

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**MORFOLOGIA TESTICULAR E RESERVA
ESPERMÁTICA NA CODORNA JAPONESA**
(Coturnix coturnix japonica)

LEONARDO LARA E LANNA

Belo Horizonte
Escola de Veterinária - UFMG
2012

Leonardo Lara e Lanna

**MORFOLOGIA TESTICULAR E RESERVA ESPERMÁTICA NA CODORNA
JAPONESA (*Coturnix coturnix japonica*)**

Tese apresentada à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção do grau de Doutor
em Ciência Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal

Orientador: Prof. Antônio de Pinho Marques Júnior

Belo Horizonte
Escola de Veterinária - UFMG
2012

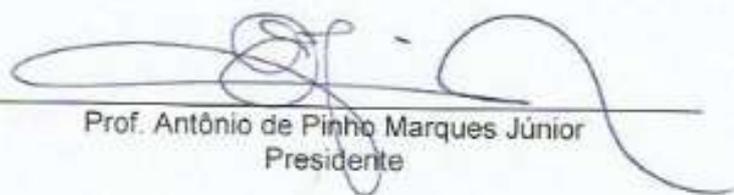
L292m Lanna, Leonardo Lara e, 1983-
Morfologia testicular e reserva espermática na codorna japonesa (*Coturnix coturnix* japônica) / Leonardo Lara e Lanna. – 2012.
54 p. : il.

Orientador: Antônio de Pinho Marques Júnior
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia

1. Codorna japonesa – Reprodução – Teses. 2. Testículos – Teses. 3. Biometria – Teses.
4. Ultra-sonografia veterinária – Teses. I. Marques Júnior, Antônio de Pinho.
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.596 089 26

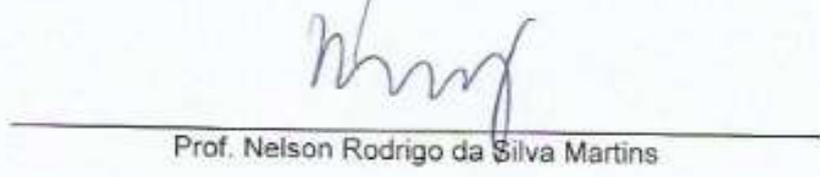
Tese defendida e aprovada em 29 de maio de 2012, pela Comissão Examinadora constituída por:



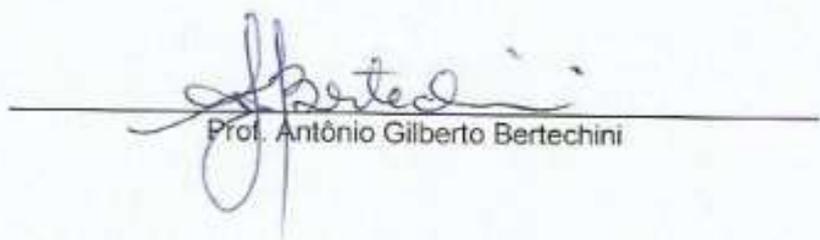
Prof. Antônio de Pinho Marques Júnior
Presidente



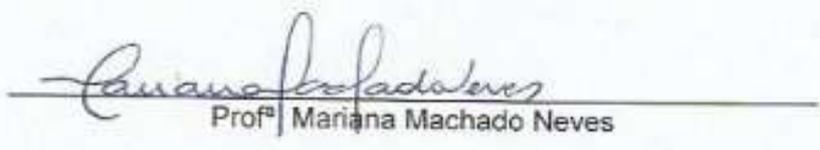
Prof. Marcelo Rezende Luz



Prof. Nelson Rodrigo da Silva Martins



Prof. Antônio Gilberto Bertechini



Profª Mariana Machado Neves

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que colaboraram para a realização deste trabalho e de forma particular:

Aos meus pais, Oiliam e Zanja, pelo exemplo, apoio e incentivo incondicionais.

Ao meu irmão Luciano, pela amizade e incentivo inestimáveis.

Ao meu orientador, Professor Antônio de Pinho Marques Jr., pela convivência sempre agradável, orientação e ensinamentos preciosos, tanto acadêmicos e profissionais quanto pessoais.

Aos professores Antônio Gilberto Bertechini, Mariana Machado Neves, Marcelo Rezende Luz e Nelson Rodrigo da Silva Martins, pelas valiosas sugestões na defesa de tese.

Aos professores Nelson Rodrigo da Silva Martins, Renato César Sacchetto Torres, Marcelo Rezende Luz, Martinho de Almeida e Silva e Alan Maia Borges, pelas excelentes contribuições nos processos de qualificação e pré-defesa.

Às colegas de pós-graduação Rebeca Marques Mascarenhas, Maria Raquel Moura e Patrícia Ramos Xavier e aos graduandos Rafael e Paulo, pelo convívio e amizade durante o doutorado, além das contribuições acadêmicas.

Aos bolsistas de iniciação científica Felipe Augusto Soares, Tatiane Marques Santos e Paulo Ramires e ao PIBIC e PIBIC-Jr./FAPEMIG/CNPq pela concessão das bolsas.

À Noelba, Edmar e Alex do Setor de Coturnicultura do Instituto Federal Norte de Minas Gerais (IFNMG) - *Campus* Salinas.

Aos colegas Carolina, Benjamim, Vítor, Fernando, Ana, Lourdes, Bruno, Luiz Flávio, Lívia, Taismara, Marilda, Flaviani, Rodrigo, Bruna e Roberto, com os quais tive o prazer de trabalhar na Clínica Veterinária Santo Agostinho durante a maior parte do doutorado, pela amizade, aprendizagem e compreensão nas trocas de plantão, sempre que necessárias.

Aos servidores, estudantes e direção do IFNMG - *Campus* Salinas, pela compreensão perante as necessidades para conclusão do doutorado. Em especial à primeira turma de acadêmicos do curso de Medicina Veterinária.

A todos os professores, técnicos e colegas do Setor de Reprodução Animal da Escola de Veterinária da UFMG, que contribuíram para o meu crescimento acadêmico.

Ao coordenador Prof. Roberto Maurício Carvalho Guedes e às secretárias Débora, Luzete e Patrícia, do Colegiado de Pós-Graduação da EV-UFMG, pela presteza e disponibilidade.

À Universidade Federal de Minas Gerais.

A todos o meu muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	12
2. HIPÓTESES	13
3. OBJETIVOS	13
4. REVISÃO DE LITERATURA	14
4.1. Morfofisiologia do aparelho reprodutivo masculino em aves	14
4.2. Reserva espermática e manejo reprodutivo em matrizeiros	17
4.3. Ultrassonografia testicular em aves	18
4.4. Referências	20
5. CAPÍTULO I: Morfologia testicular na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade	21
5.1. Resumo	21
5.2. Abstract	21
5.3. Introdução	22
5.4. Material e métodos	22
5.5. Resultados e discussão	24
5.6. Conclusões	28
5.7. Referências	28
6. CAPÍTULO II: Reserva espermática gonadal e extragonadal na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) submetida a acasalamentos consecutivos	29
6.1. Resumo	29
6.2. Abstract	29
6.3. Introdução	30
6.4. Material e métodos	30
6.5. Resultados e discussão	32
6.6. Conclusões	34
6.7. Referências	34
7. CAPÍTULO III: Índice gonadossomático e correlações entre dimensões e peso testiculares na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) aos 60 dias de idade	35
7.1. Resumo	35

7.2.	Abstract	35
7.3.	Introdução	36
7.4.	Material e métodos	37
7.5.	Resultados e discussão	37
7.6.	Conclusões	40
7.7.	Referências	40
8.	CAPÍTULO IV: Ultrassonografia testicular na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) adulta	41
8.1.	Resumo	41
8.2.	Abstract	41
8.3.	Introdução	42
8.4.	Material e métodos	43
8.5.	Resultados e discussão	44
8.6.	Conclusões	47
8.7.	Referências	48
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
10.	REFERÊNCIAS	51

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I: Morfologia testicular na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade

Tabela 1 -	Peso corporal, peso, comprimento, largura, espessura e perímetro dos testículos na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade	24
Tabela 2 -	Proporção volumétrica de componentes testiculares, diâmetro do túbulo seminífero, altura do epitélio seminífero e espessura da cápsula testicular na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade	26

CAPÍTULO II: Reserva espermática gonadal e extragonadal na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) submetida a acasalamentos consecutivos

Tabela 1 -	Reserva espermática gonadal, extragonadal e total na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) nos diferentes grupos	32
Tabela 2 -	Produção espermática diária total (PEDt) e por grama de testículo (PEDg) em codornas japonesas (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) no Grupo 1	33

CAPÍTULO III: Índice gonadossomático e correlações entre dimensões e peso testiculares na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 60 dias de idade

Tabela 1 -	Peso, comprimento, largura, espessura e perímetro dos testículos na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) aos 60 dias de idade	38
Tabela 2 -	Coefficiente de correlação linear (r) entre parâmetros testiculares na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) aos 60 dias de idade	39
Tabela 3 -	Coefficiente de correlação linear (r) entre peso testicular e peso corporal, comprimento, largura, espessura e perímetro testiculares na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) aos 60 dias de idade	39
Tabela 4 -	Coefficiente de correlação linear (r) entre a massa testicular total e os parâmetros biométricos testiculares na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) aos 60 dias de idade	40

CAPÍTULO IV: Ultrassonografia testicular na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) adulta

Tabela 1 -	Mensuração ultrassonográfica e manual de comprimento, espessura e peso/volume dos testículos na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) adulta	46
------------	---	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I: Morfologia testicular na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade

Figura 1 -	Testículos de codornas japonesas (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) aos 15 (A), 30 (B), 45 (C) e 60 (D) dias de idade	25
Figura 2 -	Índice gonadossomático na codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) de 15 a 60 dias de idade	25
Figura 3 -	Fotomicrografias testiculares de codornas japonesas (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) mostrando seções transversais de túbulos seminíferos aos 15 (A), 30 (B), 45 (C) e 60 (D) dias de idade	27

CAPÍTULO III: Índice gonadossomático e correlações entre dimensões e peso testiculares na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 60 dias de idade

Figura 1 -	Testículo esquerdo e direito em codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) aos 60 dias de idade	38
------------	---	----

CAPÍTULO IV: Ultrassonografia testicular na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) adulta

Figura 1 -	Posicionamento do transdutor linear na abordagem pelo flanco (A) e esparadrapo mostrando a área de contato do transdutor (B) na codorna em decúbito lateral esquerdo para avaliação do testículo direito	45
Figura 2 -	Posicionamento do transdutor linear na abordagem pelo flanco com a codorna em decúbito dorsal para avaliação do testículo esquerdo	45
Figura 3 -	Aspecto ultrassonográfico do testículo esquerdo de codorna japonesa	

	<i>(Coturnix coturnix japonica)</i> adulta	45
Figura 4 -	Aspecto ultrassonográfico do coração (A) e da moela (B) de codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) adulta	46
Figura 5 -	Sombra acústica limitando a observação do polo cranial do testículo esquerdo de codorna japonesa (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) adulta	47

RESUMO

Apesar do melhoramento genético e do potencial de crescimento da coturnicultura, a seleção para características reprodutivas recebe baixa prioridade e nenhum parâmetro confiável é utilizado como preditivo da fertilidade em codornas. A localização intra-abdominal dos testículos é o principal entrave para a criação de tal parâmetro. No presente estudo caracterizou-se a morfologia testicular e a reserva espermática na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*). A biometria e a histomorfometria testicular foram determinadas em aves aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade. A reserva espermática gonadal e extragonadal foi determinada em machos adultos em repouso sexual e submetidos a acasalamentos consecutivos. Nos machos de 60 dias de idade, as dimensões e o peso testiculares foram correlacionados entre si e a viabilidade da ultrassonografia testicular foi avaliada. Houve diferença significativa para todos os parâmetros avaliados entre as aves com 15, 30 e 45 dias de idade. Espermatozoides foram primeiramente observados no lúmen do túbulo seminífero aos 30 dias de idade. O desenvolvimento testicular estabilizou aos 45 dias, evidenciado pela ausência de diferença estatística nos parâmetros biométricos e histomorfométricos em relação aos machos de 60 dias de idade. A elevada proporção de túbulos seminíferos, $91,2\% \pm 4,9$ aos 60 dias, reforça a teoria de que a codorna japonesa é adaptada para alta frequência diária de cópulas. A produção espermática diária total e por grama de testículo foi estimada em $537 \pm 75,6$ e $107 \pm 22,7 \times 10^6$, respectivamente. A gônada foi responsável por 68% da reserva espermática total. Não houve redução da reserva espermática gonadal e total após acasalamentos consecutivos. Porém, a reserva espermática extragonadal foi menor para os machos que acasalaram por cinco dias consecutivos. O índice gonadossomático foi de 3,68% aos 60 dias de idade, superior ao descrito na literatura consultada. Os parâmetros que melhor se correlacionaram com o peso testicular foram a largura e a espessura dos testículos, sendo que a espessura do testículo esquerdo apresentou coeficiente de correlação linear de 0,89 com a massa testicular total. Na ultrassonografia, os testículos foram identificados como estruturas ovaladas hipoecogênicas, envoltas por uma fina camada hiperecogênica. O comprimento e o volume testicular foram significativamente menores ao exame ultrassonográfico quando comparados com a mensuração direta com paquímetro. Já a espessura foi semelhante entre as técnicas, o que indica que a mesma pode ser utilizada na comparação do potencial reprodutivo entre machos de codorna japonesa, uma vez que a espessura apresenta alta correlação com o peso testicular. A melhor abordagem ultrassonográfica foi pelo flanco, com transdutor linear e frequência de 10MHz, que, embora apresente limitações, pode contribuir para a avaliação e seleção de reprodutores.

Palavras-chave: biometria, histomorfometria, ultrassonografia, testículo, codorna japonesa

ABSTRACT

Despite the genetic improvement and growth potential of quail breeding, selection for reproductive traits receives low priority and no reliable parameter is used as a predictor of fertility in quail. The intra-abdominal location of the testes is the main obstacle to the creation of such a parameter. Testicular morphology and sperm reserve in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) were characterized in the present study. Testicular biometry and histomorphometry were determined in birds at 15, 30, 45, and 60 days of age. Gonadal and extragonadal sperm reserve was estimated in sexually rested males and in males submitted to consecutive matings. Testicular measures and weight were correlated and the viability of testicular ultrasonography was evaluated in birds at 60 days old. Significant difference was found for every parameter evaluated between birds at 15, 30, 45, and 60 days of age. Spermatozoa in the seminiferous tubules lumen were first observed at 30 days old. The testicular development stabilized at 45 days, evidenced by the lack of statistical difference in biometric and histomorphometric parameters, compared to males at 60 days of age. The high seminiferous tubules proportion, $91.2\% \pm 4.9$ at 60 days old, reinforces the theory that the Japanese quail is adapted to high daily frequency of copulations. The total and daily sperm production per gram of testis was estimated in 537 ± 75.6 e $107 \pm 22.7 \times 10^6$, respectively. The gonads were responsible for 68% of the total sperm reserve. There was no reduction of the gonadal and total sperm reserve after consecutive matings. Nevertheless, the extragonadal sperm reserve was lower for males that copulate for five consecutive days. The gonadosomatic index was 3.68% at 60 days of age, superior to that described in the literature. The measures that best correlated with testicular weight were the width and thickness of the testes, whereas the thickness of the left testis showed linear correlation coefficient of 0.89 with the total testicular mass. On ultrasonography, the testes were identified as hypoechoic oval structures, surrounded by a thin hyperechoic layer. Testicular length and volume were significantly lower at ultrasound examination when compared to direct measurement with caliper. On the other hand, the thickness was similar among techniques, which indicates that it can be used in the comparison of the reproductive potential between Japanese quail males, since the thickness is highly correlated with the testicular weight. The best sonographic approach was by the flank, and with 10MHz linear transducer, which, although presents limitations, can contribute to evaluation and selection of breeders.

Keywords: biometry, histomorphometry, ultrasonography, testis, Japanese quail

1. INTRODUÇÃO

A coturnicultura, um ramo da avicultura industrial, tem apresentado crescimento acentuado nas últimas décadas e conquistado adeptos em decorrência de demanda do mercado consumidor. Dentre os principais motivos que tornam a criação comercial de codornas tão atrativa se destacam o baixo investimento para implantação, a capacidade de abrigar um grande número de animais em pequeno espaço físico, a alta produtividade, a simplicidade de mão de obra e o rápido retorno do capital investido, o que torna, atualmente, a criação de codornas viável para pequenos e médios produtores rurais, bem como grandes empresas avícolas (Albino e Barreto, 2003; Móri et al., 2005; Kumari et al., 2008).

Dentre as três principais espécies de codornas que vêm sendo criadas comercialmente, a codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) é a mais difundida mundialmente e a predominante no cenário brasileiro. A codorna japonesa é principalmente utilizada para produção de ovos, em razão de melhoramento genético para tal finalidade, mas tem sido aproveitada também para carne. Além da produção de ovos e carne, codornas de 1-35 dias de idade são produzidas em matrizeiros e comercializadas para reposição de plantéis (Albino e Barreto, 2003).

A codorna japonesa apresenta várias características vantajosas para sua exploração comercial, dentre as quais se destacam o rápido crescimento, maturidade sexual precoce, curto intervalo de gerações, taxa de postura elevada (até 300 ovos/ano), alta fertilidade, índice de eclosão elevado (acima de 80%), pequeno consumo de ração, elevada rusticidade, longevidade de postura de até 18 meses, porcentagem elevada de peso do ovo em relação ao peso corporal (8,0%) e elevado rendimento de carcaça (72%) (Albino e Barreto, 2003; Kumari et al., 2008).

O ovo de codorna é rico em minerais e vitaminas, além de conter proteínas de alta qualidade. A procura por alimentos saudáveis para alimentação humana e o aumento do consumo mundial de carne, associados ao sabor exótico da carne de codorna, têm promovido a expansão do mercado consumidor e o escoamento da produção da coturnicultura de postura e de corte. Associa-se a isso a facilidade de transporte das aves e seus produtos (Kul e Seker, 2004; Móri et al., 2005).

O Norte de Minas Gerais é uma das regiões do Brasil que apresenta baixos indicadores sociais, em razão, sobretudo, do pequeno dinamismo econômico. Neste contexto, está inserido o município de Salinas, na região nordeste de Minas Gerais, no Vale do Jequitinhonha, no qual a divulgação e ampliação da coturnicultura poderá fornecer importante e rentável alternativa de diversificação do seu setor agropecuário, gerando fonte de renda complementar aos produtores rurais.

