etc, há alterações na força óssea (KNOWLES; BROOM, 1990). A condição da força óssea está relacionada a atividade de suporte dos ossos (LANYON 1992). Sistemas que promovem maior atividade física produzem galinhas com os ossos mais fortes (RODRIGUEZ-NAVARRO et al., 2018; WEBSTER, 2004).

A osteoporose é caracterizada pela massa óssea reduzida com os ossos porosos, finos e frágeis (WEISBRODE, 2007). Desenvolve-se como uma perda de osso estrutural por todo o esqueleto. Essa perda se inicia quando a ave alcança a maturidade sexual e continua durante a postura (WILSON; DUFF; WHITEHEAD, 1992). O aumento do estrógeno circulante altera o padrão de formação óssea com a formação de osso medular e reabsorção do osso estrutural. A perda de osso estrutural foi confirmada através de diversos estudos (HUDSON et al., 1993). Com a progressão da osteoporose há diminuição da cortical óssea e diminuição do osso trabecular. A mudança é mais extrema nas primeiras 10 semanas da maturidade sexual.

A osteoporose afeta cada osso de forma distinta. O tarsometatarso proximal e as vertebrae torácicas livres apresentam maior alteração as 10 semanas após o início da postura em aves de postura. Tibiotarso se torna mais frágil após 25 semanas, úmero adquire maior radiopacidade entre 15 a 25 semanas devido a formação de osso medular, e após as 25 semanas há perda óssea. A quilha também pode ser afetada (WHITEHEAD 2000). Os ossos com maior propensão à fratura são isquio, úmero, quilha, fúrcula seguidos de púbis ulna, coracóide e fêmur (GREGORY; WILKINS, 1989). Ossos da coluna vertebral podem ser severamente afetados, no entanto, fraturas são raramente observadas. A perda de osso cortical nas vertebrae leva a exposição da coluna espinhal e possivelmente pressão sobre as saídas dos nervos espinhais podendo levar a paralisia de membros pélvicos (WHITEHEAD 2000).

Radiograficamente não se consegue observar a osteoporose avaliando-se subjetivamente a radiopacidade óssea. A formação de osso medular aumenta a radiopacidade do osso, assim, mesmo com a diminuição do osso estrutural, a sobreposição com o osso medular faz com que radiograficamente o osso permaneça com aparência normal, com a mesma radiopacidade. Apenas estudos com avaliação de densitometria podem demonstrar essa diferença (SOROORI et al., 2012).

Em estudo com poedeiras observou-se na osteoporose hipertrofia dos órgãos endócrinos (tiroide, paratireoide, ovário, adrenais) no início da fase de oviposição. A adrenal apresentava hipertrofia e hiperplasia. Os animais apresentavam hipercalcemia. O córtex da tíbia era metade do observado para os machos controle, havia aumento dos canais vasculares e de sua tortuosidade. Com o final do primeiro ano de postura a tiroide e a adrenal estavam atrofiadas. As paratireoides apresentavam metade do tamanho do que no início da postura. O cálcio sérico estava baixo e algumas fêmeas pararam de ovipor por 1 ou 2 meses. Os tibiotarsos estavam extremamente osteoporóticos. Havia aumento dos canais vasculares porem sem depósito de osso intramedular e ausência de sinais de formação de osso novo. Não foi observado aumento do número de osteoclastos. A matriz óssea estava totalmente calcificada (URIST; DEUTSCH, 1960).

A formação do osso medular é estimulada pelo estrógeno à maturidade sexual. Devido a esta condição fisiológica o estrógeno foi considerado como um dos fatores para a ocorrência de osteoporose (WILSON; DUFF; WHITEHEAD C C, 1992). No entanto, a redução na síntese de estrógeno no final de postura alteraria a atividade da 25(OH) 2 - α -hidroxilase diminuindo a vitamina D3 ativa, aumentaria a sensibilidade da atividade osteoclástica mediada por paratormônio no osso, diminuiria a absorção intestinal de cálcio e diminuiria formação de novo osso (BECK; HANSEN, 2004). Ainda, medicamentos que atuam na osteoporose humana (biofosfonatos), também diminuem a afecção em aves de postura (THORP, 1993). Assim, parece que o aumento do estrógeno não é um dos fatores principais para osteoporose em aves. Apesar de estudos observarem que com a formação do osso medular há perda de osso cortical no início da postura, o osso medular parece contribuir para a força óssea (FLEMING 1998).

Em aves com osteoporose a administração de vitamina D resultou na formação de osso medular e diminuição da reabsorção de osso cortical (NEWBREY et al., 1988). O osso medular parece ser mais acessível aos osteoclastos e osteoblastos devido a sua organização menos estruturada e mais labil que o osso trabecular e cortical (HURWITZ 1965). Em aves poedeiras mais velhas o osso é fragil e quebradiço, porém a porcentagem de mineral é maior, havendo diminuição da porcentagem de colágeno, o que resulta em uma maior relação mineral:colágeno porem com mudanças bioquímicas (KNOTT et al., 2015). O enfraquecimento ósseo parece estar relacionado a mudanças na matriz de colágeno e suas relações cruzadas e não a perda óssea (KNOTT et al., 2015; RATH et al., 2000). Em humanos a avaliação de biomarcadores de ligações cruzadas de colágeno como a pentosidina tem sido utilizado para estimar o risco de

fraturas em ossos osteoporóticos (SAITO; MARUMO, 2010) demonstrando a importância da matriz de colágeno na força óssea.

Em mamíferos a osteoporose pode também ser decorrente do excesso de glicocorticoides. Em estudo com perus foi observado que a injeção de dexametasona diminuiu a força óssea nas aves. A ação do corticoide foi dependente da idade dos animais, sendo mais evidente em animais jovens. Acredita-se que o efeito foi decorrente da redução na massa óssea e no processo de remodelamento (RATH et al., 2000).

A osteoporose em aves de produção é avaliada com técnicas de mensuração da força óssea, e da densidade óssea por meio de exames de imagem. A força óssea está relacionada à estrutura física (formato, tamanho, massa), à sua arquitetura (orientação das fibras de colágeno) e às propriedades do material (moléculas da matriz). Um osso com deformação terá uma força diferente de um osso normal, apesar da similaridade das propriedades materiais como as matrizes ósseas e orgânicas. Do mesmo modo, mudanças nas propriedades da matriz como baixa calcificação devido à osteomalácia ou hidroxilação excessiva do colágeno pode impedir as ligações cruzadas de colágeno e alterar a força óssea (RATH et al., 2000). Avalia-se em animais com osteoporose as propriedades morfológicas: diâmetro interno e externo da diafise média da tíbia, espessura da cortical e sua porosidade; dimensões ósseas – comprimento de tíbia e massa óssea através de densidades radiográfica; propriedades biomecânicas – força óssea e dureza; material – microestrutura do osso, composição química do osso medular e cortical, cristalinidade mineral, maturidade do colágeno e sua orientação (FLEMING et al., 1998; RODRIGUEZ-NAVARRO et al., 2018).

A osteoporose persiste sendo um problema na avicultura comercial e sua relação com o bem-estar animal faz deste tópico um campo de urgentes pesquisas.

Em aves pet a osteoporose é relatada como ocasional em patos e galinhas (SPEER, 2006a e b), e em outras aves há a ocorrência de oviposição crônica, que pode predispor à osteoporose. A oviposição crônica ocorre quando a ave apresenta mais de duas a três fases de postura por ano. Normalmente essas fêmeas também ovipõem um número mais alto de ovos que o normal. Este processo sempre leva à exaustão física devido à alta demanda metabólica levando à depleção das reservas principalmente de cálcio. É uma afecção comum em canários, calopsitas, agapornis, e em alguns outros passeriformes (WATSON, 2016).

2.6.6.4 Osteodistrofia fibrosa

A osteodistrofia fibrosa é mediada pelo paratormônio. O tecido ósseo é substituído por tecido conjuntivo fibroso denso de forma a preservar a integridade do esqueleto (CARCIOFFI; OLIVEIRA 2007). A osteodistrofia fibrosa é caracterizada por uma massa óssea diminuída, com um osso flexível. Ocorre devido a reabsorção óssea osteoclástica aumentada e generalizada como consequência de hiperparatireoidismo primário, secundário ou pseudohiperparatireoidismo (WEISBRODE, 2007).

Casos de hiperparatireoidismo primário ou secundário renal em aves estão ausentes na literatura. Casos de hiperparatireoidismo secundário nutricional são frequentes em aves pet, no entanto, dificilmente são caracterizados como osteodistrofia fibrosa, sendo descritos em uma fase inicial de osteomalácia. Clinicamente o hiperparatireoidismo nutricional secundário se caracteriza por níveis elevados de PTH associados a níveis normais ou diminuídos de cálcio ionizado no sangue, níveis elevados de fosfatase alcalina e diminuídos de vitamina D também podem ser observados (SPEER, 2016). Aves de estimação frequentemente são alimentadas com uma dieta desbalanceada, baseada apenas em sementes, frutas e vegetais ou carnes sem a parte óssea, quando aves carnívoras. Frutas e vegetais, assim como as sementes, possuem quantidade de cálcio baixa e alta concentração de fósforo, assim como a carne, o que terá como consequência baixa absorção de cálcio no intestino e seu nível diminuído no sangue. O baixo nível sérico de cálcio é o estímulo fisiológico para as glândulas paratireoides liberarem PTH no sangue (LUMEIJ, 1994).

Outro fator comum a ocasionar hiperparatireoidismo nutricional secundário em aves de estimação é a falta de exposição das aves à radiação UVB e com isso uma diminuição na ativação da vitamina D. Das aves de estimação o papagaio africano é particularmente sensível a deficiência de vitamina D. Psitaciformes americanos não apresentam sintomas tão evidentes quanto os africanos. Acredita-se que esta sensibilidade das aves africanas seja decorrente de adaptação ao bioma em que são encontradas. As aves no continente americano ocorrem em florestas com baixa incidência de luz (STANDFORD 2006). Em galinhas, 11 a 30 minutos por dia de luz direta solar é suficiente para a síntese endógena de vitamina D. Na ausência de luz solar a vitamina D3 pode ser suplementada na dieta. Vitamina D2 ou ergocalciferol é derivado de plantas e é uma fonte comum de vitamina D em mamíferos. Em aves o ergocalciferol tem baixa afinidade pelas proteínas de ligação a vitamina D, assim sua biodisponibilidade é menor que 10% (JOHNSTON; IVEY, 2002).

A osteodistrofia fibrosa é confirmada através da avaliação de ossos e paratireoides. Observa-se cortical fina, diminuição da mineralização do tecido ósseo trabecular associado ao

aumento do osteóide, presença de osteoclastos e tecido conjuntivo fibroso. As paratireoides apresentam hiperplasia e vacuolização de suas células (PHALEN et al., 2005).

Em aves a descrição de casos de osteodistrofia fibrosa são limitados apesar da grande ocorrência de casos de hiperparatiroidismo nutricional secundário. Em um gavião de 12 anos com histórico de alimentação apenas a base de pedaços de carne após a idade adulta, apresentou a afecção. Radiograficamente observou-se fraturas no úmero, ulna, e tibiotarso. Fraturas incompletas foram observadas em tibiotarso esquerdo, bilateralmente em tarsometatarso, radio e fêmur. A metáfise dos ossos longos parecia descalcificada e com diminuição da cortical óssea. A histologia confirmou a osteodistrofia fibrosa. (TOYODA et al., 2004).

Em Albatrozes filhotes a osteodistrofia fibrosa caracterizou-se por trabéculas metafisais desorganizadas e separadas por tecido conjuntivo. Osteoclastos em lacunas de Howship na superfície de algumas trabéculas enquanto outras estavam envoltas por osteoblastos. Não foram observadas anormalidades na placa de crescimento (MORGAN et al., 2011).

Em aves de vida livre a osteodistrofia fibrosa também tem sido relatada. A doença foi observada em abutres (*Gyps spp.*) nas décadas de 1970 e 1980 em gaivinas-negra (*Chlidonias niger*) na Europa em 1997, em Passeriformes nos Estado Unidos em 1999, em pombas de colar (*Streptopelia decaocto*) de 1998 a 2002 no Reino Unido, em garça-branca-grande (*Ardea cinérea*) na Inglaterra em 1996 e em garças-vaqueiras (*Bubulcus ibis*) em 2005 no Texas-Estados Unidos. A etiologia da doença em vida livre parece ser multifatorial e há a possibilidade de fatores xenobióticos na patogênese (TANGREDI, 2007).

A osteodistrofia fibrosa parece já não ocorrer com intensidade em aves de produção. A melhoria de fatores nutricionais faz com que outras alterações ósseas de menor gravidade sejam observadas.

2.7 Oftalmologia de aves - Morfologia

Os olhos das aves são complexos, bem adaptados e tendem a ser mais sensíveis a afecções. As aves são uma classe muito dependentes da visão (HALL, 2008): necessitam da visão para que sejam capazes de encontrar alimento e de perceber predadores (HARRIS et al., 2008). Oftalmopatias podem interferir na vida do animal ou até mesmo serem causa de óbito, por oferecer riscos ao animal durante o vôo (PINEIRO; BERT, 2010). Ainda, é comum a ocorrência de lesões oculares devido a doenças infecciosas como, por exemplo, a toxoplasmose (DUBEY, 2002). Assim, para a prática clínica veterinária e um diagnóstico

precoce das enfermidades oculares é importante haver parâmetros morfológicos e clínicos para os olhos de cada espécie (BLISS; AQUINO; WOODHOUSE, 2015).

A morfologia dos olhos das aves, apesar de existirem peculiaridades, é semelhante à dos mamíferos. Embora os tamanhos dos olhos de algumas espécies de aves sejam muito pequenos, dificultando sua avaliação, os equipamentos e métodos semiotécnicos para seus exames são os mesmos que os mamíferos. A visão das aves é muito especializada e sua acuidade é de duas a oito vezes maior que em mamíferos (GARGIULO, 2015).

A retina das aves é capaz de discriminar uma maior variação no comprimento de ondas de luz que a retina de mamíferos. Há fortes evidências que a retina de aves seja tetracromática ou até mesmo pentacromática (*Columba livia*), muito superior a retina de mamíferos como cães que são dicromáticos (JONES; PIERCE; WARD, 2007).

A maioria das aves possuem seus olhos posicionados lateralmente, à exceção de aves de rapina, havendo apenas uma pequena sobreposição dos campos de visão (MARCHAN, 2015).

2.7.1 Órbita

A órbita das aves é formada pelos ossos frontal, prefrontal, esfenoide, etmoide, palatino, osso quadrado e o arco jugal, sendo o último o precursor do arco zigomático (MARCHAN, 2015). As órbitas são separadas apenas por uma fina estrutura óssea ou um septo de tecido conjuntivo (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008).

2.7.2 Músculos extraoculares

As aves possuem como músculos extraoculares os músculos reto medial, lateral, dorsal, ventral e músculos oblíquos dorsal e ventral. Os músculos quadrado e piramidal possuem a função de movimentação da membrana nictante (JONES; PIERCE; WARD, 2007). Os músculos são finos e pouco desenvolvidos, por esta razão a mobilidade ocular é limitada (WILLIS; WILKIE, 1999).

2.7.3 Pálpebras

A pálpebra superior das aves é curta e espessa. A pálpebra inferior contém uma placa tarsal fibroelástica e é fina, mais comprida e móvel. Quando da presença de penas próximas a margem palpebral estas são penas modificadas (cerdas ou filoplumas) com função de proteção ou táteis (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008; CARVALHO et al., 2018).

A membrana nictante se situa no quadrante dorsonasal do saco conjuntival. É uma membrana elástica fina que se movimenta na superfície da córnea de 30 a 35 vezes por minuto (JONES; PIERCE; WARD, 2007). Na maioria das aves a membrana nictante é fina e translúcida (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008), podendo ser branca e mais espessa com uma variação interespecífica (WILLIS; WILKIE, 1999). A membrana nictante se move de uma posição dorsonasal em direção ventrotemporal (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008), sendo descrita em carcarás (*Caracara plancus*) sua movimentação em direção nasotemporal (BALDOTTO 2012). A extremidade inferior da membrana nictante é firmemente aderida a esclera e sua associação à conjuntiva. A extremidade livre possui uma dobra pigmentada que facilita a distribuição lacrimal (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008).

2.7.4 Glândulas

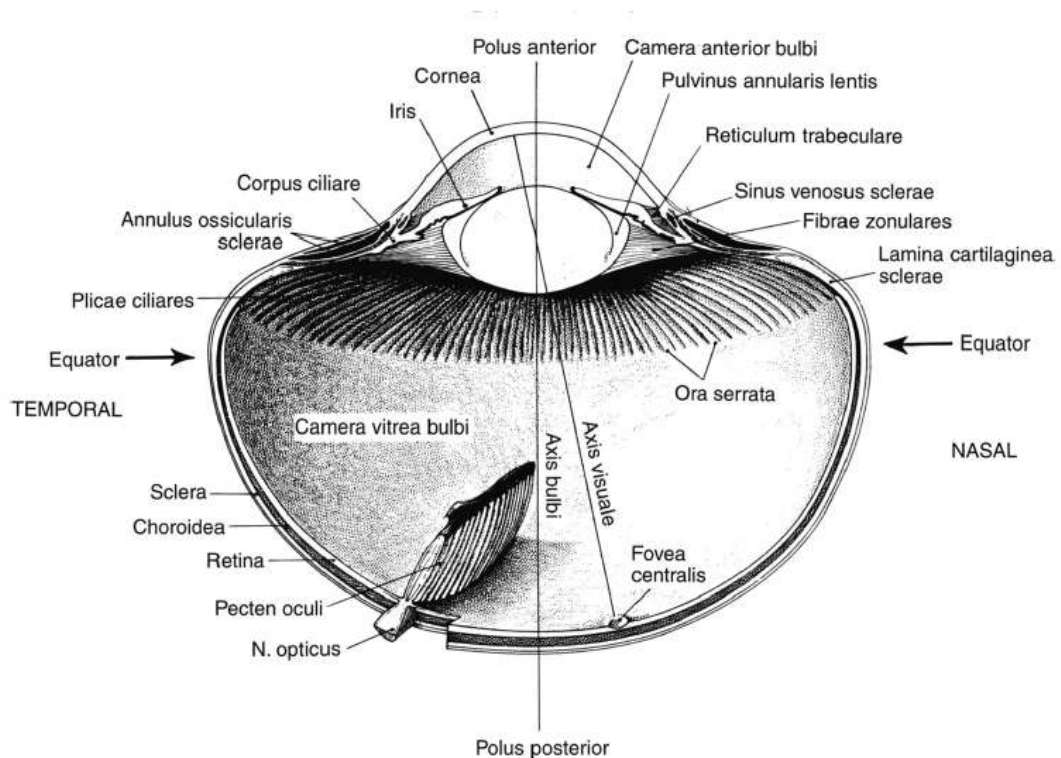
As pálpebras não possuem glândulas tarsais e podem ou não possuir penas. Não há glândula na membrana nictante e a glândula lacrimal se situa na seção inferotemporal do globo ocular. A glândula de Harder se situa na base da membrana nictante e é a principal fonte do filme lacrimal (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008; CARVALHO et al., 2018).

2.7.5 Bulbo ocular

O bulbo ocular das aves possui grande volume em relação ao tamanho do crânio e podem haver variações de formatos entre diferentes espécies (HALL, 2008). O bulbo ocular pode ocupar cerca de 50% do volume do crânio em algumas espécies (JONES; PIERCE; WARD, 2007). São observados três tipos de formato em aves: plano, globoso ou tubular. No bulbo ocular plano o eixo anteroposterior é curto na região ciliar, este pode ser plano ou parcialmente côncavo, a córnea é convexa e o segmento posterior hemisférico (ex: passeriformes e psitaciformes)(BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008; WILLIS; WILKIE, 1999). Em aves com bulbo ocular globoso a região ciliar protrui à frente no polo posterior, e

possui formato côncavo (encontrado em aves de rapina diurnas). No bulbo ocular tubular o segmento intermediário é côncavo e se estende posteriormente formando um tubo antes da junção com o segmento posterior. Este tipo de bulbo ocular é observado em rapinantes noturnos (CARVALHO et al., 2018).

Figura 1. Imagem esquemática do bulbo ocular de aves



Fonte: GLASSER; HOWLAND, 1996.

2.7.6 Segmento anterior do olho

O segmento anterior do olho das aves é composto pela córnea, lente, músculos ciliares, íris e os tecidos que unem estas estruturas.

A córnea possui 5 camadas semelhante a mamíferos: o epitélio, a camada de Bowman (GARGIULO, 2015) sendo fina na maioria das espécies de aves, exceto em aves de rapinas e aquáticas (CANDIOTO, 2011); o estroma, fibras colágenas orientadas paralelamente a superfície corneana; e abaixo, a membrana de Descemet que separa o estroma do epitélio posterior (BACHA; BACHA, 2001). As aves possuem lâmina limitante anterior visível (RODARTE-ALMEIDA et al., 2013).

Na esclera as aves possuem os ossículos esclerais que se sobrepõem no limbo ocular formando um anel. Posteriormente os ossículos se sobrepõem com a cartilagem escleral (GLASSER; HOWLAND, 1996). Os ossículos esclerais fornecem rigidez estrutural ao segmento anterior do olho. O número de ossículos esclerais varia com a espécie podendo ser de 10 a 18, no entanto na maioria das aves são encontrados 14 a 15 (JONES; PIERCE; WARD, 2007). Algumas espécies de aves possuem ainda um osso sesamoide escleral. Este osso situa-se no tendão do músculo piramidal e esta presente em corujas da família Tytonidae e Strigidae e aves da família dos urutaus (Nyctibiidae) (MAHECHA; OLIVEIRA 1998)

A íris consiste em um diafragma em formato discoide com um orifício central, a pupila. É composta em seu interior por estroma de feixes de fibras colágenas delicadas, numerosos vasos sanguíneos, fibroblastos, nervos, colágeno, células epiteliais e um componente muscular extenso (JONES; PIERCE; WARD, 2007). Compõem a íris os músculos circunferenciais e radiais, tendo sido encontrados 3 circunferenciais e 2 radiais em *Bubo virginianus* (OLIPHANT et al., 1983). Os músculos da íris são em sua maioria estriados, o que permite contração voluntária da pupila (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008). A coloração da íris pode variar de acordo com a espécie. Há ainda variações intraespecíficas a depender de sexo, dieta, idade e estação reprodutiva (CARVALHO et al., 2018). Os pigmentos da íris são compostos por carotenoides, purinas e pteridinas. Em araraunas a íris muda de marrom para cinza quando os animais atingem 1 ano de idade. Em papagaios do gênero *Amazona* sp. a coloração é marrom quando mais novos e vermelha ou laranja à medida que vão crescendo. Em cacatuas há um dimorfismo sexual, as fêmeas possuem a íris avermelhada e machos, marrom a preta. Filhotes possuem íris marrom (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008). Há uma extensa gama de cores de íris observada entre as aves (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008; CARVALHO et al., 2018; JONES; PIERCE; WARD, 2007; RODARTE-ALMEIDA et al., 2013). O ângulo iridocorneal em aves é bem desenvolvido (RODARTE-ALMEIDA et al., 2013).

A lente das aves é maleável, transparente e quase esférica em animais noturnos ou achatada antero-posteriormente em espécies diurnas. Na periferia da mesma há a almofada anelar que permite a conexão entre a lente o corpo ciliar e a ação dos músculos Bruck e Crampton. O musculo Crampton também possui conexões com a periferia da córnea, produzindo mudanças na curvatura corneana quando de sua contração (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008). A deformação da lente também pode ser causada pelo musculo circunferencial. A densidade deste musculo varia entre as espécies sendo mais desenvolvido

em aves aquáticas devido a necessidade de compensação pela perda do poder de refração da córnea (WILLIAMS, 1994).

2.7.7 Segmento posterior do olho

O corpo vítreo é grande e transparente. O fundo é verde ou avermelhado e os vasos coroidais nem sempre são visíveis; Suas retinas são anangióticas (RODARTE-ALMEIDA et al., 2013) avascular e na maioria das aves atapetal (GARGIULO, 2015). Sua coloração se dá devido a vascularização e pigmentação da coroide. A retina é composta por 10 camadas, sendo epitélio pigmentar, camada de cones e bastonetes, membrana limitante externa, camada nuclear externa, camada plexiforme externa, camada nuclear interna, camada plexiforme interna, camada de células ganglionares, camada de fibras nervosas e membrana limitante interna (BACHA; BACHA, 2001).

Em algumas aves há a presença da fóvea, uma área de depressão na retina com um arranjo mais denso de cones e onde há maior acuidade visual (RODRIGUES; DANTAS, 2008). Dependendo do número de fóveas podemos classificar as espécies em afoveais, monofoveais e bifoveais. As espécies domésticas são, em sua maioria, afoveais. A maioria das espécies de aves são monofoveais possuindo uma fóveal central ou temporal. Falcões, águias e alguns passeriformes são bifoveais possuindo a fóvea central e a temporal (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008; CARVALHO et al., 2018; JONES; PIERCE; WARD, 2007).

O pécten ocular, que é uma projeção para o vítreo (GARGÍULO, 2015), é localizado no interior da câmara vítrea e tem função de proteger e obstruir a sobrecarga do brilho da retina das aves (RODARTE-ALMEIDA et al., 2013), auxilia na nutrição da porção interna da retina avascular (BRAEKEVELT, 1993; MONTIANI-FERREIRA; CARDOSO; PETERSEN-JONES, 2004; WOLBURG et al., 1999).

O pécten pode ter diferentes formatos nas diferentes espécies de aves, sendo classificado em três tipos morfológicos distintos: cônico, em palhetas e plicado. A maioria das aves possui o tipo plicado que consiste em um número variado de dobras umas sobre as outras (BRAEKEVELT, 1993). Em exames de oftalmoscopia, o pécten não pode ser adequadamente avaliado, podendo ser observado à ultrassonografia ocular (SQUARZONI et al., 2010).

A coróide consiste majoritariamente em vasos sanguíneos e tecido conjuntivo pigmentado. É a maior fonte de oxigênio para a retina e dissipa o calor produzido pela absorção

de luz pelos fotorreceptores. A coroide pode ser dividida em 5 camadas: a camada mais externa, a lâmina supracoroidea, composta por tecido conjuntivo pigmentado, elástico, que forma a transição entre a coroide e a esclera; a segunda camada, o espaço pericoroideale com fibras musculares estriadas e não estriadas e tecido conjuntivo; a lâmina vasculosa, formada por artérias; a lâmina coriocalilar e a lâmina basal (BACHA; BACHA, 2001).

Externamente, como parte da esclera observa-se a presença de cartilagem hialina nos olhos das aves. Essa cartilagem se estende desde os ossículos na face anterior. Assim como os ossículos a função da cartilagem é dar sustentação ao olho (JONES; PIERCE; WARD, 2007).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo

O estudo foi realizado com animais de um ninhal de Pelecaniformes localizado no Campus universitário da Universidade Federal de Lavras – MG, Latitude: 21° 14' 43" S e longitude: 44° 59' 59" W. O ninhal foi acompanhado durante os anos de 2015, 2016, 2017 e 2018.

3.2 Autorizações

Para realização do presente estudo foram solicitadas as autorizações aos órgãos e instâncias competentes: ICMBIO – SISBIO, autorizações número 47574 - Levantamento das espécies de pelecaniformes de ocorrência em um ninhal no sul de Minas Gerais e de seus predadores e levantamento das possíveis causas de morte de indivíduos da colônia; 52037 - Levantamento sanitário de um grupo de pelecaniformes com especial enfoque a pesquisa de patógenos de caráter zoonótico.; 51070 – Acompanhamento morfológico e radiográfico da ossificação primária e secundária em garças-vaqueiras. O projeto foi aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras protocolos 023/15, 002/17 e 035/17.

3.3 Censo populacional

Foram realizados censos para contabilização da população de garças. No primeiro ano os censos ocorreram a cada bimestre, sendo nos anos de 2016 e 2017 realizados mensalmente. Três observadores se posicionavam a uma distância fixa da colônia em triângulação e contabilizavam todos os animais presentes no ninhal e aqueles que chegavam para o pernoite. A contagem era realizada das 16:00 as 20:00 horas a depender do horário de retorno dos animais à colônia e ao horário de verão. A contagem era realizada sempre na última semana de cada mês por três dias seguidos, sendo o valor do mês considerado como a média de contagem dos três observadores nos três dias de contagem.

