

Universidade Federal de Minas Gerais

MORFOMETRIA TESTICULAR, ESCORES DE CRISTA, CLOACA E DE PÉ EM  
GALOS DE MATRIZ PESADA EM DUAS IDADES E TRÊS CATEGORIAS DE  
PESO CORPORAL

Rafael Augusto de Carvalho Leão

Belo Horizonte  
2016

Rafael Augusto de Carvalho Leão

**MORFOMETRIA TESTICULAR, ESCORES DE CRISTA, CLOACA E DE PÉ  
EM GALOS DE MATRIZ PESADA EM DUAS IDADES E TRÊS CATEGORIAS  
DE PESO CORPORAL**

Dissertação apresentada na Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área: Reprodução Animal

Orientador: Antônio de Pinho Marques Júnior

Belo Horizonte  
Escola de Veterinária – UFMG  
2016

L437m Leão, Rafael Augusto de Carvalho, 1989-  
Morfometria testicular, escores de crista, cloaca e de pé em galos de matríz pesada em duas idades e três categorias de peso corporal / Rafael Augusto de Carvalho Leão. – 2016. 52 p. : il.

Orientador: Antônio de Pinho Marques Júnior  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária  
Inclui bibliografia

1. Galo – Reprodução – Teses. 2. Galo – Fertilidade – Teses. 3. Testículos – Medição – Teses. 4. Morfometria – Teses. 5. Reprodução animal – Teses. I. Marques Júnior, Antônio de Pinho. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.


CDD – 636.508 926

Dissertação defendida e aprovada em 31/03/2016 pela comissão examinadora constituída por:




---

Prof. Dr. Antônio de Pinho Marques Júnior  
Presidente



---

Prof. Dr. Guilherme Mattos Jardim Costa  
(ICB-UFMG)



---

Prof. Dr. Leonardo Lara e Lanna  
(IFNMG)

**Dedico:**

Aos meus pais, Carla e Jesunias, por todo o apoio, amor e por, muitas vezes, abdicarem de seus sonhos para que eu fosse em busca dos meus.

## **Agradecimentos:**

Em especial, aos meus pais.

Ao meu irmão Gustavo e à toda a minha família pelo apoio e incentivo.

À Fernanda, por ser meu grande suporte durante todo esse período, sempre com muito carinho, companheirismo, paciência, e palavras de encorajamento nas horas difíceis. Eu não conseguiria sem você!

Ao meu orientador, amigo e grande guia Prof. Antônio Pinho Marques. Obrigado pelo acolhimento desde a época de iniciação científica e pelos grandes ensinamentos, acadêmicos e pessoais, durante todos esses anos de convivência, que levarei comigo para o resto da vida.

Ao professor Nelson Carneiro Baião, por todos os ensinamentos e pela oportunidade e grande colaboração durante a realização desse trabalho; e às professoras Gleide Fernandes Avelar e Mariana Machado Neves por abrirem as portas de seus laboratórios para o desenvolvimento de parte dessa pesquisa, sempre muito solícitos para me auxiliar no que fosse preciso.

Aos professores Leonardo Lara e Lanna e Guilherme Mattos Jardim Costa pela paciência, disponibilidade e valiosas sugestões para a melhora do trabalho durante a defesa da dissertação.

Aos amigos do “gruPINHO”, tanto os da pós-graduação quanto os de iniciação científica, pela amizade, colaboração nos experimentos e apoio durante esse período. Agradecimento especial à Patrícia, por todos os anos que passamos trabalhando, aprendendo e crescendo juntos.

Aos integrantes do laboratório de Biologia Celular (ICB-UFMG), em especial à Mara Santos pela atenção e auxílio técnico durante os processamentos histológicos.

À PifPaf alimentos e aos funcionários da Fazenda Sapezal, em especial ao Leonardo Eugênio de Araújo Ruiz e Antônio Queiroz Coelho pela cooperação e todo o apoio na realização do experimento. Ao Sr. Ângelo Xavier e funcionários por abrirem as portas de seu estabelecimento.

Aos alunos de pós-graduação da reprodução e da avicultura com os quais compartilhei angústias, grandes aprendizados e momentos prazerosos durante o período de obtenção dos créditos.

A todos os meus amigos que sempre torceram pelo meu sucesso.

À CAPES pelo suporte financeiro.