Apesar de recentes avanços e do potencial de crescimento da coturnicultura, aspectos básicos da morfofisiologia do aparelho genital da codorna japonesa, alguns com possíveis implicações práticas, ainda não estão completamente descritos. Poucos são os estudos sistemáticos sobre características histológicas e morfométricas do testículo de codornas japonesas durante a fase de desenvolvimento sexual e na fase adulta, particularmente nas condições tropicais (Bath e Chaudhari et al., 2002).

Nas últimas décadas, os programas de melhoramento genético em aves vêm utilizando intensa seleção para obtenção de reprodutores considerados de elite e de propriedade de grandes empresas avícolas. Esses indivíduos são utilizados como multiplicadores e responsáveis por milhões de descendentes (Kirby et al., 2001). A utilização de machos com potencial

reprodutivo superior é importante para aumentar a produtividade em matrizeiros, que está diretamente relacionada ao número de ovos fertilizados (Albino e Barreto, 2003). Na indústria avícola a seleção para características reprodutivas recebe baixa ou nenhuma prioridade. Com isso, a tendência é o declínio do número de descendentes de machos geneticamente superiores. Quanto maior a pressão de seleção para características zootécnicas, maior o risco de redução da função reprodutiva (Amann, 1999).

Atualmente, nenhum tipo de parâmetro confiável é utilizado como preditivo da fertilidade em aves, como o que ocorre, por exemplo, com touros, nos quais se utiliza o perímetro escrotal (Bath e Chaudhari, 2002; Obidi et al., 2008). A localização intra-abdominal do testículo de aves é a explicação para a inexistência de tal parâmetro, porém métodos não invasivos, como a ultrassonografia, podem contribuir para a estimativa indireta de parâmetros reprodutivos e aplicação prática de tais indicadores (Amann, 1999; Bath e Chaudhari, 2002).

O manejo reprodutivo atualmente difundido entre os criadores de codornas é a utilização de um macho para cada duas ou três fêmeas, alojados em uma gaiola (Ipek et al., 2004). Os machos são utilizados a partir dos 48 dias de idade e submetidos a acasalamentos consecutivos e, geralmente, sem repouso sexual (Albino e Barreto, 2003). Faltam estudos sobre a reserva espermática e a fertilidade de codornas nestas condições, até certo ponto empíricas, de manejo. O conhecimento de características reprodutivas básicas e o de reserva espermática podem revelar informações e estabelecer associações que possam maximizar a reprodução de codornas japonesas.

Tendo em vista a importância socioeconômica e o potencial de expansão da coturnicultura no Brasil, bem como a

necessidade e importância de se conhecer melhor a fisiologia do aparelho genital da codorna e de seus processos reprodutivos, objetivou-se com o presente trabalho descrever características morfométricas testiculares macro e microscópicas, além de avaliar a reserva espermática e a ultrassonografia testicular na codorna japonesa. O escopo mais amplo é o de fornecer subsídios que possam contribuir para a implantação ou adequação de medidas de manejo e seleção de reprodutores que aumentem a produtividade em matrizeiros.

2. HIPÓTESES

- A morfologia testicular na codorna japonesa varia nas idades de 15, 30, 45 e 60 dias.
- A reserva espermática gonadal e extragonadal na codorna japonesa diminui após acasalamentos consecutivos.
- Os valores de biometria testicular associam-se positivamente ao peso testicular na codorna japonesa.
- A ultrassonografia testicular é viável para predição do potencial reprodutivo na codorna japonesa.

3. OBJETIVOS

- Descrever características histológicas testiculares e avaliar a proporção volumétrica de componentes testiculares na codorna japonesa aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade.
- Avaliar as reservas espermáticas gonadal e extragonadal na codorna japonesa em acasalamentos consecutivos.

- Avaliar o índice gonadossomático e a biometria testicular na codorna japonesa aos 60 dias de idade.
- Identificar o parâmetro de biometria testicular que melhor se associa ao peso testicular na codorna japonesa aos 60 dias de idade.
- Descrever a metodologia e avaliar a viabilidade da ultrassonografia testicular na codorna japonesa adulta.
- Correlacionar as mensurações ultrassonográficas às de biometria e peso testicular na codorna japonesa adulta.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. *Morfofisiologia do aparelho reprodutivo masculino em aves*

O aparelho reprodutivo masculino em aves é composto por testículos, epidídimos e ductos deferentes, situados bilateralmente no interior da cavidade celomática. Ao contrário da maioria dos mamíferos, os testículos das aves não migram a partir do local de origem embrionária, mantendo sintopia com os rins. As gônadas, retroperitoneais, estão aderidas à parede abdominal dorsal por meio do mesórquio, pelo qual chegam vasos sanguíneos e nervos (Kirby e Froman, 2000; Aire, 2007).

Os túbulos seminíferos de aves diferem dos mamíferos por apresentarem uma complexa rede de anastomoses entre eles e ausência de septos conjuntivos separando o testículo em lóbulos (Jones e Lin, 1993; Aire, 2007). Apesar disso, a população celular é semelhante, sendo composta por células de Sertoli, que dividem o epitélio seminífero em dois compartimentos, basal e adluminal, e células da linhagem espermatogênica (Kirby e Froman, 2000). O ciclo do epitélio seminífero de codornas é regular, bem definido e se assemelha ao de mamíferos,

porém com menor duração (Lin e Jones, 1990; Lin et al., 1990). A duração da espermatogênese é de aproximadamente 13 dias (Lin e Jones, 1992). A espermatogênese em aves também envolve uma série de divisões mitóticas de espermatogônias, resultando em espermatócitos primários e secundários, que sofrem meiose para formar as espermátides. Finalmente, essas últimas passam pelo processo de espermição para se transformarem em células móveis, os espermatozoides (Aire, 2007).

O interstício testicular, relativamente compacto em aves, consiste basicamente de vasos sanguíneos, fibroblastos, células de defesa, mioepiteliais e de Leydig, sendo esta última responsável pela produção de andrógenos (Aire, 2007).

Índice gonadossomático representa o percentual de massa corporal que é alocado nos testículos e possibilita a comparação intra e interespecífica de indivíduos de tamanhos corporais distintos (Mascarenhas et al., 2006), bem como determinar o *status* funcional reprodutivo em aves (Moller, 1991). Clulow e Jones (1982) relataram que os testículos de codorna japonesa representam 2,26% do peso corporal, sendo proporcionalmente grandes quando comparados com a maioria dos mamíferos. Valor semelhante de índice gonadossomático foi observado em codornas da variedade italiana criadas no Brasil, aproximadamente 2,8% (Orsi et al., 2005). Ilustrativamente, o valor em cães sexualmente maduros é de aproximadamente 0,14% (Mascarenhas et al., 2006). Isso provavelmente se deve ao hábito sexual poligâmico ou promíscuo da codorna, no qual vários machos copulam com várias fêmeas em determinado período, sugerindo ocorrência de competição espermática, na qual aquele macho que produz e libera maior número de gametas tem maiores chances de fertilizar os ovos (Moller, 1991).

A produção diária de espermatozoides por grama de testículo é similar para machos de uma mesma espécie e linhagem, o que torna o tamanho da gônada o determinante primário para a capacidade reprodutiva. O tamanho testicular apresenta alta variabilidade entre indivíduos e proporciona diferenças na produção espermática diária total. Portanto, assim como em mamíferos (França e Russell, 1998), o peso do testículo está positivamente relacionado com a capacidade de produção espermática em aves durante a estação reprodutiva (Moller, 1991). Estudos em diversas espécies não deixam dúvidas de que o tamanho testicular é uma característica herdável. Além de fatores genéticos, condições de iluminação, nutrição e outros devem ser levados em consideração (Amann, 1999).

Em codornas japonesas, o testículo direito tende a ser mais alongado e o esquerdo mais ovalado, sendo que a maioria dos autores considera que este último é maior (Jones e Lin, 1993; Amoroso et al., 2008). O testículo apresenta consistência macia e relativa fragilidade, em função de sua cápsula delgada, sendo possível evidenciar grande quantidade de vasos sanguíneos em sua superfície. Pequenas rupturas ou incisões na cápsula resultam em protrusão do parênquima testicular, com aspecto friável e leitoso (Aire, 2007).

Os testículos são circundados pelos sacos aéreos torácicos e abdominais. Inicialmente, pensava-se que isso contribuiria para reduzir a temperatura testicular, porém tal hipótese foi descartada pela semelhança entre a temperatura das gônadas e demais vísceras. Com isso, a espermatogênese em aves ocorre em temperaturas geralmente acima de 40°C (Aire, 2007).

Ao nascimento, a codorna japonesa apresenta dimensões testiculares bastante reduzidas, que aumentam rapidamente a partir dos 25 dias de idade. Os primeiros espermatozoides são detectados aos 26 dias

nos túbulos seminíferos e aos 30 dias no ducto deferente, sendo que a partir do 35º dia de idade a concentração em ambos os compartimentos é elevada. Entre os dias 30 e 35 após nascimento, o peso testicular é multiplicado em várias vezes (Ottinger e Brinkley, 1979). Após os 30 dias de vida, praticamente quase todo ganho de peso da ave é atribuído ao rápido desenvolvimento dos órgãos reprodutivos (Albino e Barreto, 2003). A concentração circulante de testosterona, necessária para manutenção da espermatogênese acompanha esse crescimento testicular, assim como o volume da glândula paraoalcal (Ottinger e Brinkley, 1979).

Estima-se que, nas condições de programa de luz atualmente utilizadas na coturnicultura, o macho alcance a maturidade sexual a partir dos 48 dias de idade, quando está apto a ser utilizado na reprodução (Albino e Barreto, 2003). O padrão de sazonalidade reprodutiva da codorna japonesa tem sido extensivamente estudado. As concentrações de hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) no macho aumentam drasticamente após transição de dias curtos para dias longos (Vizcarra et al., 2010). A máxima atividade espermatogênica ocorre no período de dias longos, ou seja, primavera e verão. Em regiões equatoriais e tropicais ou submetidas a programa de iluminação artificial, a liberação de gonadotrofinas, a espermatogênese e o comportamento sexual são mantidos mesmo após períodos indefinidos de exposição prolongada à luz, o que possibilita a exploração reprodutiva da codorna japonesa nessas condições (Nicholls et al., 1983).

Amoroso et al. (2008) avaliaram aspectos reprodutivos da codorna japonesa entre 60 e 180 dias de idade, sob 17 horas de luz diária, e verificaram pico de atividade espermatogênica entre 110 e 130 dias. Por outro lado, a redução do fotoperíodo resulta em regressão dos órgãos reprodutivos

(Dawson et al., 2001), observado também em codornas da variedade italiana (Orsi et al., 2005). Durante a estação reprodutiva e a atividade espermatogênica, os testículos apresentam coloração brancacenta, em contraste com a cor acinzentada no período de quiescência reprodutiva (Aire, 2007). As alterações regressivas em codornas durante a senescência reprodutiva foram descritas por Lewin (1963) e Eroschenko e Wilson (1974), envolvendo redução do diâmetro dos túbulos, diminuição do lúmen tubular, redução do número de espermatozoides intraluminais e desarranjo do epitélio seminífero.

O epidídimo é relativamente pequeno e está ligado à face dorsomedial do testículo, não sendo visibilizado em abordagens rotineiras da cavidade celomática. Ao contrário de mamíferos, o epidídimo de aves não possui divisão macroscópica de cabeça, corpo e cauda, uma vez que os ductos eferentes emergem da *rete testis* por toda a extensão do epidídimo (Artoni et al., 1999). A maioria dos autores considera que a *rete testis* aviária tem localização extratesticular, fazendo parte do epidídimo (Aire, 2007), aos quais os túbulos seminíferos se conectam na interface testículo-epidídimo. O epidídimo na ave é, portanto, uma série de ductos que depois desembocam no ducto deferente, incluindo: *rete testis*, ductos eferentes, ductos conectivos e o ducto epididimário (Kirby e Froman, 2000).

O ducto deferente é contínuo a partir da porção caudal do epidídimo e bastante tortuoso em codornas reprodutivamente ativas, se projetando caudalmente, paralelo aos ureteres, até sua abertura na cloaca (Aire, 2007). Alguns autores atribuem a capacidade de armazenamento de espermatozoides ao ducto deferente (Artoni et al., 1999; Bath e Chaudhari, 2002), que possui diâmetro luminal até três vezes maior que o ducto epididimário (Kirby e Froman, 2000). Porém, Clulow e Jones (1982) isolaram espermatozoides com ligaduras no

ducto deferente e observaram sobrevivência dos mesmos por cinco a nove dias, evidenciando que a função de armazenamento em longo prazo não parece estar relacionada com essa região do trato genital. O conjunto epidídimo mais ducto deferente é comumente referido como ducto extragonadal (Kirby e Froman, 2000; Bath e Chaudhari, 2002).

Em contraste com o longo período de trânsito epididimário em mamíferos, as células espermáticas da codorna japonesa passam somente um a dois dias nos ductos extragonadais (Clulow e Jones, 1988). Apesar do trânsito de curta duração, o epidídimo é importante para maturação final e motilidade espermática. Como a ave não possui glândulas reprodutivas acessórias análogas às dos mamíferos, sugere-se que alguns constituintes do líquido seminal sejam produzidos nos ductos extragonadais (Aire, 2007).

A cópula na codorna japonesa, por meio de contato cloacal, é extremamente breve e a frequência diária pode chegar a nove por macho, até que este esteja saciado. Dessa forma, os testículos grandes sugerem adaptação evolutiva para a elevada frequência de cópulas (Schein et al., 1972; Adkins, 1974; Ottinger et al., 1982). A rápida produção de espermatozoides e o rápido transporte espermático nos ductos genitais também contribuem para a estratégia reprodutiva (Clulow e Jones, 1982).

A colheita de sêmen, frequentemente utilizada para avaliação reprodutiva de mamíferos domésticos, tem sido pouco explorada em aves e restrita quase que exclusivamente para inseminação artificial em perus (Alkan et al., 2002) e pesquisas relacionadas com sêmen de frangos de corte (Robertson et al., 1998; Dumpala et al., 2006). Em codornas japonesas submetidas à colheita de sêmen com estimulação por fêmeas, a concentração espermática por

ejaculado foi de aproximadamente 700 milhões de espermatozoides por mL, com volume de sêmen próximo de 30 μ L, ou seja, em média 20 milhões de células espermáticas são liberadas a cada colheita (Chelmonska et al., 2008).

4.2. *Reserva espermática e manejo reprodutivo em matrizeiros*

Reserva espermática se refere à quantidade de células espermáticas prontamente disponíveis armazenadas nos órgãos genitais masculinos. No que se refere aos mamíferos, o principal responsável por essa reserva é o epidídimo. Em galos nigerianos, estudos indicam que a maior parte dos espermatozoides está armazenada no lúmen dos túbulos seminíferos e menor parcela nos ductos extragonadais (Bath e Chaudhari, 2002). Bath e Chaudhari (2002) demonstraram ainda a correlação positiva entre o peso corporal, o peso testicular e a reserva espermática. A mesma correlação entre peso corporal e testicular não foi encontrada em frangos de corte (Vizcarra et al., 2010).

Adaptações evolutivas de aves com alta frequência de cópulas e competição espermática intensa levaram ao desenvolvimento de testículos de maior tamanho e, conseqüentemente, maior produção espermática diária (Moller, 1991). Lupold et al. (2008) sugerem que, em espécies de aves sujeitas a competição espermática, a proporção volumétrica de epitélio seminífero seja maior que nas demais. Embora depleção espermática pareça improvável, estudos com pardais sugerem que a alta frequência de cópulas pode levar ao esgotamento da reserva espermática em alguns machos. Nesses casos, a depleção irá ocorrer se a taxa de espermatozoides ejaculados superar a taxa de produção espermática (Birkhead et al., 1993). A produção espermática diária por grama de testículo na codorna japonesa é de 92,5 milhões (Clulow e Jones, 1982), mas

não existem informações acerca do efeito de colheitas de sêmen ou acasalamentos consecutivos sobre a depleção espermática.

O manejo reprodutivo mundialmente difundido na coturnicultura é a utilização de um macho para cada duas ou três fêmeas, alojados em uma gaiola. Ipek et al. (2004) avaliaram a fertilidade de ovos produzidos por codornas japonesas alojadas com proporções macho:fêmea que variaram de 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5, com resultados dando suporte para o manejo adotado pelas granjas. Já Narahari et al. (1988), concluíram que proporções de 1:2 até 1:5 resultam em taxas de fertilidade e de eclosão semelhantes. Na coturnicultura, os machos são utilizados a partir dos 48 dias de idade e submetidos a acasalamentos consecutivos aleatórios e, geralmente, sem repouso sexual, muitas vezes por períodos superiores a oito meses (Albino e Barreto, 2003).

Apesar do tamanho relativamente grande dos testículos, pouco se sabe sobre os efeitos das práticas de manejo reprodutivo atualmente utilizadas sobre a fertilidade. Até então, a influência da idade parental sobre a taxa de eclosão tem sido estudada, praticamente com todo o foco na fêmea da codorna japonesa, incriminada como a responsável pela queda de fertilidade observada com o avançar dos meses de determinado lote (Narahari et al., 1988; Seker et al., 2004). Narahari et al. (1988), ao avaliarem os fatores que influenciam a fertilidade e a taxa de eclosão de ovos de codorna japonesa, observaram que o pico de fertilidade e a eclosão ocorreu entre 12 e 14 semanas. Seker et al. (2004) demonstraram que a fertilidade é menor em lotes de codorna japonesa de 20 semanas, comparadas às de 10 semanas. Ottinger et al. (1983) identificaram queda na fertilidade e taxa de eclosão em codornas japonesas a partir de 56 semanas, porém apenas estudos de comportamento sexual foram desenvolvidos depois para investigar esse resultado, verificando diminuição das

cópulas às 80 semanas de idade (Ottinger e Balthazart, 1986). São necessários estudos para avaliar a influência do macho sobre esse processo.

4.3. *Ultrassonografia testicular em aves*

A ultrassonografia testicular vem sendo estudada e empregada como importante ferramenta no exame andrológico em diversas espécies domésticas, particularmente em bovinos. O exame ultrassonográfico dos testículos é um método rápido e não invasivo, que possibilita avaliação qualitativa da ecogenicidade do parênquima testicular, obtenção de medidas e identificação de patologias (Pechman e Eilts, 1987).