3.4 Animais

No ano de 2015 foram realizadas visitas a área sob o ninhal diariamente durante o período reprodutivo para coleta de animais feridos, moribundos ou carcaças. Nos anos de 2016 e 2017 as visitas eram realizadas em média a cada três dias.

Espécimes coletados eram levados ao Hospital Veterinário da UFLA, onde eram pesados, anestesiado mediante aplicação de cetamina (30mg/kg) e xilazina (4mg/kg) por via intramuscular e se bem hidratados eram encaminhados à exame ultrassonográfico oftálmico. Animais moribundos e desidratados eram anestesiados e prontamente realizada eutanásia coma aplicação intravenosa de tiopental (>100mg/kg).

Era realizada a biometria dos cadáveres: medida de bico (comprimento, largura e altura), comprimento de tibiotarso, tarsometatarso. Devido ao alto número de animais apresentando alterações ósseas no ano de 2015 foi realizado estudo radiográfico de alguns animais nos anos de 2015 e 2016. Para este estudo os animais foram selecionados aleatoriamente.

Todos os animais encontrados mortos ou eutanasiados eram encaminhados para necropsia sendo observadas as principais alterações a macroscopia e colhido material para histopatologia. Dos cadáveres com alterações pós-mortais acentuadas não foram coletados materiais para histopatologia.

No ano de 2017 foi coletado material, fragmentos de todos os órgãos de cadáveres submetidos à necropsia, em duplicata para congelamento para posterior levantamento de patógenos por PCR.

3.5 Estudo radiográfico

Animais recolhidos sob o ninhal nos anos de 2015 e 2016 eram selecionados aleatoriamente e após a eutanásia eram encaminhados a exame radiográfico. Os cadáveres eram posicionados em posição ventro-dorsal e laterolateral. As radiografias foram realizadas em aparelho convencional (Sawae Altos ST®) com uso de sistemas de digitalização do filme (Fujifilm Prima®) e ajuste de kilovoltagem e miliamperagem de acordo com o tamanho de cada animal.

3.6 Estudo do Olho

Após observação de lesões em olhos de garças vaqueiras devido a traumas, muitas vezes por agressividade intraespecífica, iniciou-se um estudo acerca do globo ocular da garça-vaqueira.

Animais caídos dos ninhos porem sem outras alterações significativas que não a caquexia, foram anestesiados com xilazina (4mg/kg) e cetamina (30mg/kg) sendo realizado exame ultrassonográfico oftálmico. Animais com alterações sistêmicas, desidratados eram anestesiados e imediatamente eutanasiados. Foi realizada a morfometria oftálmica: mensurados os diâmetros horizontais (distância entre as duas comissuras palpebrais), e palpebral (distância entre pálpebra superior e inferior). Após a eutanásia realizava-se dissecação e remoção do bulbo ocular. Foram mensurados os diâmetros equatorial (distância entre os polos dorsal e ventral do bulbo ocular, perpendicular ao eixo óptico do bulbo e equidistante entre os polos anterior e posterior) e axial (distância entre os extremos dos polos anterior e posterior do bulbo) de ambos os olhos, com uso do paquímetro. A morfometria oftálmica foi realizada em 32 animais.

3.6.1 Exame ultrassonográfico do globo ocular

Para a realização do exame utilizou-se transdutor linear, com frequência de 18 mhz do aparelho ultrassonográfico Toshiba Aplio™ 300 e gel condutor. Adquiriu-se seis imagens de cada olho (direito e esquerdo), sendo três de corte dorsal e três de corte sagital. Foram avaliados: comprimento axial da córnea (Cor), comprimento axial da câmara anterior (CA), comprimento axial da lente (Lente), comprimento axial da câmara vítrea (CV), comprimento axial ocular (Axial) e comprimento do pectén. Este exame foi realizado em 9 animais.

3.6.2 Morfologia microscópica do globo ocular

Para análise microscópica os bulbos oculares foram fixados em formol 10% tamponado (pH 7,3) em frasco identificado conforme a identificação do cadáver. Após fixação os olhos foram lavados em água corrente. O corte do bulbo ocular é padronizado, utilizando como referência o nervo óptico e a inserção do tendão da terceira pálpebra, sendo cortados longitudinalmente.

Após a clivagem, as metades dos bulbos oculares foram processadas rotineiramente para histologia e incluídas em parafina. Foram realizados cortes de 5µm de espessura, as lâminas coradas pela Hematoxilina e Eosina e avaliadas em microscópio ótico.

3.7 Necropsia e avaliação histopatológica

Cadáveres coletados que não se apresentavam em avançado estado de autólise e cadáveres de animais eutanasiados foram submetidos à necrópsia. Foi realizada a avaliação macroscópica e anotadas as principais alterações e colhidos tecidos para avaliação histopatológica.

Fragmentos de tecidos de até aproximadamente 1 cm² de espessura eram coletados e armazenados em solução de formalina 10% sendo posteriormente processados e corados com Hematoxilina e Eosina e as amostras avaliadas em microscópio ótico.

3.8 Estudo dos centros de ossificação com aparecimento após eclosão

Foram selecionados filhotes de diferentes idades para avaliação de aparecimento e fusão de centros de ossificação pós eclosão. Para tal utilizou-se de radiografias dos animais coletados em 2015 e 2016 e foram realizadas novas coletas e radiografias de animais em 2018. Parte dos cadáveres de animais coletados em 2018 foi corada mediante uso de alizarina red S e azul de alciano para identificação de zonas de cartilagem e osso.

3.9 Colheita de material para estudo epidemiológico

No ano de 2017 foram colhidos fragmentos de todos os órgãos em duplicata armazenados em eppendorfs e congelados para posterior levantamento de doenças infecciosas, em especial *Salmonella spp* e *Chlamydia psittaci* por PCR.

4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A garça-vaqueira é uma espécie que tem avançado sobre novos ninhos, adaptando-se inclusive ao meio urbano. Suas populações no Brasil aparentam crescimento, sendo observada a presença de ninhais em todo o país. Além da necessidade de conhecimento acerca da própria espécie, o estudo sobre este ardeídeo pode fornecer dados para extrapolação para outras espécies ameaçadas de extinção como *Egretta eulophotes*.

REFERENCIAS

- ABDULLAH, M. et al. Habitat Ecology and Breeding Performance of Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) in Faisalabad, Pakistan. **Pakistan Journal of Zoology**;, v. 49, n. 5, p. 1863–1870, 2017.
- ANDERSON, C.; DANYLCHUK, K. D. Haversian bone-remodelling rates in the beagle after cessation of exposure to chronic low doses of lead. - PubMed - NCBI. **J Environ Pathol Toxicol.** , v. 3, n. 5–6, p. 413–422, 1980.
- ANDERSON, R. E.; SCHRAER, H.; GAY, C. V. Ultrastructural immunocytochemical localization of carbonic anhydrase in normal and calcitonin-treated chick osteoclasts. **The Anatomical Record**, v. 204, n. 1, p. 9–20, 1982.
- ANNORBAH, N. N. D.; HOLBECH, L. H. Relative abundance , agonistic behaviour , and resource partitioning among three scavenging bird species in Ghana. **Malimbus**, v. 34, p. 1–8, 2012.
- ANTILLON, A et al. Metabolic response of laying hens to different dietary levels of calcium, phosphorus and vitamin D3. **Cornell Veterinary**, v. 67, n. 3, p. 413–444, 1977.
- ARANA-CHAVEZ, V. E.; SOARES, A. M. V.; KATCHBURIAN, E. Junctions between Early Developing Osteoblasts of Rat Calvaria as Revealed by Freeze-Fracture and Ultrathin Section Electron Microscopy. **Archives of Histology and Cytology**, v. 58, n. 3, p. 285–292, 1995.
- ARAUJO, H. F. P.; NISHIDA, A. K. Considerações sobre colônias de garças (Ciconiiformes, Ardeidae) no Estado da Paraíba, Brasil. **Ornithologia**, v. 2, n. 1, p. 34–40, 2007.
- ARENDRT, W. J.; ARENDRT, A. I. Aspects of the Breeding Biology of the Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) in Montserrat, West Indies, and Its Impact on Nest Vegetation. **Colonial Waterbirds**, v. 11, n. 1, p. 72, 1988.
- ASHOORI, A.; BARATI, A. Breeding success of Black-crowned Night Heron (*Nycticorax nycticorax*), Little Egret (*Egretta garzetta*) and Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) (Aves: Ardeidae) in relation to nest height in the South Caspian Sea. **Italian Journal of Zoology**, v. 80, n. 1, p. 149–154, 2013.
- ATHIÊ, S.; DIAS, M. M. Avian community composition in an urban park in central São Paulo state , southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Zociências**, v. 12, n. 1, p. 67–73, 2010.
- BACHA, W. J.; BACHA, L. M. **Atlas color de histologia veterinaria**. 2. ed. Buenos Aires:

Inter-médica, 2001

BAIN, S. D.; WATKINS, B. A. Local Modulation of Skeletal Growth and Bone Modeling in Poultry. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. suppl_2, p. 317–322, 1 fev. 1993.

BÁRBARA, A. et al. Avian Influenza Virus Surveillance in South-Central Spain Using Fecal Samples of Aquatic Birds Foraging at Landfills. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, p. 1–8, out. 2017.

BARBOSA-FILHO, R. C. et al. A garça-vaqueira (*Bubulcus ibis* Linnaeus , 1758) e o atobá-de-pé-vermelho (*Sula sula* Linnaeus , 1766) no Arquipélago de Fernando de Noronha : uma abordagem ecológica comparativa. **Ornithologia**, v. 3, n. 2, p. 101–114, 2009.

BAYÓN, A.; ALMELA, J. .; TALAVERA, R. M. Avian ophthalmology. **European Journal of Companion Animal Practice**, v. 17, p. 253–266, 2008.

BECK, M. M.; HANSEN, K. K. Role of estrogen in avian osteoporosis. **Poultry Science**, v. 83, n. 2, p. 200–206, 2004.

BELLA, S. **Biologia reprodutiva e alimentar de *Bubulcus ibis* (Linnaeus, 1758) (ciconiiforme, ardeidae) e sua ocorrência em Pernambuco, Brasil**. 2003.156 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

BELLA, S. D.; AZEVEDO-JÚNIOR, S. M. DE. Composição da dieta da Garça-vaqueira, *Bubulcus ibis* (Linnaeus, 1758) (Ciconiiformes; Ardeidae) no Agreste Pernambucano, Nordeste do Brasil. **Ornithologia**, v. 2, n. 2, p. 65–71, 2007.

BINO, G. et al. Accurate prediction of bird species richness patterns in an urban environment using Landsat-derived NDVI and spectral unmixing. **International Journal of Remote Sensing**, v. 29, n. 13, p. 3675–3700, 2008.

BIRDLIFE INTERNATIONAL 2016. *Bubulcus ibis*. **The IUCN Red List of Threatened Species** 2016: e.T22697109A86454050. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T22697109A86454050.en>. Acesso em: 09 out. 2019.

BLAKER, D. Behavior of the cattle egret (*Ardeola ibis*). **Ostrich**, v. 40, n. 3, p. 75–129, 11 jan. 1969.

BLISS, C. D.; AQUINO, S.; WOODHOUSE, S. Ocular findings and reference values for selected ophthalmic diagnostic tests in the macaroni penguin (*Eudyptes chrysolophus*) and

- southern rockhopper penguin (*Eudyptes chrysocome*). **Veterinary Ophthalmology**, v. 18, p. 86–93, jan. 2015.
- BOCK, A generic review of the family ardeidae (Aves). American Museum Novitates, n. 1779, 1956.
- BOIVIN, G. et al. The role of mineralization and organic matrix in the microhardness of bone tissue from controls and osteoporotic patients. **Bone**, v. 43, n. 3, p. 532–538, set. 2008.
- BONIER, F.; MARTIN, P. R.; WINGFIELD, J. C. Urban birds have broader environmental tolerance. **Biology Letters**, v. 3, n. 6, p. 670–673, 22 dez. 2007.
- BOTTI CRUZ, B.; JOÃO PIRATELLI, A. Avifauna associada a um trecho urbano do Rio Sorocaba, Sudeste do Brasil. **Biota Neotropical**, v. 11, n. 4, p. 255–264, 2011.
- BRAEKEVELT, C. R. Fine structure of the pecten oculi in the great horned owl (*Bubo virginianus*). **Histology and Histopathology**, v. 8, p. 9–15, 1993.
- BROWN, L.H.; URBAN, E.K.; NEWMAN, K. 1982. The birds of Africa. Vol. 1. London: Academic Press, 1982, p.
- BURCU; KABAK, O. Localization of the ultimobranchial gland, thyroid gland and parathyroid gland in long-legged buzzard (*Buteo rufinus*). **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 59, n. 2, p. 81–84, 2015.
- BURGER, J. Factors affecting bird strikes on aircraft at a coastal airport. **Biological Conservation**, v. 33, n. 1, 1985.
- BURGER, J.; GOCHFELD, M. Behavior of Nine Avian Species at a Florida Garbage Dump. **Colonial Waterbirds**, v. 6, p. 54–63, 1983.
- BURGER, J.; GOCHFELD, M. Making Foraging Decisions: Host Selection by Cattle Egrets *Bubulcus ibis*. **Ornis Scandinavica**, v. 24, n. 3, p. 229, jul. 1993.
- BURNS, E. C.; CHAPIN, J. B. Arthropods in the Diet of the Cattle Egret, *Bubulcus ibis*, in Southern Louisiana. **Journal of Economic Entomology**, v. 62, n. 3, p. 736–738, 1 jun. 1969.
- CANDIOTO, C. G. **Histomorfometria do bulbo do olho de peneireiro-de-dorso-malhado (*Falco tinnunculus*- Linnaeus, 1758)**. Dissertação. Mestrado em Cirurgia Veterinária. FCAV-UNESP, 2011.
- CANLISH, J. K.; TAYLOR, T. G. THE RESPONSE-TIME TO THE PARATHYROID

HORMONE IN THE LAYING FOWL. **Journal of Endocrinology**, v. 48, n. 1, p. 143–144, set. 1970.

CAMPANINI, E. **Populações brasileiras da espécie exótica invasora *Bubulcus ibis*: distribuição da diversidade genética avaliada pelos microssatélites**. 2011, 101 p. Mestrado (Biologia Molecular) - Universidade Federal de São Carlos, 2011.

CARDOSO, C. O. et al. Bird strike risk analysis at the international airport of Parnaíba, Piauí, Brazil. **Ornitologia Neotropical**, v. 25, n. 2, p. 179–193, 2014.

CARVALHO, C. E. A. et al. Comunidade de aves do aeroporto Carlos Drummond Andrade/MG e suas implicações para reguração aeroportuária. **Revista Conexão SIPAER**, v. 7, n. 1, p. 82–88, 2016.

CARVALHO, C. M. et al. Avian ophthalmic peculiarities. **Ciência Rural**, v. 48, n. 12, p. 1–10, 6 dez. 2018.

CHACE, J. F.; WALSH, J. J. Urban effects on native avifauna: A review. **Landscape and Urban Planning**, v. 74, n. 1, p. 46–69, 2006.

CHARLES, J. F.; ALIPRANTIS, A. O. Osteoclasts: more than ‘bone eaters’. **Trends in Molecular Medicine**, v. 20, n. 8, p. 449–459, ago. 2014.

CHESSER, R. T. et al. Fifty-eighth supplement to the American Ornithological Society’s Check-list of North American Birds. **The Auk**, v. 134, n. 3, p. 751–773, 5 jul. 2017.

COLVILLE, T. P.; BASSERT, J. M.; COLVILLE, T. P. **Clinical anatomy and physiology laboratory manual for veterinary technicians**. St Louis: Mosby Elsevier, 2009, 486 p.

COUSQUER, G. O.; DANKOSKI, E. J. Papers & Articles Metabolic bone disease in wild collared doves (*Streptopelia decaocto*). **The Veterinary Record**, v. 20, p. 1–8, 2007.

CRABB, I. D. et al. Synergistic effect of transforming growth factor β and fibroblast growth factor on DNA synthesis in chick growth plate chondrocytes. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 5, n. 11, p. 1105–1112, 3 dez. 1990.

CROCKETT, J. C. et al. New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: Focus on the RANK/RANKL axis. **Osteoporosis International**, v. 22, n. 1, p. 1–20, 2011.

CROSBY, B. G. T. Spread of the Cattle Egret in the Western Hemisphere. **Bird-Banding**, v.

43, n. 3, p. 205–212, 1972.

DACKE, C. G. et al. Medullary Bone and Avian Calcium Regulation. **Journal of Experimental Biology**, v. 88, p. 63–88, 1993.

DACKE, C. G. **Molecular and Cellular Biology of Bone**. 1a. ed. St Louis: Elsevier Science, 1998. v. 5

DALLAS, S. L.; PRIDEAUX, M.; BONEWALD, L. F. The Osteocyte: An Endocrine Cell ... and More. **Endocrine Reviews**, v. 34, n. 5, p. 658–690, 1 out. 2013.

DEAN, A. R. Cattle Egrets feeding on refuse tip. **British Birds**, v. 71, p. 268, 1978.

DE BERNARD, B. et al. Biochemical and immunohistochemical evidence that in cartilage an alkaline phosphatase is a Ca²⁺-binding glycoprotein. **The Journal of Cell Biology**, v. 103, n. 4, p. 1615–1623, 1 out. 1986.

DE MATOS, R. Calcium Metabolism in Birds. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 11, n. 1, p. 59–82, jan. 2008.

DENIS, D et al. Reproducción de la Garza Gandra (*Bubulcus ibis*) en la Ciénaga de Biramas, Cuba. **The Journal of Caribbean Ornithology**, v. 16, n. 1, p. 45–54, 2003.

DINEV, I. Comparative pathomorphological study of rickets types in broiler chickens. v. 3, n. 1, p. 1–10, 2011.

DINSMORE, J. J. The University of Notre Dame Foraging Success of Cattle Egrets, *Bubulcus ibis*. v. 89, n. 1, p. 242–246, 1973.

DONELEY, B. *Avian Medicine and Surgery in Practice: companion and aviary birds*. Boca Raton: CRC Press. , 2010, 336 p.

DRAGONETTI, M.; GIOVACCHINI, P. Aspects of breeding biology of Cattle Egret *Bubulcus ibis* in a Grosseto province colony (Tuscany, central Italy). **Avocetta**, v. 33, p. 199–204, 2009.

DUARTE, J. et al. **Landfill habitat restoration can reduce the incidence of vertebrate pest species**. (J. JACOB, A. ESTRHER, Eds.) 8th European Vertebrate Pest Management Conference. **Anais...** Berlin: Julius-Kühn-Archiv, 2011

DUBEY, J. P. A review of toxoplasmosis in wild birds. **Veterinary parasitology**, v. 106, n. 2, p. 121–53, 3 jun. 2002.

- DUMONT, E. R. Bone density and the lightweight skeletons of birds. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 277, n. 1691, p. 2193–2198, 2010.
- DYCE, K.; SACK, W.; WENSING, C. J. G. Textbook of veterinary anatomy. St. Luis: Saunders, 2009, 864 p.
- ELIAM, M. C. et al. Influence of blood calcium on calcitonin receptors in isolated chick osteoclasts. **Journal of Endocrinology**, v. 119, n. 2, p. 243- NP, 1988.
- ESSY, A. B. C., TRECO, F. R. Comunidade de aves urbanas do município de Verê- Paraná. **Arq. Ciênci. Vet. Zool. UNIPAR**, v. 18, n. 3, p. 169-174, 2015.
- ETCHES, R. J.; CHENG, K. W. Changes in the plasma concentrations of luteinizing hormone, progesterone, oestradiol and testosterone and in the binding of follicle-stimulating hormone to the theca of follicles during the ovulation cycle of the hen (*Gallus domesticus*). **Journal of Endocrinology**, v. 91, n. 1, p. 11–22, 1981.
- ETHIER, A. L. M. et al. Comparison of lead residues among avian bones. **Environmental Pollution**, v. 145, n. 3, p. 915–919, 1 fev. 2007.
- FARIAS, J. N. B. **Percepção popular sobre os pombos (*Columba livia*) como animais sinantrópicos no agreste paraibano, nordeste do Brasil**. 2016. 26 p. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, 2016.
- FARQUHARSON, C.; JEFFERIES, D. Chondrocytes and Longitudinal Bone Growth: The Development of Tibial Dyschondroplasia. **Poultry Science**, v. 79, n. 7, p. 994–1004, 1 jul. 2000.
- FEDUCCIA A.. **Osteologia das aves**, In: Getty R. (Ed.), Anatomia dos Animais Domésticos. Vol.2. Rio de Janeiro.: Guanabara Koogan, 1986, p.1680-1690.
- FELLOWS, D. P.; C PATON, P. W.; PATON, P. W. **Behavioral Response of Cattle Egrets To Population Control Measures in Hawaii**. Proceedings of the Thirteenth Vertebrate Pest Conference. **Anais**.1988
- FLEMING, R. H. et al. Medullary bone and humeral breaking strength in laying hens. **Research in veterinary science**, v. 64, n. 1, p. 63–7, 1998.
- FLEMING, R. H. Nutritional factors affecting poultry bone health. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 67, n. 2, p. 177–183, 15 maio 2008.

- FLORENCIO-SILVA, R. et al. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–17, 2015.
- FOGARTY, M. J.; HETRICK, W. M. A. E. years the species has probably become the most plentiful egret in North flies (*Ort / temis sp .*), beetles (*Hydrophylidae*), and clegs (*Tabanidae*). Biaggi (in Palmer , 1962) identified principally grasshoppers (*Acrididae* , killed between 15 August a. **Auk**, v. 90, n. April, p. 268–280, 1973.
- FORCATO, A. et al. Avifauna da Universidade Norte do Paraná, Campus Araçongas, PR, Brasil. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 13, n. 3, p. 157–162, 2011.
- FORTE, L. R. et al. Upregulation of kidney adenylate cyclase in the egg-laying hen: role of estrogen. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 245, n. 3, p. 273–280, 1983.
- FOTOLULU. Taxonomy of the birds of the world. BoD:Auflage, 702 p., 2018.
- FRANCHIN, A. G.; JÚNIOR, O. M. A riqueza da avifauna no Parque Municipal do Sabiá, zona urbana de Uberlândia (MG). **Biotemas**, v. 17, n. 1, p. 179–202, 2004.
- FRANCIS, C. D. Vocal traits and diet explain avian sensitivities to anthropogenic noise. **Global Change Biology**, v. 21, n. 5, p. 1809–1820, 2015.
- FREITAS, M. A. DE; FRANÇA, D. P. F. DE. (*Ciconiiformes : Ardeidae*) no município de Quijingue , na Bahia , e considerações sobre aspectos reprodutivos no semi-árido baiano. n. Foto 2, p. 35–36, 2009.
- FROST, H. M. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1. Redefining Wolff's Law: The bone modeling problem. **The Anatomical Record**, v. 226, n. 4, p. 403–413, 1990.
- GANGOSO, L. et al. Long-term effects of lead poisoning on bone mineralization in vultures exposed to ammunition sources. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 2, p. 569–574, 2009.
- GARGIULO, F. C. D. **Particularidades oftálmicas em aves universidade de Brasília faculdade de agronomia e medicina veterinária**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade de Brasília, 2015.
- GASSETT, J. W. et al. Food Habits of Cattle Egrets on St. Croix, U.S. Virgin Islands. **The Wilson Ornithological Society**, v. 112, n. 2, p. 268–271, 2009.

- GAY, C. V. Avian bone resorption at the cellular level. *CRC Crit Rev Poultry Biol*, v. 1, p.197-210, 1988
- GERING, J. C.; BLAIR, R. B. Predation on Artificial Bird Nests along an Urban Gradient: Predatory Risk or Relaxation in Urban Environments? **Ecography**, v.22, n.22, p. 532–541, 1999.
- GHERBI-SALMI, R.; DOUMANDJI, S.; VOISIN, C. Diet of chicks of Cattle Egrets *Bubulcus ibis* in the lower Soummam valley, Algeria. **Ostrich**, v. 83, n. 2, p. 99–104, 2012.
- GLASSER, A.; HOWLAND, H. C. A History of Studies of Visual Accommodation in Birds. **The Quarterly Review of Biology**, v. 71, n. 4, p. 475–509, 1996.
- GLIMCHER, M. J. The Nature of the Mineral Phase in Bone: Biological and Clinical Implications. In: AVIOLI, L. V. (Ed.). **Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders**. 3a. ed. St Louis: Woodhead Publishing Limited, 1998. p. 23–52.
- GOLLER, B. et al. Assessing bird avoidance of high-contrast lights using a choice test approach: implications for reducing human-induced avian mortality. **PeerJ**, v. 6, p. 2–21, 26 set. 2018.
- GRANT, K. R.; WATSON, J. **Controlling Nuisance Egret and Heron Rookeries in Oklahoma**. Great Plains Wildlife Damage Control Workshop Proceedings. **Anais...**1995
- GRANZINOLLI, M. A. M.; MOTTA, J. C. Predation on the Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) and consumption of the Campo Flicker (*Colaptes campestris*) by the Aplomado Falcon (*Falco femoralis*) in Brazil. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 14, n. 4, p. 453–454, 2006.
- GREGORY, N. G.; WILKINS, L. J. Broken bones in domestic fowl: Handling and processing damage in end-of-lay battery hens. **British Poultry Science**, v. 30, n. 3, p. 555–562, set. 1989.
- GRÖNE, A.; SWAYNE, D. E.; NAGODE, L. A. Hypophosphatemic rickets in rheas (*Rhea americana*). **Veterinary pathology**, v. 32, n. 3, p. 324–327, 1995. GUETTÉ, A. et al. Measuring the synanthropy of species and communities to monitor the effects of urbanization on biodiversity. **Ecological Indicators**, v. 79, n. December 2016, p. 139–154, 2017.
- GURGEL, A. Campo Grande news. 26 de agosto de 2017 Disponível em: <https://www.campograndenews.com.br/reportagens-especiais/forca-de-guerreiro-num-cenario-espinhoso-natureza-briga-por-espaco>. Acesso em: 09 de out. de 2019
- HALL, M. I. The anatomical relationships between the avian eye, orbit and sclerotic ring:

implications for inferring activity patterns in extinct birds. **Journal of Anatomy**, v. 212, n. 6, p. 781–794, 2008.

HAMILTON, J. D.; O'FLAHERTY, E. J. Influence of Lead on Mineralization during Bone Growth. **Fundamental and Applied Toxicology**, v. 26, n. 2, p. 265–271, 1995.

HANEBRINK, E. L.; DENTON, G. Feeding behavior and analysis of regurgitated food collected from the Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) and the Little Blue Heron (*Florida caerulea*). **Arkansas Academy of Science Proceedings**, v. 23, p. 74–79, 1969.

HANCOCK, J.; KUSHLAND, J. The herons handbook. Harper of Row Publs, New York. 267, 1995.

HARRIS, M. C. et al. Ophthalmic examination findings in a colony of Screech owls (*Megascops asio*). **Veterinary Ophthalmology**, v. 11, n. 3, p. 186–192, 2008.

HASAN, M. W. **Study on Status of Cattle Egret in Bangladesh**. Chittagong Veterinary And Animal Sciences University, 2010.

HASSAN, S. A. Comparative Morphological Studies on the Quadra-tomandibular Articulation in Hooded Crow (*Corvus cornix*) and Cattle Egret (*Bubulcus ibis*). v. 5, n. 1, p. 31–46, 2012.

HAUSCHKA, P. V. et al. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. **Physiological Reviews**, v. 69, n. 3, p. 990–1047, 1989.

HEATWOLE, H. Some aspects of the association of cattle egrets with cattle. **Animal Behaviour**, v. 13, n. 1, p. 79–83, 1965.

HERRERA, C M. Observaciones sobre una colonia de Garcillas Bueyeras (*Bubulcus ibis*) en Andalucía. **Ardeola**, v. 20, p. 287–306, 1974.

HESTER, P. Y. **Improving Egg Production and Hen Health with Calcium**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017.

