



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 9712485-0 B1

(22) Data do Depósito: 03/10/1997

(45) Data de Concessão: 30/05/2017



(54) Título: MÉTODO DE CLASSIFICAR AS AVES IN OVO

(51) Int.Cl.: G01N 33/50; G01N 33/74; A01K 67/00

(30) Prioridade Unionista: 04/10/1996 US 027000

(73) Titular(es): ZOETIS SERVICES LLC

(72) Inventor(es): PATRICIA V. PHELPS

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"METODO DE CLASSIFICAR AS AVES IN OVO"**.

Este pedido reivindica o benefício do Pedido Provisório dos Estados Unidos Nº 60/027.000, depositado em 4 de outubro de 1996.

5 CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se aos métodos de classificar as aves por sexo, e particularmente refere-se a tais métodos que podem ser realizados *in ovo*.

FUNDAMENTO DA INVENÇÃO

10 As aves comerciais são geralmente classificadas por sexo após a saída do ovo. A classificação por sexo é tipicamente efetuada pela mão, por inspeção visual, e pode ser um processo que consome tempo, tedioso, e impreciso. Uma vez que o fracasso de classificar adequadamente as aves por sexo pode levar a problemas na produção de aves domésticas ou de
15 ovos, seria extremamente útil ter um meio seguro para classificar as aves por sexo, sem a necessidade por uma inspeção visual da ave.

Assim, um objetivo da presente invenção é proporcionar um meio para classificar as aves por sexo.

Um objetivo adicional da presente invenção é proporcionar um
20 meio para classificar as aves por sexo, que possa ser realizado sem a necessidade por uma inspeção visual da ave.

Ainda um objetivo adicional da presente invenção é proporcionar um meio para classificar aves por sexo, que possa ser realizado enquanto as aves estão *in ovo*.

25 SUMÁRIO DA INVENÇÃO

O precedente e outros objetivos e aspectos da presente invenção podem ser realizados pelo método de determinar o sexo de uma ave *in ovo* divulgado aqui.

Como um primeiro aspecto, a presente invenção proporciona um
30 método de determinar o sexo de uma ave *in ovo*, compreendendo as etapas de: detectar a presença ou a ausência de um nível elevado de hormônio relacionado ao sexo no fluido extra-embriônico de um ovo de ave; e deter-

minar o sexo da ave dentro do ovo a partir da presença de um nível elevado do hormônio relacionado ao sexo no fluido extra-embriônico.

Como um segundo aspecto, a presente invenção proporciona um método de classificar uma pluralidade de ovos de aves pelo sexo das aves *in ovo* (nos mesmos), compreendendo as etapas de: detectar a presença ou a ausência de um nível elevado de um hormônio relacionado ao sexo no fluido extra-embriônico de cada um dos ovos; e então separar a pluralidade de ovos em um primeiro subgrupo de ovos tendo níveis elevados do hormônio relacionado ao sexo, e um segundo subgrupo de ovos não tendo níveis elevados do hormônio relacionado ao sexo, de modo que o primeiro subgrupo de ovos contenha aves de um sexo, e o segundo subgrupo de ovos contenha aves do outro sexo.

Como um terceiro aspecto, a presente invenção proporciona um método de determinar o sexo de uma ave *in ovo*, compreendendo as etapas de: detectar a presença ou a ausência de um nível elevado de estrogênio no fluido extra-embriônico de um ovo de ave; e determinar que o sexo da ave dentro do ovo é uma fêmea a partir da presença de um nível elevado de estrogênio no fluido extra-embriônico.

Ainda um outro aspecto da presente invenção é um método de classificar uma pluralidade de ovos de aves pelo sexo das aves *in ovo* (nos mesmos), compreendendo as etapas de: detectar a presença ou a ausência de um nível elevado de estrogênio no fluido extra-embriônico de cada um dos ovos; e então separar a pluralidade de ovos em um primeiro subgrupo de ovos tendo níveis elevados de estrogênio, e um segundo subgrupo de ovos não tendo níveis elevados de estrogênio, de modo que o primeiro subgrupo de ovos contenha aves fêmeas e o segundo subgrupo de ovos contenha aves machos.