Em frangos de corte já foi testada e verificada a limitação de se utilizarem características sexuais secundárias e comportamento sexual na seleção reprodutiva. A concentração de testosterona pode estar normal mesmo em machos com reduzida capacidade de produção espermática, reforçando a necessidade de utilização de métodos de estimativa do tamanho testicular (Kirby et al., 1998). Apesar disso, essa prática vem sendo empregada rotineiramente e alguns estudos sugerem sua contribuição para seleção de características seminais em galos (Celeghini et al., 2001).

Por motivos óbvios, o produtor de aves que quiser estimar, por exemplo, o tamanho testicular, não deseja que as aves sejam abatidas ou submetidas a procedimentos invasivos. A localização intra-abdominal dos testículos faz da ultrassonografia um dos poucos métodos possíveis de observação não invasiva dos mesmos, embora anteriormente descrita como impossível de ser praticada (Hofbauer e Krautwald-Junghanns, 1999). Sob essa perspectiva, Kirby et al. (1998) consideraram a ultrassonografia um método árduo, porém adequado de acompanhamento do desenvolvimento testicular em frangos de

corte. Portanto, a estimativa ultrassonográfica do tamanho testicular pode ser uma ferramenta importante de estudo do crescimento e ciclo anual testicular, além de possibilitar a comparação entre machos e seleção reprodutiva (Amann, 1999).

Além da internalização completa das gônadas, o relativo baixo valor comercial de cada indivíduo na avicultura industrial e o atual sistema de práticas integradas de produção e manejo desestimula a avaliação individual do desempenho reprodutivo (Kirby et al., 2001). Por esse motivo, a utilização da ultrassonografia em aves ainda é pequena, restrita praticamente a investigações clínicas em aves domiciliadas e experimentos científicos (Steinmetz et al., 2006). Kirby et al. (2001) destacam, ainda, o potencial de utilização da ultrassonografia genital em espécies selvagens ameaçadas de extinção, até então não explorado.

Alguns autores consideram a ultrassonografia como técnica menos estressante que a colheita de material para exames de sangue ou procedimentos de endoscopia, comumente realizados na rotina clínica de aves domiciliadas (Hochleithner, 2006), embora exames de curta duração sejam aconselhados (Melnichuk et al., 2002). Enquanto em aves de pequeno porte toleram relativamente bem o arranchamento das penas, em aves maiores indica-se o corte na base das penas, devendo-se ponderar o risco de hemorragias no canhão da pena (Hochleithner, 2006). Melnychuk et al. (2002) relataram ainda que exames ultrassonográficos repetidos não afetaram a produção de ovos ou a expectativa de vida de galinhas.

Embora considerada segura e atraumática (Hildebrandt et al., 1995), os riscos da ultrassonografia em aves incluem a hipotermia provocada pelo gel condutor, estresse circulatório e respiratório, sendo que o risco aumenta com a duração do exame, uso de anestesia geral e em espécies

de pequeno porte. Experiência do médico veterinário responsável pode minimizar significativamente esses riscos (Hochleithner, 2006). Os clínicos veterinários de animais exóticos, em geral, hesitam em indicar ultrassonografia para aves menores, porém os benefícios dessa prática no diagnóstico de patologias têm sido demonstrados na rotina clínica de várias espécies de aves exóticas (Steinmetz et al., 2006).

Os equipamentos se assemelham aos usados em mamíferos, incluindo ultrassom com transdutores multifrequenciais, entre 5 e 10 MHz, lineares, convexos, setoriais ou microconvexos, dependendo da espécie. Transdutores de 7.5 MHz são satisfatórios para aves com mais de 2,0kg e os de maior frequência reservados para aves menores. Em aves de grande porte é possível realizar ultrassonografia transcloacal ou transintestinal. O pequeno tamanho de codornas japonesas dificulta esse tipo de abordagem. O exame transcutâneo requer remoção ou corte das penas, seguido de aplicação de gel condutor para ultrassom. Jejum alimentar de aproximadamente três horas pode contribuir para obtenção de melhores imagens (Kirby et al., 1998; Melnychuk et al., 2002; Hochleithner, 2006). Nas espécies de difícil contenção ou de grande porte, tais como a avestruz, pode ser necessária sedação ou anestesia geral, injetável ou inalatória (Steinmetz et al., 2006).

Abordagem lateral e ventromediana têm sido citadas para ultrassonografia celomática em aves. Dependendo do tamanho do indivíduo, a área de contato pode limitar o acesso do transdutor. Autores afirmam que o exame pelo flanco é possível somente em aves de grande porte, enquanto a ventromediana pode ser realizada em espécimes pesando tão pouco quanto 40g. Para essa última é sugerido o acesso caudal ao esterno (Hofbauer e Krautwald-Junghanns, 1999).

Embora alguns estudos descrevam o aspecto normal e patologias de oviduto, faltam descrições detalhadas e sistemáticas sobre a aparência e a abordagem ultrassonográfica de testículos em aves, particularmente na codorna japonesa. Além do mais, até os dias de hoje não existem relatos de utilização rotineira da ultrassonografia em aves de produção ou granjas comerciais. O principal entrave para a realização do exame ultrassonográfico transcutâneo em aves é o conjunto de sacos aéreos e os ossos pneumáticos, os quais limitam o acesso à cavidade celomática a algumas pequenas janelas acústicas (Hofbauer e Krautwald-Junghanns, 1999; Kirby et al., 2001; Hochleithner, 2006).

Hofbauer e Krautwald-Junghanns (1999) avaliaram a ultrassonografia transcutânea do aparelho urogenital em aves consideradas “pet”, mantidas domiciliadas, e concluíram que é possível identificar algumas patologias de oviduto e obstrução por ovos com casca não mineralizada, porém o rim normal e as gônadas inativas não podem ser visualizados. A demonstração de gônadas inativas somente se mostrou possível utilizando transdutor transintestinal de alta frequência. Entretanto, o equipamento é caro e a técnica impraticável em aves com menos de 2,0kg (Hofbauer e Krautwald-Junghanns, 1999). A vantagem desta técnica é a de evitar os sacos aéreos (Thielebein e Kozlowski, 2010).

A sexagem também foi alcançada em aves de rapina por meio da observação do oviduto em exame ultrassonográfico transcloacal (Hildebrandt et al., 1995). A avaliação da condição ovariana e do oviduto foi avaliada por vários pesquisadores. Em galinhas foi observada eficácia acima de 90% para contagem de folículos de grande diâmetro, bem como similaridade entre as mensurações ultrassonográficas e manuais de diâmetro folicular (Kirby et al., 2001; Melnychuk et al., 2002). Folículos bem desenvolvidos são vistos como estruturas

arredondadas anecoicas. Ovos aparecem com a gema hiperecogênica, circundada pelo albúmen hipoecoico. A casca pode ser identificada como um envoltório hiperecoico, podendo apresentar sombra acústica, dependendo da mineralização (Melnichuk et al., 2002; Hochleithner, 2006).

Apesar do surgimento recente de trabalhos com ultrassonografia de fêmeas, relatos de ultrassonografia testicular em aves são ainda mais escassos. Hofbauer e Krautwald-Junghanns (1999) se limitaram a informar que a única ave na qual foi possível identificar o testículo normal foi a codorna japonesa sexualmente ativa, descrevendo-o como estrutura de ecogenicidade média e granulação delicada, revestida por uma serosa lisa hiperecogênica. Recentemente, Norte et al. (2011) compararam a biometria testicular obtida pela técnica ultrassonográfica com a direta em galos e

observaram alta correlação. Nas demais avaliações do genital masculino, apenas dois casos de neoplasia testicular foram detectados, caracterizados posteriormente como sertoliomas (Hofbauer e Krautwald-Junghanns, 1999).

Nesse contexto, a ultrassonografia testicular em aves e na codorna japonesa tem sido pouco explorada e o potencial de utilização deste método ainda é obscuro, necessitando maiores investigações, principalmente levando-se em consideração o avanço recente das técnicas e equipamentos ultrassonográficos e a necessidade de se identificar um parâmetro de estimativa indireta da produção espermática e criar um método confiável de comparação do potencial reprodutivo e seleção de aves.

2.6. *Referências*

Vide seção 10.

CAPÍTULO I: Morfologia testicular na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade

RESUMO

A biometria e histomorfometria testicular e o índice gonadossomático foram caracterizados na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade, nos grupos 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Foram utilizados vinte machos amostrados em um mesmo lote de incubação e equitativamente distribuídos entre os grupos. Avaliaram-se o peso corporal, comprimento, largura, espessura, perímetro e peso dos testículos, proporção volumétrica dos constituintes testiculares, diâmetro do túbulo seminífero, altura do epitélio seminífero e espessura da cápsula testicular. Houve diferença significativa para todos os parâmetros avaliados entre as aves com 15 e 30 dias de idade, período no qual se observou aumento de 74 vezes no peso testicular. Espermatozoides foram primeiramente observados no lúmen do túbulo seminífero aos 30 dias de idade. Diferença significativa também foi observada em todos os parâmetros avaliados entre os machos com 30 e 45 dias, quando se observou aumento substancial do índice gonadossomático, que alcançou o valor médio de 3,82%. O desenvolvimento testicular estabilizou aos 45 dias, evidenciado pela ausência de diferença estatística em todos os parâmetros biométricos e histomorfométricos, em relação aos machos de 60 dias de idade. A elevada proporção de túbulos seminíferos, de $91,2 \pm 4,9$ aos 60 dias de idade, reforça a teoria de que a codorna japonesa se adaptou evolutivamente para alta frequência diária de cópulas. Os resultados sugerem que a codorna japonesa pode ser utilizada para reprodução a partir de 45 dias de idade e apresenta atividade espermatogênica intensa.

Palavras-chave: biometria, histomorfometria, índice gonadossomático, testículo, codorna japonesa.

ABSTRACT

Testicular biometry, histometry and gonadosomatic index were characterized in 15, 30, 45, and 60 day-old Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) in groups 1, 2, 3 and 4, respectively. Twenty males from same incubation batch were equally distributed among groups. Body weight, length, width, perimeter and testicular weight, volumetric proportion of testicular components, seminiferous tubule diameter, width of the seminiferous epithelium and width of the testicular capsule were determined. There were significant differences for all parameters evaluated in birds with 15 and 30 days old, period in which testis weight increased 74 times. Spermatozoa in the lumen of the seminiferous tubules were first identified with 30 days old. Significant differences were also observed for all parameters between males with 30 and 45 days old, when there was substantial increase in the gonadosomatic index, reaching the average value of 3.82%. The testicular development stabilized at 45 days, evidenced by the lack of statistical difference in all biometric and histomorphometric parameters compared to 60 days old males. The high proportion of seminiferous tubules of 91.2 ± 4.9 at 60 days old reinforces the theory that the Japanese quail are evolutionarily adapted to high frequency of daily copulations. The results suggest that the Japanese quail may be used for reproduction since 45 days of age and has intense spermatogenic activity.

Keywords: biometry, histomorphometry, gonadosomatic index, testis, Japanese quail.

1. INTRODUÇÃO

A codorna japonesa, *Coturnix coturnix japonica*, apresenta aptidão principalmente para produção de ovos. O rápido crescimento e maturidade sexual precoce estão entre as características que a tornam tão atrativa para exploração comercial, além da alta produtividade e fertilidade. Estima-se que, nas condições de programa de luz atualmente utilizadas na coturnicultura, o macho alcance a maturidade sexual a partir dos 48 dias de idade, quando está apto a ser utilizado em granjas matrizeiras (Albino e Barreto, 2003). Apesar disso, pouco se sabe sobre o desenvolvimento testicular na codorna japonesa jovem.

A codorna japonesa apresenta testículos intra-abdominais, proporcionalmente grandes e adaptados para rápida produção e transporte espermático, necessários em função da alta frequência diária de cópulas (Schein et al., 1972; Clulow e Jones, 1982). Estima-se que a duração da espermatogênese seja de aproximadamente 13 dias, com estádios bem definidos e regulares do ciclo do epitélio seminífero, descritos em detalhe na literatura (Lin e Jones, 1990; Lin et al., 1990; Lin e Jones, 1992).

Os túbulos seminíferos de aves diferem dos mamíferos por apresentarem complexa rede de anastomoses entre eles e ausência de septos conjuntivos que separam o testículo em lóbulos (Jones e Lin, 1993; Aire, 2007). Entretanto, a população celular é semelhante, sendo composta por células de Sertoli, que dividem epitélio seminífero em dois compartimentos, basal e adluminal, e várias camadas de células da linhagem espermatogênica (Kirby e Froman, 2000). A espermatogênese em aves também envolve uma série de divisões mitóticas de espermatogônias, resultando em espermatócitos primários e secundários, que sofrem meiose para formar as espermátides. Finalmente, essas últimas passam pelo processo de espermiogênese para se

diferenciarem em espermatozoides. O interstício testicular, relativamente compacto em aves, consiste basicamente de vasos sanguíneos, fibroblastos e células de defesa, mioepiteliais e de Leydig, sendo esta última responsável pela produção de testosterona (Aire, 2007).

Ao nascimento, a codorna japonesa apresenta dimensões testiculares bastante reduzidas, que aumentam exponencialmente a partir dos 25 dias de idade. Mather e Wilson (1964) associaram a espermatogênese ao peso testicular de 1,0g ou aos 36 dias de idade da codorna. Em outro estudo, ao utilizarem fotoperíodo artificial com 16 horas diárias de luz, os primeiros espermatozoides foram detectados aos 26 dias nos túbulos seminíferos e aos 30 dias no ducto deferente, sendo que a partir do 35º dia de idade a concentração plasmática em ambos os compartimentos é elevada (Ottinger e Brinkley, 1979). Após os 30 dias de vida, praticamente quase todo ganho de peso da ave é atribuído ao rápido desenvolvimento dos órgãos reprodutivos (Albino e Barreto, 2003). A concentração de testosterona, necessária para manutenção da espermatogênese, acompanha esse crescimento testicular (Ottinger e Brinkley, 1979) e aumenta a partir dos 18 dias de idade, momento no qual células intersticiais se diferenciam em células de Leydig (Ottinger e Bakst, 1981).

Com base no exposto, objetivou-se com o presente trabalho descrever e comparar a histomorfometria testicular na codorna japonesa aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade, criada sob as condições de programa de luz e manejo comumente utilizados por coturnicultores brasileiros.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 machos de codorna japonesa, amostrados aleatoriamente a partir de um lote de incubação no Setor de Coturnicultura do Instituto Federal Norte de

Minas Gerais (IFNMG) - *Campus* Salinas. Os ovos, colhidos ao longo de três dias, provenientes de várias gaiolas com diferentes machos e fêmeas, foram armazenados em temperatura ambiente e posteriormente incubados em incubadora automática, a 38°C e 67% de umidade. A eclosão ocorreu a partir dos 16 dias de incubação, sendo selecionadas apenas codornas nascidas até o 18º dia.

As aves foram criadas em box medindo 2,10 x 2,70 m, com piso de concreto forrado com cama de maravalha. Durante os primeiros 14 dias de vida, as aves foram submetidas à iluminação diária de 24 horas, tendo à disposição bebedouros do tipo copo de pressão e comedouros tipo bandeja. A partir do 15º dia, o ambiente passou a receber apenas iluminação natural (12 horas de luz por dia), com bebedouros pendulares e comedouros tubulares disponíveis.

Após 35 dias de idade, os machos foram transferidos para gaiolas individuais, equipadas com bebedouro tipo “nipple” e calha de alimentação, vizinhas a gaiolas com fêmeas, de maneira a garantir estímulo visual. A partir dessa idade foi realizado aumento gradativo de iluminação artificial, uma hora por dia, até um total de 17 horas de luz diária, mantida até o final do experimento. Durante todas as etapas foram oferecidas água e dieta balanceada *ad libitum*. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), protocolo 060/11.

As aves, distribuídas equitativamente (n = 5) nos grupos 1, 2, 3 e 4, foram abatidas pelo método de deslocamento cervical aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade, respectivamente. A sexagem foi realizada por observação das penas na região peitoral, com a fêmea apresentando pintas amarronzadas na ponta das penas e o macho coloração uniforme alaranjada. As aves de todos os grupos

foram pesadas em balança analítica, posicionadas em decúbito dorsal para retirada de penas da região ventral e incisão de pele e musculatura para acesso à cavidade celomática. Após remoção das vísceras, os testículos foram individualizados e removidos com auxílio de pinça e tesoura. Cada testículo foi pesado em balança analítica digital com precisão de três casas decimais e mensurado com paquímetro digital com duas casas decimais de precisão. As dimensões aferidas foram comprimento, largura (da margem epididimária para a lateral) e espessura (da margem ventral para a dorsal). O perímetro testicular foi estimado apenas para os grupos 3 e 4, em razão do pequeno tamanho dos testículos das aves dos grupos 1 e 2. Para tal, utilizou-se barbante, posicionado ao redor da maior seção transversal do testículo, cortado e esticado para aferição do perímetro.

O índice gonadossomático (IGS) foi calculado nos machos dos diferentes grupos pela somatória do peso dos testículos (Ptest), dividido pelo peso corporal (Pcorp) e multiplicado por cem, conforme a fórmula: $IGS = (Ptest/Pcorp) \times 100$.

Os testículos colhidos foram fixados em formalina a 10% tamponada durante 24 horas e submetidos a processamento histológico de rotina, incluídos em parafina e obtidos cortes com 5µm de espessura, corados pela técnica de hematoxilina e eosina. As lâminas preparadas com dez secções de um mesmo testículo foram avaliadas em microscópio óptico, utilizando-se aumentos de 100X, 200X e 400X, para avaliação das características morfológicas, além da captura de imagens com câmera fotográfica digital acoplada para estudo morfométrico.

Para avaliação da proporção volumétrica dos componentes testiculares, foram capturadas com máquina fotográfica digital, aleatoriamente, imagens de 30 campos de cada lâmina em aumento de 400X e os

componentes quantificados em 25 pontos equidistantes por campo capturado, totalizando 750 pontos. A quantificação foi realizada utilizando as imagens capturadas sob uma graticula montada no Microsoft® PowerPoint®. Os componentes testiculares registrados foram túbulos seminíferos (túnica, epitélio ou lúmen) e espaço intertubular (células de Leydig, tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e linfáticos).