HICKS, D. G. et al. Effects of Lead on Growth Plate Chondrocyte Phenotype. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 140, n. 1, p. 164–172, 1996.

HILALUDDIN; SHAH, J. N.; SHAWL, T. A. Nest Site Selection and Breeding Success by Cattle Egret and Little Egret in Amroha, Uttar Pradesh, India. **Waterbirds**, v. 26, n. 4, p. 444–448, 2003.

HOSHINO, S. et al. Changes in plasma thyroid hormones, luteinizing hormone (LH), estradiol,

progesterone and corticosterone of laying hens during a forced molt. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 90, n. 2, p. 355–359, 1988.

HOWLETT, C. R. **The fine structure of the proximal growth plate of the avian tibia J. Anat.** v. 139, p. 115-132, 1984.

HUDSON, H. A. et al. Histomorphometric Bone Properties of Sexually Immature and Mature White Leghorn Hens with Evaluation of Fluorochrome Injection on Egg Production Traits. **Poultry Science**, v. 72, n. 8, p. 1537–1547, 1 ago. 1993.

HURWITZ, S. Calcium homeostasis in birds. **Vitamins and hormones**, v. 45, p. 173–221, 1989.

HUSSEIN, S.; REZK, H. Macro and Microscopic Characteristics of the Gastrointestinal Tract of the Cattle Egret (*Bubulcus Ibis*). **International Journal of Anatomy and Research**, v. 4, n. 2, p. 2162–2174, 2016.

ITAKURA, C. et al. Pathology of experimental vitamin D deficiency rickets in growing chickens. I. Bone. **Avian Pathology**, v. 7, n. 4, p. 491–513, 1978.

JADCZYK, P.; DRZENIECKA-OSIADACZ, A. Feeding strategy of wintering rooks *Corvus frugilegus* L. in urban habitats. **Polish Journal of Ecology**, v. 61, n. 3, p. 587–596, 2013.

JANDE, S. S.; DICKSON, I. R. Comparative histological study of the effects of high calcium diet and vitamin D supplements on epiphyseal plates of vitamin-D-deficient chicks. **Acta anatomica**, v. 108, n. 4, p. 463–8, 1980.

JAYARATNE, R. L. Do Cattle Egrets *Bubulcus ibis* in Sri Lanka migrate to breed? **Indian Birds**, v. 11, n. 3, p. 69–70, 2016.

JENNI, D. A. A Study of the Ecology of Four Species of Herons during the Breeding Season at Lake Alice, Alachua County, Florida. **Ecological Monographs**, v. 39, n. 3, p. 245–270, fev. 1969.

JOHNSTON, R. F. **Synanthropic birds of north américa**. In: MARZLUFF, J.M.; BOWMAN, R., DONNELLI, R. *Avian Ecology and Conservation in an Urbanizing World*. Springer Science+Business Media: New York, 2001, 584 p.

JOHNSTON, M. S.; IVEY, E. S. Parathyroid and ultimobranchial glands: Calcium metabolism in birds. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 11, n. 2, p. 84–93, 2002.

- JONES, M. P.; PIERCE, K. E.; WARD, D. Avian Vision: A Review of Form and Function with Special Consideration to Birds of Prey. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 16, n. 2, p. 69–87, abr. 2007.
- KARK, S. et al. Living in the city: Can anyone become an “urban exploiter”? **Journal of Biogeography**, v. 34, n. 4, p. 638–651, 2007.
- KATZIR, G.; MARTIN, G. R. Visual fields in herons (Ardeidae) - panoramic vision beneath the bill. **Naturwissenschaften**, v. 81, n. 4, p. 182–184, 1994.
- KENNEDY, G. .; ARNOLD, D. .; CALANDRA, J. . Teratogenic evaluation of lead compounds in mice and rats. **Food and Cosmetics Toxicology**, v. 13, n. 6, p. 629–632, 1 jan. 1975.
- KENNY, A. D. Parathyroid and Ultimobranchial Glands. In: **Avian Physiology**. New York, NY: Springer New York, 1986. p. 466–478.
- KENNY, A. D.; DACKE, C. G. THE HYPERCALCAEMIC RESPONSE TO PARATHYROID HORMONE IN JAPANESE QUAIL. **Journal of Endocrinology**, v. 62, n. 1, p. 15–23, jul. 1974.
- KHALIFA, E. F. Gross Anatomical Studies on the Celiac Artery in Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) with Special Reference to the Arterial Supply of the Stomach. v. 7, n. 1, p. 1–13, 2014.
- KIM, W. K. et al. Concepts and methods for understanding bone metabolism in laying hens. **World’s Poultry Science Journal**, v. 68, n. 01, p. 71–82, 2012a.
- KNOTT, L. et al. Biochemical changes in the collagenous matrix of osteoporotic avian bone. **Biochemical Journal**, v. 310, n. 3, p. 1045–1051, 2015.
- KNOWLES, T. G.; BROOM, D. M. Limb bone strength and movement in laying hens from different housing systems. **The Veterinary record**, v. 126, n. 15, p. 354–6, 14 abr. 1990.
- KOPIJ, G. Mortality in South African Cattle Egrets *Bubulcus ibis* from 1951 to 1987. **The Ring**, v. 38, n. 1, p. 57–62, 2017.
- KOUR, D. N.; SAHI, D. N. Aspects of breeding biology of Cattle Egret , *Bubulcus ibis coromandus* (*boddaert*) in Jammu , India. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 3, n. 5, p. 1547–1561, 2013.
- KURANCHIE, A. et al. Foraging Activities , Success and Efficiency of Cattle Egrets (*Bubulcus ibis*) in Three Habitat Types in the Greater Accra Region of Ghana. **Issn**, v. 2, n. 4,

p. 2277–828, 2013.

KUSUHARA, S.; SCHRAER, H. Cytology and autoradiography of estrogen-induced differentiation of avian endosteal cells. **Calcified tissue international**, v. 34, n. 4, p. 352–8, jul. 1982.

LACEY, D. L.; HUFFER, W. E. Studies on the pathogenesis of avian rickets. I. Changes in epiphyseal and metaphyseal vessels in hypocalcemic and hypophosphatemic rickets. **The American journal of pathology**, v. 109, n. 3, p. 288–301, 1982.

LANE, S. J.; FUJIOKA, M. The impact of changes in irrigation practices on the distribution of foraging egrets and herons (Ardeidae) in the rice fields of central Japan. **Biological Conservation**, v. 83, n. 2, p. 221–230, 1998.

LAYNE, J. N.; LOHRER, F. E.; WINEGARNER, C. E. Bird and Mammal Predators on the Cattle Egret in Florida. **Florida Field Naturalist**, v. 5, n. 1, p. 7–10, 1977.

LESHEM, Y.; RONEN, N. Removing Hiriya Garbage Dump, Israel-A Test Case. **International Bird Strike Committee**, v. 24, n. 15, p. 14–18, 1998.

LINDAHL, A. et al. Mechanism of the Stimulatory Effect of Growth Hormone on Longitudinal Bone Growth*. **Endocrine Reviews**, v. 8, n. 4, p. 426–438, 1987.

LONG, A. P. H. et al. Experimental Rickets in Broilers: Gross , Microscopic , and Radiographic Lesions . III . Vitamin D Deficiency Published by : American Association of Avian Pathologists Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/1590269> Accessed : 13-03-2016 14 : 07 UTC You. **Avian Diseases**, v. 28, n. 4, p. 933–943, 1984a.

LONG, P. H. et al. Experimental Rickets in Broilers: Gross, Microscopic, and Radiographic Lesions. II. Calcium Deficiency. **Avian Diseases**, v. 28, n. 2, p. 460, 1984b.

LONG, P. H. et al. Experimental Rickets in Broilers: Gross, Microscopic, and Radiographic Lesions. I. Phosphorus Deficiency and Calcium Excess. **Avian Diseases**, v. 28, n. 2, p. 460, abr. 1984c.

LONGCORE, T.; RICH, C. Ecological Light Pollution. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 2, n. 4, p. 191, maio 2004.

LOWE-MCCONNELL, R. H. Biology of the immigrant cattle egret *Ardeola Ibis* in Guyana, South America. **Ibis**, v. 109, n. 2, p. 168–179, 3 abr. 1967.

LUAN, Y.; PRAUL, C. A.; GAY, C. V. Confocal imaging and timing of secretion of matrix proteins by osteoblasts derived from avian long bone. **Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology**, v. 126, n. 2, p. 213–21, jun. 2000.

MAHAFFEY, K. R. Nutritional Factors and Susceptibility to Lead Toxicity. **Environmental Health Perspectives**, v. 7, p. 107–112, maio 1974.

MAHECHA, G. A. B., OLIVEIRA C. A. Na additional bone in the sclera of the eyes of owls and the common potoo (*Nictibius griseus*) and its role in the contractio of the nictitating membrane. **Acta Anatomica**, v. 163, n. 4, p. 201–2011, 1998.

MALIK, R. N.; ZEB, N. Assessment of environmental contamination using feathers of *Bubulcus ibis* L., as a biomonitor of heavy metal pollution, Pakistan. **Ecotoxicology**, v. 18, n. 5, p. 522–536, 2009.

MALLETTE, L. E. The Parathyroid Polyhormones: New Concepts in the Spectrum of Peptide Hormone Action*. **Endocrine Reviews**, v. 12, n. 2, p. 110–117, maio 1991.

MANSOORI, B.; MODIRSANEI, M.; KIAEI, M. M. Influence of dried tomato pomace as an alternative to wheat bran in maize or wheat based diets, on the performance of laying hens and traits of produced eggs. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 9, n. 4, p. 341–346, 30 dez. 2008.

MARCHAN, P. R. A. C. **Tonometria e ecobiometria ocular em tucano-toco (*Ramphastos toco*) e tucano-de-bico-verde (*Ramphastos dicolorus*)**. Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria, 2015.

MARTIN, H. e RITCHIE, B. W. Orthopedic surgical techniques. In: RITCHIE, B. W., HARRISON, G. J., HARRISON, L. R. **Avian Medicine: principles and application**. 1994

MARZLUFF, J. M. et al. **Avian ecology and conservation in an urbanizing world**. Kluwer Academic Press, 2001. Pp 332-363

MASSA, C.; DOYLE, M.; CALLICÓ FORTUNATO, R. On how Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) spread to the Americas: meteorological tools to assess probable colonization trajectories. **International Journal of Biometeorology**, v. 58, n. 9, p. 1879–1891, 2014.

MATEO, R. et al. Lead poisoning in the globally threatened marbled teal and white-headed duck in Spain. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 12, p. 2860–2868, 2001.

MATSUO, K.; IRIE, N. Osteoclast–osteoblast communication. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 473, n. 2, p. 201–209, 15 maio 2008.

MCKILLIGAN, N. Causes of nesting losses in the cattle egret *Ardeola ibis* in eastern Australia with special reference to the pathogenicity of the tick *Argas (Persicargas) robertsi* to nestlings. **Australian Journal of Ecology**, v. 12, n. 1, p. 9–16, 1987.

MCKILLIGAN, N. G. A Long Term Study of Factors Influencing the Breeding Success of the Cattle Egret in Australia. **Colonial Waterbirds**, v. 20, n. 3, p. 419, 1997.

MCNAIR, D. B. Historical and current status of the cattle egret (*Bubulcus ibis*) in the U.S. virgin islands, and management consideration. **J. Carib. Ornithol**, v. 20, n. Arendt 1988, p. 7–16, 2007.

MEDILL, N. J. et al. Parathyroid hormone-related peptide expression in the epiphyseal growth plate of the juvenile chicken: Evidence for the origin of the parathyroid hormone-related peptide found in the epiphyseal growth plate. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 80, n. 4, p. 504–511, 2000.

MENCATO, A. A.; TRECO, F. R. Estrutura e composição da avifauna em um ambiente rural no sul do Brasil. p. 12–20, 2016.

MILLER, S. C. et al. Bone lining cells: structure and function. **Scanning microscopy**, v. 3, n. 3, p. 953–60, set. 1989.

MILLER, S. C.; BOWMAN, B. M. Medullary bone osteogenesis following estrogen administration to mature male Japanese quail. **Developmental Biology**, v. 87, n. 1, p. 52–63, 15 out. 1981.

MONTIANI-FERREIRA, F.; CARDOSO, F.; PETERSEN-JONES, S. Postnatal development of central corneal thickness in chicks of *Gallus gallus domesticus*. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 1, p. 37–39, 2004.

MORGAN, K. J. et al. Fibrous osteodystrophy in two Northern Royal albatross chicks (*Diomedea sanfordi*). **New Zealand Veterinary Journal**, v. 59, n. 5, p. 248–252, 2011.

MIYASAKI, D. M.; CARRANO, E.; FISCHER, M. L. Utilização de alimento industrializado por duas espécies de passeriformes (*Furnarius rufus* e *Turdus rufiventris*) em ambiente urbano. **Scientia Plena**, v. 13, n. 8, p. 1–11, 2017.

- MOUSSA, E. A.; HASSAN, S. A. Comparative gross and surface morphology of the oropharynx of the hooded crow (*Corvus cornix*) and the cattle egret (*Bubulcus ibis*). **Journal of Veterinary Anatomy**, v. 6, n. 1, p. 1–15, 2013.
- MUKHERJEE, A. Adaptiveness of Cattle Egret's (*Bubulcus ibis*) foraging. **Zoos' Print Journal**, v. 15, n. 10, p. 331–333, 2013.
- MULARI, M.; VÄÄRÄNIEMI, J.; VÄÄNÄNEN, H. K. Intracellular membrane trafficking in bone resorbing osteoclasts. **Microscopy Research and Technique**, v. 61, n. 6, p. 496–503, 2003.
- NAKASHIMA, T. et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. **Nature Medicine**, v. 17, n. 10, p. 1231–1234, 2011.
- NASCIMENTO, J.L.X. Registros de ninhas de garças (Ciconiiformes, Ardeidae) na Paraíba, Brasil. **Airo**, Lisboa, v.10, n.1, p. 39-42, 1999.
- NAUGLE, D. E. et al. Colonization and Growth of a Mixed-Species Heronry in South Dakota. **Colonial Waterbirds**, v. 19, n. 2, p. 199, 1996.
- NEUMANN, K. Bald Eagle Lead Poisoning in Winter. p. 210–218, 2009.
- NEWBREY, J. W. et al. Histomorphometry and Vitamin D Metabolism of Valgus-Varus Deformity in Broiler Chickens. **Avian Diseases**, v. 32, n. 4, p. 704–712, out. 1988.
- NICHOLS, A. D. et al. Rickets in Double-Crested Cormorants (*Phalacrocorax auritus*)
Published by: American Association of Zoo Veterinarians RICKETS IN DOUBLE-CRESTED. **The Journal of Zoo Animal Medicine**, v. 14, n. 3, p. 115–124, 1983.
- NORMAN, A. W.; HURWITZ, S. The Role of the Vitamin D Endocrine System in Avian Bone Biology. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. suppl_2, p. 310–316, 1 fev. 1993.
- NOVEL KOUR, D. Studies on the community ecology of cattle egrets *Bubulcus ibis coromandus* (Boddaert) in Jammu (Jammu and Kashmir), India. **International Journal of Biodiversity and Conservation**, v. 4, n. 13, p. 439–445, 2012.
- NUNES, M. F. C. et al. The Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) on Fernando de Noronha Archipelago : history and population trends. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 18, n. 4, p. 315–327, 2010.
- OCHIAI, A. K. et al. Pathological Study of Lead Poisoning in Whooper Swans (*Cygnus cygnus*

) in Japan Published by: American Association of Avian Pathologists Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/1591506> Linked references are available on JSTOR for this article : *Patholo.* v. 36, n. 2, p. 313–323, 2016.

ODGAARD, A. Three-dimensional methods for quantification of cancellous bone architecture. **Bone**, v. 20, n. 4, p. 315–28, 1997.

OHASHI, T.; KUSUHARA, S.; ISHIDA, K. Histochemical identification of oestrogen target cells in the medullary bone of laying hens. **British Poultry Science**, v. 31, n. 1, p. 221–224, 1990.

OLIPHANT, L. W. et al. The musculature and pupillary response of the Great Horned Owl iris. **Experimental Eye Research**, v. 37, n. 6, p. 583–595, 1983.

ORTEGA-ÁLVAREZ, R.; MACGREGOR-FORS, I. Dusting-off the file: A review of knowledge on urban ornithology in Latin America. **Landscape and Urban Planning**, v. 101, n. 1, p. 1–10, 2011.

OWINO, A.; BIWOTT, N.; AMUTETE, G. Bird strike incidents involving Kenya Airways flights at three Kenyan airports, 1991-2001. **African Journal of Ecology**, v. 42, n. 2, p. 122–128, 2004.

PANDALAI, S.; GAY, C. V. Effects of parathyroid hormone, calcitonin, and dibutyryl-cyclic AMP on osteoclast area in cultured chick tibia. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 5, n. 7, p. 701–705, 1990.

PARFITT, A. M. The actions of parathyroid hormone on bone: Relation to bone remodeling and turnover, calcium homeostasis, and metabolic bone diseases. **Metabolism**, v. 25, n. 8, p. 909–955, 1976.

PARK, S.-K. et al. Effect of Hunting Activities on Wintering Waterbird Populations. **The Korean Journal of Ornithology**, v. 3, n. 1, p. 11–21, 1996.

PATANKAR, P. et al. Ecology and breeding biology of the Cattle Egret *Bubulcus ibis* in an industrial area at Vadodara, Gujarat. **Zoos' Print Journal**, v. 22, n. 11, p. 2885–2888, 2007.

PAYNE, R. B.; RISLEY, C. J.; ARBOR, A. Systematics and Evolutionary Relationships Among the Herons (Ardeidae). **Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan**, v. 150, p. 120, 1976.

- PEREIRA, Z. DA P. et al. Monitoramento de ninhos de aves em um parque urbano. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 11, n. 1, 2009.
- PETRY, M. V.; DA SILVA FONSECA, V. S. Breeding success of the colonist species *Bubulcus ibis* (Linnaeus, 1758) and four native species. **Acta Zoologica**, v. 86, n. 3, p. 217–221, 2005.
- PHALEN, D. N. et al. Naturally occurring secondary nutritional hyperparathyroidism in cattle egrets (*Bubulcus ibis*) from central Texas. **Journal of wildlife diseases**, v. 41, n. 2, p. 401–415, 2005.
- PICKETT, S. T. A. Urban-Rural Gradients: an Unexploited Opportunity for Ecology. **America**, v. 7, n. 4, p. 1232–1237, 1990.
- PINEIRO, C. J. S.; BERT, E. Valoración de las afectaciones al sistema visual de las aves. **Redvet**, v. 8, n. 6, 2010.
- PINES, M.; HURWITZ, S. The Role of the Growth Plate in Longitudinal Bone Growth. **Poultry Science**, v. 70, n. 8, p. 1806–1814, 1991.
- PINHEIRO, P. L. et al. Functional characterization and evolution of PTH/PTHrP receptors: insights from the chicken. **bmc Evolutionary Biology**, v. 12, p. 1-15, 2012.
- POTTEN, C. S.; AL-BARWARI, S. E.; SEARLE, J. Differential radiation response amongst proliferating epithelial cells. **Cell and tissue kinetics**, v. 11, n. 2, p. 149–60, 1978.
- PRAUL, C. A. et al. Gene Expression and Tibial Dyschondroplasia. **Poultry Science**, v. 79, n. 7, p. 1009–1013, 2000.
- PRAKASH MEHRA, S. et al. Waste as a Resource for Avifauna: Review and Survey of the Avifaunal Composition in and around Waste Dumping Sites and Sewage Water Collection Sites (India). **International Journal of Waste Resources**, v. 07, n. 03, 2017.
- PROSPER, J.; HAFNER, H. Breeding Aspects of the Colonial Ardeidae in the Albufera de Valencia, Spain: Population Changes, Phenology, and Reproductive Success of the Three Most Abundant Species. **Colonial Waterbirds**, v. 19, p. 98–107, 1996.
- RAJNEESH DWEVEDI, ANIKET KUMAR, M. M. A monospecific colony of Cattle Egret *Bubulcus ibis* in agricultural landscape of central Uttar Pradesh, India. **Www.Indianbirds.in**, v. 10, n. 6, p. 149–150, 2014.

- RANGLACK, G. S.; ANGUS, R. A.; MARION, K. R. Physical and Temporal Factors Influencing Breeding Success of Cattle Egrets (*Bubulcus ibis*) in a West Alabama Colony. **Colonial Waterbirds**, v. 14, n. 2, p. 140, 1991.
- RAO, S. K. et al. Age at sexual maturity influences the response of single comb White Leghorn pullets to marginal and low levels of dietary phosphorus. **The Journal of nutrition**, v. 125, n. 5, p. 1342–50, 1995.
- RATH, N. C. et al. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry science**, v. 79, n. 7, p. 1024–32, 2000.
- REGISTER, T.; WARNER, G.; WUTHIER, R. E. Effect of L- and D-Tetramisole on ³²Pi and ⁴⁵Ca Uptake and Mineralization by Matrix Vesicle-enriched Fractions from Chicken Epiphyseal Cartilage. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 256, n. 2, p. 922–928, 1984.
- RENNIE, J. S.; WHITEHEAD, C. C. Effectiveness of dietary 25- and 1-hydroxycholecalciferol in combating tibial dyschondroplasia in broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 37, n. 2, p. 413–421, 1996.
- RICE, D. W. Dynamics of range expansion of cattle egrets in Florida. **Auk**, v. 73, p. 259–266, 1956.
- RIDDELL, C. Skeletal deformities in poultry. **Advances in veterinary science and comparative medicine**, v. 25, p. 277–310, 1981.
- RIDDELL, C.; CLASSEN, H. L. Effects of Increasing Photoperiod Length and Anticooccidials on Performance and Health of Roaster Chickens. **Avian Diseases**, v. 36, n. 3, p. 491, jul. 1992.
- RIDDELL, C.; SPRINGER, R. An epizootiological study of acute death syndrome and leg weakness in broiler chickens in western Canada. **Avian diseases**, v. 29, n. 1, p. 90–102, 1985.
- ROCHEFORT, G. Y.; PALLU, S.; BENHAMOU, C. L. Osteocyte: the unrecognized side of bone tissue. **Osteoporosis International**, v. 21, n. 9, p. 1457–1469, 2010.
- RODARTE-ALMEIDA, A. C. V. et al. O olho da coruja-orelhuda: observações morfológicas, biométricas e valores de referência para testes de diagnóstico oftálmico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 10, p. 1275–1289, 2013.
- RODEWALD, A. D.; SHUSTACK, D. P. Consumer resource matching in urbanizing landscapes: are synanthropic species over-matching? **Ecology**, v. 89, n. 2, p. 515–521, 2008.

- RODGERS, J. A. Breeding Chronology and Reproductive Success of Cattle Egrets and Little Blue Herons on the West Coast of Florida, USA. **Colonial Waterbirds**, v. 10, n. 1, p. 38, 1987.
- RODRIGUES, G. A.; ASSIRATI, E. T. Constatações de alterações comportamentais de diferentes espécies de garça em ambiente urbano, no Município de Jaboticabal-SP. **Interface Technologica**, v. 7, n. 1, p. 85–92, 2010.
- RODRIGUES, M. P. M.; DANTAS, A. M. Avaliação da onda b do eletrorretinograma na *Athene cunicularia* Evaluation of the b-wave electroretinogram in *Athene cunicularia* **Rev Bras Oftalmol**, v. 67, n. 6, p. 287–91, 2008
- RODRIGUEZ-NAVARRO, A. B. et al. Influence of physical activity on tibial bone material properties in laying hens. **Journal of Structural Biology**, v. 201, n. 1, p. 36–45, 2018.
- ROJAS, L. M. et al. Diurnal and nocturnal visual capabilities in shorebirds as a function of their feeding strategies. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 53, n. 1, p. 29–43, 1999.
- RONIS, M. J. J. et al. Skeletal effects of developmental lead exposure in rats. **Toxicological Sciences**, v. 62, n. 2, p. 321–329, 2001.
- SAITO, M.; MARUMO, K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: A possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. **Osteoporosis International**, v. 21, n. 2, p. 195–214, 2010.
- SALTEL, F. et al. Apatite-mediated Actin Dynamics in Resorbing Osteoclasts. **Molecular Biology of the Cell**, v. 15, n. 12, p. 5231–5241, dez. 2004.
- SAMRAOUI, F.; MENAÏ, R.; SAMRAOUI, B. Reproductive ecology of the Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) at Sidi Achour, north-eastern Algeria. **Ostrich**, v. 78, n. 2, p. 481–487, 12 jun. 2007.
- SAZIMA, I. em lixeiras de região costeira do Chile central Sobras à mesa : a garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*) consome rejeitos de pescado em lixeiras de região costeira do Chile central. **Atualidades Ornitológicas**, v. 198, p. 27–28, 2017.
- SCHEPELMANN, K. Erythropoietic bone marrow in the pigeon: Development of its distribution and volume during growth and pneumatization of bones. **Journal of Morphology**, v. 203, n. 1, p. 21–34, jan. 1990.
- SCHERER, F. J. D. M. et al. Estudo da avifauna associada à área úmida situada no Parque

- Mascarenhas de Moraes , zona urbana de Porto Alegre (RS). **Biotemas**, v. 19, n. 1, p. 107–110, 2006.
- SCHERER, J. D. F. M. Biologia reprodutiva de Ardeidae em três ninhas do Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação. Mestrado em Biologia. Universidade do Vale do Tio dos Sinos. 2010, 60p.
- SCHERMER, D. T. et al. Chicken parathyroid hormone-related protein and its expression during embryologic development. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 6, n. 2, p. 149–155, 3 dez. 1991.
- SCHMIDT, R. E.; REAVILL. D. R.; PHALEN, D. N. **Pathology of pet and aviary birds**. Blackwell Publishing Company: Ames, 2003, 250 p.
- SCHWARTZ, Z. et al. Direct Effects of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and 24,25-Dihydroxyvitamin D₃ on Growth Zone and Resting Zone Chondrocyte Membrane Alkaline Phosphatase and Phospholipase-A2 Specific Activities*. **Endocrinology**, v. 123, n. 6, p. 2878–2884, 1988.
- SEEDIKKOYA, K.; AZEEZ, P. A.; SHUKKUR, E. A. A. Cattle Egret as a biocontrol agent. **Zoos' Print Journal**, v. 22, n. 10, p. 2864–2866, 2013.
- SI BACHIR, A. et al. The recent expansion of an avian invasive species (the Cattle Egret *Ardea ibis*) in Algeria. **Journal of Arid Environments**, v. 75, n. 11, p. 1232–1236, 2011.
- SI BACHIR, A. et al. Cattle Egrets *Ardea ibis* use human-made habitat in a newly colonised area in northern Algeria . *Ostrich*, v. 83, n. 1, p. 51–53, 2012.
- SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 862p.
- SIEGFRIED, B. Y. W. R. Aspects of the feeding ecology of cattle egrets (*Ardeola Ibis*) in South Africa. **Journal of Animal Ecology**, v. 41, n. 1, p. 71–78, 1972.
- SILVA, D. DA. **Considerações taxonômicas em Ardeidae (Aves), com base na osteologia** . 2011, 54 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, 2011.
- SILVA, E. M. DA. **Garça-vaqueira (*Bulbucus ibis*): a diversidade genética no estudo do comportamento reprodutivo e na caracterização da população invasora brasileira**. 2013, 93 p. Tese. (Ciências e Genética e Evolução) - Universidade Federal de São Carlos, 2013.
- SIMPSON, C. F. et al. Relationship of Dietary Calcium and Phosphorus Levels to the Cage Layer Fatigue Syndrome. **Avian Diseases**, v. 8, n. 1, p. 92, fev. 1964.