Estes e outros aspectos da presente invenção são descritos em mais detalhe na seguinte descrição da invenção.

30 DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

São divulgados aqui os métodos de classificar as aves por sexo *in ovo*, por detecção da presença ou da ausência de um nível elevado de

um hormônio relacionado ao sexo, no fluido extra-embriônico do ovo. A frase "hormônio relacionado ao sexo", conforme usada aqui, é qualquer hormônio que estimule as estruturas de sexo acessórias e/ou as características de sexo secundárias em aves machos ou fêmeas. Os hormônios relacionados ao sexo ilustrativos incluem os estrogênios e os androgênios. Alternativamente, um "hormônio relacionado ao sexo" é um hormônio que esteja presente em concentrações relativamente altas em aves de um sexo, e esteja presente somente em níveis relativamente baixos em aves do outro sexo. Por exemplo, os progestogênios, os quais desempenham uma função na regulação do ciclo estrual e na conservação da gestação, são também incluídos pelo termo "hormônio relacionado ao sexo". Como uma alternativa adicional, os hormônios "relacionados ao sexo" são aqueles hormônios que são característicos de um dos sexos das aves e, assim, podem ser usados para distinguir um sexo do outro. Os métodos divulgados podem ser realizados detectando-se os níveis de mais do que um hormônio relacionado ao sexo. Geralmente, entretanto, os métodos que envolvam a detecção da presença ou da ausência de níveis elevados de um hormônio relacionado ao sexo são preferidos.

Os estrogênios incluem, porém não estão limitados ao, estradiol, estradiol 17 β , estriol e estrona. Também incluídos estão os precursores de estrogênio, tais como a diidroepiandrosterona, os subprodutos metabólicos da degradação do estrogênio, e os derivados e variantes de estrogênio de ocorrência natural. Os androgênios incluem, porém não estão limitados à, testosterona e diidrotestosterona. Também incluídos estão os precursores de androgênio, tais como a androstenodiona, o androstenodiol e o androstanodiol, os subprodutos metabólicos da degradação do androgênio, e os derivados e variantes de androgênio de ocorrência natural. Os progestogênios incluem, porém não estão limitados à, progesterona e 17-OH progesterona. Também incluídos estão os precursores de progesterona, tais como a pregnenolona, os subprodutos metabólicos da degradação da progesterona, tais como o pregnanodiol, e os derivados e variantes de progesterona de ocorrência natural.

Preferidos são os métodos de classificar as aves por sexo *in ovo*, os quais envolvam a detecção da presença ou da ausência de um nível elevado de estrogênio no fluido extra-embriônico do ovo. A presença de um nível elevado de estrogênio nos fluidos extra-embriônicos é indicativa de uma ave fêmea. Qualquer estrogênio que seja secretado no fluido extra-embriônico no ovo pode ser usado para efetuar a presente invenção, com o estradiol sendo preferido.

Aqueles versados na técnica apreciarão que os métodos inventivos, divulgados aqui, também abrangem os métodos de classificar as aves por detecção da presença ou da ausência de um nível elevado de uma feromona relacionada ao sexo, proteína ou enzima. Tais feromonas, proteínas ou enzimas estão presentes em concentrações relativamente altas nas aves de um sexo, e em concentrações relativamente baixas em aves do sexo oposto. Ademais, as feromonas relacionadas ao sexo, às proteínas e às enzimas podem ser usadas para distinguir um sexo do outro.