A espessura da cápsula testicular, formada pelas túnicas serosa, albugínea e vasculosa, foi obtida a partir da média de dez mensurações em pontos distintos dos polos caudal, cranial, lateral e medial, onde se apresentava íntegra. O diâmetro médio de túbulos seminíferos e a altura do epitélio germinativo foram calculados a partir de dez secções transversais de túbulos seminíferos com formato o mais arredondado possível.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. Os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e submetidos ao teste t de Student para comparação de médias, ao nível de significância de 5%. Os resultados são

apresentados na forma de média e desvio-padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de peso corporal, peso e biometria testiculares estão apresentadas na Tabela 1. Os dados de cada testículo estão apresentados separadamente em função da diferença de formato, com o esquerdo mais arredondado e o direito mais alongado em todas as aves e grupos. Foi possível perceber o rápido crescimento testicular entre os 15 e 30 dias de idade, evidenciado pela diferença entre todos os parâmetros ($P < 0,05$) e aumento de 74 vezes no peso testicular, enquanto o peso corporal aumentou apenas duas vezes.

Crescimento testicular acentuado foi encontrado também entre machos com 30 e 45 dias de idade, com diferença entre todos os parâmetros biométricos ($P < 0,05$) e aumento de seis vezes no peso dos testículos. Ottinger e Brinkley (1979) observaram taxa de crescimento testicular semelhante a partir do 30º dia de idade na codorna japonesa.

Tabela 1 - Peso corporal, peso, comprimento, largura, espessura e perímetro dos testículos na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade

Testículo esquerdo						
Grupo	Peso Corporal (g)	Peso (g)	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Espessura (mm)	Perímetro (mm)
1	50,39 ± 7,52 a	0,0062 ± 0,002 a	3,65 ± 0,49 a	2,03 ± 0,37 a	2,00 ± 0,38 a	-
2	105,89 ± 6,40 b	0,43 ± 0,19 b	12,15 ± 2,00 b	7,73 ± 0,99 b	7,78 ± 0,78 b	-
3	127,11 ± 16,55 c	2,56 ± 0,73 c	21,88 ± 2,06 c	14,56 ± 1,65 c	13,51 ± 1,74 c	46,58 ± 4,64 a
4	126,28 ± 9,39 c	2,51 ± 0,65 c	21,96 ± 1,91 c	15,18 ± 1,40 c	14,06 ± 1,06 c	45,00 ± 3,35 a
Testículo direito						
Grupo	Peso Corporal (g)	Peso (g)	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Espessura (mm)	Perímetro (mm)
1	50,39 ± 7,52 a	0,0054 ± 0,001 a	4,05 ± 0,50 a	1,90 ± 0,21 a	1,93 ± 0,24 a	-
2	105,89 ± 6,40 b	0,43 ± 0,17 b	13,03 ± 2,16 b	7,25 ± 1,23 b	7,36 ± 1,10 b	-
3	127,11 ± 16,55 c	2,37 ± 0,82 c	24,33 ± 2,16 c	12,60 ± 2,20 c	11,74 ± 2,02 c	41,19 ± 6,59 a
4	126,28 ± 9,39 c	2,46 ± 0,49 c	24,21 ± 1,72 c	13,45 ± 1,00 c	12,51 ± 0,69 c	42,44 ± 3,34 a

Grupos 1, 2, 3 e 4 com aves aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade, respectivamente (n = 5)

Média ± desvio padrão

Letras distintas em uma mesma coluna indicam diferença estatística no teste t ($P < 0,05$)

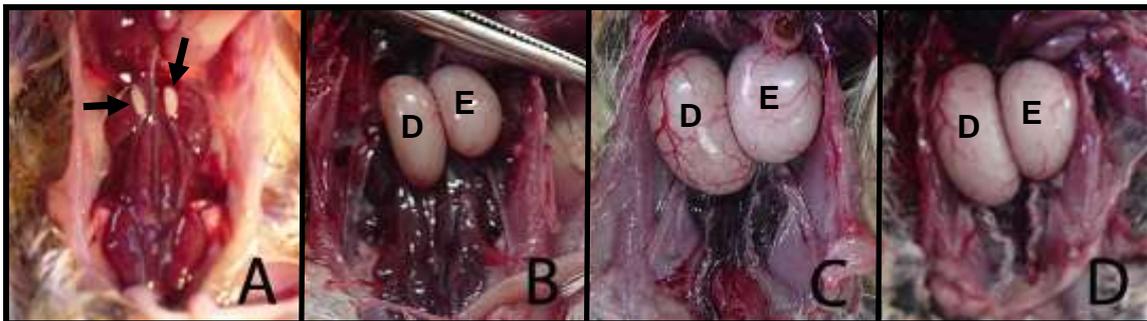


Figura 1 - Testículos de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) aos 15 (A - setas), 30 (B), 45 (C) e 60 (D) dias de idade

Já entre as aves de 45 e 60 dias, não houve diferença em nenhum parâmetro avaliado ($P > 0,05$), reforçando que a estabilização do desenvolvimento testicular na codorna japonesa ocorre próximo dos 45 dias de idade, concordando com Amoroso et al. (2008), que não observaram diferença de peso testicular entre machos entre 70 e 180 dias de idade. A Figura 1 ilustra o tamanho das gônadas nos diferentes grupos.

A Figura 2 mostra os valores médios de índice gonadossomático para os machos nos diferentes grupos. Apesar de o crescimento testicular ser maior dos 15 aos 30 dias de idade, foi entre 30 e 45 dias que se observou a maior inclinação da reta, representando aumento substancial do índice gonadossomático, que alcançou o valor de $3,82\% \pm 0,83$. Aos 60 dias, o índice

gonadossomático foi de $3,91\% \pm 0,66$. Esses valores são muito maiores do que 2,26 encontrado por Clulow e Jones (1982) que mantiveram as codornas japonesas sob 16 horas de iluminação diária e temperatura controlada entre 20 e 26°C, possivelmente em razão da influência de fatores climáticos, genéticos ou de manejo. Não foi possível determinar as linhagens das aves.

Os resultados da análise histomorfométrica estão apresentados na Tabela 2 e Figura 3. O mesmo padrão observado para a biometria testicular foi encontrado para a morfometria microscópica nas diferentes idades. Houve diferença significativa entre todos os parâmetros entre os grupos 1 e 2 e destes em relação aos grupos 3 e 4, sendo que nestes últimos as médias foram similares.

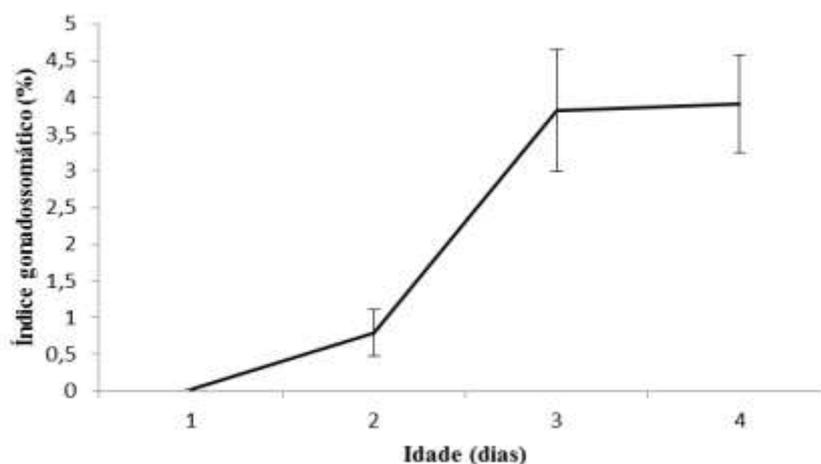


Figura 2 - Índice gonadossomático na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) de 15 a 60 dias de idade

Tabela 2 - Proporção volumétrica de componentes testiculares, diâmetro do túbulo seminífero, altura do epitélio seminífero e espessura da cápsula testicular na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade

Grupo	Túbulos seminíferos (%)	Espaço intertubular (%)	Diâmetro do túbulo seminífero (µm)	Altura do epitélio seminífero (µm)	Espessura da cápsula testicular (µm)
1	63,7 ± 6,4 a	36,3 ± 5,2 a	52,5 ± 7,1 a	26,9 ± 4,3 a	13,2 ± 4,3 a
2	78,4 ± 5,6 b	21,6 ± 3,8 b	94,0 ± 15,3 b	38,9 ± 6,7 b	27,4 ± 5,2 b
3	87,9 ± 4,4 c	12,1 ± 4,6 c	287,5 ± 29,6 c	75,6 ± 12,2 c	39,3 ± 8,6 c
4	91,2 ± 4,9 c	8,8 ± 5,7 c	312,4 ± 34,1 c	83,2 ± 15,0 c	44,7 ± 10,1 c

Grupos 1, 2, 3 e 4 com aves aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade (n = 5)

Letras distintas em uma mesma coluna indicam diferença estatística no teste t (P < 0,05)

Na avaliação histológica testicular das aves com 15 dias de idade foi possível observar pequeno diâmetro de túbulos seminíferos, desprovidos de lúmen e apresentando, em geral, uma a duas camadas de espermatogônias (Figura 3A). Os aspectos observados são semelhantes aos encontrados por Mather e Wilson (1964) e não diferem muito do descrito para alterações regressivas sazonais na codorna americana (Lewin, 1963). O tecido intertubular apresentou-se consistente com tecido conjuntivo frouxo, infiltrado por vasos sanguíneos de pequeno calibre e apresentando agregados de células com núcleo ovoide, presumidas como as precursoras das células de Leydig, conforme observado por Ottinger e Bakst (1981).

Nos túbulos seminíferos dos machos com 30 dias de idade foram encontradas espermátides alongadas no epitélio seminífero, além da presença de alguns espermatozoides no lúmen (Figura 3B), semelhante ao descrito por Ottinger e Brinkley (1979), que detectaram células espermáticas a partir do 26º dia após o nascimento de codornas japonesas, utilizando 16 horas diárias de luz durante todo o período de desenvolvimento das codornas. O fotoperíodo elevado nesse período induz liberação frequente de LH e maturação precoce de células de Leydig (Brown e Follett, 1977). O presente trabalho mostra que a maturação testicular e o início da espermatogênese ocorrem mesmo com 12

horas diárias de luz a partir do 15º dia de idade, sendo este manejo de iluminação diferente do utilizado no estudo de Ottinger e Brinkley (1979). Vale ressaltar que um dos tipos de manejo mais comumente utilizado em granjas de codorna japonesa é a cria e recria em piso com machos e fêmeas juntos e sexagem após 35 dias. Nesse caso, a iluminação natural, semelhante à realizada no presente estudo, é utilizada com o objetivo de minimizar a ocorrência de prolapso de oviduto nas fêmeas (Albino e Barreto, 2003).

Aos 45 e 60 dias de idade, os testículos apresentavam lúmen amplo, repleto de espermatozoides, epitélio seminífero espesso e com mais de sete camadas celulares (Figura 3C). Os valores de altura do epitélio seminífero encontrados retratam de forma indireta esse achado. Foi possível observar alguns cortes longitudinais e pontos de anastomose entre túbulos seminíferos (Figura 3D), semelhantes a ilustrações contidas em outros estudos (Aire, 2007). O tecido intertubular mostrou-se compacto e relativamente escasso, contendo vasos sanguíneos e poucas células de Leydig por espaço intertubular. As características se assemelham às descritas na codorna por outros autores (Lewin, 1963; Mather e Wilson, 1964; Artoni et al., 1997).

Verificou-se diferença entre os grupos para todos os parâmetros avaliados (P < 0,05),

comparando-se os machos aos 15 e 30 dias de idade. O mesmo foi observado entre 30 e 45 dias, mas não entre 45 e 60 dias de idade, quando os achados histológicos qualitativos e quantitativos foram semelhantes. O achado de espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos nas codornas com 30 dias de idade e testículos pesando 0,43g difere do observado por Mather e Wilson (1964), que somente identificaram células espermáticas em testículos com peso maior que 0,5g.

O testículo é dividido em dois compartimentos funcionais, sendo eles o tubular e o intertubular, também denominados espermatogênico e

androgênico, respectivamente (Aire, 2007). Os dados de proporção volumétrica para as aves com 45 e 60 dias de idade, com túbulos seminíferos ocupando aproximadamente 90% do testículo e apresentando grande diâmetro e altura de epitélio, condizem com o descrito em literatura e a elevada frequência de cópulas na codorna japonesa, pelo predomínio de comportamento sexual promíscuo ou poligâmico, no qual a competição espermática é intensa (Birkhead et al., 1993; Lupold et al., 2008). França e Russell (1998) afirmam que a maior porcentagem de compartimento tubular

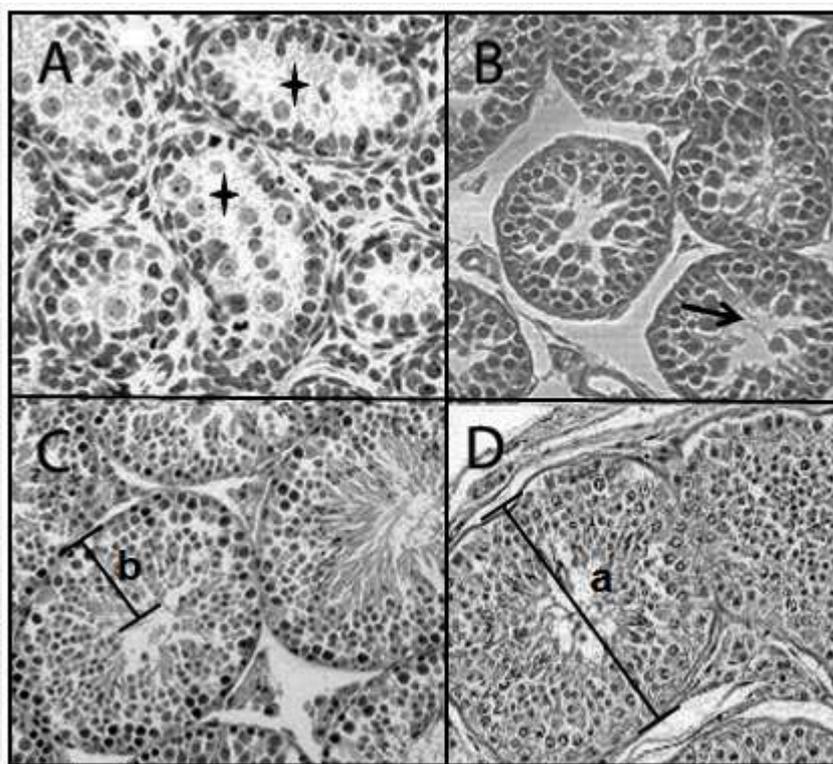


Figura 3 - Fotomicrografias testiculares de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) mostrando seções transversais de túbulos seminíferos aos 15 (A), 30 (B), 45 (C) e 60 (D) dias de idade (400X)

- (A) - lúmen ausente e uma a duas camadas de células espermatogênicas (estrela);
- (B) - lúmen estreito com poucas células espermáticas (seta) e epitélio seminífero com três a quatro camadas de células espermatogênicas;
- (C) e (D) - lúmen amplo com presença de espermatozoides, aumento na proporção volumétrica de túbulos seminíferos, diâmetro tubular (a) e espessura do epitélio seminífero (b).

Barra = 100µm em todas as fotomicrografias

resulta em maior eficiência de produção espermática. Tendo em vista os elevados valores encontrados e a ausência de diferença estatística nas características avaliadas entre 45 e 60 dias de idade, presume-se ocorrência de alta atividade espermatogênica na codorna japonesa tão cedo quanto aos 45 dias de idade, o que reforça a possibilidade de utilização de machos de codorna japonesa a partir de 45 dias de idade em matrizeiros, como descrito por Albino e Barreto (2003).

A cápsula testicular foi observada como uma fina camada na periferia testicular, externa aos túbulos seminíferos. A distinção das três camadas descritas por Aire e Ozegbe (2007), túnicas serosa, albugínea e vascular, não foi possível em todos os cortes. Nos indivíduos de 45 e 60 dias de idade, nos quais foi possível a caracterização, a serosa, mais externa e derivada do peritônio, se mostrou composta por epitélio simples pavimentoso. A túnica albugínea foi a camada mais espessa e a principal responsável pelas variações de espessura observadas para a cápsula testicular, sendo composta por camadas de fibroblastos dispostos de maneira concêntrica e penetrada por vasos sanguíneos. Estudos

com microscopia eletrônica e imunohistoquímica mostraram a presença de células musculares lisas e fibroblastos nessa camada (Aire e Ozegbe, 2007). A túnica vascular se confundia com o tecido intertubular em muitos dos cortes avaliados e não foi claramente observada. Concordando com outros autores, não foram observados septos conjuntivos originados a partir da cápsula testicular (Aire, 2007; Aire e Ozegbe, 2007).

4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que a codorna japonesa apresenta um rápido desenvolvimento gonadal e precocidade sexual, com estabilidade das variáveis histomorfométricas aos 45 dias de idade. Os valores elevados de índice gonadossomático e proporção volumétrica de túbulos seminíferos sinalizam para a alta eficiência de produção espermática e a adaptação para frequência elevada de cópulas diárias.

5. REFERÊNCIAS

Vide seção 10.

CAPÍTULO II: Reserva espermática gonadal e extragonadal na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) submetida a acasalamentos consecutivos

RESUMO

Determinou-se a reserva espermática gonadal e extragonadal de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas a acasalamentos consecutivos em gaiolas utilizando a proporção de um macho para três fêmeas. Os machos do Grupo 1 (Grupo Controle) não copularam, mas tiveram contato visual com fêmeas. No Grupo 2, os acasalamentos foram permitidos por 24 horas. As aves do Grupo 3 copularam por um período de cinco dias consecutivos. Após abate, os testículos e ductos extragonadais foram seccionados para determinação da reserva espermática gonadal, extragonadal e total por contagem de células espermáticas pelo método de homogeneização após maceração dos órgãos. A produção espermática diária total e por grama de testículo foi estimada em $537 \pm 75,6$ e $107 \pm 22,7 \times 10^6$, respectivamente. Demonstrou-se que a gônada é o principal órgão responsável pela reserva espermática e representa 68% da reserva total nos machos em repouso sexual. Os testículos esquerdo e direito contribuem de maneira equitativa para a produção e reserva espermática. Não houve redução da reserva espermática gonadal e total após os acasalamentos consecutivos. Porém, a reserva espermática extragonadal foi menor para o Grupo 3 ($0,62 \pm 0,15 \times 10^9$) em relação ao Grupo Controle ($1,19 \pm 0,21 \times 10^9$), o que sugere a influência dos acasalamentos consecutivos sobre a reserva espermática e, potencialmente, sobre a qualidade do ejaculado. Mais estudos são necessários para determinar o impacto do atual manejo reprodutivo sobre a fertilidade de ovos em matrizeiros de codornas japonesas em longo prazo, visando adotar melhorias no processo reprodutivo e produtivo da coturnicultura.