- SKEAD, C. J. A study of the cattle egret, *Ardeola ibis* Linnaeus. **Ostrich**, v. 37, n. sup1, p. 109–139, 19 jan. 1966.
- SOROORI, S. et al. Assessment of avian osteoporosis by a quantitative radiographic method. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 13, n. 4, p. 317–322, 2012.
- SQUARZONI, R. et al. Ultrasonographic aspects and biometry of Striped owl's eyes (*Rhinoptynx clamator*). **Veterinary Ophthalmology**, v. 13, n. SUPPL. 1, p. 86–90, 2010.
- STARCK, J.M., RICKLEFS, R.E. **Avian Growth and Development: Evolution within the Altricial–Precocial Spectrum**. Oxford University Press, Oxford, p. 440, 1998.
- STROM, S. Lead Exposure in Wisconsin Birds. n. August, 2009.
- TAKAHASHI, N. et al. The role of vitamin D in the medullary bone formation in egg-laying Japanese quail and in immature male chicks treated with sex hormones. **Calcified tissue international**, v. 35, n. 4–5, p. 465–71, jul. 1983.
- TANAKA, Y. et al. Synergistic Effect of Progesterone, Testosterone, and Estradiol in the Stimulation of Chick Renal 25-Hydroxyvitamin D₃-1 α -Hydroxylase*. **Endocrinology**, v. 103, n. 6, p. 2035–2039, dez. 1978.
- TANGREDI, B. P. Environmental factors associated with nutritional secondary hyperparathyroidism in wild birds. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v. 18, n. 2, p. 47–56, 2007.
- THORP, B. H. Skeletal disorders in the fowl: A review. **Avian Pathology**, v. 23, n. 2, p. 203–236, 1994.
- TOLEDO, M. C. B. DE. Temporal and spatial patterns of nesting within a breeding colony in southeastern Brazil. **Revista Biociências**, v. 6, n. 2, p. 23–30, 2000.
- TOLOA, E. et al. The increasingly urban status of the Cattle Egret *Bubulcus ibis* in Uganda, with some observations on its variable breeding seasons and associated species. **Scopus: Journal of East African Ornithology**, v. 37, n. 1, p. 14–23, 2017.
- TORRES, R.; MANGEAUD, A. Factors affecting the nesting success of the Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) in Laguna Mar Chiquita, central Argentina. **Ornitología Neotropical**, v. 17, p. 63–71, 2006.
- TOYODA, T. et al. Nutritional secondary hyperparathyroidism and osteodystrophia fibrosa in

- a Hodgson's hawk-eagle (*Spizaetus nipalensis*). **Avian Pathology**, v. 33, n. 1, p. 9–12, 2004.
- TRYJANOWSKI, P. et al. Urban and rural habitats differ in number and type of bird feeders and in bird species consuming supplementary food. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 19, p. 15097–15103, 24 out. 2015.
- TSUMAKI, N.; YOSHIKAWA, H. The role of bone morphogenetic proteins in endochondral bone formation. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 16, n. 3, p. 279–285, 2005.
- TULJAPURKAR, V. B.; BHAGWAT, V.; NAGAR, S. Avifauna of a waste disposal site. **Indian Birds**, v. 3, n. 3, p. 87–90, 2007.
- TULLY, N. T. Basic avian bone growth and healing. *Orthopedics*, 1:23-30, 2002.
- UHL, E. W. The pathology of vitamin D deficiency in domesticated animals: An evolutionary and comparative overview. **International Journal of Paleopathology**, v. 23, p. 100–109, 2018.
- URIST, M. R.; DEUTSCH, N. M. Osteoporosis in the laying hen. **Endocrinology**, v. 66, n. July, p. 377–391, 1960.
- VAIANO, S. A. et al. Serum Total Calcium, Phosphorus, 1,25-Dihydroxycholecalciferol, and Endochondral Ossification Defects in Commercial Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 73, n. 8, p. 1296–1305, 1 ago. 1994.
- VALVERDE, J. A. Aves de Marruecos español en julio. **Revista Iberica de ornitologia**, p. 87–114, 1955.
- VASCONCELOS, M. F.; PACHECO, J. F.; PARRINI, R. Levantamento e conservação da avifauna na zona urbana de. **Cotinga**, v. 28, n. June 2006, p. 45–52, 2007.
- VILJOEN, I. M.; BOUWMAN, H. Conflicting traffic: characterization of the hazards of birds flying across an airport runway. **African Journal of Ecology**, v. 54, n. 3, p. 308–316, 2016.
- WEBER, W. J. Notes on Cattle Egret Breeding. **the Auk**, v. 92, n. 1, p. 111–117, 1975.
- WEBSTER, A. B. Welfare Implications of. **Poultry Science**, v. 83, p. 184–192, 2004.
- WELSHONS, W. V.; LIEBERMAN, M. E.; GORSKI, J. Nuclear localization of unoccupied oestrogen receptors. **Nature**, v. 307, n. 5953, p. 747–749, fev. 1984.
- WESTERSKOV, K E. Probable first breeding of the Cattle Egret (*Bubulus ibis*) in New Zealand. **Notornis**, v. 21, n. 3, p. 239–246, 1974.

- WHITEHEAD, C. C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. **Poultry Science**, v. 83, n. 2, p. 193–199, 2004.
- WHITEHEAD, C. C.; FLEMING, R. H. Osteoporosis in cage layers. **Poultry Science**, v. 79, n. 7, p. 1033–1041, 2000.
- WILLIAMS, D. Ophthalmology. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. (Eds.). . **Clinical Avian medicine**. 1st. ed. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. p. 663–694.
- WILLIS, A. M.; WILKIE, D. A. Avian Ophthalmology Part 1: Anatomy, Examination, and Diagnostic Techniques. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 13, p. 160–166, 1999.
- WILSON, S; DUFF, S R; WHITEHEAD C C. Effects of age, sex and housing on the trabecular bone of laying strain domestic fowl. - PubMed - NCBI. **research in veterinary science**, v. 53, n. 1, p. 52–58, 1992.
- WILSON, S.; DUFF, S. R. I. Morphology of medullary bone during the egg formation cycle. **Research in Veterinary Science**, v. 48, n. 2, p. 216–220, 1 mar. 1990.
- WISE, D. R. Skeletal abnormalities in table poultry - A review. **Avian Pathology**, v. 4, n. 1, p. 1–10, 1974.
- WOLBURG, H. et al. The Pecten Oculi of the Chicken: A Model System for Vascular Differentiation and Barrier Maturation. **International Review of Cytology**, v. 187, p. 111–159, 1999.
- WU, J. C. et al. Differential regulation of vitamin D receptor and intestinal calcium transport occurring during sexual maturation in the fowl (*Gallus domesticus*). **Comparative biochemistry and physiology. Part A, Physiology**, v. 109, n. 3, p. 713–20, 1994.
- YORIO, P. et al. Urban and fishery waste tips as food sources for birds in northern coastal patagonia, argentina. **Ornitología Neotropical**, v. 20, n. 1, p. 283–292, 2002.
- YOSHIKO, Y. et al. Osteoblast Autonomous Pi Regulation via Pit1 Plays a Role in Bone Mineralization. **Molecular and Cellular Biology**, v. 27, n. 12, p. 4465–4474, 15 jun. 2007.
- ZAIDI, M. et al. The Calcitonin Gene Peptides: Biology and Clinical Relevance. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 28, n. 2, p. 109–174, 27 jan. 1990.
- ZHITNIKOV, A. I.; MAZHUGA, P. M. [Chondrocyte metabolism in growing and definitive cartilage exposed to lead acetate]. **TSitologii i genetika**, v. 22, n. 2, p. 3–7, 1988.

ARTIGO 1**OSTEODISTROFIA FIBROSA EM GARÇAS-VAQUEIRAS (*Bubulcus ibis* – Linnaeus
1758) EM MINAS GERAIS-BRASIL**

*Este artigo é uma versão preliminar, considerando que o conselho editorial da revista poderá sugerir alterações para adequá-lo ao seu próprio estilo.

OSTEODISTROFIA FIBROSA EM GARÇAS-VAQUEIRAS (*Bubulcus ibis* – LINNAEUS 1758) DE VIDA LIVRE EM MINAS GERAIS-BRASIL

FIBROUS OSTEODYSTROPHY IN CATTLE EGRETS (*Bubulcus ibis* – LINNAEUS 1758) IN MINAS GERAIS - BRAZIL

Favoretto, S. M.^a *; Mateus, R. M.^a; Souza, F. R.^a; Campos, M. E. S. T.^a; Silva, A. B. C.^a; Maia, M. J. M.^a; Wouters, F.^a; Wouters, A. T. B.^a; Lacrete Junior, A.C.C.^a

RESUMO

A garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*) é uma espécie sinantrópica, insetívora e necessita de uma dieta corretamente balanceada para o seu desenvolvimento. O presente estudo teve por objetivo caracterizar morfológicamente alterações encontradas em garças vaqueiras com deformidades ósseas em Minas Gerais-Brasil. Foram realizadas visitas a um ninhal de garças-vaqueiras localizado no campus da Universidade Federal de Lavras em Lavras-MG no período reprodutivo dos anos de 2015 e 2016. No período reprodutivo de 2015 foram encontrados 207 filhotes caídos dos ninhos, dentre eles 41 apresentavam deformidades ósseas com alterações em morfologia de bico e/ou membros. Ao exame radiográfico foram observadas alterações morfológicas e desvio do eixo ósseo de ossos longos, fratura em galho-verde (26/77), fratura completa (14/77), alterações morfológicas de ossos longos (29/77) e de coracóide (12/77). Foram identificadas diminuição da radiopacidade óssea e alteração de trabeculado ósseo dos ossos com alterações morfológicas e/ou fraturas. Na avaliação histopatológica de 11 indivíduos observou-se áreas de descontinuidade da cortical e das trabéculas ósseas na medular com formação de ilhas de cartilagem contendo discreta à abundante proliferação de osteoclastos e de tecido conjuntivo fibroso, e zonas de calcificação provisória relativamente reduzidas em 10/11 indivíduos. Não foram observadas alterações histológicas evidentes em paratireoides. As alterações radiográficas e histopatológicas são achados consistentes para o diagnóstico de osteodistrofia fibrosa, porém, a ausência de alterações em paratireoides é um fator divergente da suspeita diagnóstica. Não foi possível a identificação da causa base da doença sendo esta muitas vezes multifatorial.

Palavras-chave: doença osteometabólica. garça-boiadeira. hiperparatireoidismo nutricional secundário. raquitismo. dieta.

^a Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil. * Autora para correspondência: Samantha Mesquita Favoretto, Departamento de Medicina veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA). Caixa Postal: 3037, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: Samantha.favoretto@ufla.br

ABSTRACT

Cattle egret (*Bubulcus ibis*) is a synanthropic, insectivorous species that needs a properly balanced diet for its development. This study aimed to characterize morphologically changes found in cattle egrets with bone deformities in Minas Gerais-Brazil. In a colony of a pelecaniformes birds located on the campus of the Federal University of Lavras in Lavras-MG, 207 nestlings were found on the ground during the reproductive period of 2015. 41 individuals had bone deformities, with morphological changes in beak and / or limb. Radiographic evidence of morphological alterations and deviation of the long bone axis were clear as greenstick fractures (26/77), complete fracture (14/77), morphological alterations of long bone (29/77) and coracoid morphologic alterations (12/ 77). Decreased bone radiopacity and bone trabecular loss were identified. Histopathological evaluation of 11 subjects showed areas of cortical and bone trabecular discontinuity with formation of cartilage islands containing discrete to abundant proliferation of osteoclasts and fibrous connective tissue, and relatively reduced calcification zones in 10/11 individuals. No histological changes were observed in parathyroid glands. Radiographic and histopathology changes were consistent findings with fibrous osteodystrophy; however, the absence of parathyroid alterations was a divergent factor from the diagnose. It was not possible to identify the underlying cause of the disease, which is often multifactorial.

Keywords: osteometabolic bone disease. secondary nutritional hyperparathyroidism. rickets. diet.

1. INTRODUÇÃO

A garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*), ordem Pelecaniformes (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2016), se originou nos continentes Africano, Asiático e Europeu. A espécie vem cada vez mais avançando sobre novas regiões, ocupando países e continentes nos quais não existia. O primeiro registro da espécie no Brasil data de 1964 (SICK, 1965), sendo a ave avistada na Ilha de Marajó, Estado do Pará. No Nordeste há registros que datam de 1985 (TEIXEIRA; NACINOVIC; LUIGI, 1989) e hoje a espécie ocupa todo Brasil, sendo registrada até no Rio Grande do Sul. Apesar dos avistamentos indicarem a chegada da ave primeiramente na região norte e nordeste, estudos recentes utilizando DNA mitocondrial sugerem que a colonização do Brasil pela garça-boieira se iniciou na região sul do país. (MORALEZ-SILVA; NASSIF DEL LAMA, 2014).

A garça vaqueira é primariamente insetívora (BURNS; CHAPIN, 1969; FOGARTY; HETRICK, 1973). Outros autores, no entanto, enfatizam a importância de anfíbios (CROSBY, 1972; RUIZ, 1985), aves (CUNNINGHAM, 1965) e peixes (LOWE-MCCONNELL, 1967a) na alimentação da espécie. No Brasil, estudo sobre a dieta da garça-vaqueira em São Paulo e no agreste pernambucano descreve consumo de insetos e anfíbios (BELLA, 2003). A espécie possui grande plasticidade em relação a sua dieta e é classificada como espécie predadora oportunista de qualquer presa abundante e acessível (SI BACHIR et al., 2011). A alimentação da garça-vaqueira pode variar, de acordo com a sazonalidade se alimentando das mais diversas presas disponíveis; sua dieta reflete diretamente a abundância dos insetos presentes no ambiente naquele determinado momento (KOUR; KOUL; SAHI, 2014). Na Ilha de Fernando de Noronha, Brasil há o relato de garças-vaqueira se alimentando inclusive em lixões demonstrando também grande variação nas táticas de captura de insetos (BELLA, 2003).

Bubulcus ibis é considerada ave topo de cadeia alimentar. A saúde e sucesso reprodutivo de animais em alto níveis tróficos é reflexo do ambiente em que estes estão inseridos. Qualidade e quantidade de alimento, assim como qualidade do ar, água e poluentes de solo contribuem e comprometem a sanidade e sobrevivência das populações selvagens (SMITS; FERNIE, 2013).

As garças-vaqueiras estão se adaptando cada vez mais a ambientes antropizados e colonizando áreas urbanas. Apesar da plasticidade dos animais quanto a dieta surge a dúvida se em ambientes antropizados essas aves estão conseguindo manter uma dieta balanceada para seu desenvolvimento.

Dietas desbalanceadas, com alteração na proporção de cálcio e fósforo, deficiência de cálcio ou de vitamina D podem resultar em alterações no metabolismo ósseo. Para compensar a hipocalcemia resultante, a paratireoide produz e secreta paratormônio (PTH) com o intuito de elevar os processos de reabsorção renal e óssea e de absorção intestinal de íons cálcio (BANDARRA et al., 2011; DOIGE; WEISBRODE, 1998). Em animais de cativeiro, são frequentes os relatos de doenças osteometabólicas decorrentes de deficiência e desequilíbrio associados a dietas, como em répteis (ANDERSON; CAPEN, 1976), e aves (CAMARGO FILHO, 2013). Os sinais clínicos variam de acordo com o grau de deficiência, bem como com a idade e estado fisiológico.

Em animais de vida livre relatos de doença osteometabólica são limitados (PHALEN et al., 2005; TANGREDI; KROOK, 1999), o presente estudo teve por objetivo caracterizar morfologicamente as alterações encontradas em garças-vaqueiras em Minas Gerais-Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado com animais de um ninhal de pelecaniformes localizado dentro do campus da Universidade Federal de Lavras – MG. Nos anos de 2015 e 2016 foram realizados censos bimestrais para contabilização da população de garças. Para tanto três observadores se posicionavam a uma distância fixa da colônia em triângulação e contabilizavam todos os animais presentes no ninhal e aqueles que chegavam para o pernoite. A contagem era realizada das 16:00 as 20:00 horas a depender do horário de retorno dos animais à colônia e ao horário de verão. A contagem era realizada sempre na última semana dos meses avaliados por três dias seguidos, sendo o número de animais contabilizado através da média de contagem dos três observadores nos três dias de contagem.

Durante a estação reprodutiva (agosto a dezembro) de 2015 e 2016 foram realizadas visitas ao ninhal. Nesse período foram recolhidas aves moribundas ou mortas, sendo em sua grande maioria filhotes de garças-vaqueira. Os filhotes de garça-vaqueira moribundos foram anestesiados usando combinação de cetamina (30mg/kg) e xilazina (4mg/kg) e, posteriormente, foi feita aplicação intravenosa de tiopental para eutanásia.

Os cadáveres foram encaminhados ao Hospital Veterinário. Foram realizadas radiografias de 77 animais escolhidos aleatoriamente em posições ventrodorsal e laterolateral e biometria corporal: mensuração do comprimento de tarsometatarso direito, para cálculo da idade segundo

Bella (2003) e exame clínico. Após a eutanásia foi feita a necropsia com anotação das principais alterações a macroscopia e a coleta de fragmentos de tecidos para histopatologia em formalina a 10% tamponada.

Foram colhidos os dados de pluviometria, temperatura média diária, umidade e insolação da Estação Climatológica Principal (ECP) de Lavras. Foi realizado teste T para diferença entre o número de animais caídos, pluviometria, umidade, insolação e temperatura média entre os anos e teste do qui-quadrado para proporção de alterações morfológicas, proporção de traumas entre os anos. Foi utilizado programa SPSS para as análises de diferença estatística e as estatísticas descritivas

3. RESULTADOS

A colônia de pelacaniformes residente em Lavras – MG é formada pelas espécies *Bubulcus íbis*, *Egretta thula*, *Ardea alba* e *Nycticorax nycticorax*. A garça vaqueira é a espécie predominante, seguida por *Nycticorax nycticorax*, *Ardea alba* e *Egretta thula*. No período não reprodutivo foi observada uma média de 2335 garças-vaqueiras na colônia. Na época de reprodução havia um aumento de 1000 animais alcançando valor médio de 3354 indivíduos.

No período de 2015 o nascimento de filhotes se iniciou no começo de agosto, sendo observados filhotes caídos no ninhal até novembro (Figura 1). Foram recolhidos 207 filhotes de garça-vaqueira, sendo a média de idade destes calculada em 29, dias com base nas medidas de tarsometatarso segundo Bella (2003).

Tabela 1. Número de ninhegos de garça-vaqueira (*Bubulcus íbis*)- encontrados no chão da colônia no ano de 2015. Número total de animais com alterações ósseas, sinais de trauma e proporção de animais com trauma e alterações ósseas em relação ao total de animais encontrados.

2015	Ago	Set	Out	Nov	Medias/mês	Total
Número de animais	59	43	67	38	51,75	207
Núm. anim. alt. Ósseas	8	11	18	4	10,25	41
Alt. ósseas/mês	14%	26%	27%	11%	19%	20%
N. anim sinais trauma	7	10	19	18	13,50	54
Sin. de trauma/mês	12%	23%	28%	47%	28%	26%

Os animais caídos eram filhotes, estavam caquéticos e a palpação abdominal era possível observar ausência de conteúdo em estômagos. Dos 207 animais encontrados, 41 apresentavam alterações ósseas (Figura 1.) com alterações em morfologia de bico e/ou membros ao exame físico (Tabela 1.).

Figura 1. Filhotes de garça vaqueira (*Bubulcus ibis*) recolhidos no ano de 2015. A) animal a esquerda com alterações de morfologia óssea severas. B) Animal com alteração em morfologia de bico. C) conteúdo estomacal de filhotes de garça vaqueira.



Ao exame radiográfico foram observadas alterações morfológicas e desvio do eixo ósseo de ossos longos, chegando à fratura em galho-verde (26/77), fratura completa (14/77),

alterações morfológicas de ossos longos (29/77) (Figura 2), e alterações morfológicas de outros ossos, como o coracóide (12/77). 34 de 77 animais não apresentavam alterações à radiografia.

Figura 2. Imagens radiográficas de ninhegos de *Bubulcus ibis*. A- Diminuição generalizada de radiopacidade óssea. B- Alteração morfológica com desvio de eixo ósseo em rádio, ulna e tibiotarso bilateral. Fratura completa em terço médio de tarsometatarso esquerdo.



Foram identificadas diminuição da radiopacidade óssea e alteração de trabeculado ósseo nos ossos com alterações morfológicas e/ou fraturas (Figura 2.).

À necropsia de animais de 2015 observou-se lesões corto-contusas em crânio e região cervical de 54 animais, sugerindo lesões por bicadas.

No período reprodutivo do ano de 2016 o nascimento de filhotes só se iniciou em outubro, no entanto perdurou até fevereiro. Não foram observadas alterações na mesma intensidade e frequência que no ano anterior. Neste ano foram recolhidos apenas 49 filhotes. Destes, 7 apresentavam alterações ósseas ao exame físico e 9 sinais de trauma (Tabela 2.) As alterações ósseas se caracterizavam principalmente por fragilidade óssea. No ano de 2016 não foram observados animais com alteração de morfologia óssea e desvio do eixo ósseo evidentes. Não foi observado nenhum animal com alteração em morfologia de bico. Sinais de trauma se limitaram a hemorragias subdurais sem a presença de lesões perfuro-contusas explicitas. A idade média dos animais recolhidos no ano de 2016 foi de 32,26 dias.

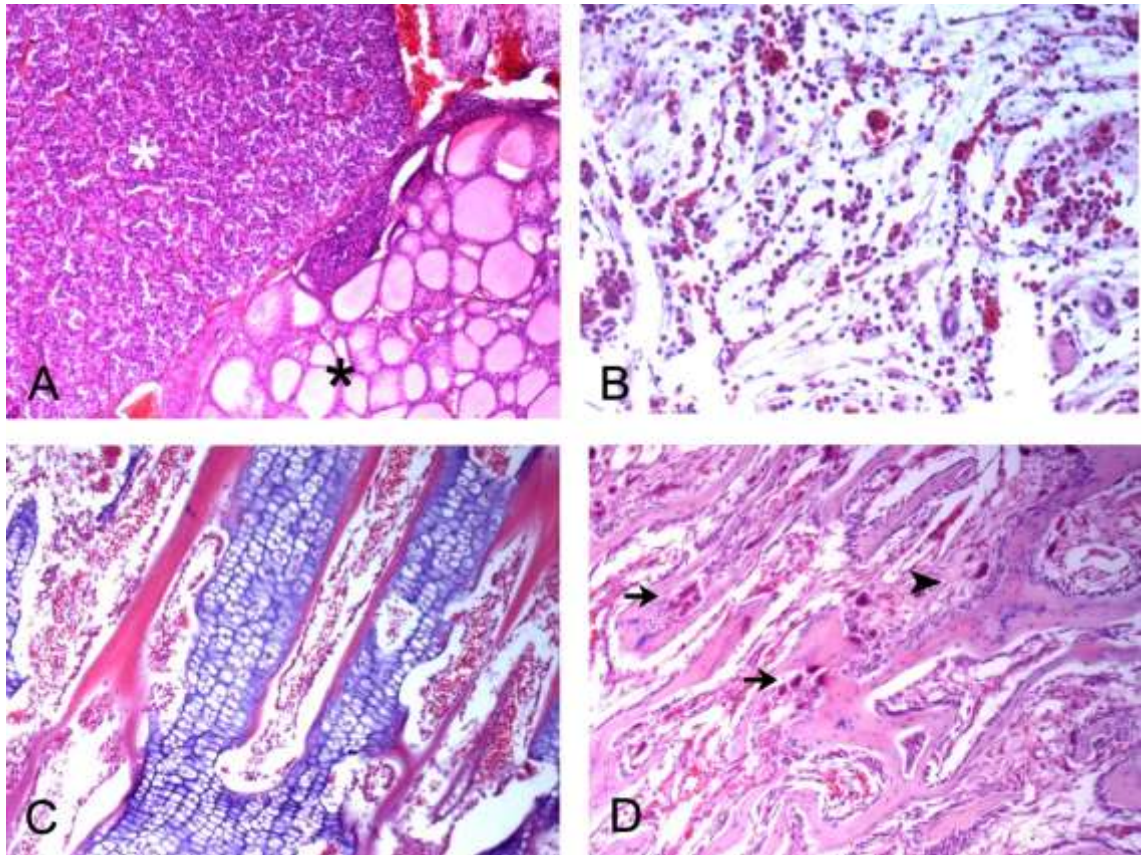
Tabela 2. Número de animais – filhotes de garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*) encontrados no chão da colônia no ano de 2016. Número total de animais com alterações ósseas, sinais de trauma e proporção de animais com trauma e alterações ósseas em relação ao total de animais encontrados.

2016	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Medias/mês	Total
Número de animais	2	15	21	10	1	9,8	49
Núm. anim. alt. Ósseas	0	2	2	2	1	1,4	7
Alt. ósseas/mês	-	13%	9%	20%	100%	28%	14%
N. anim sinais trauma	0	1	4	3	1	1,8	9
Sin. de trauma/mês	-	7%	19%	30%	100%	32%	18%

Em alguns animais foi observado conteúdo estomacal, principalmente aqueles recolhidos após uma grande tempestade no ano de 2015. Neste conteúdo observou-se a predominância de grilos e gafanhotos, aranhas, e poucos pequenos vertebrados (Figura 1). Não foram obtidos regurgitos quando da entrada dos pesquisadores no ninhal.

Na avaliação histopatológica de um grupo de animais recolhidos nos anos de 2015 e 2016 que apresentavam alterações de morfologia óssea (11 indivíduos) observou-se à histopatologia áreas de descontinuidade das trabéculas ósseas na medular com formação de ilhas de cartilagem contendo discreta à abundante proliferação de osteoclastos e de tecido conjuntivo fibroso. Áreas de descontinuidade da cortical com proliferação de osteoclastos e substituição por tecido conjuntivo e zonas de calcificação provisória relativamente reduzidas em 10/11 indivíduos (Figura 3.). Em 4 das 11 amostras de ossos observou-se focos de infiltrado inflamatório composto por heterofilos. Na avaliação de glândula paratireoide de 18 animais com alterações ósseas não foram observadas alterações patológicas evidentes, no entanto pode-se observar na análise macroscópica um aumento aparente da glândula. Para confirmação das alterações histopatológicas foram utilizados animais controle do ano de 2016 que não apresentavam alterações ósseas e de paratireoide à macroscopia.

Figura 3. (A) Secção longitudinal de paratireóide (asterisco branco) e tireóide (asterisco preto) de garças-vaqueiras (*Bubulcus ibis*) sem alteração patológica, 10x. (B) Abundante infiltrado inflamatório composto por histiócitos na medular do tecido ósseo, 20x. (C) Controle - aspecto histológico normal da região de secção transversal de tibiotarso, (D) Descontinuidade das trabéculas ósseas com formação de ilhas de cartilagem com proliferação de osteoclastos (seta) e tecido conjuntivo fibroso (cabeça de seta). Coloração H&E, 10x.



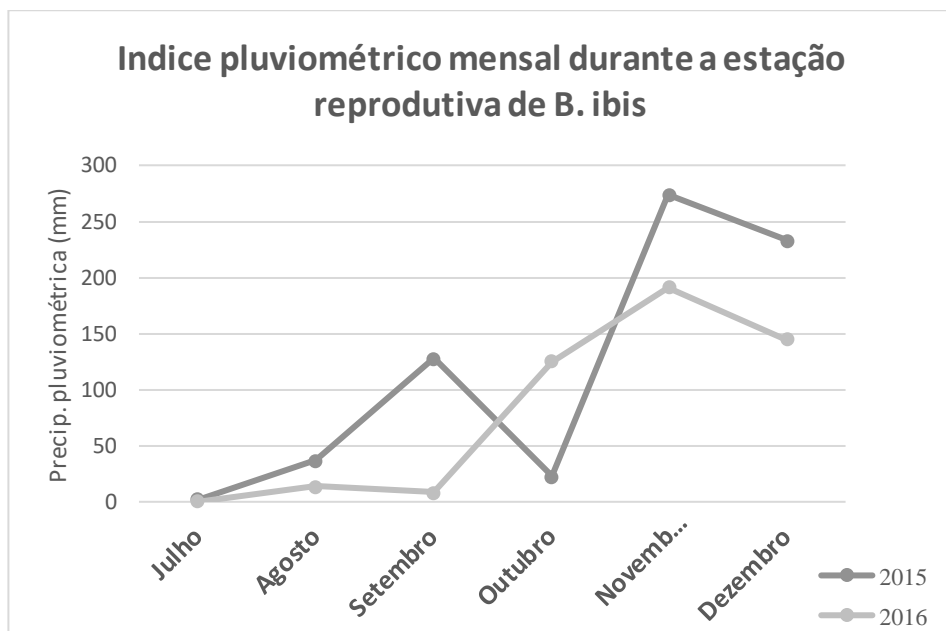
Avaliou-se o índice pluviométrico, umidade relativa, temperatura e insolação entre os anos de 2015 e 2016. Observou-se que o índice pluviométrico foi mais intenso nos meses iniciais da estação reprodutiva de 2015 com uma queda no mês de outubro sendo observado aumento da precipitação em novembro (Figura 3.). No ano de 2016 houve uma maior precipitação a partir do mês de outubro, no entanto a mesma não atingiu os mesmos índices do ano anterior. Apesar dos índices pluviométricos mensais demonstrar-se diferente entre os anos durante a estação reprodutiva, não foi observada diferença entre o índice pluviométrico anual e média de umidade relativa, temperatura e insolação entre os anos de 2015 e 2016.