Para descrever a presente invenção em uma forma alternativa, os métodos inventivos descritos aqui proporcionam um método de determinar o sexo de uma ave *in ovo*, por medição do nível de um hormônio relacionado ao sexo no fluido extra-embriônico de um ovo de ave, e comparação daquele nível com um padrão predeterminado, onde uma medição acima do padrão indica que a ave *in ovo* é de um sexo, e uma medição abaixo do padrão indica que a ave *in ovo* é do outro sexo. O padrão predeterminado variará dependendo da espécie de ave que está sendo examinada, da idade do ovo na hora do exame, da porcentagem aceitável de erro, e do hormônio que está sendo examinado. As experiências para determinar um padrão útil em um grupo particular podem ser realizadas usando métodos disponíveis na técnica, e seriam aparentes para alguém versado na técnica (ver, por exemplo, os Exemplos 1-6 aqui contidos). Em um método preferido, os ovos são ovos de galinha, o hormônio é o estrogênio, e o fluido extra-embriônico é o fluido alantóico.

Os termos "ave" e "avícola", conforme usados aqui, são pretendidos incluir os machos ou as fêmeas de qualquer espécie avícola, porém

são principalmente pretendidos incluir as aves domésticas que sejam comercialmente produzidas para ovos ou carne. Assim, os termos "ave" e "avícola" são particularmente pretendidos incluir as fêmeas e os machos de frangos, perus, patos, gansos, codornas e faisões. Os frangos e os perus são preferidos, com os frangos sendo mais preferidos.

O termo "*in ovo*", conforme usado aqui, refere-se às aves contidas dentro de um ovo antes da saída do ovo. A presente invenção pode ser praticada com qualquer tipo de ovo de ave, incluindo os ovos de galinhas, peruas, patas, gansos, codornas, e faisões. Os ovos de galinhas e peruas são preferidos, com os ovos de galinhas sendo mais preferidos.

Os ovos classificados pelo método da presente invenção são ovos férteis, os quais estão preferivelmente na última metade da incubação, mais preferivelmente nos três quartos da incubação. A etapa de detecção ou de classificação pode ser realizada, nos ovos de galinhas, em torno do décimo primeiro ao décimo nono dia de incubação, mais preferivelmente em torno do décimo terceiro ao décimo sétimo dia de incubação, e mais preferivelmente ainda em torno do décimo terceiro ao décimo quinto dia de incubação. A etapa de detecção é preferivelmente realizada, nos ovos de peruas, em torno do décimo quarto ao vigésimo sexto dia de incubação, mais preferivelmente em torno do décimo sexto ao vigésimo primeiro dia de incubação, mais preferivelmente ainda em torno do décimo sexto ao décimo nono dia de incubação. Aqueles versados na técnica apreciarão que a presente invenção pode ser realizada em qualquer tempo predeterminado *in ovo*, desde que o nível de um hormônio relacionado ao sexo, no fluido extra-embriônico, no tempo escolhido, seja um preditor seguro do sexo da ave.

De acordo com os métodos de classificação de aves divulgados aqui, o nível de um ou mais hormônios relacionados ao sexo, no fluido extra-embriônico, no ovo, é medido, o nível do hormônio relacionado ao sexo sendo indicativo do sexo da ave. O fluido extra-embriônico pode ser de qualquer fonte no ovo, incluindo, porém não limitada ao fluido alantóico, fluido amniótico, fluido da gema, fluido do albúmen, ou sangue. Não há nenhuma exigência de que o fluido venha de uma única fonte - pode ser van-

tajoso combinar dois ou mais destes fluidos, por exemplo para obter um volume suficiente no qual efetuam-se as análises. De preferência, o fluido extra-embrionário é o fluido alantóico.

Embora os métodos da presente invenção possam ser realizados em ovos individuais, em uma série comercial o método é tipicamente realizado em uma pluralidade de ovos. Em geral, em uma série comercial, uma pluralidade de ovos são incubados juntos em uma incubadora comum. Em torno do início da quarta parte final de incubação, os ovos são transferidos da incubadora para uma chocadeira. Esta etapa é conhecida como "transferência". A etapa de detectar a presença ou a ausência de um nível elevado de um hormônio relacionado ao sexo, no fluido extra-embrionário de cada ovo, pode ser realizada antes ou após a etapa de transferência. A etapa de detecção pode também ser realizada na hora da transferência. De preferência, a etapa de detecção é realizada antes ou na hora da transferência dos ovos da incubadora para a chocadeira. Alguns métodos de detectar o nível de um hormônio relacionado ao sexo causarão um atraso na hora enquanto os ensaios diagnósticos estiverem sendo efetuados. De acordo com esta modalidade da invenção, após as análises de hormônio estarem completas, é preferível classificar e transferir os ovos para a chocadeira ao mesmo tempo.