Palavras-chave: testículo, ducto extragonadal, reserva espermática, acasalamentos consecutivos, codorna japonesa.

ABSTRACT

Gonadal and extragonadal sperm reserves were determined in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) following successive matings in cages containing one male and three females. Males in Group 1 (Control Group) did not mate but had visual contact with females. In Group 2, matings were allowed for 24 hours. The birds in Group 3 were allowed to mate for five consecutive days. After slaughter, the testes and extragonadal ducts were sectioned to determine gonadal, extragonadal and total sperm reserves by counting sperm cells after homogenization of the organs by maceration. Total and per gram daily sperm production were 537 ± 75.6 e $107 \pm 22.7 \times 10^6$, respectively. It was demonstrated that the gonad is the main organ responsible for sperm reserves and represents 68% of the total reserves in sexually rested males. The left and right testes contribute equitably to sperm production and reserves. There was no reduction in total and gonadal sperm reserves after consecutive matings. However, extragonadal sperm reserve was lower for Group 3 ($0.62 \pm 0.15 \times 10^9$) compared to Control Group ($1.19 \pm 0.21 \times 10^9$), suggesting the influence of consecutive matings on sperm reserves and potentially the quality of the semen. More studies are needed to determine the impact of the current reproductive management on the fertility of eggs in long-term successive matings, seeking to adopt improvements in reproductive and productive process in quail breeding.

Keywords: testis, extragonadal duct, sperm reserve, consecutive matings, Japanese quail.

1. INTRODUÇÃO

A codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) reúne as melhores características para a produção de ovos comparada a outras linhagens. Dentre essas características, se destacam o rápido crescimento, maturidade sexual precoce, alta fertilidade, produtividade e longevidade de produção (Albino e Barreto, 2003). Entretanto, uma das dificuldades encontradas em granjas matrizeiras é a redução gradativa nas taxas de eclosão de ovos incubados a partir das 20 semanas (Seker et al., 2004) e queda acentuada depois de 56 semanas de idade do lote (Ottinger et al., 1983).

Os testículos das codornas japonesas, intra-abdominais, são proporcionalmente grandes, com rápida produção e transporte espermático nos ductos genitais. Após uma espermatogênese com duração aproximada de 13 dias (Lin e Jones, 1992), as células espermáticas da codorna japonesa passam de um a dois dias no epidídimo, em contraste com o longo período de trânsito epididimário em mamíferos (Clulow e Jones, 1982). Isso provavelmente se deve ao hábito sexual poligâmico, no qual um macho copula com várias fêmeas em determinado período. A frequência diária de cópulas por um macho pode chegar a nove, segundo Schein et al. (1972). Diferentemente dos mamíferos, o principal local de estoque de espermatozoides nas aves parece ser o interior dos túbulos seminíferos, correspondendo a mais da metade da reserva espermática em algumas linhagens de galos. Os ductos extragonadais, representados por epidídimo e ducto deferente, apresentam menor participação na reserva espermática comparado aos mamíferos (Bath e Chaudhari, 2002).

O manejo reprodutivo mais difundido no Brasil e no mundo é a utilização de machos sexualmente maduros, a partir dos 48 dias de idade, submetidos a acasalamentos sucessivos aleatórios, mantendo-os em

gaiolas na proporção de um macho para cada duas ou três fêmeas, sem repouso sexual durante períodos muitas vezes maiores do que seis ou oito meses (Albino e Barreto, 2003; Ipek et al., 2004).

Embora depleção espermática pareça improvável em espécies adaptadas à competição espermática e à alta frequência diária de cópulas, estudos com pardais sugerem que pode ocorrer esgotamento da reserva espermática em alguns machos, quando a taxa de espermatozoides liberados supera a taxa de produção espermática (Birkhead et al., 1993). São escassos os estudos sobre a reserva espermática e o efeito de acasalamentos consecutivos em codornas japonesas submetidas ao manejo reprodutivo descrito anteriormente. Além disso, pouco se sabe a respeito dos fatores que influenciam na queda de fertilidade observada após 20 semanas de idade, além daqueles relacionados com a senescência reprodutiva.

Tendo em vista a necessidade e importância de se conhecer melhor os processos reprodutivos da codorna japonesa, de forma a contribuir para a implantação de medidas de manejo que aumentem a fertilidade e produtividade, objetivou-se com o presente trabalho determinar a reserva espermática gonadal e extragonadal de machos submetidos a acasalamentos consecutivos por períodos de um e cinco dias e comparar os resultados com codornas em repouso sexual.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 15 machos de codorna japonesa, com 60 dias de idade, amostrados a partir de um lote de incubação no Setor de Coturnicultura do Instituto Federal Norte de Minas Gerais (IFNMG) - *Campus* Salinas. Após cria e recria em piso, as aves foram alojadas em gaiolas com dimensões 25 x 33 x 18 cm, equipadas com bebedouro tipo “nipple” e calhas de alimentação, recebendo

iluminação artificial até um total de 17 horas de luz por dia, água e dieta balanceada *ad libitum*. Todos os procedimentos aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob o protocolo 060/11.

As aves foram distribuídas em três grupos de cinco machos (n=5). Antes do abate, cada ave do Grupo 1 (Grupo Controle) permaneceu em gaiola individual alternada com gaiolas de fêmeas, de modo a garantir estímulo visual, porém sem possibilitar a cópula. Cada macho do Grupo 2 foi colocado em gaiola contendo três fêmeas, possibilitando cópulas consecutivas aleatórias, por um período de 24 horas, sendo abatido em seguida. No Grupo 3, os machos foram submetidos às mesmas condições do Grupo 2, porém por um período de cinco dias, antes de serem abatidos.

As aves foram abatidas por deslocamento cervical, pesadas em balança analítica, posicionadas em decúbito dorsal para retirada de penas da região ventral e incisão de pele e musculatura para acesso à cavidade celomática. Após remoção das vísceras, os testículos e ductos extragonadais foram individualizados e seccionados com auxílio de pinça e tesoura. Cada testículo foi pesado em balança analítica digital com precisão de três casas decimais e mensurado (comprimento, largura, espessura e perímetro) com paquímetro digital com duas casas decimais de precisão.

Para determinação da reserva espermática gonadal, os testículos foram separadamente seccionados em fatias com auxílio de bisturi e macerados em formol salino tamponado a 1%, em uma proporção inicial de aproximadamente 1:1. Todos os utensílios que tiverem contato com as amostras foram enxaguados com formol salino e incluídos no recipiente antes do ajuste da diluição final de 1:20, na qual o diluente foi

adicionado levando-se em consideração o peso do testículo. As diluições de 1:50, 1:100 e 1:200 também foram testadas, sendo consideradas insatisfatórias por tornarem a amostra muito diluída, dificultando a contagem espermática. A amostra foi armazenada a 4°C durante 24 horas, para que as células espermáticas se separassem do tecido, conforme metodologia proposta por Bath e Chaudhari (2002). O mesmo procedimento foi adotado para a reserva espermática extragonadal, utilizando os epidídimos e ductos deferentes, separadamente para os ductos direitos e esquerdos.

A estimativa de células espermáticas foi feita por meio de contagem, em hemocitômetro (câmara de Neubauer), de espermatozoides e espermátides alongadas, com auxílio de microscópio óptico com aumento de 400X, após homogeneização adequada das amostras (Obidi et al., 2008). Foram contadas cabeças espermáticas em cinco grandes quadrados da câmara, em ambos os lados, diagonalmente do canto superior esquerdo até o inferior direito, sendo incluídas na contagem aquelas presentes nas linhas superior e lateral direita de cada quadrado. Em caso de contagem com diferença superior a 10% entre os lados, uma nova amostra era obtida após homogeneização (Hafez e Hafez, 2003). No cálculo do número total de espermatozoides considerou-se o fator de diluição obtido para cada amostra após maceração dos órgãos genitais. A reserva espermática total foi obtida por meio do somatório das células espermáticas presentes nos testículos e ductos extragonadais.

A produção espermática diária foi determinada pelo método do homogeneizado testicular nos machos do Grupo 1, em repouso sexual, dividindo-se a reserva espermática gonadal por um fator de 4,5, conforme metodologia descrita por Kirby et al. (1996) e Vizcarra et al. (2010), ambos em galos. O valor do fator corresponde ao

tempo médio em dias que a espermatide/espermatozoide permanece no testículo antes de alcançar os ductos extragonadais na codorna japonesa (Lin et al., 1990). Para avaliação da eficiência da espermatogênese e visando a comparações com outros estudos, a produção espermática diária por grama de testículo foi calculada com base no peso das gônadas.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. Os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA), submetidos ao teste t de Student para comparação de médias, ao nível de significância de 5%, e determinação do coeficiente de correlação linear. Os resultados são apresentados na forma de média e desvio-padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de reserva espermática estão apresentados na Tabela 1. No Grupo 3, a reserva espermática extragonadal foi menor ($P < 0,05$) que a encontrada para o Grupo 1 (Controle), embora similar à do Grupo 2. A redução da reserva extragonadal sugere como primeiro local de depleção das células espermáticas os ductos deferentes e epidídimos. Houve redução de 44% da reserva espermática extragonadal entre os grupos 1 e 3, semelhante ao observado para a cauda do epidídimo e ducto deferente de ganhões submetidos a cinco coletas de sêmen consecutivas após repouso sexual (Amann et al., 1979). Para as reservas

espermáticas gonadal e total não houve diferença entre os grupos ($P > 0,05$). As gônadas foram o principal local de reserva espermática nas codornas japonesas avaliadas, sendo responsáveis por 68, 72 e 82% da reserva total nos grupos 1, 2 e 3, respectivamente (Tabela 1). Esse valor é maior do que o encontrado nos galos nigerianos estudados por Bath e Chaudhari (2002), de aproximadamente 54%. Nos machos em repouso sexual (Grupo 1), houve correlação positiva entre a reserva espermática gonadal e a extragonadal (0,61). O mesmo não foi observado para os demais grupos, possivelmente em função de diminuição da reserva espermática extragonadal, decorrente dos acasalamentos.

A produção espermática diária por grama de testículo possibilita avaliar a eficiência da espermatogênese em machos de diferentes idades, linhagens, condições bioclimáticas e tratamentos, além de comparações interespecíficas, por levar em consideração a massa testicular (Orlu e Egbunike, 2009). No presente estudo, a produção espermática diária por grama de testículo (Tabela 2) foi semelhante à descrita na codorna japonesa por Clulow e Jones (1982) e em galos domésticos por Orlu e Egbunike (2009). Comparada à de mamíferos domésticos e primatas, a eficiência da espermatogênese em aves tem se mostrado cerca de quatro vezes maior (Jones e Lin, 1993), provavelmente decorrente de seleção natural oriunda de competição espermática (Birkhead et al., 1993).

Tabela 1 - Reserva espermática gonadal, extragonadal e total na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) nos diferentes grupos

Grupo	Reserva espermática gonadal	Reserva espermática extragonadal	Reserva espermática total
1	2,42 ± 0,22 (68%)	1,19 ± 0,21 (32%) b	3,54 ± 0,39
2	2,78 ± 0,28 (72%)	1,10 ± 0,25 (28%) ab	3,87 ± 0,33
3	2,80 ± 0,53 (82%)	0,62 ± 0,15 (18%) a	3,42 ± 0,47

Grupos 1 - repouso sexual; Grupo 2 - cópulas durante 24 horas; Grupo 3 - cópulas durante cinco dias
Média ± desvio padrão, multiplicado por 10⁹

Letras distintas em uma mesma coluna indicam diferença estatística no teste t de Student ($P < 0,05$)

Tabela 2 - Produção espermática diária total (PEDt) e por grama de testículo (PEDg) em codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) no Grupo 1

	PEDt	PEDg
Testículo esquerdo	284 ± 33,2	56,6 ± 12,8
Testículo direito	253 ± 37,3	50,4 ± 14,1
Total	537 ± 75,6	107 ± 22,7

Média ± desvio padrão, multiplicado por 10⁶

Não foi encontrada diferença da reserva espermática entre os testículos esquerdo e direito, respectivamente, 1,28 e 1,14 x 10⁹, nem da produção espermática diária (Tabela 2, P > 0,05), dando suporte para o fato de que ambos contribuem equitativamente para a capacidade reprodutiva na codorna japonesa. Esse resultado difere do observado em galos no estudo conduzido por Obidi et al. (2008), no qual foi encontrada diferença na reserva espermática dos testículos esquerdo e direito, acompanhada por diferença de peso entre os mesmos.

A metodologia de determinação da reserva e produção espermática diária foi considerada satisfatória e de simples execução, corroborando para a avaliação de Orlu e Egbunike (2009), que compararam o método histológico e o homogeneizado testicular em galos domésticos, encontrando valores similares.

Apesar da menor contribuição dos ductos extragonadais para a reserva espermática, pode-se especular que acasalamentos consecutivos em longo prazo reduzam a concentração espermática no ejaculado, influenciando negativamente a fertilidade de ovos em matrizeiros comerciais de codornas japonesas. Nesse sentido, são necessários estudos longitudinais que avaliem a real influência do atual sistema de manejo reprodutivo sobre a reserva espermática, concentração espermática no ejaculado e fertilidade na codorna japonesa, buscando identificar o papel do macho no decrescente desempenho reprodutivo observado em lotes a partir de 20 semanas (Ottinger et al., 1983; Seker et al., 2004). Os resultados reforçam

ainda a necessidade de seleção reprodutiva de machos de codorna japonesa com maior capacidade de produção espermática.

Delineamentos experimentais com coleta frequente de sêmen, mimetizando a frequência de cópulas, também podem contribuir para a compreensão de quantos milhões de células espermáticas são tipicamente liberadas ao longo de dias ou semanas (Amann, 1999). O conhecimento da produção espermática diária poderá ser utilizado para determinar qual a frequência e por quanto tempo as cópulas devem ocorrer sem que haja redução da fertilidade (Orlu e Egbunike, 2009).

Alternativa a ser testada é conceder repouso sexual aos machos de codornas japonesas, uma vez que os espermatozoides permanecem armazenados e viáveis nas glândulas hospedeiras e infundibulares por pelo menos cinco dias após a cópula, tornando possível a fertilização de ovos mesmo após separação temporária de machos e fêmeas (Miranda, 2011). Para tal procedimento, deve-se avaliar a viabilidade em termos de complexidade do manejo em granjas comerciais com grande número de matrizes e reprodutores.

Ainda nesse contexto, coturnicultores e melhoradores genéticos não podem ignorar o fato de que alguns machos podem produzir mais espermatozoides férteis que outros com características fenotípicas e produtivas semelhantes, devendo dar ênfase na seleção para produção espermática (Amann, 1999). Isso pode resultar em machos com maior produção espermática diária e maiores

estoques de espermatozoides, de forma a sustentar uma concentração espermática relativamente constante no ejaculado, mesmo quando submetidos a cópulas consecutivas. A determinação do real impacto dos acasalamentos consecutivos sobre a qualidade do ejaculado e a fertilidade dos ovos de codornas japonesas possibilitará sugerir adequações no manejo reprodutivo que aumentem a eficiência reprodutiva e produtiva na exploração comercial desta espécie.

4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que acasalamentos sucessivos por cinco dias consecutivos, na proporção de um macho para três fêmeas, reduzem a reserva espermática extragonadal na codorna japonesa, embora não influam na reserva total. A produção espermática diária total e por grama é semelhante para os testículos esquerdo e direito, sem diferença de contribuição entre os dois.

5. REFERÊNCIAS

Vide seção 10.

CAPÍTULO III: Índice gonadossomático e correlações entre dimensões e peso testiculares na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 60 dias de idade

RESUMO

As dimensões e o peso testicular foram avaliados em 25 machos adultos de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), buscando obter informações que possibilitem a criação de um parâmetro preditivo da capacidade de produção espermática. As aves foram abatidas e os testículos removidos para mensuração e pesagem. Os parâmetros testiculares foram correlacionados entre si por meio da determinação do coeficiente de correlação linear. O índice gonadossomático também foi determinado, indicando alocação de 3,68% do peso corporal em testículos nos machos avaliados, resultado maior do que os descritos na literatura. Apesar da diferença de formato entre os testículos esquerdo e direito, o peso foi semelhante, sugerindo que não há diferença na capacidade de produção espermática entre eles. Diferença estatística entre os valores biométricos indica que o testículo esquerdo é mais curto e mais arredondado, enquanto o direito é mais longo e estreito. O peso corporal apresentou baixa correlação com o peso testicular, 0,14 e 0,12 para os testículos esquerdo e direito, respectivamente. Os parâmetros que melhor se correlacionaram com o peso testicular foram a largura e a espessura. Considerando a identificação de um parâmetro único para comparação entre machos, a espessura do testículo esquerdo apresentou coeficiente de correlação linear de 0,89 com o somatório do peso dos dois testículos. A partir dessa informação, métodos não invasivos como a ultrassonografia poderiam ser utilizados para estimar o potencial reprodutivo e auxiliar na comparação de machos de codornas japonesas em núcleos de seleção de aves elite, contribuindo para melhoramento genético da espécie.

Palavras-chave: dimensões testiculares, peso testicular, índice gonadossomático, codorna japonesa.

ABSTRACT

The size and testis weight were evaluated in 25 adult male Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*), seeking information to enable the development of a predictive parameter of sperm production capacity. The birds were slaughtered and testes removed for measuring and weighing. The testicular parameters were correlated by determining the linear correlation coefficient. The gonadosomatic index was also determined, indicating the allocation of 3.68% of body weight in the testes, greater than described in the literature. Despite the difference in shape between the left and right testis, weight was similar, suggesting that there is no difference in the capacity of sperm production, amongst them. Statistical difference between the biometric values indicates that the left testicle is shorter and more rounded, while the right is longer and narrower. Body weight showed a low correlation with the testicular weight, 0.14 and 0.12 for the left and right testes, respectively. The parameters that best correlated with testicular weight were the width and thickness. Given the identification of a single parameter for comparison of males, the thickness of the left testis showed linear correlation coefficient of 0.89 with the sum of the weight of both testicles. From this information, noninvasive methods such as ultrasound could be used to estimate the reproductive potential and facilitate the comparison of male Japanese quail in elite selection nuclei, contributing to genetic improvement of species.