Tabela 3. Índice pluviométrico, temperatura média, umidade relativa e insolação no município de Lavras – MG nos anos de 2015 e 2016.

	2015			2016		
	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média
PLUV* (mm)	0	52,8	3,41	0	76,2	3,431
TMED**(°C)	11,0	28,3	21,34	9,2	26,9	21,10
Umid Rel*** (%)	39,5	97,5	71,88	41,0	97,5	70,89
Insol (horas)	0	15	6,91	0	25	7,11

*PLUV: índice pluviométrico; ** TMED temperatura média; ***Umid. Rel – umidade relativa; Insol. Insolação.

Figura 4. Índice pluviométrico mensal durante a estação reprodutiva de garças-vaqueira (*Bubulcus ibis*) em Lavras- MG nos anos de 2015 e 2016.



Apesar da grande diferença entre o número de animais recolhidos nos anos de 2015 e 2016 não houve diferença na porcentagem de animais apresentando alterações ósseas ou trauma, nem alterações ósseas e traumas segundo o teste do qui-quadrado. Não houve diferença quanto a idade dos animais, no entanto houve diferença na média do tamanho de tarsometatarso dos animais nos dois anos.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo foram observados comportamentos reprodutivos das garças de julho a fevereiro. Garças vaqueiras apresentam sazonalidade reprodutiva que varia de acordo com a região do estabelecimento do ninhal. No Brasil é relatada sazonalidade reprodutiva nos estados de São Paulo (agosto a fevereiro - TOLEDO, 2000), (Rio Grande do Sul - (BELTON, 1994) e na Bahia (junho a novembro - BARBOSA-FILHO et al., 2009; SOUZA; FREITAS, 1997). No estado do Rio de Janeiro é observada a reprodução de forma ininterrupta da espécie (SICK 1997). Sugere-se que locais onde haja pouca influência de temperatura seja o ambiente propício para que a ave se reproduza ao longo do ano. No estado de Pernambuco e na Paraíba, próximos a linha do Equador, também não é relatada sazonalidade (BELLA, 2003; NASCIMENTO, 1999). No presente estudo foram acompanhados apenas dois anos, sendo este um período curto para determinar a ocorrência de sazonalidade. Ainda, observou-se variação entre os anos, no ano de 2015 a estação reprodutiva foi de julho (início da oviposição) a novembro, e no ano de 2016 a oviposição foi em meados de outubro sendo o final da reprodução no mês de fevereiro do ano seguinte. Apesar de não ser possível determinar exatamente a sazonalidade reprodutiva pudemos observar que ela existe em Minas Gerais.

Foi observada a queda de grande número de filhotes no ano de 2015 em comparação a 2016. Observou-se alterações ósseas como fraturas patológicas, e baixa radiopacidade óssea á radiografia no ano de 2015. As alterações macroscópicas associadas a lesões histopatológicas foram conclusivas para o diagnóstico de osteodistrofia fibrosa (OF). A OF geralmente é decorrente de hiperparatiroidismo secundário. As causas que podem induzir ao hiperparatiroidismo incluem uma dieta com baixa quantidade de cálcio ou fósforo ou com o desbalanceio destes minerais, deficiência de vitamina D, enterite com prejuízo da absorção intestinal de cálcio, insuficiência renal (PERRY et al., 1991; TANGREDI, 2007) ou mesmo a intoxicação por metais pesados ou pesticidas que podem levar a alterações no metabolismo de cálcio (RUIZ; JOVER, 1981).

Em filhotes, alterações no metabolismo de cálcio normalmente levam ao raquitismo, podendo em casos severos culminar na osteodistrofia fibrosa. A afecção está associada a hiperparatiroidismo nutricional secundário (JOHNSTON; IVEY, 2002) Se há baixa quantidade de cálcio, desproporção Cálcio:fósforo na dieta ou deficiência de vitamina D, há hipertrofia da glândula paratiroide e maior secreção do paratormônio que atua no metabolismo do cálcio no osso e resulta da desmineralização do mesmo (DE MATOS, 2008) Casos de hiperparatiroidismo nutricional secundário (HNS) são comuns em aves de cativeiro, quando

proprietários fornecem uma dieta deficiente em cálcio ou com relação cálcio e fósforo desbalanceada ou quando os animais não recebem radiação UVB que resulta na não ativação da Vitamina D (DE MATOS, 2008; JOHNSTON; IVEY, 2002; RAE, 1995). Para aves de vida livre casos de HNS são escassos. Normalmente aves de vida livre ativamente selecionam uma dieta rica em cálcio durante o período reprodutivo (ANKNEY; SCOTT, 1980; GRAVELAND, 1996; MACLEAN, 1974). Existem relatos nos quais foram observadas alterações semelhantes as do presente estudo: em abutres (*Gyps spp.*) nas décadas de 1970 e 1980 (RICHARDSON; PLUG, 1986) em gaivinas-negra (*Chlidonias niger*) na Europa em 1997, em Passeriformes nos Estados Unidos em 1999, em pombas de colar (*Streptopelia decaocto*) de 1998 a 2002 no Reino Unido, em garça-branca-grande (*Ardea cinérea*) na Inglaterra em 1996, em garças-vaqueiras (*Bubulcus íbis*) em 2005 no Texas- Estados Unidos (TANGREDI, 2007), na Inglaterra em rolinhas (*Streptopelia decaocto*) (COUSQUER; DANKOSKI; PATTERSON-KANE, 2007), e em um gavião caboclo (*Heterospizias meridionalis*) em Paraíba-Brasil (GUERRA et al., 2018).

O diagnóstico de HNS pode ser realizado de várias maneiras: alterações radiográficas, propriedades biomecânicas de ossos, concentração de cálcio, fosfatase alcalina e vitamina D séricas, alterações histopatológicas e avaliação das cinzas ósseas (SCHEUHAMMER, 1996). No presente estudo foram utilizadas radiografias e alterações morfológicas, incluindo histopatologia para o diagnóstico da doença. As alterações radiográficas como diminuição da densidade óssea, corticais finas em ossos longos, fraturas em galho verde de ossos longos já são achados consistentes para o diagnóstico de osteodistrofia fibrosa. As alterações observadas na histopatologia como áreas de descontinuidade das trabéculas ósseas na medular com formação de ilhas de cartilagem contendo discreta à abundante proliferação de osteoclastos e de tecido conjuntivo fibroso, áreas de descontinuidade da cortical com proliferação de osteoclastos e substituição por tecido conjuntivo e zonas de calcificação provisória relativamente reduzidas concluem o diagnóstico de osteodistrofia fibrosa. A ausência de alterações em paratireoides, no entanto, é divergente da suspeita diagnóstica.

Em estudo realizado no Texas-EUA, filhotes de duas colônias de garças-vaqueira localizadas em áreas residenciais apresentaram alterações semelhantes a encontradas no presente trabalho. Foram observadas fratura e curvatura de ossos longos de asas e pernas. Atribuiu-se a ocorrência da doença no Texas a baixa quantidade de cálcio presente nos insetos das quais os animais se alimentavam associado a baixa quantidade de anfíbios devido à baixa pluviometria daquele ano. No estudo relatado os animais apresentavam hipertrofia e clara vacuolização no citoplasma das células principais de paratireoide (PHALEN et al., 2005) No

presente estudo não foi possível identificar a vacuolização. Todas as paratireoides analisadas apresentavam características semelhantes a histologia, apesar de macroscopicamente observar-se diferença no tamanho da glândula em animais afetados pela doença. No entanto, mesmo no estudo do Texas os pesquisadores só observaram a vacuolização em paratireoides que, macroscopicamente, estavam muito aumentadas.

Não foi possível a caracterização da dieta da espécie no sul de Minas Gerais. No entanto, observou-se assim como no estudo americano alta quantidade de grilos e gafanhotos, somados a aranhas e raríssimos pequenos vertebrados. Quanto a pluviometria, umidade relativa, temperatura média e insolação não houve diferença entre os anos estudados não se podendo inferir que a média dos parâmetros ambientais possam ter alterado a composição dos invertebrados e isso resultado na doença nas aves conforme apresentado no estudo americano. Insetos comumente apresentam um baixo teor de cálcio em sua composição (GRAVELAND; GIJZEN, 2002; OONINCX; DIERENFELD, 2012; STUDIER; SEVICK, 1992) e representam até 90% da dieta de *B. ibis* (GHERBI-SALMI; DOUMANDJI; VOISIN, 2012; HANEBRINK; DENTON, 1969; SIEGFRIED, 1972; VALVERDE, 1955) assim acredita-se que sua composição não foi o desencadeador da doença nas garças. Estudos com aves insetívoras indicam que há a necessidade destas buscarem outras fontes de cálcio no período reprodutivo que não apenas sua dieta normal e espécies ingerindo cascas de caracóis para suprir essa necessidade (GRAVELAND; GIJZEN, 2002). Em um estudo com de *B. ibis* observou-se que filhotes ingeriam presas vivas, vertebrados, na composição de até 30% da dieta (TELFAIR 1983). Há a necessidade de maiores estudos acerca da dieta de *B. bis* em período reprodutivo e não reprodutivo.

No ano de 2015 observou-se início das chuvas já no mês de julho enquanto em 2016 as mesmas se iniciaram em agosto e só apresentaram aumento considerável em outubro. Sugere-se que este início precoce da época das chuvas associado a maior intensidade das chuvas em agosto e setembro no ano de 2015 possam ter influenciado a composição da dieta da garça-vaqueira, com diminuição da quantidade de vertebrados, além de ter estimulado o comportamento reprodutivo antes do usual (outubro) como em 2016.

O Hiperparatireoidismo e a osteodistrofia fibrosa consequente pode ainda ter outras causas como infecções de sistema gastrointestinal (PERRY et al., 1991) ou intoxicações por metais ou pesticidas (SCHEUHAMMER, 1991) Nos animais avaliados poucos apresentaram alterações que sugerissem a presença de doença infecciosa que afetasse o sistema

gastrointestinal ou lesões renais, diminuindo a chance de um hiperparatiroidismo por falta de absorção de cálcio ou excesso de eliminação do mesmo.

Além das alterações ósseas, no ano de 2015 foram observadas alterações severas decorrentes de trauma – lesões perfuro-contusas que sugerem bicadas. O alto número de animais com alterações condizentes com trauma, visíveis ao exame físico, pode estar relacionada às agressões intraespecíficas. Filhotes com diferença de idade normalmente competem por alimento: o filhote mais velho já com 4 a 5 dias de idade agarra agressivamente o bico do adulto para que este lhe forneça o alimento; bica a cabeça do mais novo forçando-o a se retrair quando o adulto chega ao ninho com o alimento (WEBER, 1975) A ausência de lesões perfuro-contusas nos filhotes de 2016 indica que no ano anterior houve uma maior competição entre os filhotes de um mesmo ninho, sugerindo uma escassez de alimento.

Em Minas Gerais foi possível observar um grande número de ninhegos caídos no chão sob a colônia em período reprodutivo, semelhantemente ao observado por Bella (2003) no estado de Pernambuco. Foi observado maior número de filhotes caídos nos meses de agosto e outubro em 2015 em relação aos outros meses estudados, o que condiz com o comportamento reprodutivo da espécie: *Bubulcus ibis* tem em média um intervalo de postura de 2 meses (BELLA, 2003; LOWE-MCCONNELL, 1967b) sendo que os filhotes saem do ninho com 6 semanas. Um maior número de animais caídos em agosto e outubro condiz com a primeira e segunda oviposição da estação reprodutiva. Filhotes com 14 dias já tentam se aventurar em áreas ao redor do ninho (MCKILLIGAN, 1996) começam a explorar novos ambientes e podem cair dos galhos e vir a óbito por inanição. No ano de 2016 observou-se a queda de maior número de filhotes nos meses de novembro, dezembro e janeiro sugerindo uma oviposição assíncrona, sem que fossem evidenciadas as duas oviposições.

Segundo fórmula proposta por Bella (2003) na qual calcula-se a idade dos animais a partir da medida de tarsometatarso, observou-se que a média de idade dos filhotes caídos foi de 20 a 30 dias de idade. Este dado é condizente com a locomoção das aves pelos galhos antes de sua saída total do ninho (WEBER, 1975). Nos dois anos a média de idade dos filhotes caídos foi de 29,89 dias (2015) e 32,26 dias (2016) segundo o cálculo proposto por Bella (2003).

No presente estudo relata-se a ocorrência de osteodistrofia fibrosa severa em filhotes de garça vaqueira no ano de 2015. A porcentagem de animais com alterações ósseas foi semelhante entre os anos avaliados, no entanto a gravidade das lesões e o número de animais caídos dos ninhos foi maior no ano de 2015. Não foi possível a identificação da causa base da doença

sugere-se, no entanto, que no ano de 2015 possivelmente com o início mais precoce da estação reprodutiva os animais não tenham encontrado as mesmas presas com o mesmo teor nutricional, o que aumentou a competição entre os filhotes (traumas) e a diferença entre a nutrição de animais mais velhos e mais novos possivelmente causando o HNS. Outros estudos com animais com HNS indicam que a causa na verdade é multifatorial (PHALEN et al., 2005; TANGREDI, 2007) sendo difícil a conclusão dos fatores associados à doença em vida livre

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, M. P.; CAPEN, C. C. Nutritional osteodystrophy in captive green iguanas (*Iguana iguana*). **Virchows Archiv. B, Cell pathology**, v. 21, n. 3, p. 229–47, 17 set. 1976.
- ANKNEY, C. D.; SCOTT, D. M. Changes in nutrient reserves and diet of breeding brown-headed cowbirds. **The Auk**, v. 97, p. 684–696, 1980.
- BANDARRA, P. M. et al. Nutritional fibrous osteodystrophy in goats. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 10, p. 875–878, out. 2011.
- BARBOSA-FILHO, R. C. et al. A garça-vaqueira (*Bubulcus ibis* Linnaeus, 1758) e o atobá-de-pé-vermelho (*Sula sula* Linnaeus, 1766) no Arquipélago de Fernando de Noronha: uma abordagem ecológica comparativa. **Ornithologia**, v. 3, n. 2, p. 101–114, 2009.
- BELLA, S. **Biologia reprodutiva e alimentar de *Bubulcus ibis* (Linnaeus, 1758) (ciconiiforme, ardeidae) e sua ocorrência em Pernambuco, Brasil**. Universidade Federal de Pernambuco, 2003.
- BELTON, W. **Aves do Rio Grande do Sul: distribuição e biologia**. 1. ed. São Leopoldo: Editora Unisinos, 1994.
- BURNS, E. C.; CHAPIN, J. B. Arthropods in the Diet of the Cattle Egret, *Bubulcus ibis*, in Southern Louisiana. **Journal of Economic Entomology**, v. 62, n. 3, p. 736–738, 1 jun. 1969.
- CAMARGO FILHO, O. B. **Influência de diferentes dietas na densidade óssea de calopsitas (*Nymphicus hollandicus*)**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 2013.
- COUSQUER, G. O.; DANKOSKI, E. J.; PATTERSON-KANE, J. C. Metabolic bone disease in wild collared doves (*Streptopelia decaocto*). **Veterinary Record**, v. 160, n. 3, p. 78–84, 20 jan. 2007.
- CROSBY, B. G. T. Spread of the Cattle Egret in the Western Hemisphere. **Bird-Banding**, v. 43, n. 3, p. 205–212, 1972.
- CUNNINGHAM, R. L. Predation of birds by Cattle Egret. **Auk**, v. 62, p. 502–503, 1965.
- DE MATOS, R. Calcium Metabolism in Birds. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 11, n. 1, p. 59–82, jan. 2008.
- DOIGE, L. E.; WEISBRODE, G. E. Lesões do Tecido Ósseo. In: CARLTON W. W.; Mc

GAVIN M. D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul Ltda, p. 448-484, 1998.

FOGARTY, M. J.; HETRICK, W. M. Summer foods of cattle egrets in north central florida. **The Auk**, v. 90, p. 268–280, 1973.

GHERBI-SALMI, R.; DOUMANDJI, S.; VOISIN, C. Diet of chicks of Cattle Egrets *Bubulcus ibis* in the lower Soummam valley, Algeria. **Ostrich**, v. 83, n. 2, p. 99–104, 17 ago. 2012.

GRAVELAND, J. Avian eggshell formation in calcium-rich and calcium-poor habitats: importance of snail shells and anthropogenic calcium sources. **Canadian Journal of Zoology**, v. 74, n. 6, p. 1035–1044, jun. 1996.

GRAVELAND, J.; GIJZEN, T. VAN. Arthropods and Seeds are not Sufficient as Calcium Sources for Shell Formation and Skeletal Growth in Passerines. **Ardea**, v. 38–90, p. 299–314, jan. 2002.

GUERRA, RICARDO ROMÃO et al. Metabolic bone diseases in a wild crab-eating hawk and a caboclohawk in Paraíba. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 12, p. 35–39, 2018.

HANEBRINK, E. L.; DENTON, G. Feeding behavior and analysis of regurgitated food collected from the Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) and the Little Blue Heron (*Florida caerulea*). **Arkansas Academy of Science Proceedings**, v. 23, p. 74–79, 1969.

JOHNSTON, M. S.; IVEY, E. S. Parathyroid and ultimobranchial glands: Calcium metabolism in birds. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 11, n. 2, p. 84–93, 1 abr. 2002.

KOUR, D. N.; KOUL, S.; SAHI, D. N. A Preliminary Survey on the Diet Selection and Feeding Strategies Employed by Cattle Egrets (*Bubulcus ibis coromandus*) in Jammu (J&K), India. **International Journal of Applied Science-Research and Review**, v. 1, n. 3, p. 144–149, 2014.

LOWE-MCCONNELL, R. H. Biology of the immigrant cattle egret *Ardeola Ibis* in Guyana, South America. **Ibis**, v. 109, n. 2, p. 168–179, 3 abr. 1967b.

MACLEAN, S. F. Lemming bones as a source of calcium for arctic sandpipers (*calidris* spp.). **Ibis**, v. 116, n. 4, p. 552–557, 28 jun. 1974.

MCKILLIGAN, N. G. Field experiments on the effect of ticks on breeding success and chick health of cattle egrets. **Austral Ecology**, v. 21, n. 4, p. 442–449, 1 dez. 1996.

- MORALEZ-SILVA, E.; NASSIF DEL LAMA, S. Colonization of Brazil by the cattle egret (*Bubulcus ibis*) revealed by mitochondrial DNA. **NeoBiota**, v. 21, p. 49–63, 17 abr. 2014.
- OONINCX, D. G. A. B.; DIERENFELD, E. S. An Investigation Into the Chemical Composition of Alternative Invertebrate Prey. **Zoo Biology**, v. 31, n. 1, p. 40–54, jan. 2012.
- PERRY, R. W. et al. Skeletal lesions associated with a naturally occurring poult enteritis. **Avian diseases**, v. 35, n. 1, p. 158–64, 1991.
- PHALEN, D. N. et al. Naturally Occurring Secondary Nutritional Hyperparathyroidism in Cattle Egrets (*Bubulcus Ibis*) From Central Texas. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 2, p. 401–415, 2005.
- RAE, M. Endocrine disease in pet birds. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 4, n. 1, p. 32–38, 1 jan. 1995.
- RICHARDSON, P. R. K.; PLUG, I. Bone crushing carnivores and their significance to osteodystrophy in griffon vulture chicks. **Journal of Zoology**, v. 210, n. 1, p. 23–43, 20 ago. 1986.
- RUIZ, X. An analysis of the diet of cattle egrets in the Ebro Delta, Spain. **Ardea**, v. 731, p. 49–60, 31 jul. 1985.
- RUIZ, X.; JOVER, L. Sobre la alimentacion otoral de la garcilla bueyera - *Bubulcus ibis* (L.) - en la delta del Ebro, Tarragona (Espana). **Publicaciones del Departamento de Zoologia (Barcelona)**, v. 6, p. 665–672, 6 dez. 1981.
- SCHEUHAMMER, A. M. Effects of acidification on the availability of toxic metals and calcium to wild birds and mammals. **Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)**, v. 71, n. 2–4, p. 329–75, 1991.
- SCHEUHAMMER, A. M. Influence of reduced dietary calcium on the accumulation and effects of lead, cadmium, and aluminum in birds. **Environmental Pollution**, v. 94, n. 3, p. 337–343, 1 jan. 1996.
- SI BACHIR, A. et al. The recent expansion of an avian invasive species (the Cattle Egret *Ardea ibis*) in Algeria. **Journal of Arid Environments**, v. 75, n. 11, p. 1232–1236, 2011.
- SICK, H. *Bubulcus ibis* (L.) na Ilha de Marajó, Pará: garça ainda não registrada no Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 37,, p. 567-570, 1965.

SICK, H. Ornitologia Brasileira. Rio de Janeiro, Nova Fronteira, 1997, 836p.

SIEGFRIED, B. Y. W. R. Aspects of the feeding ecology of cattle egrets (*Ardeola Ibis*) in South Africa. **Journal of Animal Ecology**, v. 41, n. 1, p. 71–78, 1972.

SMITS, J. E. G.; FERNIE, K. J. Avian wildlife as sentinels of ecosystem health. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 36, n. 3, p. 333–342, 1 maio 2013.

STUDIER, E. H.; SEVICK, S. H. Live mass, water content, nitrogen and mineral levels in some insects from south-central lower michigan. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 103, n. 3, p. 579–595, 1 nov. 1992.

TANGREDI, B. P. Environmental factors associated with nutritional secondary hyperparathyroidism in wild birds. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v. 18, n. 2, p. 47–56, 10 nov. 2007.

TANGREDI, B. P.; KROOK, L. P. Nutritional secondary hyperparathyroidism in free-living fledgling American crows (*Corvus brachyrhynchos brachyrhynchos*). **Journal of zoo and wildlife medicine : official publication of the American Association of Zoo Veterinarians**, v. 30, n. 1, p. 94–9, mar. 1999.

TEIXEIRA, D. M.; NACINOVIC, J. B.; LUIGI, G. Notes on some birds of northeastern Brazil. **Bulletin of The British Ornithologists' Club**, v. 109, p. 152–157, 1989.

TELFAIR, R. C., II. The Cattle Egret: a Texas focus and world view. Texas A&M Univ., College Station. 1993.

TOLEDO, M. C. B. DE. Temporal and spatial patterns of nesting within a breeding colony in southeastern Brazil. **Revista Biociências**, v. 6, n. 2, p. 23–30, 2000.

VALVERDE, J. A. Aves de Marruecos espanol en julio. **Revista Iberica de Ornitologia**, p. 87–114, 1955.

WEBER, W. J. Notes on Cattle Egret Breeding. **The Auk**, v. 92, n. 1, p. 111–117, 1 jan. 1975.

ARTIGO 2**ESTUDO DOS CENTROS DE OSSIFICAÇÃO PÓS-ECLOSÃO EM GARÇA-
VAQUEIRA (*Bubulcus ibis* – Linnaeus 1758): AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA E
MORFOLÓGICA**

Artigo segue as normas e formato da UFLA

*Este artigo é uma versão preliminar, considerando que o conselho editorial da revista poderá sugerir alterações para adequá-lo ao seu próprio estilo.

**ESTUDO DOS CENTROS DE OSSIFICAÇÃO PÓS ECLOSÃO EM GARÇA
VAQUEIRA (*Bubulcus ibis* - LINNAEUS 1758): AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA E
MORFOLÓGICA**

**STUDY ON POST-HATCHING OSSIFICATION CENTERS IN CATTLE EGRET
(*Bubulcus ibis* - LINNAEUS 1758): RADIOGRAPHIC AND MORPHOLOGICAL
EVALUATION**

Favoretto, S. M.^a *;; Campos, M. E. S. T. ^a; Silva, A. B. C. ^a; Lacrete Junior, A.C.C. ^a ;
Guimarães, G. C. *

RESUMO

Os trabalhos anatômicos sobre desenvolvimento ósseo de aves no período pós eclosão são escassos e envolvem principalmente aves domésticas. No entanto, a classe das aves é muito extensa, possuindo diversas ordens e espécies. Diferenças no tempo relativo de ossificação podem indicar características distintas no desenvolvimento do esqueleto e na evolução das espécies. O objetivo deste trabalho foi monitorar o desenvolvimento de centros de ossificação pós-eclosão em ossos longos de membro pélvico da garça-vaqueira, espécie semi-altricial, mediante avaliações anatômica (diafanização com coloração Azul de Alciano e Alizarina Red S) e radiográfica. O aparecimento dos centros de ossificação pós eclosão em *Bubulcus ibis* ocorre entre os 12 e 26 dias de idade. A ossificação completa da placa de crescimento em fêmur distal, tibiotarso proximal e distal e fíbula é observado aos 37 a 48 dias de idade. No presente estudo foi observada a ossificação da placa de crescimento em tarsometatarso proximal apenas em três animais, estimando-se que a mesma ocorra acima dos 48 dias de idade na maioria das garças-vaqueiras. Não foi observado centro de ossificação em região de patela. Tanto o aparecimento dos centros de ossificação pós eclosão de ossos longos em membros pélvicos quanto a ossificação das placas de crescimento em garças- vaqueira (Pelecaniformes) foi semelhante ao observados em *Pionus fuscus* (Psitaciformes), sendo estes processos precoces quando comparados a Gruiformes e Galiformes. Psitaciformes e pelecaniformes são ordens de

^a Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil.

*Autora para correspondência: Samantha Mesquita Favoretto, Departamento de Medicina veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA). Caixa Postal: 3037, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: Samantha.favoretto@ufla.br

aves altriciais e semi-altriciais diferente de galiformes e gruiformes que compreendem espécies precociais. Aves precociais apresentam crescimento até cerca de 150 dias necessitando de suas placas de crescimento ativas, não ossificadas. Já aves altriciais e semi-altriciais, que crescem a uma taxa de 2 a 3 vezes mais rápido que aves precociais chegam ao tamanho adulto ao sair do ninho, à idade aproximada de 50 dias, não necessitando de zonas de proliferação de cartilagem após essa idade.

Palavras-chave: epífises, tarsos, filhote, desenvolvimento ósseo

ABSTRACT

Anatomical studies on avian bone development are scarce and mainly involving poultry. The class Aves comprises several orders and species. Differences in ossification time may indicate distinct characteristics in skeletal development and species evolution. The aim of this study was to monitor the development of long bones of the pelvic limb of the semi-altricial species cattle-egret by two methodologies: anatomical and radiographic. Post-hatching ossification centers appears in *Bubulcus ibis* between 12 and 21 days of age. Closure of the distal femoral plate, proximal and distal tibiotarsus and fíbula occurs at 31 to 48 days. Closure of proximal tarsometatarsus plate was observed only in three animals. We suggest it occurs only in animals over 48 days of age. No ossification center was observed in patella. The appearance of ossification centers of long bones of pelvic limb after hatching and closure of growth plate in cattle-egrets (Pelecaniformes) occurs at a similar age as in *Pionus fuscus* (Psitaciformes). These processes are earlier when compared to Gruiformes and Galiformes. Psitaciformes and pelecaniformes are orders of altricial and semi-altricial birds, unlike galiformes and gruiformes that comprises precocious species. Precocial birds grow up until 150 days requiring their open growth plate. Altricial and semi-altricial birds grows at a rate 2 to 3 times faster that precocial species and reach adult size when leave the nest, at approximately 50 days of age, requiring no áreas of cartilage proliferation after this age.