A etapa de detecção pode ser realizada por qualquer meio adequado que possa detectar as diferenças nos níveis de um hormônio relacionado ao sexo. A etapa de detecção pode envolver as técnicas não invasivas, tais como a análise por espectroscopia de infravermelho através da casca do ovo ou das membranas internas do ovo, ou por inserção de um biossensor na área alvo apropriada (por exemplo o saco alantóico, se o fluido alvo for o fluido alantóico), ou por inserção de uma agulha na mesma e retirada de uma amostra de fluido da mesma, amostra esta que é subsequentemente submetida a uma análise, tal como por radioimunoensaio, espectroscopia de infravermelho, fotoacústica, técnicas de nariz artificial, ou técnicas de imunossensores.

Um nível "elevado" de um hormônio relacionado ao sexo é um

nível que esteja na, ou acima da faixa normal para um ovo do sexo desejado. Por exemplo, um nível "elevado" de estrogênio é um nível que está na, ou acima da faixa normal para um ovo contendo uma ave fêmea. Alternativamente, um nível elevado de um hormônio relacionado ao sexo é um nível

5 que seja suficientemente alto para distinguir um sexo de ave do outro *in ovo*, isto é, um nível de estrogênio que seja suficientemente alto para distinguir as aves fêmeas das machos. Como uma alternativa adicional, um nível "elevado" de hormônio relacionado ao sexo é um nível em, ou acima de um nível predeterminado, tal que o nível predeterminado possa ser usado como

10 um preditor seguro do sexo em uma ave *in ovo*. Um nível "elevado" de estrogênio pode ser considerado um nível de estrogênio de 20, 40, 60, 80, ou 100 picogramas por mililitro ou mais no fluido alvo. Igualmente, um nível "elevado" de um hormônio relacionado ao sexo pode ser considerado um nível de 20, 40, 60, 80, 100, ou 200 picogramas por mililitro ou mais no fluido

15 alvo.

Após a etapa de detecção, a pluralidade de ovos é então separada em um primeiro subgrupo de ovos, tendo um nível elevado do hormônio relacionado ao sexo, de interesse, e um segundo subgrupo de ovos não tendo os níveis elevados do mesmo hormônio relacionado ao sexo, de

20 modo que as ditas aves sejam classificadas por sexo. Por exemplo, se o hormônio indicador for um estrogênio, o primeiro subgrupo de ovos contém aves fêmeas, e o segundo subgrupo de ovos contém aves machos. Onde houver um atraso no tempo entre a retirada de uma amostra dos ovos e a obtenção dos resultados do teste diagnóstico, os ovos podem simplesmente

25 ser marcados com uma marca, lápis de cera, ou outro sinal ou outro meio de marcação adequado, que corresponda a um sinal associado com a retirada da amostra, e os ovos subsequentemente classificados quando os resultados dos testes diagnósticos estiverem disponíveis.

Após a separação dos ovos em um primeiro e um segundo sub-

30 grupo, os ovos são separadamente incubados para eclodir. Esta etapa pode ser convenientemente efetuada simplesmente colocando-se os ovos em chocadeiras separadas.

A presente invenção é explicada em maior detalhe nos seguintes exemplos não-limitativos.