Keywords: testicular dimensions, testicular weight, gonadosomatic index, Japanese quail.

1. INTRODUÇÃO

A coturnicultura, um ramo da avicultura industrial, tem apresentado crescimento acentuado nas últimas décadas e conquistado adeptos, tendo a codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) como a mais difundida entre os criadores no Brasil e no mundo. Dentre os principais motivos que tornam a criação comercial de codornas tão atrativa, se destacam o baixo investimento para implantação, a capacidade de abrigar grande número de aves em pequeno espaço físico, a alta produtividade, a simplicidade de mão de obra e o rápido retorno do capital investido (Albino e Barreto, 2003).

Apesar de recentes avanços e do potencial de crescimento da coturnicultura, aspectos básicos da morfofisiologia do aparelho genital da codorna japonesa, alguns com possíveis implicações práticas, ainda não estão completamente descritos. Atualmente, nenhum tipo de parâmetro é utilizado como preditivo da fertilidade em machos de aves (Kirby et al., 2001; Obidi et al., 2008), como o que ocorre, por exemplo, em bovinos, nas quais se utiliza o perímetro escrotal (Hafez e Hafez, 2003). Isso dificulta o processo de seleção reprodutiva, tão importante para garantir altas taxas de fertilidade em plantéis de aves domésticas (Amann, 1999). A localização intra-abdominal dos testículos é a explicação para a inexistência de tal parâmetro, porém os adventos da ultrassonografia podem contribuir para a utilização prática de tais indicadores (Bath e Chaudhari, 2002).

Índice gonadossomático é o valor que expressa a porcentagem do peso corporal alocada nas gônadas, sendo representado pelo somatório do peso dos testículos, dividido pelo peso corporal e multiplicado por cem (Mascarenhas et al., 2006). Clulow e Jones (1982) relataram que os testículos de codorna japonesa representam 2,26% do peso corporal, sendo proporcionalmente grandes, comparados aos da maioria dos

mamíferos. Isso favorece a alta frequência de cópulas resultante do hábito poligâmico e à competição espermática sugerida por alguns autores (Schein et al., 1972; Birkhead et al., 1993).

A produção espermática por grama de testículo é relativamente constante para uma espécie ou linhagem. Portanto, machos com maior massa testicular apresentam maior capacidade de produção espermática. Estudos demonstraram que o peso do testículo está diretamente relacionado com a produção espermática diária (França e Russell, 1998) e a reserva espermática (Bath e Chaudhari, 2002). A maioria dos autores considera que o testículo esquerdo de aves é maior que o direito, sendo responsável por maior produção de células espermáticas (Amoroso et al., 2008; Obidi et al., 2008). Bath e Chaudhari (2002) relataram que o peso corporal está positivamente relacionado com a produção espermática em galos.

Alguns pesquisadores tentaram promover a seleção de aves com maior capacidade de produção espermática se baseando em características sexuais secundárias e comportamento sexual, o que indicaria a concentração de testosterona circulante. Porém, logo se percebeu que algumas aves mantinham produção hormonal mesmo em condições de espermatogênese deficiente, contraindicando a utilização de tal referencial. A identificação de um parâmetro biométrico testicular que se correlacione com a capacidade de produção espermática pode contribuir para a seleção reprodutiva em aves (Kirby et al., 1998).

Tendo em vista o exposto e o potencial de expansão da coturnicultura no Brasil, objetivou-se com o presente trabalho correlacionar as dimensões testiculares e o peso corporal com o peso testicular, além de determinar o índice gonadossomático na codorna japonesa aos 60 dias de idade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 25 machos de codorna japonesa, com 60 dias de idade, amostrados a partir de um lote de incubação no Setor de Coturnicultura do Instituto Federal Norte de Minas Gerais (IFNMG) - *Campus* Salinas, com eclosão dos ovos na segunda quinzena de abril. As aves foram criadas em box medindo 2,10 x 2,70 m, com piso de concreto forrado com cama de maravalha. Durante os primeiros 14 dias de vida, as aves foram submetidas à iluminação diária de 24 horas, tendo à disposição bebedouros do tipo copo de pressão e comedouros tipo bandeja. A partir do 15º dia, o ambiente passou a receber apenas iluminação natural (12 horas de luz por dia), com bebedouros pendulares e comedouros tubulares.

Após 35 dias de idade e sexagem, os machos foram transferidos para gaiolas com dimensões de 25 x 33 x 18 cm, equipadas com bebedouro tipo “nipple” e calha de alimentação, na proporção de um macho para três fêmeas. Durante esse período foi realizado aumento gradativo de iluminação artificial, até um total de 17 horas de luz por dia ao redor dos 40 dias de idade. Durante todas as etapas foram oferecidas água e dieta balanceada *ad libitum*. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), protocolo 060/11.

Aos 60 dias de idade, os machos foram abatidos pelo método de deslocamento cervical. As aves foram pesadas, posicionadas em decúbito dorsal para retirada de penas da região ventral e incisão de pele e musculatura para acesso à cavidade celomática. Após remoção das vísceras, os testículos foram individualizados e removidos para avaliação macroscópica, mensuração com paquímetro digital e pesagem em balança analítica digital com

precisão de três casas decimais. As dimensões mensuradas foram comprimento, largura (da margem epididimária para a lateral), espessura (da margem ventral para a dorsal) e perímetro. Para essa última, utilizou-se barbante, posicionado ao redor da maior seção transversal do testículo, cortado e esticado para aferição do perímetro.

O índice gonadossomático (IGS) foi calculado pela somatória do peso dos testículos (P_{test}), dividido pelo peso corporal (P_{corp}) e multiplicado por cem, conforme a fórmula:

$$IGS = (P_{test}/P_{corp}) \times 100$$

Os dados foram apresentados na forma de média e desvio-padrão. Foi estabelecido coeficiente correlação linear de Pearson (r) entre as dimensões testiculares, peso corporal e o peso testicular. A significância das correlações e as dimensões entre os testículos direito e esquerdo foram comparadas com o teste t de Student, ao nível de significância de 1%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testículos esquerdo e direito apresentaram pesos semelhantes, diferentemente de autores que consideram o testículo esquerdo mais pesado na codorna japonesa (Amoroso et al., 2008). Quanto ao formato, foi observado que o testículo esquerdo apresenta largura, espessura e perímetro maiores, sendo mais arredondado que o direito, que é mais alongado, conforme evidenciado pela diferença significativa entre comprimento, largura, espessura e perímetro entre os mesmos (Tabela 1). A Figura 1 ilustra a diferença de formato entre os dois testículos. Apesar da diferença na morfologia, os resultados indicam que a capacidade de produção espermática é semelhante entre ambos,

Tabela 1 - Peso, comprimento, largura, espessura e perímetro dos testículos na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 60 dias de idade

	Peso (g)	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Espessura (mm)	Perímetro (mm)
Testículo esquerdo	2,48 ± 0,70	21,73 ± 1,86 a	15,38 ± 1,55 a	14,15 ± 1,54 a	46,72 ± 4,42 a
Testículo direito	2,47 ± 0,65	24,29 ± 1,88 b	14,00 ± 1,75 b	12,92 ± 1,43 b	43,13 ± 4,36 b

Média ± desvio padrão

Letras distintas em uma mesma coluna indicam diferença estatística no teste t de Student ($P < 0,01$)

uma vez que a mesma está diretamente relacionada com o peso testicular (França e Russell, 1998), o que difere do encontrado em galos por Obidi et al. (2008), que verificaram maior reserva espermática na gônada esquerda.

Para o testículo esquerdo, todas as dimensões mensuradas foram altamente correlacionadas com o peso testicular, com coeficientes de correlação linear acima de 0,80 (Tabela 2), o que indica a possibilidade de utilização de qualquer uma dessas medidas para predição da capacidade de produção espermática do testículo esquerdo de codornas japonesas.

Considerando-se o testículo direito, o comprimento se mostrou parâmetro menos adequado para estimativa do peso testicular, com menor coeficiente de correlação linear, enquanto a largura, espessura e perímetro apresentaram maior correlação (Tabela 2). Levando em consideração que o perímetro do testículo direito é o parâmetro que melhor se correlaciona ao peso testicular e que o perímetro apresenta alta correlação com a largura e espessura (Tabela 2), especula-se a praticidade de se mensurar um destes dois últimos parâmetros para comparação entre aves utilizadas como reprodutores.

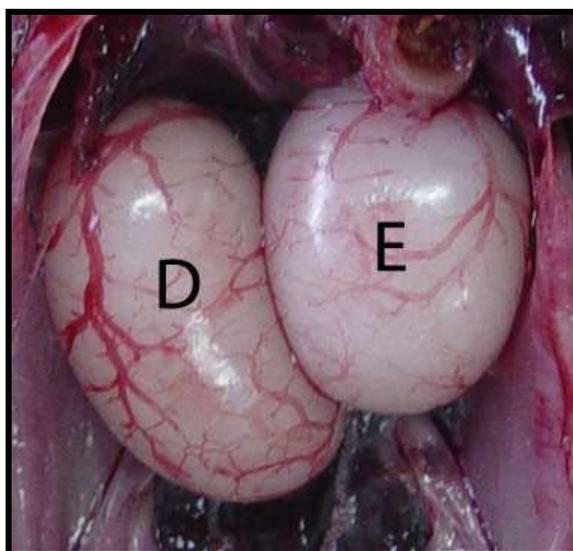


Figura 1 - Testículo esquerdo e direito em codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 60 dias de idade. Quanto ao formato, observa-se que o testículo esquerdo (E) é arredondado e curto, enquanto o direito (D) é alongado e estreito.

Tabela 2 - Coeficiente de correlação linear (r) entre parâmetros testiculares na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 60 dias de idade

	Peso	Comprimento	Testículo esquerdo		
			Largura	Espessura	Perímetro
Peso	-	0,81*	0,85*	0,90*	0,86*
Comprimento		-	0,59*	0,63*	0,52*
Largura			-	0,92*	0,84*
Espessura				-	0,87*
Perímetro					-

	Peso	Comprimento	Testículo direito		
			Largura	Espessura	Perímetro
Peso	-	0,61*	0,75*	0,75*	0,81*
Comprimento		-	0,20	0,14	0,20
Largura			-	0,94*	0,86*
Espessura				-	0,84*
Perímetro					-

*Correlação de Pearson significativa ao teste t (P < 0,01)

O índice gonadossomático encontrado no presente estudo foi de 3,68% \pm 0,99 para codornas japonesas aos 60 dias de idade. Esse resultado é maior do que o encontrado em outras pesquisas, tanto na codorna japonesa, 2,26% (Clulow e Jones, 1982), quanto na variedade italiana, 2,8%, sendo esta última no Brasil (Orsi et al., 2005). Especula-se a influência de fatores genéticos, climáticos ou ambientais nessa diferença, porém os dados e o delineamento utilizado impossibilitam qualquer afirmação. O tamanho proporcionalmente grande dos testículos dá suporte à teoria de que fotoperíodo artificial em regiões tropicais possibilita a exploração reprodutiva de codornas, mesmo no outono, época em que o experimento foi conduzido (Orsi et al., 2005).

O peso corporal apresentou baixa correlação com o peso testicular, com coeficiente linear de 0,14 para o testículo esquerdo e 0,12 para o direito, contrariando o observado em galos (Bath e Chaudhari, 2002) e reforçando a necessidade de utilização de parâmetros mais acurados na avaliação reprodutiva, tais como mensuração das dimensões testiculares. Na Tabela 3 constam as correlações entre os valores biométricos e o peso para cada um dos testículos.

Pensando no manejo trabalhoso de seleção de reprodutores de codorna japonesa em núcleos de melhoramento genético com lotes maiores, avaliou-se também a correlação linear entre os parâmetros dos testículos esquerdo e direito com a massa testicular total, visando definir um único parâmetro a ser mensurado com métodos não invasivos, como a ultrassonografia (Tabela 4).

Tabela 3 - Coeficiente de correlação linear (r) entre peso testicular e peso corporal, comprimento, largura, espessura e perímetro testiculares na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 60 dias de idade

	Peso corporal	Comprimento testicular	Largura testicular	Espessura testicular	Perímetro testicular
Peso do testículo esquerdo	0,14	0,81*	0,85*	0,90*	0,86*
Peso do testículo direito	0,12	0,61*	0,75*	0,75*	0,81*

*Correlação de Pearson significativa ao teste t (P < 0,01)

Tabela 4 - Coeficiente de correlação linear (r) entre a massa testicular total e os parâmetros biométricos testiculares na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 60 dias de idade

	Comprimento testicular	Largura testicular	Espessura testicular	Perímetro testicular
Testículo esquerdo	0,74*	0,85*	0,89*	0,88*
Testículo direito	0,62*	0,68*	0,61*	0,73*

*Correlação de Pearson significativa ao teste t ($P < 0,01$)

Tendo em vista o elevado coeficiente de correlação linear e a relativa simplicidade em se obter tal medida, a largura e a espessura do testículo esquerdo foram considerados os melhores parâmetros a serem mensurados com recursos como a ultrassonografia, visando a determinação de um parâmetro único de avaliação. O coeficiente de determinação (r^2) para ambas as características, próximo de 0,80, indica que 80% da variação da massa testicular total na codorna japonesa aos 60 dias de idade é explicada por essa variável. Dessa maneira, especula-se a possibilidade de seleção reprodutiva a partir da mensuração não invasiva do eixo curto do testículo esquerdo, ou seja, largura ou espessura.

4. CONCLUSÕES

Apesar da diferença de formato, o peso dos testículos esquerdo e direito é semelhante, o que sugere contribuição equitativa para a produção espermática na codorna japonesa. A alta correlação entre a largura e a espessura com o peso testicular, indica a possibilidade de comparar o potencial reprodutivo de machos a partir da mensuração das mesmas. O índice gonadossomático encontrado é maior do que a média encontrada por outros autores.

5. REFERÊNCIAS

Vide seção 10.

CAPÍTULO IV: Ultrassonografia testicular na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) adulta

RESUMO

A viabilidade da ultrassonografia testicular na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) foi avaliada em 25 machos aos 60 dias de idade. Foram utilizados transdutores linear e setorial cardíaco pediátrico, nas frequências de 7.5 e 10 MHz, bem como as abordagens ventroabdominal e pelo flanco. Os testículos foram identificados como estruturas ovaladas hipocogênicas, envoltas por uma fina camada hiperecogênica e mensurados pelo ultrassom quanto a comprimento, espessura ou largura, e volume elíptico. Logo após, as aves foram abatidas e dissecadas para aferição manual da biometria testicular, com auxílio de paquímetro digital. As mensurações obtidas pelos dois métodos foram comparadas, sendo que o comprimento e o volume foram significativamente menores ao exame ultrassonográfico, presumivelmente pela interferência dos sacos aéreos na condução das ondas sonoras. Já a espessura foi semelhante entre as técnicas ($P > 0,01$), com coeficiente de correlação linear de 0,72 para o testículo esquerdo e 0,75 para o direito, o que indica que a mesma pode ser utilizada na comparação do potencial reprodutivo entre machos de codorna japonesa, uma vez que a espessura apresenta alta correlação com o peso testicular. A melhor abordagem ultrassonográfica foi pelo flanco, com transdutor linear e frequência de 10 MHz, o que possibilita avaliação rápida das gônadas em todas as aves. Conclui-se que a ultrassonografia testicular na codorna japonesa, embora apresente limitações, pode contribuir para a avaliação e seleção de reprodutores.

Palavras-chave: ultrassonografia, testículo, seleção reprodutiva, codorna japonesa.

ABSTRACT

The viability of testicular ultrasound in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) was evaluated in 25 males at 60 days old. Linear and sector pediatric cardiac transducers at frequencies of 7.5 and 10 MHz and the ventroabdominal and flank approaches were evaluated. The testes were identified as oval hypoechoic structures, surrounded by a thin hyperechoic and measured by ultrasound as the length, thickness or width and elliptical volume. Soon after, they were slaughtered and dissected to manual measurement of each testis, with the aid of a digital caliper. The measurements obtained by both methods were compared, and the length and volume were significantly lower at the ultrasound exam, presumably by the interference of the air sacs in the conduction of sound waves. The thickness was similar between the techniques ($P > 0.01$), with linear correlation coefficient of 0.72 for the left testicle and 0.75 for the right, suggesting that it can be used in the comparison of the reproductive potential between males of Japanese quail, since the thickness is highly correlated with testis weight. The best approach was flank ultrasonography, linear transducer and frequency of 10 MHz, which allows rapid assessment of the gonads in all birds. We conclude that testicular ultrasonography in Japanese quail, although limited, can contribute to the evaluation and selection of breeders.

Keywords: ultrasonography, testis, reproductive selection, Japanese quail.

1. INTRODUÇÃO

O rápido desenvolvimento corporal, a rusticidade e o baixo consumo, aliados a alta produtividade de ovos tornam a codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) uma excelente opção para exploração comercial. Face ao potencial zootécnico e crescente demanda do mercado consumidor, se faz necessário a otimização dos seus processos reprodutivos (Amoroso et al., 2008).

Apesar da ampla compreensão da biologia reprodutiva, a seleção da codorna japonesa se baseia apenas em características voltadas à produtividade de ovos por fêmea, aspectos comportamentais e desenvolvimento de linhagens mais adaptadas ao consumo da carne (Albino e Barreto, 2003). Até a atualidade não foi definido um parâmetro confiável e prático de comparação de potencial reprodutivo entre machos nos núcleos de melhoramento genético, característica esta tão importante para obtenção de ovos férteis nos matrizeiros (Amann, 1999; Bath e Chaudhari, 2002). Para se entender a relevância do tema, basta avaliar os avanços conquistados a partir da determinação do perímetro escrotal para seleção de touros com maior capacidade de produção espermática (Hafez e Hafez, 2003).