Keywords: epiphyses, tarsus, chick, boné development

1. INTRODUÇÃO

A garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*) da ordem Pelecaniforme (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2015) é originária da Europa Mediterrânea e da África, de onde migrou para o Novo Mundo, supostamente sem a ajuda do homem (BELLA, 2003). É uma espécie abundante na América do Sul, colonizando várias áreas do território brasileiro e do mundo, tendo sido avistada inclusive na Antártica (SICK, 1997).

A garça-vaqueira é a mais terrestre da família Ardeidae, notavelmente adaptada a muitos habitats, tanto terrestres quanto aquáticos, e apesar de não dependerem do ambiente aquático o usam regularmente. É uma espécie que se adapta às áreas naturalmente perturbadas e convertidas em paisagens abertas, como as típicas pastagens ou fazendas e áreas urbanas (BELLA, 2003).

Em muitos trabalhos anatômicos realizados com aves, a descrição do esqueleto é genérica quanto a detalhes, e normalmente referem-se às espécies domésticas (CHARUTA et al., 2005). No entanto a classe das aves é muito extensa, sugerindo que possam haver diferenças entre espécies e grupos taxonômicos, assim como relações com sua dependência ao nascer dentro do espectro altricial-precocial. Algumas poucas referências sobre aves domésticas e selvagens são encontradas descrevendo de forma isolada o desenvolvimento ósseo de algumas regiões do corpo (BURT, 1930).

Os ossos longos das aves desenvolve-se a partir do processo de ossificação pericondral, diferindo quando comparada ao padrão descrito para mamíferos (ARNAUT, 2006), e diferem em relação aos centros de ossificações secundários nas epífises, estando os mesmos ausentes, à exceção da extremidade proximal do tibiotarso (ARNAUT, 2006).

Trabalhos com anseriformes e galiformes mostram que a ossificação em aves se inicia ainda em estágio embrionário. A ossificação do crânio se inicia entre 11 e 16 dias após a fecundação (MAXWELL, 2008). Apesar da diferença em locomoção entre aves altriciais (aves que nascem sem penas e de olhos fechados necessitando do cuidado parental), e a aves precociais (aves que eclodem já empenadas, de olhos abertos e logo buscam seu próprio alimento), não parece haver diferença da ossificação de seu esqueleto à eclosão. O esqueleto de aves recém eclodidas altriciais e precociais de 19 diferentes espécies, representando ordens desde as ratitas até as aves canoras, foram comparadas em relação ao momento de ossificação de centros primários e o número de centros de ossificação à eclosão (COP). Apenas diferenças sutis foram observadas e essas diferenças não puderam ser relacionadas a ontogenética ou posição taxonômica. O esqueleto de aves precociais tem de suportar três funções - suporte, resistência a forças mecânicas para locomoção e crescimento; o esqueleto de aves altriciais tem

de enfrentar apenas a função de suporte e não necessita resistir as forças mecânicas de locomoção, apenas crescer (STARCK, 1998).

A garça-vaqueira é uma espécie semi-altricial. Seus filhotes nascem cobertos de plumas e com os olhos abertos, porém incapazes de se mover e sem controle sobre a posição da cabeça. A incubação de seus ovos dura em torno de 23 dias (DENIS et al., 2003) com ambos os sexos fazendo incubação partilhada. A ordem pelecaniforme, diferentemente dos galiformes, necessita de maiores cuidados em fase neonatal (SILVEIRA, 2012), eles se tornam endotérmicos entre 9 e 12 dias após a eclosão e sua plumagem se completa entre 13 e 21 dias após a eclosão (ZHEN-ZHONG, 1993). Os filhotes iniciam a saída do ninho com cerca de 2 semanas (BELLA, 2003) e estão totalmente independentes com 35 a 40 dias de vida (ZHEN-ZHONG, 1993).

Não foram encontrados relatos sobre o desenvolvimento ósseo de animais deste grupo e poucos estudos sobre animais altriciais e semi-altriciais, assim o presente trabalho teve como objetivo monitorar a ossificação de ossos longos de membros pélvicos da garça vaqueira após a eclosão, por meio de radiografias e diafanização com coloração Azul de Alciano e Alizarina Red S. Foram ainda realizadas comparações com estudos em espécies precociais como os galiformes, buscando fornecer informações anatômicas para interpretações radiográficas e comparação com os aspectos morfológicos do desenvolvimento ósseo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi autorizado pelo SISBIO, protocolo número 47574-1 e 51070 e pela Comissão de Ética em Uso de Animais da UFLA (protocolos nº023/2015 e 002/17). Nas estações reprodutivas de 2015 a 2018 foram realizadas visitas a um ninhal de Pelecaniformes localizado no campus da Universidade Federal de Lavras. Filhotes de garça-vaqueira (*B. ibis*) encontrados caídos dos ninhos e moribundos ou com pouca chance de sobrevivência foram recolhidos e anestesiados com uma combinação de cetamina (30mg/kg) e xilazina (4mg/kg) por via intramuscular e eutanasiados com uso de tiopental por via intravenosa. Filhotes encontrados mortos também foram recolhidos. Os cadáveres foram identificados e submetidos à pesagem. Ovos foram recolhidos e transportados até o Ambulatório de animais selvagens do Hospital Veterinário da UFLA. A eutanásia foi realizada mediante a manutenção dos ovos em câmara fechada com algodão embebido com isoflurano por 30 minutos.

Foi realizada biometria de tarsometatarso de todos os filhotes a partir da qual foi calculada a idade estimada segundo fórmula proposta por Bella (2003).

Os cadáveres foram então radiografados nas posições ventrodorsal e laterolateral e congelados para posterior avaliação morfológica. A avaliação radiográfica foi realizada mediante radiografias feitas em aparelho convencional (Sawae Altos ST) uso de sistemas de digitalização do filme (Fujifilm Prima®) e ajuste de kilovoltagem e miliamperagem de acordo com o tamanho de cada animal.

A avaliação morfológica foi realizada utilizando-se a técnica de diafanização com coloração de Azul de Alciano e Alizarina Red S (VIEIRA, 2011).

Foi definido o momento de aparecimento dos centros de ossificação pós-eclosão (COPEs) e sua fusão aos centros de ossificação primários (COPs) nos cadáveres corados e na radiografia e sua relação com a idade estimada.

3. RESULTADOS

As idades dos filhotes coletados variaram. Na avaliação radiográfica foram utilizados 109 animais com idades entre 1 e 53 dias pós eclosão. Pela técnica de Alizarina Red S, Azul de alciano e diafanização foram avaliados 13 animais com idade estimada entre 0 e 47 dias a partir do comprimento de tarsometatarso.

Nos filhotes com menos de 3 dias de idade foi possível a diferenciação dos centros de ossificação primários através da técnica de Alizarina e azul de alciano (Figura 1A). No entanto foi necessária adaptação da técnica referente à descrita na literatura. O tempo máximo de imersão em Azul de Alciano foi diminuído para 15 horas em embriões e 24 horas em indivíduos maiores, tempo no qual já se observava a impregnação. A imersão em tempos superiores há 15 horas prejudicava a visualização dos COPs, devido ao tingimento da musculatura prejudicando a visualização dos ossos. O corante Azul de Alciano possui afinidade pelos polissacarídeos sulfatados da matriz cartilaginosa, conferindo a cor azulada para cartilagem. Foi observada boa coloração das zonas de cartilagem dos embriões pelo azul de alciano. Nos animais mais velhos, no quais, já se observava os centros de ossificação pós eclosão, houve pouca coloração das zonas de cartilagem com este corante.

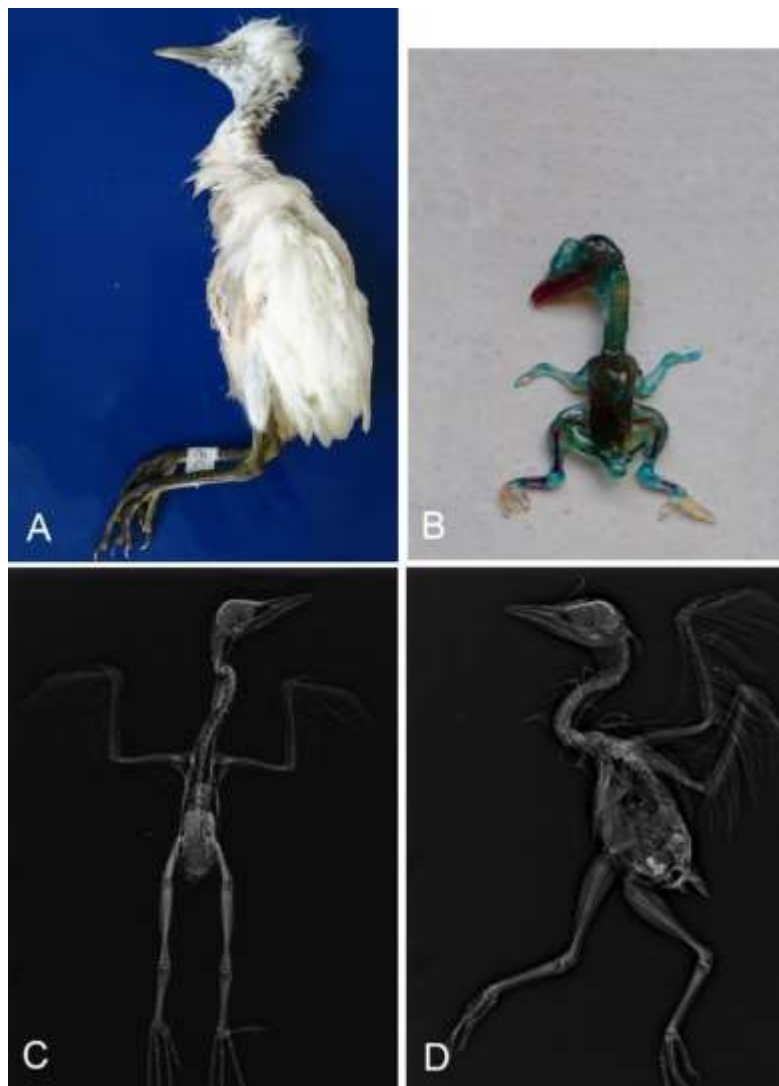
Para coloração da parte mineralizada do osso utilizou-se a Alizarina Red S. O corante Alizarina Red S tem afinidade pelos sais de cálcio corando desta forma zonas ossificadas. Na etapa de coloração com Alizarina Red S foi necessário para essa espécie maior tempo do que o preconizado (Vieira, comunic. pessoal).

O uso de KOH finaliza a técnica através da diafanização que atribui transparência aos tecidos adjacentes, permitindo a visualização do esqueleto corado (VIEIRA, 2011).

Através da coloração com Azul de Alciano, Alizarina Red S e técnica de diafanização foi possível a visualização de áreas ossificadas na região onde se situavam os centros de ossificação primários (Figura 1A) e os centros de ossificação pós-eclosão em embriões e ninhegos respectivamente (Figura 2AB e 3AB). No entanto, a delimitação e assim a confirmação da ossificação das placas de crescimento foram de difícil visualização pela técnica. A avaliação radiográfica possibilitou a observação dos centros de ossificação primários a partir dos 3 dias de idade. Após o aparecimento dos COPs, a definição de COPs e COPE era clara pela técnica de radiografia (Figura 1CD). A delimitação e assim a confirmação da ossificação das placas de crescimento puderam ser claramente definidas com o uso desta técnica.

Em *Bulbucus ibis* foi observado um centro de ossificação pós eclosão em região de fêmur distal e um centro de ossificação na região proximal da tíbia (Figura 3).

figura 1. Imagem fotográfica de exemplar de *Bubulcus ibis* (A) Imagem fotográfica de exemplar de *Bubulcus ibis* à eclosão após coloração com Azul de Alciano, Alizarina Red S e técnica de diafanização, Visualização dos centros de ossificação primários em fêmur distal, tíbia e metatarso (B) Imagem radiográfica de exemplar de *Bubulcus ibis* em posição dorso-ventral (C) e latero-lateral (D) com visualização de centros de ossificação pós-eclosão em articulação femorotibiopatelar e intertársica.



Não foi observado centro de ossificação em região de patela em nenhum dos animais avaliados. Observou-se um centro de ossificação em região de fíbula proximal (Figura 3) e duas fileiras de centros de ossificação em região de tarsos (Figura 2), sendo dois centros de ossificação, um lateral e um medial na fileira proximal dos tarsos, e um centro na fileira distal. A ossificação de tarsos em fileira distal iniciou-se em sua face mais cranial, estendendo-se em direção caudal e plantar.

Com a utilização da técnica de Alizarina observou-se o aparecimento de todos os centros de ossificação pós eclosão aos 12 dias de idade. Pela técnica radiográfica observou-se os COPE como segue: fêmur- 21-26 dias; tíbia proximal 15-21; fíbula 17-21 dias; tarsos proximais – 19-20 dias; tarsos distais 19-20 dias. Segundo a técnica de Alizarina observou-se a fusão dos COPE aos COPs em fêmur a partir de 34 dias, e nos restantes a partir dos 47 dias. Pela técnica radiográfica ocorreu a fusão de fêmur com 37-53 dias, tibiotarso proximal 47- 48 dias; fíbula aos 38-49 dias; tibiotarso distal 38-48 e tarsometatarso proximal >48.

Figura 2. Imagem fotográfica de membro pélvico de exemplar de *Bubulcus ibis* após coloração com Azul de Alciano, Alizarina Red S e técnica de diafanização, em posição latero-lateral (A) e ventro-dorsal (C) Imagem radiográfica de membro pélvico em posição latero-lateral (B) e dorso-ventral (D) de exemplar de *Bubulcus ibis*. Visualização de tibiotarso e tarsometatarso e centros de ossificação pós-eclosão em tarsos proximal e distal demarcados através da coloração (A e C) e da radiografia (B e D).

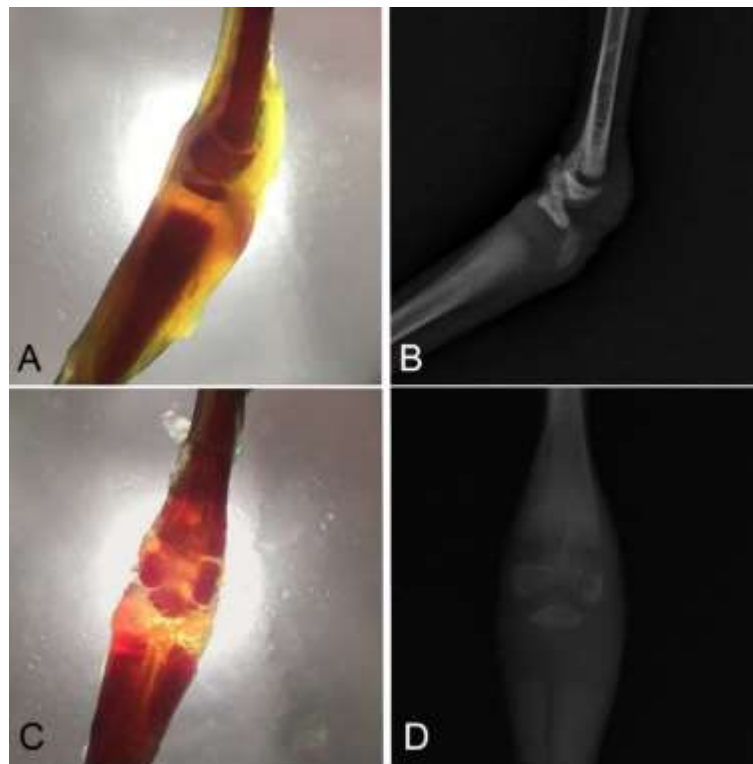
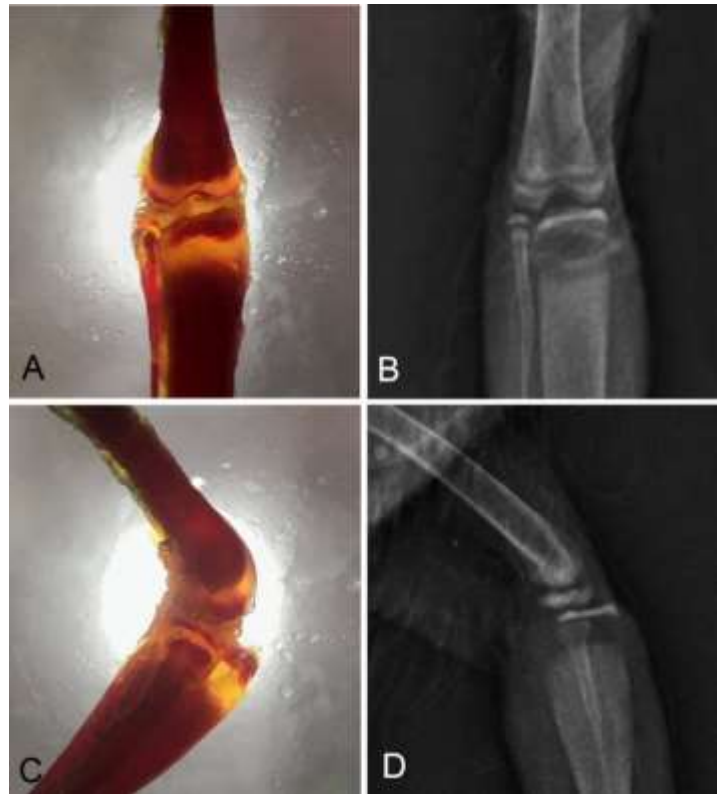


Figura 3. Imagem fotográfica de membro pélvico de exemplar de *Bubulcus ibis* após coloração com Azul de Alciano, Alizarina Red S e técnica de diafanização, em posição dorso-ventral, (A) e latero-lateral (C). Imagem radiográfica de membro pélvico em posição dorso-ventral (B) e latero-lateral (D) de exemplar de *Bubulcus ibis*; Visualização de centros de ossificação pós-eclosão em fêmur distal, tíbia proximal e região proximal de fíbula.



4. DISCUSSÃO

A ossificação primária se inicia no estágio pré-eclosão com o aparecimento dos COPs. A ossificação inicia-se pelo crânio sendo seguido pelo restante do esqueleto axial e diáfise de ossos longos (MAXWELL, 2008). À eclosão, em aves, já estão presentes os centros primários de ossificação de ossos longos (HOGG, 1980; SAWAD; HANA; AL-SILAWI, 2010). Extremidades de ossos longos, centros de ossificação secundário da tíbia e tarsos se ossificam no período pós-eclosão (HOGG, 1980;FRANCESCHINI, 1967;CURRO; LANGENBERG; DEAKIN, 1996; NALDO; SAMOUR; BAILEY, 1997). Em mamíferos observa-se no período pós-natal pelo menos dois centros de ossificação secundários em ossos longos: a epífise proximal e a distal.

Aves diferentemente de mamíferos possuem apenas um centro de ossificação secundário verdadeiro, considerado a epífise proximal da tíbia (HOGG, 1980). Em *Bulbucus*

ibis foi observado um centro de ossificação na extremidade proximal da tíbia. Esse centro de ossificação pós-eclosão iniciou a sua mineralização em região cranial em relação à diáfise tibial.

Foi observado em *B. ibis* um centro de ossificação em côndilos de fêmur semelhantemente ao descrito para codornas (YAHYAEI; GILANPOUR; VESHKINI, 2013), grou (CURRO; LANGENBERG; DEAKIN, 1996) e pombos (OJAGHLOO; REZAEI; ALIZADEH, 2018). A ossificação dos côndilos femorais ocorreu em idade semelhante a observada em columbiformes (OJAGHLOO; REZAEI; ALIZADEH, 2018) e psitaciformes (HARCOURT-BROWN, 2004) e precocemente em relação a codornas (YAHYAEI; GILANPOUR; VESHKINI, 2013) e gruiformes (CURRO; LANGENBERG; DEAKIN, 1996; NALDO; SAMOUR; BAILEY, 1997). Apesar de observada a presença deste centro de ossificação secundário em fêmur em outras espécies aviárias, não há discussão na literatura sobre a definição do precursor dos côndilos femorais e se este se caracteriza como um centro secundário de ossificação verdadeiro.

Em região proximal de fíbula observou-se um centro de ossificação pós-eclosão em animais com 12 a 20 dias de idade. Há apenas a descrição deste centro de ossificação em grou, com sua aparição ocorrendo aos 49 dias (CURRO; LANGENBERG; DEAKIN, 1996). Em garças-vaqueira filhotes, até a idade estimada de 53 dias não foi observada a mineralização da patela. Não são todas as espécies de aves que apresentam esse osso e, algumas o apresentam inclusive em duplicidade (CHADWICK et al., 2014). No entanto, Rezk (2015) relata sua presença em *B. ibis*. Sugere-se que este osso se ossifique no animal já adulto.

O aparecimento do centro de ossificação em região proximal de tíbia ocorreu dos 12 aos 21 dias de idade de *B. ibis*, idade semelhante à descrita para pombos (OJAGHLOO; REZAEI; ALIZADEH, 2018) e *Pionus fuscus* (HARCOURT-BROWN, 2004). Alguns autores sugerem o aparecimento deste centro aos 34 a 38 dias em *Gallus gallus* (FRANCESCHINI 1967); outros estudos apontam para sua mineralização apenas com 56 dias para a espécie (HOGG, 1980) e acima de 35 dias para gruiformes (CURRO; LANGENBERG; DEAKIN, 1996; NALDO; SAMOUR; BAILEY, 1997).

Há na literatura uma discussão acerca do osso responsável pelo centro de ossificação pós-eclosão observado em tíbia. Sugere-se que estes seriam sesamóides e não a existência de um centro secundários de ossificação isolado. Estes autores questionam o porquê da existência de apenas este centro de ossificação secundário em aves visto a inexistência de outros centros secundários nos ossos longos (HOGG, 1977).

Em articulação intertársica são observados os ossos do tarso que posteriormente se fundem a tíbia proximal e ao metatarso, formando tibiotarso e tarsometatarso respectivamente (SARMA; SASAN; SURI, 2018). O presente estudo corrobora a literatura acerca da existência de dois centros de ossificação na fileira proximal e de um centro de ossificação na fileira distal de tarsos. O mesmo foi observado em *Gallus domesticus* e *Coturnix japonica* (HOGG, 1980; YAHYAEI; GILANPOUR; VESHKINI, 2013). Entretanto estudos mais antigos afirmam a existência de três centros de ossificação na fileira proximal do tarso (FRANCESCHINI, 1967).

Pela radiografia foi possível a visualização dos tarsos a partir de 17 dias de vida; pela coloração de alizarina foram observados aos 12 dias de idade. O aparecimento dos centros de ossificação dos ossos do tarso não parece variar tanto em relação as ordens já estudadas e o tipo de desenvolvimento dos filhotes. Exceção a essa afirmação é o estudo de Yahyaei; Gilanpour; Veshkini, (2013) que relata o aparecimento do tarso distal aos 70 dias de vida da codorna.

A fusão entre os elementos dos ossos longos de membro pélvico das garças-vaqueiras se inicia com 34 dias de idade dos animais. Para *Pionus fuscus* a delimitação da linha fisária é perdida após os 39 dias. Para gruiformes e galiformes a fusão dos elementos ósseos ocorre a partir de 56 dias (HOGG, 1980;FRANCESCHINI, 1967;CURRO;LANGENBERG;DEAKIN, 1996; NALDO; SAMOUR; BAILEY, 1997). A epífise proximal da tíbia é a que apresenta o fechamento mais tardio ocorrendo em Gruiformes dos 70 aos 84 dias em grou (CURRO; LANGENBERG; DEAKIN, 1996) e 60 a 76 dias em bustardas. (NALDO; SAMOUR; BAILEY, 1997). Em galiformes a fusão ocorre à aproximadamente aos 130 dias de idade (HOGG, 1980; THOMAS; SADLER; COOPER, 2016).

Em aves há uma correlação positiva entre a espessura da cartilagem fisária e o crescimento ósseo (STARCK, 1994). Gruiformes e galiformes, aves precociais, são aves de crescimento lento, galiformes apresentam crescimento até completarem 180 dias (THOMAS 2016), desta maneira necessitam de uma zona de cartilagem proliferativa não mineralizada até uma idade mais avançada. Aves altriciais e semi-altriciais, como psitacíformes e pelecaniformes, necessitam no momento de saída do ninho, de um esqueleto bem formado, e já neste momento apresentam o tamanho de um adulto (BELLA, 2003). Sendo assim a presença de áreas de proliferação de cartilagens não se justificaria a partir da idade de sua saída do ninho.

Para que o esqueleto de uma ave precocial possa sustentar a locomoção logo após o nascimento foi observado que este possui uma menor relação cartilagem:osso do que aves

altriciais além do aumento da espessura das partes ossificadas (STARCK 1994). O presente estudo associado aos dados de Hartcourt-Brown (2004) e Ojaghloo; Rezaei; Alizadeh (2018) traz a informação que ao longo do crescimento acelerado do osso de aves altriciais e semi-altriciais, de 2 a 3 vezes maior do que aves precociais (STARCK, 1998), há também uma precocidade no aparecimento dos centros de ossificação pós-eclosão. A fusão dos COPE aos centros primários de ossificação também é prematura em relação a de aves precociais (HOGG, 1980;FRANCESCHINI, 1967;CURRO; LANGENBERG; DEAKIN, 1996; NALDO; SAMOUR; BAILEY, 1997;THOMAS; SADLER; COOPER, 2016).

Ao se comparar as duas técnicas utilizadas para monitorar os centros de ossificação em *B. ibis*, a técnica de coloração pela Alizarina Red S e a radiografia, notou-se que estas são complementares para um estudo completo do desenvolvimento ósseo. A técnica radiográfica com uso de aparelho convencional e uso de sistemas de digitalização do filme não tornou possível a visualização nem mesmo da ossificação primária na diáfise dos ossos em animais com menos de dois dias de idade pós eclosão, mas foi observada nitidamente na coloração por Azul de Alciano e Alizarina Red S associadas a diafanização. Para espécimes maiores, com o uso da coloração não se consegue delimitar com precisão as linhas de fusão nas extremidades de ossos longos, sendo estas facilmente visualizados com a técnica radiográfica. Os estudos encontrados na literatura utilizam apenas a avaliação radiográfica o que poderia inferir uma definição mais tardia do aparecimento dos centros de ossificação nas espécies estudadas.

Este trabalho traz novas informações sobre as ossificações pós eclosão em uma espécie semi-altricial, além de fomentar maiores estudos sobre o desenvolvimento de aves e sua dependência parental e fornecer dados relevantes à área de diagnóstico por imagem e técnica de diafanização de animais selvagens.

TABELAS

Tabela 1- Comparação das idades do aparecimento dos centros de ossificação pós-eclosão (em dias) do fêmur (FÊM), tibiotarso (TT), fíbula (FI), tarsos (TARS) e a fusão com o centros de ossificação primários das espécies das ordens gruiformes, galiformes, columbiformes e psitaciforme com a garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*).