EXEMPLOS 1-6

Os fluidos alantóico e amniótico foram amostrados de embriões de galinhas do Dia 11 ou do Dia 17. Os embriões do Dia 17 sofreram então necropsia, e o sexo foi determinado por observação visual das gônadas. As amostras sanguíneas foram coletadas dos embriões do Dia 11, congeladas e guardadas para análise por PCR quanto ao cromossomo específico W, para determinar o sexo embriônico. As amostras foram então submetidas a um radioimunoensaio (kit Coat-A-Count Estradiol, Diagnostic Products Corporation) para determinar a quantidade de estradiol nas mesmas. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1

Idade do Embrião	Fluido	Sexo	Estradiol (pg/ml)
17	alantóide	F	260
			414
			266
17	alantóide	M	UD
			UD
			15
17	amniótico	F	4
			17
			11
17	amniótico	M	UD
			9
			UD

Tabela 1 - continuação -

Idade do Embrião	Fluido	Sexo	Estradiol (pg/ml)
11	alantóide	TBD	24
			69
			UD
			12
			UD
			UD
			27
11	amniótico	TBD	UD
			UD
			UD
			UD
			UD
			UD

UD = Não-Detectável

TBD = A Ser Determinado

- Os exemplos anteriores são ilustrativos da presente invenção, e
- 5 não são para serem interpretados como limitativos da mesma. A invenção é definida pelas seguintes reivindicações, com os equivalentes das reivindicações a serem incluídos nas mesmas.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de determinar o sexo de uma ave viva *in ovo*, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

5 fornecer um ovo com uma ave viva apresentando um embrião viável e fluido alantóico;

detectar estradiol livre no fluido alantóico de um ovo de uma ave viva;

determinar a presença ou a ausência de um nível elevado de estradiol livre no fluido alantóico de um ovo com ave viva; e

10 determinar o sexo da ave dentro do ovo a partir da presença de um nível elevado do dito estradiol livre no dito fluido alantóico.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada por um método selecionado do grupo consistindo em radioimunoensaio, espectroscopia de infravermelho, análise por nariz artificial, fotoacústica, e análise por imunossensor.

15 3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o dito ovo é um ovo de galinha.

4. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada durante a última metade da incubação.

20 5. Método de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada a partir do dia 11 até o dia 19 de incubação.

25 6. Método de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada a partir do dia 13 até o dia 17 de incubação.

7. Método de classificar uma pluralidade de ovos de aves vivas pelo sexo das aves *in ovo* nos mesmos, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

30 fornecer uma pluralidade de ovos com aves vivas, cada ovo de ave viva apresentando um embrião viável e fluido alantóico;

detectar estradiol livre no fluido alantóico de cada ovo de ave

viva;

determinar a presença ou a ausência de um nível elevado de estradiol livre no fluido alantóico de cada um dos ditos ovos;

5 separar a dita pluralidade de ovos em um primeiro subgrupo de ovos tendo níveis elevados do dito estradiol livre e um segundo subgrupo de ovos não tendo níveis elevados do dito estradiol livre, de modo que o dito primeiro subgrupo de ovos contenha aves de um sexo e o dito segundo sub-

10 separadamente incubar o dito primeiro subgrupo de ovos e o dito segundo subgrupo de ovos para eclodir.

8. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que adicionalmente compreende a etapa de incubar os ditos ovos juntos em uma incubadora comum antes da dita etapa de detectar.

15 9. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que adicionalmente compreende a etapa de transferir as ditas aves para uma chocadeira após a dita etapa de detectar.

10. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que adicionalmente compreende a etapa de transferir as ditas aves para uma chocadeira simultaneamente com a dita etapa de detectar.

20 11. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o dito ovo é um ovo de galinha.

12. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada durante a última metade da incubação.

25 13. Método de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada a partir do dia 11 até o dia 19 de incubação.

30 14. Método de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada a partir do dia 13 até o dia 17 de incubação.

15. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada por um método selecionado

do grupo consistindo em radioimunoensaio, espectroscopia de infravermelho, análise por nariz artificial, fotoacústica, e análise por imunossensor.