O principal entrave para a obtenção de tal parâmetro é a localização intra-abdominal dos testículos. Porém, métodos diagnósticos não invasivos vêm se tornando mais acessíveis nos dias de hoje (Bath e Chaudhari, 2002). Nesse contexto, está inserida a ultrassonografia. Em razão da alta correlação positiva entre o tamanho do testículo e a produção espermática diária (França e Russell, 1998), mensurações ultrassonográficas das gônadas poderiam ser utilizadas para estimativa indireta do volume ou peso testicular, comparação do potencial reprodutivo e seleção de aves. Vale ressaltar que outros métodos de seleção reprodutiva, tais como avaliação de características

sexuais secundárias, já foram testados sem sucesso (Kirby et al., 1998). Além da internalização completa das gônadas, o relativo baixo valor comercial de cada indivíduo na avicultura industrial impõe limitação à avaliação individual do desempenho reprodutivo (Kirby et al., 2001).

O exame ultrassonográfico é método rápido e não invasivo, mas até pouco tempo considerado impraticável em aves (Hofbauer e Krautwald-Junghanns, 1999). Por esse motivo, a utilização da ultrassonografia em aves ainda é pequena, restrita praticamente a investigações clínicas em aves domiciliadas e experimentos científicos (Steinmetz et al., 2006).

O principal entrave para a realização do exame ultrassonográfico transcutâneo em aves é o conjunto de sacos aéreos e os ossos pneumáticos, os quais limitam o acesso à cavidade celomática a algumas pequenas janelas acústicas (Hofbauer e Krautwald-Junghanns, 1999; Hochleithner, 2006).

Os equipamentos se assemelham aos usados em mamíferos, incluindo ultrassom com transdutores multifrequenciais, entre 5 e 10 MHz, lineares, convexos, setoriais ou microconvexos, dependendo da espécie. Abordagem lateral e ventromediana têm sido citadas para ultrassonográfica celomática em aves (Hofbauer e Krautwald-Junghanns, 1999; Hochleithner, 2006). Existe ainda o acesso transcloacal e transintestinal, testado em fêmeas com o objetivo de evitar os sacos aéreos (Thielebein e Kozlowski, 2010), porém o tamanho do transdutor limita a utilização na codorna japonesa.

No que se refere à avaliação dos órgãos genitais, Kirby et al. (1998) consideraram a ultrassonografia método árduo, porém adequado de acompanhamento do desenvolvimento testicular em frangos de corte. Nesse contexto, Norte et al. (2011) compararam a biometria testicular obtida

pela técnica ultrassonográfica com a direta em galos e observaram alta correlação. Em galinhas, a avaliação da condição ovariana e do oviduto foi avaliada com eficácia acima de 90% para contagem de folículos de grande diâmetro, bem como similaridade entre as mensurações ultrassonográficas e manuais de diâmetro folicular (Kirby et al., 2001; Melnychuk et al., 2002). Sexagem também foi descrita em aves de rapina (Hildebrandt et al., 1995).

Hofbauer e Krautwald-Junghanns (1999) avaliaram a ultrassonografia transcutânea do trato urogenital em aves consideradas “pet”, mantidas domiciliadas, e concluíram que é possível identificar algumas patologias de oviduto e obstrução por ovos com casca não mineralizada, porém a descrição do parênquima testicular normal se limitou à caracterização da ecogenicidade moderada com fina granulação. Entretanto, até os dias de hoje não existem relatos de utilização rotineira da ultrassonografia em aves de produção ou granjas comerciais.

Tendo em vista a necessidade de se criar um método confiável de comparação do potencial reprodutivo em aves, objetivou-se com o presente trabalho comparar as medidas testiculares ultrassonográficas e aferidas com paquímetro, com vistas a identificar um parâmetro de estimativa indireta da produção espermática em codornas japonesas a ser utilizado na seleção de reprodutores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 25 machos de codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) com idades entre 60 e 100 dias, provenientes do Setor de Coturnicultura do Instituto Federal Norte de Minas Gerais (IFNMG) - *Campus Salinas*, amostradas aleatoriamente a partir de dois lotes de incubação. As aves foram abatidas por deslocamento cervical e as penas do abdômen ventral e dos flancos foram retiradas para exame

ultrassonográfico transcutâneo testicular. A metodologia foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), protocolo 060/11.

O aparelho utilizado foi o ultrassom diagnóstico Esaote® Megas CVX equipado com um transdutor linear com frequência 7.5-10 MHz, medindo 50 x 10 mm, e um transdutor setorial cardíaco pediátrico/neonatal com frequência de 7.5MHz, medindo 20 x 15mm, acoplado a impressora térmica em escalas de cinzas Sony® Video Graphic Printer UP-890MD. Gel condutor de ultrassom foi aplicado à superfície do transdutor para garantir transmissão adequada das ondas sonoras. A função de mensuração do equipamento foi testada com objetos de dimensões conhecidas para calibração. A necessidade de uso de luva de procedimento preenchida por gel, funcionando como “stand-off”, foi avaliada para os diferentes transdutores.

Procedeu-se o exame tanto pelo abdômen ventral quanto pelos flancos, utilizando os dois transdutores disponíveis. Para a primeira abordagem, a ave foi colocada em decúbito dorsal e o transdutor posicionado no plano sagital paraesternal esquerdo e direito. Foram executadas varreduras laterais com o transdutor orientado cranialmente, acompanhando o eixo longitudinal do testículo. Na segunda abordagem, a ave foi colocada em decúbito lateral direito e esquerdo com a gônada a ser avaliada voltada para o avaliador. As pernas foram estendidas caudalmente de maneira a facilitar a acomodação do transdutor, orientado cranialmente, paralelo à borda ventral dos ossos da pelve, com a margem mais cranial ocupando a região sobre as costelas mais caudais. Testou-se também a abordagem pelos flancos com a ave em decúbito dorsal. As abordagens realizadas foram previamente utilizadas em projeto piloto para avaliação da viabilidade do exame ultrassonográfico e possíveis

dificuldades. Para tal, dois machos de codorna japonesa foram contidos e a ultrassonografia realizada conforme descrito anteriormente. Ao final, as aves foram abatidas e procedeu-se administração intratesticular guiada por ultrassom de 1,0 mL de corante hematoxilina, para certificar, após dissecação, se a estrutura observada era realmente o testículo.

O exame ultrassonográfico foi realizado em modo-B. As gônadas e órgãos vizinhos foram explorados visando identificar referenciais topográficos de localização e delimitação dos testículos. Suave pressão foi aplicada sobre o transdutor com o objetivo de melhorar as imagens e afastar estruturas causadoras de artefatos ou sombra acústica. Imagens longitudinais que mostravam o maior comprimento dos testículos foram congeladas para mensuração dos eixos longo e curto, bem como cálculo do volume elíptico. Considerou-se como eixo longo o comprimento e como eixo curto a largura ou a espessura, para a abordagem ventral e pelo flanco, respectivamente. Para cada medida foram capturadas três imagens, sendo considerada a média aritmética dos valores encontrados. Realizou-se, ainda, avaliação qualitativa da ecotextura do parênquima e cápsula testiculares. O tempo gasto para completar a avaliação em cada ave foi registrado. Todos os exames foram conduzidos pelo mesmo avaliador, de forma a evitar variações interobservador.

Finalizada a ultrassonografia, as aves foram posicionadas em decúbito dorsal e dissecadas para remoção dos testículos e pesagem em balança analítica com três casas decimais de precisão. Após pesagem, o comprimento, a largura e a espessura testiculares foram mensuradas manualmente com auxílio de paquímetro digital com duas casas decimais. As médias foram comparadas pelo teste t de Student e estabeleceu-se o coeficiente de correlação de Pearson entre as medidas ultrassonográficas, a biometria e o peso testicular, avaliado pelo

teste t ao nível de significância de 1%. Os valores de peso testicular e de volume elíptico foram também comparados, considerando que a densidade testicular em aves é bastante próxima de 1,0 (Calhim e Birkhead, 2009).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Raros são os relatos disponíveis sobre ultrassonografia testicular em aves, com a metodologia descrita apenas em um trabalho, que reuniu casos clínicos envolvendo o aparelho urogenital em aves domiciliadas de diferentes espécies, a maioria com sinais clínicos anormais e envolvendo fêmeas, em particular o oviduto (Hofbauer e Krautwald-Junghanns, 1999). Em codornas japonesas não foram encontrados relatos. Em razão da escassez de trabalhos científicos que descrevam a metodologia e características ultrassonográficas normais de testículos em aves, a maior parte dos resultados é apresentada na forma descritiva, incluindo ponderações sobre os achados.

Comparando inicialmente o posicionamento das aves e a sistemática do exame ultrassonográfico, a abordagem pelo flanco foi a que melhor possibilitou a avaliação das gônadas. O decúbito lateral oposto ao da gônada a ser examinada (Figura 1) foi considerado mais apropriado do que o decúbito dorsal (Figura 2). A abordagem ventroabdominal (Hochleithner, 2006) resultou em janelas acústicas extremamente limitadas e artefatos, o que impossibilita a avaliação testicular. Alguns pesquisadores se referem inclusive à ultrassonografia pela linha média, o que não foi viável no presente estudo, em decorrência da presença da quilha do esterno e a pequena superfície de contato caudal à mesma (Hofbauer e Krautwald-Junghanns, 1999; Steinmetz et al., 2006). Apesar do tamanho relativamente grande do transdutor linear, comparado ao setorial, o primeiro melhor se adequou tanto na avaliação qualitativa quanto



Figura 1 - Posicionamento do transdutor linear na abordagem pelo flanco (A) e esparadrapo mostrando a área de contato do transdutor (B) na codorna em decúbito lateral esquerdo para avaliação do testículo direito

nas mensurações testiculares, o que possibilita observação de maior comprimento testicular em um único corte longitudinal. Mesmo o uso de “stand-off” não promoveu melhoria na qualidade do exame com o transdutor setorial.



Figura 2 - Posicionamento do transdutor linear na abordagem pelo flanco com a codorna em decúbito dorsal para avaliação do testículo esquerdo

A frequência de 10 MHz, com o foco na região mais superficial e ganho diminuído, foi considerada eficaz em termos de resolução de imagem e penetração das ondas sonoras, mesmo através das costelas interpostas entre o transdutor e a gônada. Isso representa grande vantagem para criadores de codornas japonesas, visto a facilidade crescente de acesso a médicos veterinários equipados com aparelhos

portáteis de ultrassom transretal de bovinos, os quais utilizam transdutores lineares multifrequenciais. Portanto, a capacitação para ultrassonografia testicular seria suficiente, sem necessitar de investimentos em equipamento.

Os testículos foram identificados como estruturas ovaladas com ecogenicidade baixa a média, envoltas por fina camada hiperecogênica, a cápsula testicular (Figura 3). Ao contrário do observado em mamíferos, chama atenção a menor ecogenicidade e a homogeneidade de todo o parênquima testicular, decorrente da ausência de mediastino e septos conjuntivos na gônada de aves (Aire, 2007).

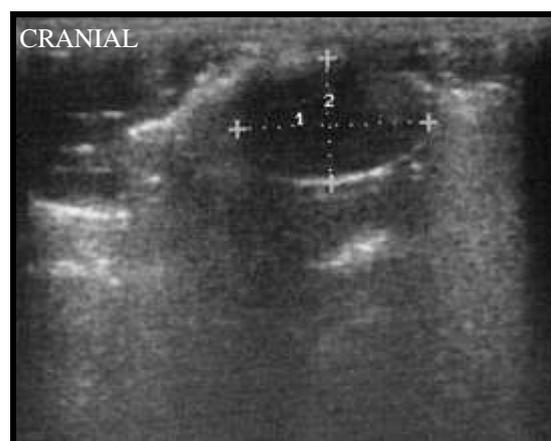


Figura 3 - Aspecto ultrassonográfico do testículo esquerdo de codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) adulta

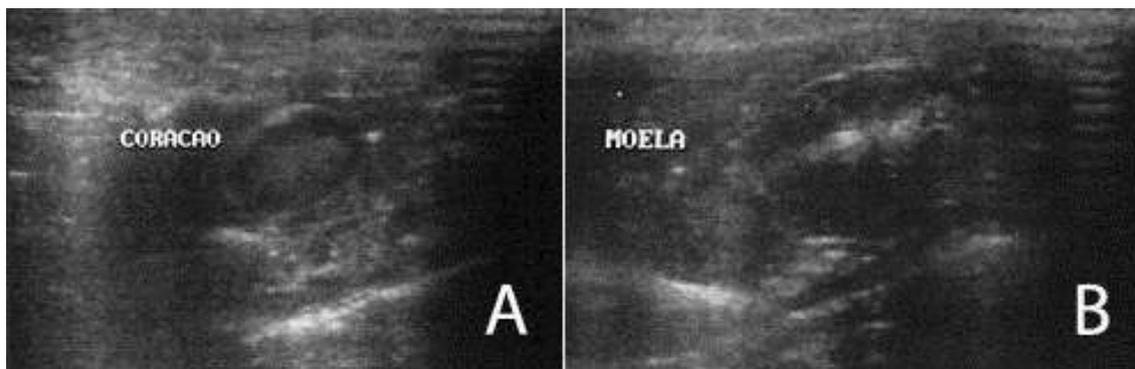


Figura 4 - Aspecto ultrassonográfico do coração (A) e da moela (B) de codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) adulta

No projeto piloto, a administração de corante hematoxilina guiada por ultrassom, seguida de dissecação, demonstrou que o órgão observado e descrito anteriormente se tratava do testículo, em ambos os lados. O principal referencial utilizado para encontrar os testículos, e se mostrou bastante útil, foi localizar o coração (Figura 4A), a partir de seus batimentos, a partir daí deslocando o transdutor caudolateralmente. A principal dificuldade durante as primeiras avaliações foi diferenciar a moela (Figura 4B) dos testículos, particularmente do esquerdo. Porém, a moela apresenta uma faixa central hiperecogênica, em razão da presença de gás e conteúdo alimentar, inclusive calcário, no seu lúmen, o que possibilita a distinção entre os dois órgãos após familiarização com as estruturas.

A expectativa inicial era de verificar dimensões iguais ou muito próximas entre as mensurações por ultrassom e os valores reais obtidos com auxílio de paquímetro após dissecação. Porém, isso não ocorreu para o comprimento e o volume elíptico (Tabela 1), nos quais se observou diferença estatística tanto para o testículo esquerdo quanto para o direito. Isso ocorreu presumivelmente pela limitação de janela acústica imposta pelos sacos aéreos torácicos caudais, levando em consideração o observado nos exames e a descrição anatômica feita por Aire (2007). Em outras palavras, o eixo longo testicular não foi inteiramente observado (Figura 5), implicando em menor volume calculado. Isso pode limitar a utilização da ultrassonografia para estudos biométricos, morfofuncionais e caracterização do ciclo sazonal testicular.

Tabela 1 - Mensuração ultrassonográfica e manual de comprimento, espessura e peso/volume dos testículos na codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) adulta

	Testículo esquerdo			Testículo direito		
	Volume/peso (g)	Comprimento (mm)	Espessura (mm)	Volume/peso (g)	Comprimento (mm)	Espessura (mm)
Ultrassom	1,23 ± 0,98 a	12,60 ± 1,93 a	12,79 ± 1,47	1,43 ± 1,04 a	14,15 ± 1,56 a	11,39 ± 1,41
Manual	2,52 ± 0,73 b	20,88 ± 1,62 b	14,52 ± 1,64	2,45 ± 0,68 b	23,77 ± 1,69 b	12,48 ± 1,39

Média ± desvio padrão

Letras distintas em uma mesma coluna indicam diferença estatística no teste t de Student (P < 0,01)

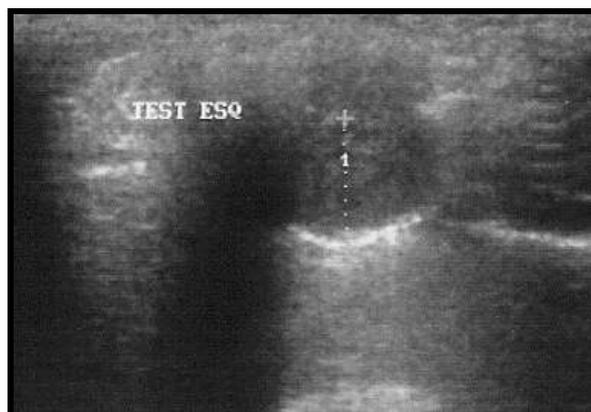


Figura 5 - Sombra acústica limitando a observação do polo cranial do testículo esquerdo de codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) adulta

Por outro lado, para ambos os testículos não houve diferença estatística entre as medidas de espessura aferidas pelos dois métodos (Tabela 1). Observou-se alta correlação entre a espessura real e a mensurada pelo ultrassom, $r = 0,72$ para o testículo esquerdo e $r = 0,75$ para o direito ($P < 0,01$), semelhante ao observado em estudo com galos (Norte et al., 2011). Isso indica a possibilidade de utilização da mensuração da espessura testicular ultrassonográfica na comparação do potencial reprodutivo, uma vez que a espessura do testículo esquerdo apresenta correlação de 0,89 com o peso testicular total na codorna japonesa (vide Tabela 5 do Capítulo III). Tal parâmetro poderá ser testado e aplicado na seleção de reprodutores com maior tamanho testicular e, conseqüentemente, maior produção espermática.

O tempo médio de duração do exame ultrassonográfico testicular por codorna foi de 6,3 minutos, incluindo a remoção das penas, contenção física, avaliação qualitativa em tempo real, captura de imagens e mensuração dos dois testículos. Considerando que um dos riscos da ultrassonografia em aves é a hipotermia provocada pelo gel condutor (Hochleithner, 2006) e a viabilização do exame em núcleos de melhoramento genético com maior número de codornas, seria possível reduzir o tempo mensurando apenas a espessura do

testículo esquerdo. Além disso, pode-se considerar o aquecimento prévio do gel condutor. O exame, conforme descrito no presente trabalho, deverá ser posteriormente avaliado em aves vivas e núcleos de melhoramento genético para validação do método.

O principal foco de futuras pesquisas deverá ser a utilização da espessura do testículo esquerdo ou de ambos os testículos para estimativa indireta e comparação do potencial de produção espermática entre machos, de forma a investigar o seu valor na seleção de reprodutores. Vale ressaltar a crescente difusão e acesso ao ultrassom, sendo a maioria equipado com transdutor linear, compatível com o exame na codorna japonesa. Os resultados são promissores e merecedores de maiores estudos.

4. CONCLUSÕES

O exame ultrassonográfico testicular na codorna japonesa é rápido, não invasivo e viável, embora haja limitação na avaliação do comprimento da gônada, em ambos os lados. A melhor abordagem ultrassonográfica foi pelo flanco, com transdutor linear e frequência de 10 MHz, possibilitando avaliação rápida das gônadas em todas as aves. A espessura mensurada pelo método ultrassonográfico não diferiu estatisticamente da obtida manualmente com

paquímetro, sendo verificada alta correlação entre os dois métodos para esse parâmetro.