	Aparecimento dos COPE em ossos longos de membro pélvico					Fusão dos COPE aos COP em ossos longos de membros pélvicos				
	FÊM DIST	TT PROX	FI	TARS PROX	TARS DIST	FÊM DIST	TT PROX	FI	TARS PROX	TARS DIST
<i>Gallus gallus</i> - Galiformes (THOMAS et al., 2016)	--	--	--	--	--	154	133 - 154	--	154	154
<i>Gallus gallus</i> Galiformes (HOGG, 1980)	--	56-70	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Gallus gallus</i> Galiformes (FRANCESCHINI 1967)	--	34-38	--	55-60	--	--	126	--	150	--
<i>Coturnix coturnix</i> Galiformes (YAHYACI et al., 2013)	35	--	--	21	70	--	--	--	--	--
<i>Chlamydotis sp.</i> <i>e Eupodotis</i>	--	60-76	--	14-20	21-31	--	132- 165	--	76-77	132- 159

Gruiformes (NALDO et al., 2000)											
Grus sp. Gruiformes (CURRO; LANGENBERG ; DEAKIN, 1996)	35-49	35-40	35	15	15	56-70	70-84	56- 70	35-42	70	
Columbiformes (OJAGHLOO et al., 2018)	14	--	21	14	28	--	--	--	--	--	
Pionus fuscus Psitaciformes (HARCOURT- BROWN, 2004)	16	16	--	20	20	39	39	--	31	31	
Bubulcus ibis Pelecaniformes (Presente estudo)	12-26	12- 21	12- 20	12-20	12-21	34-53	47-48	38- 49	38-48	>48	

COPE – centros de ossificação pós=eclosão; COP – Centros Primários de Ossificação; DIST-
distais; PROX - proximais

REFERÊNCIAS

- BELLA, S. **Biologia reprodutiva e alimentar de Bubulcus ibis (Linnaeus, 1758) (ciconiiforme, ardeidae) e sua ocorrência em Pernambuco, Brasil.** [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2003.
- CHADWICK, K. P. et al. Three-dimensional anatomy of the ostrich (*Struthio camelus*) knee joint. **PeerJ**, v. 2, p. e706, 23 dez. 2014.
- CURRO, T. G.; LANGENBERG, J. A.; DEAKIN, L. Radiographic analysis of the development of the pelvic limb of captive-reared cranes (*Grus* spp.). **Zoo Biology**, v. 15, n. 2, p. 143–157, 1996.
- DENIS, D et al. Reproducción de la Garza Gandra (*Bubulcus ibis*) en la Ciénaga de Biramas, Cuba. **The Journal of Caribbean Ornithology**, v. 16, n. 1, p. 45–54, 2003.
- FRANCESCHINI, M. P. On the appearance and evolution of secondary centers of ossification in the tibia of *Gallus gallus* (Linn.). **Acta. anat.**, v. 68, p. 169–188, 1967.
- HARCOURT-BROWN, N. Development of the skeleton and feathers of dusky parrots (*Pionus fuscus*) in relation to their behaviour. **Veterinary Record**, v. 10, 2004.
- HOGG, D. A. **A study of postnatal skeletal development in the domestic fowl (*Gallus gallus domesticus*).** [s.l.] Faculty of Veterinary Medicine of the University of Glasgow, 1977.
- HOGG, D. A. A re-investigation of the centres of ossification in the avian skeleton at and after hatching. **Journal of anatomy**, v. 130, n. Pt 4, p. 725–43, 1980.
- MAXWELL, E. E. Ossification sequence of the avian order anseriformes, with comparison to other precocial birds. **Journal of Morphology**, v. 269, n. 9, p. 1095–1113, 2008.
- NALDO, J. L.; SAMOUR, J. H.; BAILEY, T. A. Radiographic Monitoring of the Ossification of Long Bones in Houbara (*Chlamydotis undulata macqueenii*) and Rufous-Crested (*Eupodotis ruficrista*) Bustards. **Conditions Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 11, n. 1, p. 25–30, 1997.
- OJAGHLOO, M. R.; REZAEI, M.; ALIZADEH, S. Radiological and Histological Assessment of the Ossification Centers of Hind Limb after Hatching in Pigeon. **Iranian Journal of Veterinary Surgery**, v. 13, n. 1, p. 54–65, 2018.
- REZK, H. M. Anatomical investigation on the axial skeleton of the cattle egret, *Bubulcus ibis*. **Assiut Vet. Med. Journal**, v. 61, n. 145, p. 12–21, 2015.
- SARMA, K.; SASAN, S.; SURI, S. Gross anatomy and biometry on tibiotarsus, fibula and tarsometatarsus of indian eagle owl (*Bubo bengalensis*). **Explor Anim Med Res**, v. 8, n. 1, p. 123–127, 2018.

SAWAD, A. A.; HANA, B. A.; AL-SILAWI, A. N. Morphological Study of the Skeleton Development in Chick Embryo (*Gallus domesticus*). **International Journal of Poultry Science**, v. 8, n. 7, p. 710–714, 2010.

SILVEIRA, L. F. Apostila de ornitologia básica. **Museu de Zoologia da USP**, 2012.

THOMAS, R.; SADLER, P.; COOPER, J. Developmental Osteology of Cross-bred Red Junglefowl (*Gallus gallus* L. 1758) and the Implications for Ageing Chickens from Archaeological Sites. **International Journal of Osteoarchaeology**, v. 26, n. 1, p. 176–188, 2016.

VIEIRA, L. GONÇALVES. **Desenvolvimento embrionário de *Melanosuchus niger* (*Crocodylla*, *alligatoridae*): descrição de estágios e ontogenia do esqueleto**. [s.l.] Universidade de Brasília, 2011.

YAHYAEI, B.; GILANPOUR, H.; VESHKINI, A. Study of the ossification centers and skeletal development of pectoral limb in quail after hatching. **Advances in Environmental Biology**, v. 7, n. 9, p. 2074–2080, 2013.

ZHEN-ZHONG, W. The breeding, growth and development of homeothermy in cattle egret (*Bubulcus ibis*). **Acta Zoologica Sinica**, v. 39, n. 3, p. 263–271, 1993.

ARTIGO 3**MORFOMETRIA DOS OLHOS DE NINHEGOS DE GARÇAS-VAQUEIRAS
(*Bubulcus ibis* – Linnaeus 1758): AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA E
MORFOLÓGICA.**

*Este artigo é uma versão preliminar, considerando que o conselho editorial da revista poderá sugerir alterações para adequá-lo ao seu próprio estilo.

**MORFOMETRIA DOS OLHOS DE NINHEGOS DE GARÇAS-VAQUEIRAS
(*Bubulcus ibis* – LINNAEUS 1758): AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA E
MORFOLÓGICA**

**MORPHOMETRY OF CATTLE EGRETS (*Bubulcus ibis*) CHICKS EYES:
ULTRASONOGRAPHIC AND MORPHOLOGICAL EVALUATION.**

Favoretto, S. M.^a; Campos, M. E. S. T.^a; Silva, A. B. C.^a; Teodoro, T. G. W.^a; Dalzochio, D.
^aL.; Wouters, A. T. B.^a, Lacreta Jr., A. C. C.^a

RESUMO

A visão é um sentido de extrema importância para as aves, sendo indispensável para atividades como voo e busca por alimento. Há na literatura poucos estudos acerca dos olhos de pelecaniformes. Este trabalho teve como objetivo avaliar e descrever a morfologia ocular de filhotes de garça-vaqueira. Durante as estações reprodutivas de 2016 a 2018 foram realizadas visitas a um ninhal de Pelecaniformes localizado no campus da Universidade Federal de Lavras. Filhotes de garça-vaqueira encontrados caídos dos ninhos e moribundos foram recolhidos, pesados, e mensurado o comprimento de tarsometatarso para cálculo de idade. Os animais foram anestesiados. As médias de peso foram de 214,71g, 62,27 mm de Tarsometatarso e 33,58 dias de Idade Estimada. Avaliou-se por ultrassonografia (9 animais): comprimento axial da córnea (Cor), comprimento axial da câmara anterior (CA), comprimento axial da lente (Lente), comprimento axial da câmara vítrea (CV), comprimento axial ocular (Axial) e comprimento do pectén. Os animais que foram eutanasiados tiveram seus olhos examinados quanto a sua morfologia macroscópica e mensurados os diâmetros horizontais (DH) e palpebral (DP), diâmetros equatorial (DE) e axial (DA) de olho direito (OD) e olho esquerdo (OE): DH-OD 8,39mm; DH- OE 8,46 mm; DP-OD 7,11 mm; DP-OE 7,15 mm; DE-OD 14,02mm; DE-OE 13,86mm; DA-OD 10,67mm; e DA-OE 10,98mm. O valor médio da relação entre comprimento axial e diâmetro equatorial (CA:DE) foi de 0,80. O globo ocular de garça-vaqueira é classificado como plano; a coloração da íris é amarela acinzentada. À avaliação histológica observou-se semelhança com outras espécies e aves. Assim como a maioria das aves, a garça vaqueira possui pectén de classificação plicado.

^a Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil.

*Autora para correspondência: Samantha Mesquita Favoretto, Departamento de Medicina veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA). Caixa Postal: 3037, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: Samantha.favoretto@ufla.br

Palavras-chave: oftalmologia, bulbo ocular, pelecaniforme, histologia

ABSTRACT

Vision is a very important sense for birds, and is indispensable for activities such as flight and search for food. There are few studies on pelecaniform eyes. This study aimed to evaluate and describe cattle egret chick's ocular morphology. During the breeding seasons of 2016 to 2018, visits were made to a Pelecaniformes colony located on the campus of the Federal University of Lavras. Cattle egrets chicks found on the ground and with little chance of survival were collected, weighed, and tarsometatarsal length was measured for age calculation. Animals were anesthetized. Weight averages were 214,71g, length of Tarsometatarsus 62.27 mm and 33,58 days of Estimated Age. Ophthalmic ultrasound (9 animals) and morphometry were made. On each eye corneal axial length (Color), anterior chamber axial length (CA), lens axial length (Lens), vitreous chamber axial length (CV), ocular axial length (Axial) and length of the pecten were measured. The animals were euthanized, their eyes examined for macroscopic morphology and horizontal (DH) and eyelid (SD) diameters, equatorial (DE) and axial (DA) diameters of the right eye (OD) and left eye (OE) were measured. DH-OD 8.39mm; DH-OE 8.46 mm; DP-OD 7.11mm; DP-OE 7.15mm; OD-OD 14.02mm; DE-OE 13.86mm; DA-OD 10.67mm; and DA-OE 10.98mm. The mean value of the relationship between axial length and equatorial diameter (CA: DE) was 0.80. Cattle egret eyeball is classified as flat; the iris color is grayish yellow. Histological evaluation showed similarity to other species and birds. Like most birds, cattle egrets have a plicated pecten.

Keywords: ophtalmology, ocular bulb, pelecaniformes, histology

1. INTRODUÇÃO

A garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*) é uma ave pertencente a ordem Pelecaniforme e membro da família Ardeídea. Possui hábito diurno e sua alimentação inclui a caça de pequenos insetos, peixes, répteis, anfíbios e moluscos. Se caracterizam por serem aves de pequeno a médio porte, com o adulto pesando cerca de 350g e medindo em torno de 49cm, com pernas e dedos compridos, pescoço fino e bico longo e pontudo (KUSHLAN; HANCOCK, 2005). A espécie ocorre em inúmeros países, incluindo o Brasil (BIRDLIFE, 2015). São encontradas frequentemente próximo a bovinos em pastejo, pois capturam presas espantadas pelo gado, e assim, gastam menos energia e aumentam a taxa de captura (HEATWOLE, 1965; THOMPSON; LANYON; THOMPSON, 1982). Durante a atividade de caça mantém o bico abaixo da linha horizontal da cabeça, para visualizar as presas (HANCOCK; KUSHLAN, 1984).

A visão é um sentido de extrema importância para as aves, sendo indispensável para atividades como voo e busca por alimento (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008). Seus olhos são relativamente grandes, pesando cerca de 15% do peso total da cabeça, estando, desta forma, predispostos a afecções (TANSLEY, 1965). Alterações oculares podem afetar a qualidade de vida do animal ou mesmo serem a causa de óbito (PIÑEIRO, 2011). Assim, para a prática da clínica veterinária e do diagnóstico precoce das enfermidades oculares é importante que existam parâmetros morfológicos e clínicos para avaliar os olhos de cada espécie (BLISS et al., 2015).

Basicamente, a morfologia e a fisiologia dos olhos das aves são semelhantes às de mamíferos, embora haja peculiaridades, que devem ser consideradas (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008). As aves possuem pálpebras superior e inferior e uma terceira pálpebra ou membrana nictitante altamente desenvolvida e móvel (BALDOTTO, 2012; BAYÓN et al., 2008; RODARTE-ALMEIDA et al., 2013). Os músculos extraoculares nas aves são reduzidos e consistem nos músculos retos medial, lateral, dorsal e ventral e os oblíquos dorsal e ventral (JONES; PIERCE; WARD, 2007).

O bulbo ocular é grande quando comparado ao tamanho do crânio e as órbitas são separadas por um fragmento ósseo fino ou septo de tecido conjuntivo - o septo intraorbital (WILLIS; WILKIE, 1999). A maioria das aves possuem bulbo ocular em formato plano, com eixo anteroposterior curto e segmento intermediário achatado. Na esclera possuem os ossículos esclerais que se sobrepõem no limbo ocular e formam um anel que fornece rigidez estrutural ao segmento anterior do olho (JONES; PIERCE; WARD, 2007). Não há *tapetum*, portanto a

aparência é dominada pela vascularização e pigmentação da coróide (BAYÓN et al., 2008; RODARTE-ALMEIDA, 2013). As aves possuem pécten, uma projeção tecidual do disco óptico em direção a câmara vítrea, presente nos olhos de quase todas as aves (RUGGERI et al., 2010). O tipo de fotorreceptores e a densidade variam dentre as aves (BAYÓN et al., 2008; WILLIS; WILKIE, 1999). As aves possuem fóvea, uma depressão na retina em que há um arranjo denso de células receptoras (cones). A fóvea consiste em uma região com alta capacidade de resolução (CANDIOTO, 2011). A visão colorida é bem desenvolvida e várias espécies conseguem detectar luz no alcance ultravioleta (BAYÓN et al., 2008). As aves possuem três tipos morfológicos diferentes de fotorreceptores: bastonetes, cones simples e cones duplos (MARTIN; OSORIO 2008).

O globo ocular pode apresentar alterações decorrentes de afecções tanto locais quanto sistêmicas nas aves como em doenças nutricionais, micoplasmoses e clamidioses (KERN;COLITZ 2012). Córnea, lente, e túnica vascular são as estruturas oculares mais acometidas por transtornos (HVENEGAARD et al., 2009). Para que a visão dos pacientes aviários seja preservada é necessário o diagnóstico das lesões oculares, assim como para que seja realizado uma terapia eficaz. (KERN;COLITZ 2012). Dessa forma, para que se possa avaliar o globo ocular das aves, é preciso que se conheçam os aspectos morfológicos normais em cada espécie.

Não há descrição na literatura acerca de parâmetros morfométricos de olhos de garças vaqueiras. Entre as espécies da Ordem Pelecaniformes é perceptível a diferença morfológica dos olhos, como é o caso do savacu (animal de hábitos noturnos), e a garça-vaqueira (espécie diurna) (VINCENT, 1947).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar e descrever a morfologia ocular de filhotes de garça-vaqueira através de avaliação macro e microscópica e através da ultrassonografia oftálmica. Bem como, correlacionar os parâmetros oculares morfológicos à biometria corporal e à idade estimada dos animais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi autorizado pelo SISBIO, protocolo número 47574-1 e pela Comissão de Ética em Uso de Animais da UFLA (Protocolo 035/17).

Nas estações reprodutivas de 2016 a 2018 foram realizadas visitas a um ninhal de Pelecaniformes localizado no campus da Universidade Federal de Lavras. Filhotes encontrados caídos dos ninhos e moribundos ou com pouca chance de sobrevivida foram recolhidos e

anestesiados com uma combinação de cetamina (30mg/kg) e xilazina (4mg/kg) por via intramuscular e eutanasiados com uso de tiopental por via intravenosa. Filhotes encontrados mortos também foram recolhidos. Os cadáveres foram identificados, submetidos à pesagem e encaminhados à necrópsia.

Animais moribundos porém, bem hidratados, foram submetidos a avaliação ultrassonográfica oftálmica sob efeito dos anestésicos. Foram realizadas as avaliações ultrassonográficas oftálmicas, pesagem e as mensurações oftálmicas.

Todos os animais foram eutanasiados

2.1 Análise macroscópica

Após a pesagem dos animais foi realizada a mensuração de comprimento de tarsometatarso para cálculo de idade através de fórmula proposta por (BELLA, 2003b)

Os olhos foram examinados quanto a sua morfologia e mensurados os diâmetros horizontais (distância entre as duas comissuras palpebrais), e palpebral (distância entre pálpebra superior e inferior). Após dissecação e remoção do bulbo ocular foram mensurados os diâmetros equatorial (distância entre os polos dorsal e ventral do bulbo ocular, perpendicular ao eixo óptico do bulbo e equidistante entre os polos anterior e posterior) e axial (distância entre os extremos dos polos anterior e posterior do bulbo) de ambos os olhos, com uso do paquímetro.

2.2 Análise microscópica

Para análise microscópica os bulbos oculares foram fixados em formol 10% tamponado (pH 7,3) em frasco identificado conforme a identificação do cadáver. Após fixação os olhos foram lavados em água corrente. Não foi necessária a descalcificação dos olhos.

O corte do bulbo foi realizado utilizando-se como referência o nervo óptico e a inserção do tendão da terceira pálpebra, como descrito por Dubielzig et al. (2010).

Após a clivagem, as metades dos bulbos oculares foram processadas rotineiramente para histologia e incluídas em parafina. Foram realizados cortes de 5µm de espessura, as lâminas foram coradas pela Hematoxilina e Eosina e avaliadas em microscópio ótico.

Foram padronizadas mensurações da retina, cartilagem escleral e pécten ocular nos cortes histológicos, em microscópio Olympus BX43, objetiva 20x, utilizando-se o programa Imagem-Pro Express 6.3. As aferições foram realizadas sempre pelo mesmo avaliador. Na retina foi padronizada a mensuração nas duas extremidades, logo após o seu início. Para

cartilagem foi realizada a mensuração da largura próximo ao corpo ciliar, nas duas extremidades e posterior aos ossículos esclerais. As mensurações do pecten foram feitas no ápice, em área de dilatação, e logo abaixo dela.

2.3 Ultrassonografia

Para a realização do exame utilizou-se transdutor linear, com frequência de 18 mhz do aparelho ultrassonográfico Toshiba Aplio™ 300 e gel condutor. Foram adquiridas seis imagens de cada olho (direito e esquerdo), sendo três de cortes dorsais e três de corte sagitais. Foram mensurados: comprimento axial da córnea (Cor), comprimento axial da câmara anterior (CA) – entre córnea e cápsula anterior da lente, comprimento axial da lente (Lente) – mensurado entre cápsula anterior e posterior da lente, comprimento axial da câmara vítrea (CV) – entre cápsula posterior da lente e papila ótica, comprimento axial ocular (Axial) - da córnea à papila ótica, e comprimento do pecten. Foi realizado exame ultrassonográfico de 9 animais.

2.4 Estatística

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para avaliação de distribuição normal. Foi calculada média e desvio-padrão de todos os parâmetros e a diferença entre parâmetros em olho direito e esquerdo segundo teste T. Foi calculada a correlação de Pearson entre os parâmetros avaliados. Para cálculos estatísticos utilizou-se o programa SPSS®.

3. RESULTADOS

3.1 Macroscopia

O globo ocular (*Bubus oculi*) da garça possui eixo anteroposterior (*axis bulbi*) curto, segmento intermediário achatado, córnea (*córnea*) convexa e segmento posterior hemisférico sendo classificado como plano. A coloração da íris (*Iris*) é amarela sendo mais acinzentada em animais mais novos (Figura 1).

Para avaliação de morfometria foram avaliados 32 animais com idade estimada entre 20 e 53 dias. Os dados de morfometria para Tibiotarso, Tarsometatarso, Idade estimada, Peso, Diâmetro Horizontal, Diâmetro Palpebral e Diâmetro Axial apresentaram distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk. Dados para Diâmetro Equatorial não apresentaram distribuição normal. Não houve diferença entre os parâmetros entre olho direito e esquerdo segundo teste t.

Não foi observada correlação entre nenhum dos parâmetros estudados com exceção de Idade estimada e Tarsometatarso, resultado já esperado. As médias foram de: 214,71g para Peso, 62,27 mm Tarsometatarso, 33,58 dias Idade Estimada, 8,39mm Diâmetro Horizontal de Olho Direito, 8,46 mm Diâmetro Horizontal de Olho Esquerdo, 7,11mm Diâmetro Palpebral de Olho Direito, 7,15mm Diâmetro Palpebral de Olho Esquerdo, 14,02mm Diâmetro Equatorial de Olho Direito, 13,86mm Diâmetro Equatorial de Olho Esquerdo, 10,67mm Diâmetro Axial de Olho Direito e 10,98mm Diâmetro Equatorial de Olho Esquerdo. O valor médio da relação entre diâmetro axial e diâmetro equatorial (CA:DE) foi de 0,80 (Tabela 01).

Tabela 1. Parâmetros corporais (peso e comprimento de tarsometatarso), idade estimada, e morfometria de bulbo ocular mensurados com paquímetro - diâmetro horizontal, palpebral, equatorial e axial (n=32)

	Mínimo	Máximo	Média	Desvio
PESO (g)	147,00	323,00	214,71	47,39
TM (mm)	44,35	85,73	62,27	10,54
IDADE (dias)	20,14	53,73	33,58	8,44
Olho direito				
D. Horizontal (mm)	5,31	10,47	8,39	1,17
D. Palpebral (mm)	5,03	9,09	7,11	1,17
D. Equatorial (mm)	7,37	15,42	14,02	1,66
D. Axial (mm)	7,22	12,80	10,67	1,21
Olho Esquerdo				
D. horizontal (mm)	6,21	10,50	8,46	1,16
D. Palpebral (mm)	5,05	9,89	7,15	1,18
D. Equatorial (mm)	9,37	15,99	13,86	1,58
D. Axial (mm)	7,77	15,32	10,98	1,53

TM – tarsometatarso; D. – diâmetro

3.2 Microscopia

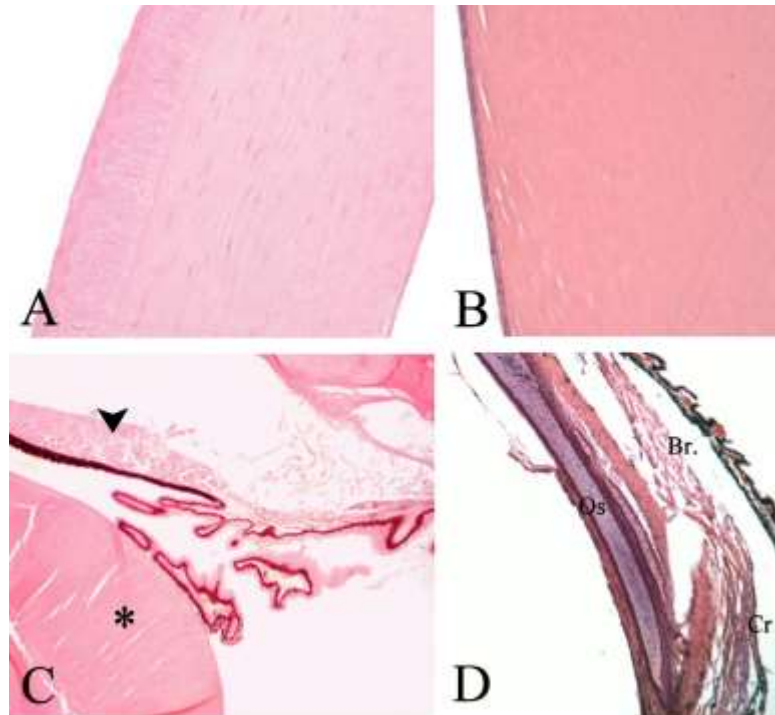
Na superfície anterior da córnea observou-se epitélio escamoso estratificado não queratinizado, membrana limitante anterior, seguido de estroma formado por espessa camada de tecido conjuntivo avascular arranjado de maneira irregular, fibras colágenas organizadas em retículo (Membrana de Descemet) e endotélio pavimentoso (Figura 1. A).

O limbo córneo-escleral era composto por uma conjuntiva bulbar, caracterizou-se por um epitélio estratificado pavimentoso sustentado por uma camada de estroma, tecido conjuntivo organizado, mais desenvolvido do que o estroma encontrado na córnea, mais vascularizado e com grande quantidade de pigmento enegrecidos. No limbo o endotélio posterior, juntamente com a membrana de Descemet, eram substituídos por um sistema de túbulos irregulares compostos por células endoteliais alinhadas, sustentados por um delicado tecido conjuntivo. Este sistema de túbulos juntamente com ligamento pectinado e rede formava o ângulo iridocorneano. O ligamento pectinado estava constituído por um delicado tecido elástico recoberto por um epitélio pavimentoso simples. Anterior a estas estruturas foi observado o seio de drenagem (Canal de Schlemm). Ainda, nesta região, havia feixes de fibras musculares, as quais compunham os músculos ciliares denominados de músculos de Crampton e Brücke.

No segmento intermediário do olho foram observados os ossículos esclerais. Os ossículos se situavam anteriormente e externamente ao corpo ciliar desde o limbo à região equatorial do globo ocular. Iniciando-se internamente aos ossículos esclerais e em formato de copo situando-se ao redor de toda parte posterior do bulbo ocular observou-se uma camada de cartilagem hialina.

A Íris, em sua face anterior, estava recoberta por uma camada de epitélio pavimentoso simples, não pigmentado, apoiada sobre abundante quantidade de tecido conjuntivo denso altamente vascularizado, com grande quantidade de capilares sanguíneos (Figura 2.). Na face posterior observou-se epitélio estratificado ricamente pigmentado e feixe de fibras musculares estriadas, as quais compunham os músculos dilatador e esfínterico. Ainda, a íris continuava no corpo ciliar, formando cristas compostas por bicamada de epitélio colunar intensamente pigmentado, sustentada por abundante tecido conjuntivo, porém delicado e pobremente organizado, além de uma rede vascular formada por grande quantidade de capilares. No estroma foi observada abundante quantidade de pigmento marrom-escuro. Essa estrutura se continuava, em sua porção plana com as mesmas estruturas histológicas.

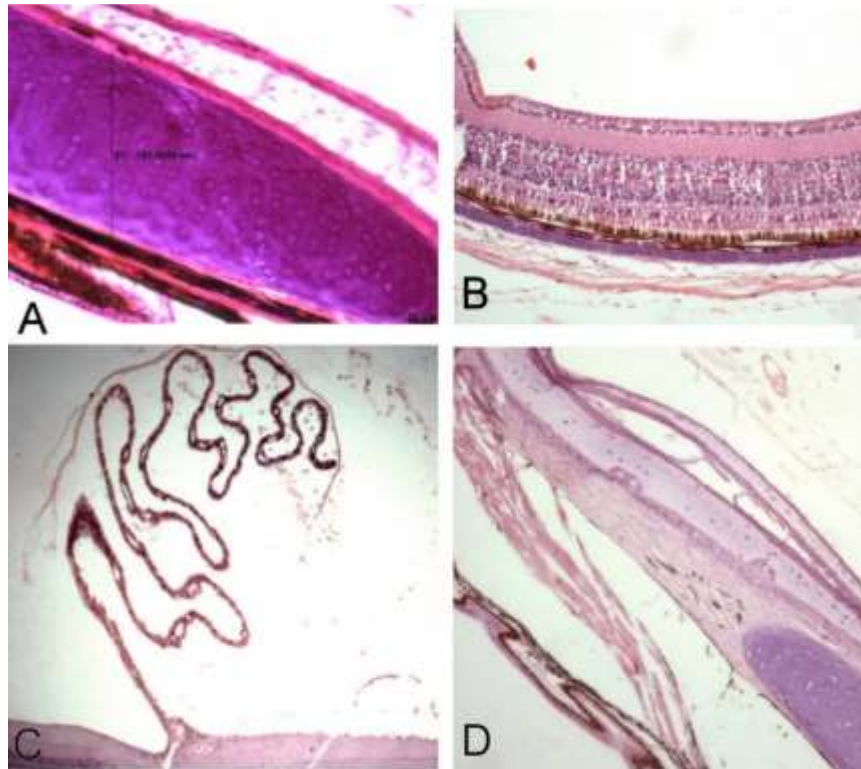
Figura 1. Aspecto histológico do globo ocular de garças-vaqueiras (*Bulbucus ibis*) corados por H&E. A) Córnea Obj. 40x. B) Cristalino Obj. 20x. C) Iris (cabeça de seta), almofada anular (asterisco) Obj. 4x. D) Ossículo escleral (Os), músculo de Brucke (Br), músculo de Crampton (Cr). Obj 10x.



A Coróide, porção vascular do globo ocular, era composta por delicado tecido conjuntivo e pigmento marrom escuro, disposto em toda a extensão, ao redor de inúmeros capilares sanguíneos.

A Retina era avascular, sendo formada por epitélio pigmentar da retina, composto por células colunares em formato de bastão, com pigmento amarronzado. Também foi observada uma camada de bastonetes e cones, camada nuclear externa; camada plexiforme externa, camada nuclear interna, camada plexiforme interna, camada de células ganglionares e a camada de fibras nervosas e a membrana limitante interna (Figura 2.).