16. Método de determinar o sexo de uma ave viva *in ovo*, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

5 fornecer um ovo com ave viva apresentando um embrião viável e fluido alantóico;

 detectar estradiol livre no fluido alantóico;

 determinar a presença ou a ausência de um nível elevado de estradiol livre no fluido alantóico de um ovo com ave viva; e

10 prever que o sexo da do embrião da ave dentro do ovo é uma fêmea a partir da presença do nível elevado de estradiol livre no dito fluido alantóico.

15 17. Método de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o dito nível elevado de estradiol livre está em um nível predeterminado de um mínimo de 20 picogramas por millilitro no dito fluido alantóico.

20 18. Método de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada por um método selecionado do grupo consistindo em radioimunoensaio, espectroscopia de infravermelho, análise por nariz artificial, fotoacústica, e análise por imunossensor.

 19. Método de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o dito ovo é um ovo de galinha.

25 20. Método de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada durante a última metade da incubação.

 21. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada a partir do dia 11 até o dia 19 de incubação.

30 22. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada a partir do dia 13 até o dia 17 de incubação.

 23. Método de classificar uma pluralidade de ovos com aves vi-

vas pelo sexo das aves *in ovo* nos mesmos, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

- fornecer uma pluralidade de ovos com aves vivas, cada ovo com ave viva apresentando um embrião viável e fluido alantóico;
- 5 detectar estradiol livre no fluido alantóico;
- determinar a presença ou a ausência de um nível elevado de estradiol livre no fluido alantóico de cada um dos ditos ovos;
- separar a dita pluralidade de ovos em um primeiro subgrupo de ovos tendo níveis elevados de estradiol livre no dito fluido alantóico e um
- 10 segundo subgrupo de ovos não tendo níveis elevados de estradiol livre, de modo que o dito primeiro subgrupo de ovos contenha aves fêmeas e o dito segundo subgrupo de ovos contenha aves machos; e então
- separadamente incubar o dito primeiro subgrupo de ovos e o dito segundo subgrupo de ovos para eclodir.
- 15 24. Método de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que adicionalmente compreende a etapa de incubar os ditos ovos juntos em uma incubadora comum antes da dita etapa de detectar.
25. Método de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que adicionalmente compreende a etapa de transferir as ditas aves
- 20 para uma chocadeira após a dita etapa de detectar.
26. Método de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que adicionalmente compreende a etapa de transferir as ditas aves para uma chocadeira simultaneamente com a dita etapa de detectar.
27. Método de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo
- 25 fato de que o dito ovo é um ovo de galinha.
28. Método de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada durante a última metade da incubação.
29. Método de acordo com a reivindicação 27, caracterizado pelo
- 30 fato de que a dita etapa de detectar é realizada a partir do dia 11 até o dia 19 de incubação.
30. Método de acordo com a reivindicação 27, caracterizado pe-

lo fato de que a dita etapa de detectar é realizada a partir do dia 13 até o dia 17 de incubação.

5 31. Método de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que o dito nível elevado de estradiol livre está em um nível predefinido de um mínimo de 20 picogramas por mililitro no dito fluido alantóico.

10 32. Método de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que a dita etapa de detectar é realizada por um método selecionado do grupo consistindo em radioimunoensaio, espectroscopia de infravermelho, análise por nariz artificial, fotoacústica, e análise por imunossensor.

RESUMO

Patente de Invenção: **"MÉTODO DE CLASSIFICAR AS AVES IN OVO"**.

Um método de determinar o sexo de uma ave *in ovo* compreende detectar a presença ou a ausência de um nível elevado de um hormônio relacionado ao sexo, no fluido extra-embriônico do ovo da ave, e então determinar o sexo da ave dentro do ovo, a partir da presença de um nível elevado de um hormônio relacionado ao sexo, no mesmo. De preferência, o hormônio relacionado ao sexo é um estrogênio. Adicionalmente preferidos são os métodos nos quais o fluido extra-embriônico é o fluido alantóico. O método é preferivelmente realizado em ovos de galinhas antes ou durante a transferência dos ovos da incubadora para a chocadeira.