5. REFERÊNCIAS

Vide seção 10.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese buscou identificar e avaliar características reprodutivas básicas na codorna japonesa que possuam potenciais implicações aplicadas, ainda desconhecidas, para a coturnicultura no Brasil e no mundo, tendo em vista sua importância socioeconômica e potencial de expansão. Destaca-se a inexistência de um parâmetro confiável para estimativa não invasiva da produção espermática e seleção de reprodutores e ausência de estudos que avaliem a influência do macho no declínio de fertilidade observado após 20 semanas de idade de um lote de aves nas atuais condições de manejo. O escopo mais amplo foi o de fornecer subsídios que possam contribuir para a implantação ou adequação de medidas de manejo e seleção de reprodutores superiores que aumentem a produtividade em matrizeiros.

No Capítulo I, foi avaliada a biometria, a histomorfometria e o índice gonadossomático na codorna japonesa aos 15, 30, 45 e 60 dias de idade, demonstrando que o desenvolvimento testicular estabiliza aos 45 dias, o que pode ser evidenciado pela ausência de diferença estatística em todos os parâmetros biométricos e morfohistométricos, comparados com os machos de 60 dias de idade. A elevada proporção de túbulos seminíferos, próxima de 90%, a partir dos 45 dias de idade, reforça a teoria de que a codorna japonesa se adaptou evolutivamente para uma alta frequência diária de cópulas. Esses resultados sugerem que a codorna japonesa pode ser utilizada para reprodução a partir de 45 dias de idade e apresenta atividade espermatogênica intensa. O índice gonadossomático, também abordado no Capítulo III, apresentou valores próximos de 4,0%, até então não descritos na literatura.

No Capítulo II, as reservas espermáticas gonadal e extragonadal foram determinadas

para codornas japonesas aos 60 dias de idade e verificou-se que 68% da reserva espermática total de machos em repouso sexual está contida no lúmen dos túbulos seminíferos. Demonstrou-se que a reserva espermática extragonadal foi menor em machos submetidos a cópulas por cinco dias consecutivos, o que levanta a suspeita de que acasalamentos consecutivos podem influenciar negativamente a qualidade do ejaculado. Estudos deverão ser conduzidos para avaliar o impacto do atual manejo reprodutivo sobre a fertilidade de ovos em matrizeiros de codornas japonesas em longo prazo. No mesmo experimento, a produção espermática diária por grama de testículo foi estimada em $107 \pm 22,7 \times 10^6$, utilizando o método de homogeneização testicular e conhecimentos sobre o ciclo do epitélio seminífero.

No Capítulo III, intimamente relacionado ao Capítulo IV, buscou-se estabelecer correlações entre os parâmetros biométricos e o peso testicular aos 60 dias de idade. Constatou-se estatisticamente a diferença de formato entre os testículos esquerdo e direito, sendo o esquerdo mais curto e mais arredondado, enquanto o direito é mais longo e estreito. Porém, o peso semelhante sugere que não há diferença na capacidade de produção espermática entre eles. Considerando a complexidade do manejo em grandes granjas, foi identificado que a largura e a espessura do testículo esquerdo apresentaram coeficiente de correlação linear de 0,85 e 0,89, respectivamente, com o somatório do peso dos dois testículos, o que sugere que uma delas pode ser utilizada para comparação da capacidade de produção espermática na codorna japonesa.

A partir das informações do Capítulo III, a ultrassonografia testicular foi avaliada, principalmente no que se refere à possibilidade de mensuração da largura ou espessura do testículo esquerdo. O Capítulo

IV mostrou que a abordagem ultrassonográfica pelo flanco com transdutor linear e frequência de 10 MHz possibilita a avaliação rápida dos testículos na codorna japonesa abatida aos 60 dias de idade. Comparação entre mensurações após abate e dissecação mostrou que os valores de espessura obtidos não diferiram do método ultrassonográfico, o que indica a viabilidade da técnica para estimativa da capacidade de produção espermática e seleção reprodutiva de machos. A utilização da ultrassonografia testicular com outra finalidade carece ser estudada, uma vez que os sacos aéreos limitam o exame de todo o órgão.

Espera-se que os presentes resultados, somados aos já descritos e a futuras

pesquisas possam contribuir para a compreensão da fisiologia reprodutiva da codorna japonesa e da influência do manejo reprodutivo sobre a fertilidade em matrizeiros. O coturnicultor e os profissionais da área não podem ignorar os benefícios advindos da seleção reprodutiva, a qual possibilita que machos com características zootécnicas semelhantes produzam quantidade diferente de descendentes, ou seja, produtos. Investigações são incentivadas no intuito de se avaliar principalmente os efeitos de cópulas consecutivas em longo prazo e a ultrassonografia testicular como método de seleção de machos de codorna japonesa com maior capacidade de produção espermática.

10. REFERÊNCIAS

- ADKINS, E. K. Electrical recording of copulation in quail. *Physiol. Behav.*, v. 13, n. 3, p. 475-477, 1974.
- AIRE, T. A. Anatomy of the testis and male reproductive tract. In: JAMIESON, B. G. M. (Ed.). *Reproductive biology and phylogeny of birds*. Enfield: Science Publishers, p. 37-113, 2007. 609p.
- AIRE, T. A.; OZEGBE, P. C. The testicular capsule and peritubular tissue of birds: morphometry, histology, ultrastructure and immunohistochemistry. *J. Anat.*, v. 210, p. 731-740, 2007.
- ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S. L. T. *Criação de codornas para produção de ovos e carne*. Viçosa: Editora Aprenda Fácil, 2003. 268p.
- ALKAN, S.; BARAN, A.; ÖZDAS, Ö.B. et al. Morphological defects in turkey semen. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, v. 26, p. 1087-1092, 2002.
- AMANN, R. P. Lessons for the poultry industry gleaned from experiences with other commodity species. *Poultry Sci.*, v. 78, p. 419-427, 1999.
- AMANN, R. P.; THOMPSON, D. L.; SQUIRES, E. L. et al. Effect of age and frequency of ejaculation on sperm production and extragonadal sperm reserves in stallions. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, v. 27, p. 1-6, 1979.
- AMOROSO, L.; ARTONI, S. M. B.; MORAES, V. M. B. et al. Influência da espermatogênese e dos níveis de testosterona no aspecto reprodutivo de codornas. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 37, p. 61-66, 2008.
- ARTONI, S. M. B.; ORSI, A. M.; CARVALHO, T. L. et al. The annual testicular cycle of the domestic quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Anat. Histol. Embryol.*, v. 26, n. 4, p. 337-339, 1997.
- ARTONI, S. M. B.; MANOEL, H. L.; CARVALHO, T. L. et al. Avaliação morfológica da área do epidídimo e dos ductos eferentes e ductos epididimários da codorna doméstica, no decorrer do ano. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v. 36, n. 6, 1999.
- BATH, G. S.; CHAUDHARI, S. U. R. Sperm reserves and its relationship to parameters of the testis, epididymis and vas deferens of local cocks in the Sahel region of Nigeria. *Intern. J. Agric. Biol.*, v. 4, p. 561-564, 2002.
- BIRKHEAD, T. R.; BRISKIE, J. V.; MOLLER, A. P. Male sperm reserves and copulation frequency in birds. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, v. 32, p. 85-93, 1993.
- BROWN, N. L.; FOLLETT, B. K. Effects of androgens on the testes of intact and hypophysectomized Japanese quail. *Gen. Comp. Endocrinol.*, v. 33, n. 2, p. 267-277, 1977.
- CALHIM, S.; BIRKHEAD, T. R. Intraspecific variation in testis asymmetry in birds: evidence for naturally occurring compensation. *Proc. R. Soc. B*, v. 276, p. 2279-2284, 2009.
- CELEGHINI, E. C. C.; ALBUQUERQUE, R.; ARRUDA, R. P. et al. Avaliação das características seminais de galos selecionados para a reprodução pelo desenvolvimento da crista. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v. 38, n. 4, p. 177-183, 2001.
- CHELMONSKA, B.; JERYSZ, A.; LUKASZEWICZ, E. et al. Semen collection from Japanese quail (*Coturnix japonica*) using a teaser female. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, v. 32, n. 1, p. 19-24, 2008.

- CLULOW, J.; JONES, R. C. Production, transport, maturation, storage and survival of spermatozoa in the male Japanese quail, *Coturnix coturnix*. *J. Reprod. Fert.*, v.64, p. 259-266, 1982.
- CLULOW, J.; JONES, R. C. Studies of fluid and spermatozoal transport in the extratesticular genital ducts of the Japanese quail. *J. Anat.*, v. 157, p. 1-11, 1988.
- DAWSON, A.; KING, V. M.; BENTLEY, G. E. et al. Photoperiodic control of seasonality in birds. *J. Biol. Rhythms*, v. 16, n. 4, p. 365-380, 2001.
- DUMPALA, P. R.; PARKER, H. M.; MCDANIEL, C. D. Similarities and differences between the sperm quality index and sperm mobility index of Broiler Breeder semen. *Poultry Sci.*, v. 85, p. 2231-2240, 2006.
- EROSCHENKO, V. P.; WILSON, W. O. Histological changes in the regressing reproductive organs of sexually mature male and female Japanese quail. *Biol. Reprod.*, v. 11, p. 168-179, 1974.
- FRANÇA, L.R.; RUSSELL, L.D. The testis of domestic animals. In: REGADERA, J.; MARTINEZ-GARCIA, F. (Ed.). *Male reproduction: a multidisciplinary overview*. Madrid: Churchill Livingstone, p.197-219, 1998.
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. *Reprodução Animal*. 7. ed. South Carolina: Kiawah Island, 2003. 513p.
- HILDEBRANT, T.; PITRA, C.; SÖMMER, P. et al. Sex identification in birds of prey by ultrasonography. *J. Zoo Wildlife Med.*, v. 26, n. 3, p. 367-375, 1995.
- HOCHLEITHNER, C. Ultrasound in pet birds. *Israel J. Vet. Med.*, v. 61, n. 1, 2006.
- HOFBAUER, H.; KRAUTWALD-JUNGHANNS, M. E. Transcuraneous ultrasonography of avian urogenital tract. *Vet. Radiol. Ultrasound*, v. 40, n. 1, p. 58-64, 1999.
- IPEK, A.; SAHAN, U.; YILMAZ, B. The effect of live weight, male to female ratio and breeder age on reproduction performance in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *S. Afr. J. Anim. Sci.*, v. 34, n. 2, p. 130-134, 2004.
- JONES, R. C.; LIN, M. Spermatogenesis in birds. *Oxf. Rev. Reprod. Biol.*, v. 15, p. 233-264, 1993.
- KIRBY, J. D.; FROMAN, D. P. Reproduction in male birds. In: WHITTOW, G. C. (Ed.). *Sturkie's avian physiology*. 5. ed. Londres: Academic Press, p. 597-615, 2000. 685p.
- KIRBY, J. D.; MANKAR, M. V.; HARDESTY, D. et al. Effects of transient prepubertal 6-N-propyl-2-thiouracil treatment on testis development and function in the domestic fowl. *Biol. Reprod.*, v. 55, p. 910-916, 1996.
- KIRBY, J. D.; RORIE, R. W.; MELNYCHUK, V. L. et al. Ultrasound as a tool to assess reproductive status in poultry. *Poultry Sci. Suppl.*, v. 80, n. 1, p. 177, 2001.
- KIRBY, J. D.; RORIE, R. W.; WASHINGTON, J. et al. Use of ultrasound to assess testis development in broiler breeder males. *Poultry Sci. Suppl.*, v. 77, n. 1, p. 91, 1998.
- KUL, S.; SEKER, I. Phenotypic correlations between external and internal egg quality traits in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Intern. J. Poultry Sci.*, v. 3, n. 6, p. 400-405, 2004.
- KUMARY, B. P.; GUPTA, B. R.; PRAKASH, M. G. et al. A study on egg

- quality traits in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Tamilnadu J. Vet. Anim. Sci.*, v. 4, n. 6, p. 227-231, 2008.
- LEWIN, V. Reproduction and development of young in a population of California quail. *The Condor*, v. 65, n. 4, p. 249-278, 1963.
- LIN, M.; JONES, R. C. Spatial arrangement of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *J. Reprod. Fertil.*, v. 90, n. 2, p. 361-367, 1990.
- LIN, M.; JONES, R. C. Renewal and proliferation of spermatogonia during spermatogenesis in the Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Cell Tissue Res.*, v. 267, n. 3, p. 591-601, 1992.
- LIN, M.; JONES, R. C.; BLACKSHAW, A. W. The cycle of the seminiferous epithelium in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) and estimation of its duration. *J. Reprod. Fertil.*, v. 88, p. 481-490, 1990.
- LÜPOLD, S.; LINZ, G. M.; RIVERS, J. W. et al. Sperm competition selects beyond relative testes size in birds. *Evolution*, v. 63, n. 2, p. 391-402, 2008.
- MASCARENHAS, R. M.; PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P. et al. Morfometria macro e microscópica e índices somáticos dos componentes testiculares de cães sem raça definida, da puberdade à senilidade. *Rev. Ceres*, v. 55, p. 113-119, 2006.
- MATHER, F. B.; WILSON, W. O. Post-natal testicular development in Japanese quail. *Poultry Sci.*, v. 43, p. 860-864, 1964.
- MELNYCHUK, V. L.; COOPER, M. W.; KIRBY, J. D. et al. Use of ultrasonography to characterize ovarian status in chicken. *Poultry Sci.*, v. 81, p. 892-895, 2002.
- MIRANDA, J. L. P. S. Permanência de espermatozóides em glândulas hospedeiras de espermatozóides e em glândulas infundibulares na cordona *Coturnix coturnix coturnix* em diferentes intervalos de acasalamento. 2011. 78f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- MOLLER, A. P. Sperm competition, sperm depletion, paternal care, and relative testis size in birds. *The Am. Naturalist*, v. 137, p. 892-906, 1991.
- MÓRI, C.; GARCIA, E. A.; PAVAN, A. C. Desempenho e rendimento de carcaça de quatro grupos genéticos de codornas para produção de carne. *R. Bras. Zootec.*, v. 34, n. 3, p. 870-876, 2005.
- NARAHARI, D.; ABDUL MUJEER, K.; THANGAVEL, A. et al. Traits influencing the hatching performance of Japanese quail eggs. *Brit. Poultry Sci.*, v. 29, p. 101-112, 1988.
- NICHOLLS, T. J.; FOLLETT, B. K.; ROBERTSON, J. E. A photoperiodic response in gonadectomized Japanese quail exposed to a single long day. *J. Endocrinol.*, v. 97, p. 121-126, 1983.
- NORTE, D. F.; CORDEIRO, N. I. S.; MELO, M. I. V. et al. Uso da técnica de ultrassonografia para avaliação da biometria testicular em galos. CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 19, 2011, Recife, PE, *Anais...* Belo Horizonte, CBRA, 2011. p. 55.
- OBIDI, J. A.; ONYEANUSI, B. I.; AYO, J. O. et al. Determination of gonadal sperm/spermatid reserves in Shikabrown breeder cocks. *Intern. J. Poultry Sci.*, v. 7, n. 12, p. 1200-1203, 2008.
- ORLU, E. E.; EGBUNIKE, G. N. Daily sperm production of the domestic fowl (*Gallus domesticus*) as determined by quantitative testicular histology and

- homogenate methods. *Pak. J. Biol. Sci.*, v. 12, n. 20, p. 1359-1364, 2009.
- ORSI, A. M.; STEFANINI, M. A.; VIEGAS, K. A. S. et al. Aspectos morfológicos do ciclo testicular anual de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.42, n.3, p. 163-170, 2005.
- OTTINGER, M. A.; BAKST, M. R. Peripheral androgen concentrations and testicular morphology in embryonic and young male Japanese quail. *Gen. Comp. Endocrinol.*, v. 43, n. 2, p. 170-177, 1981.
- OTTINGER, M. A.; BALTHAZART, J. Altered endocrine and behavioral responses with reproductive aging in the male Japanese quail. *Horm. Behav.*, v. 20, n. 1, p. 83-94, 1986.
- OTTINGER, M. A.; BRINKLEY, H. J. Testosterone and sex related physical characteristics during the maturation of the male Japanese quail. *Biol. Reprod.*, v. 20, p. 905-909, 1979.
- OTTINGER, M. A.; DUCHALA, C. S.; MASSON, M. Age-related decline in the male Japanese quail. *Horm. Behav.*, v. 17, n. 2, p. 197-207, 1983.
- OTTINGER, M. A.; SCHLEIDT, W. M.; RUSSEK, E. Daily patterns of courtship and mating behavior in the male Japanese quail. *Behav. Processes*, v. 7, n. 3, p. 223-233, 1982.
- PECHMAN, R. D.; EILTS, B. E. B-mode ultrasonography of the bull testicle. *Theriogenology*, v. 27, n. 2, p. 431-441, 1987.
- ROBERTSON, L.; WILSON, Y. I.; LINDSAY, C. et al. Evaluation of semen from individual male domestic fowl by assessment of sperm:perivitelline interaction *in vitro* and *in vivo*. *Brit. Poultry Sci.*, v. 39, p. 278-281, 1998.
- SCHEIN, M.W.; DIAMOND, M.; CARTER, C.S. Sexual performance levels of male Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Anim. Behav.*, v.20, p.61-67, 1972.
- SEKER, I.; KUL, S.; BAYRAKTAR, M. Effects of parental age and hatching egg weight of Japanese quails on hatchability and chick weight. *Intern. J. Poultry Sci.*, v. 3, n. 4, p. 259-265, 2004.
- STEINMETZ, H. W.; NITZL, D.; CURD, S. et al. Ultrasonography in avian species: an underused diagnostic tool. *Exotic DVM*, v. 8, n. 3, p. 66-77, 2006.
- THIELEBEIN, J.; KOZLOWSKI, K. Examination of the genital system of poultry with transintestinal ultrasound imaging. *J. Appl. Anim. Res.*, v. 37, n. 1, p. 15-18, 2010.
- VIZCARRA, J. A.; KIRBY, J. D.; KREIDER, D. L. Testis development and gonadotropin secretion in broiler breeder males. *Poultry Sci.*, v. 89, p. 328-334, 2010.