Figura 2. Aspecto histológico do globo ocular de garças-vaqueiras (*Bulbucus ibis*) corados por H&E. A) Cartilagem escleral com mensuração de 182,06 micrometros de largura próximo ao corpo ciliar em extremidade. Obj. 20x. B) Retina, composta por epitélio pigmentar da retina, camada de bastonetes e cones, camada nuclear externa, camada plexiforme externa, camada nuclear interna, camada plexiforme interna, camada de células ganglionares e camada de fibras nervosas. Obj. 10x. C) Pécten, projeção tecidual do disco óptico composto por delicada membrana de tecido conjuntivo, sustentando inúmeros capilares sanguíneos. Obj. 4x. D) Ossículos esclerais, situados anteriormente à cartilagem escleral. Obj. 10x.



Nos olhos das garças foi observado o Pécten, uma delicada membrana de tecido conjuntivo, que sustenta inúmeros capilares sanguíneos. Esta estrutura continha quantidade moderada de pigmento enegrecido. Em sua extremidade livre havia uma dilatação em sua espessura, além de maior quantidade de pigmento escuro.

O Cristalino foi visto como uma estrutura hialina delimitada por cápsula formada por fibras de colágeno. Na sua face anterior foi observado epitélio cuboidal simples, que estava em fase de migração no sentido da região equatorial da lente. Na região do equador essas células se alongam, observa-se diferenciação e perda de núcleo, formando assim as fibras que se estendem para ambos os polos da lente; anterior e posterior sendo as mesmas orientadas paralelamente ao eixo óptico do olho. Na face posterior da lente não foi observado tipo algum de epitélio. Ao redor da região equatorial da lente, em formato de anel, observou-se a almofada anular composta por fibras orientadas radialmente com núcleos periféricos.

Por fim foi avaliado o Nervo óptico, composto por fibras aferentes provenientes da retina, as quais quase penetravam a esclera, formando a lâmina cribosa. Havia feixes de tecido nervoso, compostos por células da glia, corpos neuronais e capilares sanguíneos. Em região de disco óptico não havia células fotorreceptoras, o que caracteriza esta região em “ponto cego”. Não foi observada ossificação da cartilagem escleral em *B. ibis*.

Os valores obtidos na mensuração de cartilagem escleral, retina, e pécten em cortes histológicos estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2. Espessura da cartilagem escleral, retina e pécten mensuradas em cortes histológicos dos olhos de filhotes de garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*)

Estrutura	Valor	Valor	Média
	Mínimo (μm)	Máximo (μm)	(μm)
Cartilagem escleral	54,5748	184,9945	118,9452
Retina	145,3226	296,5267	215,0143
Pécten 1	70,0637	383,8859	37,5922
Pécten 2	21,4570	51,2438	37,5900
Pécten 3	19,5063	33,6874	25,0065

Pécten 1 – localização antes da dilatação encontrada na extremidade da estrutura. Pécten 2 – mensuração da área de dilatação; Pecten 3 – mensuração realizada após a dilatação.

3.3 Avaliação Ultrassonográfica

Para avaliação ultrassonográfica foram utilizados 9 animais entre 28 a 54 dias de idade calculados segundo BELLA (2003). Animais coletados, desidratados ou já encontrados mortos foram excluídos do estudo. Todas as partes do olho puderam ser adequadamente visualizadas (Figura 3.). Não foram observados artefatos em decorrência dos ossículos esclerais. Os valores morfométricos avaliados a ultrassonografia estão listados na Tabela 03. Foi mensurado o comprimento axial da córnea, câmara anterior (distância entre a córnea e a cápsula anterior da lente), lente (distância entre a capsula anterior e posterior da lente), câmara vítrea (distância

entre a cápsula posterior da lente e a papila ótica), e o comprimento axial do olho (distância entre a face anterior da córnea e a papila ótica) (Figura 3. B)

Figura 3. Imagens ultrassonográficas de globo ocular de *Bubulcus ibis* filhote. A) Mensuração do comprimento do pécten. B) Mensuração do comprimento axial da córnea (a), câmara anterior (b), lente (c), câmara vítrea (d) e comprimento axial do olho.

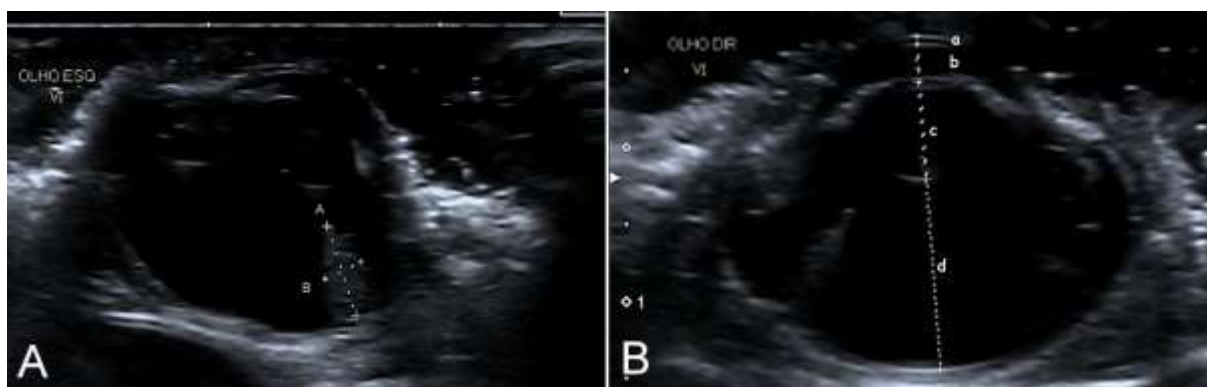


Tabela 3. Parâmetros corporais (peso e comprimento de tarsometatarso), idade estimada, e morfometria de bulbo ocular mensurados com paquímetro - diâmetro horizontal, palpebral, equatorial e axial; e à ultrassonografia - comprimento axial de córnea, câmara anterior, lente, câmara vítrea, comprimento axial e pécten - de ninhegos de garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*) (n=9).

	Mínimo	Máxim	Média	Desvio
Peso (g)	190,00	317,00	238,00	44,22
TM (mm)	55,80	85,70	69,41	10,50
IDADE (dias)	28,25	53,73	39,43	8,85
Olho direito				
D. Horizontal (mm)	6,17	10,47	9,13	1,30
D. Palpebral (mm)	6,00	9,09	7,29	1,16
D Equatorial (mm)	13,50	14,52	14,09	0,53
D. Axial (mm)	7,22	12,80	10,66	2,12
Córnea (mm)	0,250	0,400	0,338	0,048

Câmara Anterior (mm)	0,80	1,80	1,41	0,27
Lente (mm)	2,75	3,25	2,97	0,19
Câmara Vítreá (mm)	5,35	6,95	6,42	0,48
Comp. Axial (mm)	10,30	12,20	11,16	0,60
Comp. Pécten (mm)	4,20	5,20	4,58	0,31
Olho esquerdo				
D. Horizontal (mm)	6,21	10,50	9,14	1,40
D. Palpebral (mm)	6,56	9,35	7,46	0,91
D Equatorial (mm)	13,50	14,82	14,18	0,61
D. Axial (mm)	9,80	13,30	11,49	1,43
Córnea (mm)	0,200	0,350	0,310	0,048
Câmara Anterior (mm)	0,90	1,60	1,38	0,22
Lente (mm)	2,80	3,20	3,01	0,13
Câmara Vítreá (mm)	5,75	7,05	6,48	0,43
Comp. Axial (mm)	10,15	12,00	11,23	0,61
D. Diâmetro				

Valores para diâmetro palpebral, horizontal, equatorial, axial e câmara anterior apresentaram correlação alta e positiva ($> 0,8$; $P < 0,05$) entre olho direito e esquerdo. Correlação também foi observada entre diâmetro axial e comprimento da câmara anterior. Não foram observadas outras correlações em ambos os olhos. Não houve correlação entre o diâmetro axial (mensurado com o paquímetro) ao comprimento axial (mensurado pela ultrassonografia).

4. DISCUSSÃO

Existem inúmeras diferenças entre os olhos das aves e de outras espécies. Enquanto a oftalmologia de mamíferos domésticos já está melhor elucidada, ainda existem lacunas no conhecimento quando se trata de oftalmologia de aves (CARVALHO et al., 2018; WILLIAMS, 1994). O entendimento da anatomia e da fisiologia dos olhos de aves, peculiaridades e diferenças em relação aos olhos de mamíferos é indispensável para que se chegue a um

diagnóstico correto de doença ocular (WILLIAMS, 1994). É comum a ocorrência de lesões oculares em aves principalmente devido a traumas (GUMPENBERGER; KOLM, 2006).

A garça-vaqueira é uma espécie que tem expandido sua ocorrência e seu tamanho populacional, sendo cada vez mais frequente o atendimento de animais desta espécie em centros de medicina de animais selvagens (ADEDIRAN; UWALAKA; JARIKRE, 2015; PHALEN et al., 2005), o que torna essencial o conhecimento de dados clínicos sobre essa espécie. Filhotes de garça-vaqueira se aventuram fora do ninho com 14 dias sendo comum sua queda dos galhos (BELLA, 2003a). Em ninhais em área urbana as pessoas se sensibilizam levando estes animais à atendimento veterinário.

No presente estudo observou-se que o bulbo ocular da garça-vaqueira é plano. O bulbo ocular é, na maioria das aves, anteriormente achatado, com o segmento posterior hemisférico, sendo classificado como plano; em algumas aves diurnas apresenta-se arredondado, de formato globoso e em corujas tem formato tubular (BAYÓN et al., 2007; WILLIAMS, 2012). O tamanho e formato do olho de aves está relacionado tanto à estratégia de forrageamento quanto à hora do dia em que as aves estão ativas. Aves que buscam o uso de sinais visuais para caça ou voo requerem alta acuidade visual, e aquelas que procuram alimento à noite requerem alta sensibilidade visual e acuidade, em baixas intensidades de luz (THOMAS et al., 2006).

A garça-vaqueira é uma espécie diurna e insetívora necessitando assim de uma boa visão espacial e alta acuidade visual. Seus olhos lateralizados mantem um campo extenso de visão sob e sobre o bico (180°) e um bom campo de visão binocular (campo de visão do tipo 1) facilitando a identificação do inseto entre a vegetação. Em garças, o campo binocular funcional máximo é de $22,5^\circ$ (KATZIR; MARTIN, 1994). O diâmetro axial médio do olho da garça foi de 10,67 e 10,98mm, e diâmetro equatorial de 14,02 e 13,86 mm para olhos direito e esquerdo e o comprimento axial medido pelo US (9 animais) foi de 11,16 e 11,23 mm respectivamente. O diâmetro axial: diâmetro equatorial (CA:DE) teve média de 0,80. Em estudo utilizando 4 garças-vaqueiras foi observado valor de 12,3 mm de diâmetro axial e 15,1mm de diâmetro equatorial e CA:DE de 0,81 (ROJAS et al., 1999). A diferença nos valores avaliados pode estar relacionada a idade dos animais nos dois estudos, no entanto o valor de CA:DE manteve-se.

O diâmetro axial está associado a acuidade visual, olhos com maior comprimento axial permitem maior imagem projetada na retina permitindo o alcance da imagem a um maior

número de fotorreceptores (MARTIN, 1993). Aves noturnas apresentam um maior diâmetro axial. *Nyctanassa violacea* (650g), ardeídeo assim como *B. ibis*, apresenta CA e relação CA:DE de 27,1mm e 1,10 (ROJAS 1999), maior diâmetro axial e relação CA:DE superior a encontrada neste estudo e compatível com o hábito noturno do animal. Aves noturnas, com visão escotópica, como *Nyctibius griséus*, de peso semelhante a garça-vaqueira, também apresentam comprimento axial superior ao encontrado no presente estudo (19,24mm -HALL, 2008).

Os valores de diâmetro axial de *B. ibis* filhotes se mostraram semelhantes aos encontrado em pombos (*Columba livia* - 11,60mm; 360g) (GUMPENBERGER; KOLM, 2006), e psitacídeos como o periquito-da-guiné (*Poicephalus senagalus* - 10,90mm; 120g), loris-negro (*Chalcopsitta atra* - 10,26mm; 260g), maitaca-de-cabeça-azul (*Pionus menstruus* - 10,57mm; 250g) (HALL, 2008) espécies com maior atividade durante as horas de luz. No presente estudo não foi observada correlação entre o diâmetro axial mensurado *ex vivo* e o comprimento axial mensurado na imagem ultrassonográfica. Este resultado pode ser decorrente do baixo número de animais avaliados à ultrassonografia.

Não foi observada correlação de nenhum dos parâmetros morfométricos com peso, comprimento de tarsometatarso e idade estimada, mesmo os animais sendo filhotes. Foram avaliados animais de diferentes tamanhos de tarsometatarso e sendo assim de diferentes idades, no entanto houve muita variação nas medidas morfométricas oftálmicas, independentemente do tamanho do animal.

Com relação ao exame ultrassonográfico observou-se espessura da córnea de 338 e 311µm para olhos direito e esquerdo. Este valor foi superior ao observado em *Gallus gallus domesticus* (>800g) (242 µm - (MONTIANI-FERREIRA; CARDOSO; PETERSEN-JONES, 2004) e inferior ao de aves de rapina diurnas como *Buteo buteo*, (551 µm; 1000g) *Accipiter nisus* (391 µm; 220g) e *Accipiter gentilis*, (446 µm; 900g) e próximo ao observado em aves noturnas como *Tyto alba* (334 µm; 500g), *Asio otus* (305 µm; 250g), *Strix aluco* (324 µm; 470g) (STROBEL, 2010). A córnea junto com a lente é responsável pela refração da imagem na retina. No cálculo do poder de refração é avaliada a espessura da córnea e a distância focal. Tanto no estudo com garças quanto com rapinantes não foi avaliada a distância focal, não podendo-se inferir se essa espessura de córnea realmente irá alterar o poder de refração, e assim a real significância da espessura da córnea de garças ser mais próxima à de animais noturnos (MARTIN; OSORIO, 2010). Williams (2004), relata que a espessura da córnea varia com o tamanho do animal, os dados de *B. ibis* filhotes e do estudo de Strobel (2010) apresentaram-se em discordância a esta afirmação.

O comprimento da câmara anterior (média de 1,39mm) foi próximo ao reportado em animais diurnos como *Columba livia* (pombo) (1,30mm;360g) (GUMPENBERGER; KOLM, 2006) e *Amazona aestiva* (papagaio) (1,7mm; 400g) (LEHMKUHL et al., 2010) e inferior a aves de rapina como *Buteo buteo* (2,90mm), e corujas (2,40mm *Asio otus* e 2,90mm *Strix aluco*) (GUMPENBERGER;KOLM, 2006). A espessura da lente foi próxima, porém inferior a observada em pombos e papagaios (3,30mm – GUMPENBERGER; KOLM, 2006; 3,5mm - (LEHMKUHL et al., 2010), já a profundidade da câmara vítrea foi semelhante a de pombos (6,10mm - GUMPENBERGER; KOLM, 2006) porém inferior a observada em papagaios (7,4mm - LEHMKUHL et al., 2010).

O comprimento do pécten foi semelhante ao observado para *C. livia* e *Asio otus* (4,60mm ; 4,30mm respectivamente – GUMPENBERGER; KOLM, 2006). O pécten é uma estrutura rica em vasos sanguíneos e pigmentos situada na base do nervo ótico (CANDIOTO, 2011). Relata-se que ele normalmente é pequeno e simples em aves noturnas e grande e complexo em aves diurnas (GÜLTIKEN et al., 2012), ainda são necessários mais estudos para compreensão de sua função e para sua correlação aos hábitos das aves. O pécten pode ser classificado em três grupos morfológicos: cônico, em palhetas e o plicado. O pécten cônico é uma estrutura em forma de dedo e foi reportada apenas em kiwi (*Apteryx mantelli*) (MEYER 1977). O pécten em palhetas consiste em um pilar central achatado a partir do qual as palhetas se orientam verticalmente. A maioria das aves, no entanto apresenta o pécten plicado (BRAEKEVELT, 1993), semelhante ao encontrado no presente estudo.

Foi realizada mensuração da espessura do pécten em lâminas histológicas em três pontos diferentes. A espessura do pécten pode ser maior devido a um maior número de capilares sanguíneos, e sendo este mais espesso possivelmente contribua com uma melhor nutrição da retina, uma de suas funções. Devido a assimetria da estrutura realizou-se a medida de espessura em três pontos sendo a média destes 37,59µm mensurado anteriormente a uma dilatação presente próxima a sua extremidade e 37,59 µm e 25 µm após a dilatação. Estes valores poderão ser futuramente correlacionados com o de outras espécies.

A histologia dos olhos de garça vaqueira foi semelhante a observada em outras espécies de aves (BACHA; BACHA, 2001). Diferente de mamíferos, as aves possuem musculatura esquelética na íris permitindo a contração voluntária da pupila (BAYÓN; ALMELA; TALAVERA, 2008). O epitélio que recobre a superfície anterior da íris é pavimentoso enquanto em mamíferos não há epitélio, existindo no lugar uma camada descontínua de células do estroma (BACHA; BACHA, 2001). Foi observada a presença dos ossículos esclerais, tendo já sido relatado, para a espécie, a presença de 13 ossículos (REZK,

2015). Como o estudo foi realizado em filhotes, e considerando a fina espessura dos ossículos esclerais de aves diurnas, não houve necessidade de descalcificação dos mesmos. Estudo com galinhas e codornas determinou que os ossículos esclerais de ossificam na fase embrionária com 11 e 12 dias de incubação (ZHANG et al., 2012). Foi observada a cartilagem escleral não ossificada e com espessura média de 118 μm . A cartilagem escleral ocorre em quase todos os vertebrados com exceção dos mamíferos placentados, serpentes e lampreias (CAPRETTE et al., 2004) e tem a função, assim como os ossículos esclerais, de fornecer suporte ao globo ocular. Sua ossificação é relatada em martim pescador, pica-paus, beija flores e alguns falcões (FRANZ-ODENDAAL; VICKARYOUS, 2006).

Foram observadas 10 camadas na retina semelhantemente ao descrito em outras aves. A média da espessura da retina analisada em *B. ibis* foi de 215,01 μm , valor dentro do intervalo encontrado para *Falco tinnunculus* (19,56 μm a 394,84 μm)(CANDIOTO, 2011). Em estudo utilizando a tomografia para mensuração da espessura da retina de rapinantes observou-se valores de 173 a 477 μm a depender da espécie (GALLEGO, 2015). Em mamíferos sabe-se que a espessura da retina está entre 200 a 250 μm ; para peixes já se observou até 325 μm . Sugere-se que em animais com retina avascular e que não possuam adaptações morfológicas para a nutrição da retina, como o pécten em aves ou as papilas coroidais em morcegos, o limite superior para esta estrutura seria de 200 μm (BUTTERY et al., 1991). Em aves ainda há poucos estudos para estabelecimento de correlação entre o padrão de nutrição da retina e sua espessura, no entanto, em estudo com rapinantes observou-se que espécies noturnas, strigiformes, possuem maior espessura de retina e que a espessura total da retina não pôde ser relacionada nem ao tamanho do olho nem ao da ave (GALLEGO, 2015).

O presente estudo foi realizado com filhotes de garça-vaqueira. A utilização de filhotes se deu devido à dificuldade de captura de animais adultos e ao risco de perturbação antrópica à colônia. Há poucos estudos sobre a morfologia ocular de pelecaniformes, assim este trabalho poderá servir de guia ao fornecer dados para exames oftalmológicos em aves deste grupo. Estes dados ainda devem ser comparados aos de outros ardeídeos visto a ampla variedade de hábitos para caça de presas, e existência de aves com hábito noturno no grupo.

REFERENCIAS

- ADEDIRAN, O. A.; UWALAKA, E.; JARIKRE, T. Parasites , haematology and morphological changes in tissues of a migratory *Bubulcus Ibis*. *Journal of Environmental Extension*, v. 12 2014.
- BACHA, W. J.; BACHA, L. M. **Atlas color de histologia veterinaria**. 2. ed. Buenos Aires: Inter-médica, 2001.
- BALDOTTO, S.B. Investigações sobre oftalmologia de animais de companhia não convencionais, com ênfase na soroprevalência do *Encephalitozoon cuniculi*. 2012 Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Paraná. 2012.
- BAYÓN, A.; ALMELA, J. .; TALAVERA, R. M. Avian ophthalmology. **European Journal of Companion Animal Practice**, v. 17, p. 253–266, 2008.
- BELLA, S. **Biologia reprodutiva e alimentar de *Bubulcus ibis* (Linnaeus, 1758) (ciconiiforme, ardeidae) e sua ocorrência em Pernambuco, Brasil**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, 2003a.
- BELLA, S. D. **Biologia reprodutiva e alimentar de *Bubulcus ibis* (Linnaeus, 1758) (Ciconiiforme, Ardeidae) e sua ocorrência em Pernambuco, Brasil**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2003b.
- BIRDLIFE INTERNATIONAL 2016. *Bubulcus ibis*. **The IUCN Red List of Threatened Species** 2016: e.T22697109A86454050. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T22697109A86454050.en>. Acesso em: 09 out. 2019.
- BLISS, C. D.; AQUINO, S.; WOODHOUSE, S. Ocular findings and reference values for selected ophtalmic diagnostic test in the macaroni penguin (*Eudyptes chrysolophus*) and southern rockhopper penguin (*Eudyptes chrysocome*). **Veterinary Ophtalmology**, v.18, n. 1, 2013.
- BRAEKEVELT, C. R. **Fine structure of the pecten oculi in the great horned owl (*Bubo virginianus*)****Histology and Histopathology**. *Histol. Histopath.*, v. 8, p. 9-15, 1993.
- BUTTERY, R. G. et al. How thick should a retina be? A comparative study of mammalian species with and without intraretinal vasculature. **Vision Research**, v. 31, n. 2, p. 169–187, jan. 1991.

- CANDIOTO, C. G. **Histomorfometria do bulbo do olho de peneireiro-de-dorso-malhado (Falco tinnunculus- Linnaeus, 1758)**. [s.l.] FCAV-UNESP, 2011.
- CAPRETTE, C. L. et al. The origin of snakes (Serpentes) as seen through eye anatomy. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 81, n. 4, p. 469–482, 2004.
- CARVALHO, C. M. DE et al. Avian ophthalmic peculiarities. **Ciência Rural**, v. 48, n. 12, 6 dez. 2018.
- DENIS, D et al. Reproducción de la Garza Gandra (*Bubulcus ibis*) en la Ciénaga de Biramas, Cuba. **The Journal of Caribbean Ornithology**, v. 16, n. 1, p. 45–54, 2003.
- EHRENHOFER, M. C. A. et al. Normal structure and age-related changes of the equine retina. **Veterinary Ophthalmology**, v. 5, n. 1, p. 39–47, 2002.
- FRANZ-ODENDAAL, T. A.; VICKARYOUS, M. K. Skeletal elements in the vertebrate eye and adnexa: Morphological and developmental perspectives. **Developmental Dynamics**, v. 235, n. 5, p. 1244–1255, 2006.
- G., K. et al. Head stabilization in herons. **Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, v. 187, n. 6, p. 423–432, 2003.
- GÜLTIKEN, M. E. et al. The morphology of the pecten oculi in the common buzzard (*Buteo buteo*). **Veterinary Ophthalmology**, v. 15, n. SUPPL.2, p. 72–76, 2012.
- GUMPENBERGER, M.; KOLM, G. Ultrasonographic and computed tomographic examinations of the avian eye: Physiologic appearance, pathologic findings, and comparative biometric measurement. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v. 47, n. 5, p. 492–502, 2006.
- HALL, M. I. The anatomical relationships between the avian eye, orbit and sclerotic ring: Implications for inferring activity patterns in extinct birds. **Journal of Anatomy**, v. 212, n. 6, p. 781–794, 2008.
- HEATWOLE, H. Some aspects of the association of cattle egrets with cattle. **Animal Behaviour**, v. 13, n. 1, p. 79–83, 1965.
- HVENEGAARD, A. P. et al. Retrospective study of ocular disorders in Amazon parrots. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 12, p. 979–984, dez. 2009.
- HANCOCK, J.; KUSHLAND, J. The herons handbook. Harper of Row Publs, New York. 267, 1995.
- KATZIR, G. et al. Cattle egrets are less able to cope with light refraction than are other herons.

Animal Behaviour, v. 57, n. 3, p. 687–694, 1999.

KATZIR, G.; MARTIN, G. R. Visual fields in herons (Ardeidae) - panoramic vision beneath the bill. **Naturwissenschaften**, v. 81, n. 4, p. 182–184, 1994.

KERN, T.J.; COLITZ, C.M.H. **Exotic animal ophthalmology**. In: GELATT, K.N. et al. *Veterinary ophthalmology*, Hoboken: Wiley-Blackwell, 2012. Cap. 33, p.1750-1819

LEHMKUHL, R. C. et al. B-mode ultrasonography biometry of the Amazon Parrot (*Amazona aestiva*) eye. **Veterinary Ophthalmology**, v. 13, n. SUPPL. 1, p. 26–28, 2010.

MARTIN, G. R.; OSORIO, D. Vision in Birds. **The Senses: A Comprehensive Reference**, v. 1, n. November 2017, p. 25–52, 2010.

MONTIANI-FERREIRA, F.; CARDOSO, F.; PETERSEN-JONES, S. Postnatal development of central corneal thickness in chicks of *Gallus gallus domesticus*. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 1, p. 37–39, 1 jan. 2004.

MEYER, D. B. The avian eye and its adaptations. *The visual System in Vertebrates*, p.549-611, 1977.

PINEIRO, C. J.; BERT, E. Valoración de las afectaciones al sistema visual de las aves. **Redvet**, v. 12, n. 1, p. 1-41, 2011.

PHALEN, D. N. et al. Naturally occurring secondary nutritional hyperparathyroidism in cattle egrets (*Bubulcus ibis*) from central texas. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 2, p. 401–415, abr. 2005.

REZK, H. M. Anatomical investigation on the axial skeleton of the cattle egret, *Bubulcus ibis*. **Assiut Vet. Med. Journal**, v. 61, n. 145, p. 12–21, 2015.

ROJAS, L. M. et al. Diurnal and nocturnal visual capabilities in shorebirds as a function of their feeding strategies. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 53, n. 1, p. 29–43, 1999.

RODARTE-ALMEIDA, A.C.V. et al. O olho da coruja-orelhuda: observações morfológicas, biométricas e valores de referência para testes de diagnóstico oftálmico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.10, p.1275-1289, 2013

RUGGERI, M. et al. Retinal structure of birds of prey revealed by ultra-high resolution spectral-domain optical coherence tomography. **Investigative ophthalmology & visual science**, v.51, n.11, p.57-89, 2010.

STROBEL BK. **Okulare Sonographie des gesunden und erkrankten Auges bei**

Wildgreifvogeln Tese, Fakultat der Ludwigs-Maximilians Universität Munchen; 2010.

TANSLEY, K. 1965: *Vision in Vertebrates*. Chapman & Hall, London

THOMAS, R. J. et al. Eye size, foraging methods and the timing of foraging in shorebirds. **Functional Ecology**, v. 20, n. 1, p. 157–165, 2006.

THOMPSON, C. F.; LANYON, S. M.; THOMPSON, K. M. The influence of foraging benefits on association of cattle egrets (*Bubulcus ibis*) with cattle. **Oecologia**, v. 52, n. 2, p. 167–170, fev. 1982.

VINCENT, J. Habits of *Bubulcus ibis*, the Cattle Egret, in Natal. **Ibis**, London, v. **89**, n. 4, p. 489-491, 1947.

WILLIAMS, D. Ophthalmology. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. (Eds.). . **Clinical Avian medicine**. 1st. ed. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. p. 663–694, 2004.

WILLIS, A.; WILKIE, D. A. Avian Ophthalmology part 1: anatomy, examination, and diagnostic techniques. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 13, n. 3, 1999.

ZHANG, G. et al. Development and mineralization of embryonic avian scleral ossicles. **Molecular vision**, v. 18, n. December 2011, p. 348–61, 2012.

ZHIKUAN, Y.; SHUHUA, D. Measurement of retinal thickness in normal subjects with retinal thickness analyzer. **Journal of Tongji Medical University**, v. 19, n. 4, p. 314–318, dez. 1999.