---

---

## SUMÁRIO

---

---

<b>RESUMO</b> .....	11
<b>ABSTRACT</b> .....	12
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. HIPÓTESES</b> .....	14
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	14
<b>4. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
<b>4.1. Anatomia e fisiologia reprodutiva do galo</b> .....	15
<b>4.1.1. Aparelho reprodutor</b> .....	15
<b>4.1.2. Testículos</b> .....	17
<b>4.1.3. Espermatogênese</b> .....	19
<b>4.1.4. Via seminífera extratesticular</b> .....	20
<b>4.2. Fenótipo vs. Reprodução</b> .....	21
<b>4.2.1. Características sexuais secundárias</b> .....	21
<b>4.2.2. Peso corporal</b> .....	23
<b>4.2.3. Idade</b> .....	24
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
<b>5.1. Animais e tratamentos</b> .....	24
<b>5.2. Determinação dos escores</b> .....	25
<b>5.2.1. Escore de crista</b> .....	26
<b>5.2.2. Escore de cloaca</b> .....	26
<b>5.2.3. Escore de pé</b> .....	26
<b>5.3. Histologia dos testículos</b> .....	27
<b>5.3.1. Índice gonadossomático (%)</b> .....	27
<b>5.3.2. Diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero</b> .....	28
<b>5.3.3. Proporção volumétrica de túbulo seminífero e tecido intersticial</b> .....	29
<b>5.3.4. Proporção volumétrica de constituintes dos testículos</b> .....	30
<b>5.3.5. Delineamento experimental e análises estatísticas</b> .....	31
<b>6. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
<b>6.1. Peso corporal, peso de testículos e índice gonadossomático</b> .....	32
<b>6.2. Escores</b> .....	36
<b>6.3. Histologia</b> .....	39
<b>7. CONCLUSÕES</b> .....	44
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	45
<b>9. ANEXOS</b> .....	52

---

LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1 -	Característica do ejaculado de aves de diferentes espécies	16
Tabela 2 -	Obtenção de animais segundo a idade e o peso corporal	25
Tabela 3 -	Galo doméstico. Características utilizadas para determinação do escore de crista	26
Tabela 4 -	Galo doméstico. Características utilizadas para determinação do escore de cloaca	26
Tabela 5 -	Galo doméstico. Características utilizadas para determinação do escore de pé	27
Tabela 6 -	Peso corporal médio (PC), peso de testículo direito (PTD), peso de testículo esquerdo (PTE), peso testicular total (PTT) e índice gonadossomático (IGS) de galos Cobb Mx em função da idade e da categoria de peso	33
Tabela 7 -	Correlações de Pearson-Spearman entre peso corporal (PC); peso do testículo esquerdo (PTE); peso testicular total (PTT); índice gonadossomático (IGS); diâmetro de túbulo seminífero (DT); altura do epitélio seminífero (AE) percentual de túbulos seminíferos (TS), percentual interstício (INT) e escores de crista (ECR), cloaca (ECL) e pé (EP) em galos Cobb Mx	35
Tabela 8 -	Galo doméstico. Desdobramento da interação entre idade (25 e 45 semanas) e categoria de pesos (leve, médio e pesado) para índice gonadossomático	36
Tabela 9 -	Escore de crista (ECR); escore de cloaca (ECL) e escore de pé (EP) de galos Cobb Mx em função da idade e do peso corporal	36
Tabela 10 -	Diâmetro de túbulo seminífero (DT), altura do epitélio seminífero (AE), proporção de túbulos seminíferos (TS) e proporção de tecido intersticial (INT) em galos Cobb Mx em função da idade e da categoria de peso	39
Tabela 11 -	Galo doméstico. Desdobramento da interação entre idade (25 e 45 semanas) e categoria de peso (leve, médio e pesado) para porcentagem de túbulos seminíferos	40
Tabela 12 -	Galo doméstico. Desdobramento da interação entre idade (25 e 45 semanas) e categoria de peso (leve, médio e pesado) para porcentagem de tecido intersticial	41
Tabela 13 -	Proporção de camada peritubular (CP), epitélio seminífero (ES), sertoli (SE), lúmen (LU), Leydig (LE), tecido conjuntivo intersticial (TC), vasos (V), em galos Cobb Mx em função da idade e da categoria de peso	42
Tabela 14 -	Galo doméstico. Desdobramento da interação entre idade (25 e 45 semanas) e categoria de pesos (leve, médio e pesado) para vasos	44



---

---

LISTA DE FIGURAS

---

---

- Figura 1 - Galo. Túbulo seminífero em corte transversal. Fotografia esquematizando as mensurações de diâmetro maior (DM), diâmetro menor (Dm) e alturas de epitélio seminífero (Ep1 e Ep2). Galo da categoria leve com 45 semanas de idade (200x, Azul de Toluidina). 29
- Figura 2 - Galo. Grade de 475 pontos equidistantes sobrepondo campo de testículo cortado transversalmente evidenciando túbulos seminíferos (TS) e tecido intersticial (INT). Galo da categoria leve com 25 semanas de idade. (200x, Azul de Toluidina). 30
- Figura 3 - Galo. Grade de 475 pontos equidistantes sobrepondo campo de testículo cortado transversalmente evidenciando estruturas analisadas: camada peritubular (CP), epitélio seminífero (ES), células de Sertoli (SE), lúmen de túbulo seminífero (LTS), células de Leydig (LE), tecido conjuntivo intersticial (TCI) e vasos intersticiais (V). Galo da categoria pesado com 45 semanas de idade. (400x, Azul de Toluidina). 31
- Figura 4 - Galo. Escores de crista. (A) Escore de crista = 1, crista subdesenvolvida. (B) Escore de crista = 2, crista média, vermelha clara e túrgida. (C) Escore de crista = 3, crista grande, vermelha intensa e túrgida. (D) Escore de crista = 4, crista muito grande, vermelha intensa e túrgida. 37
- Figura 5 - Galo. Escores de cloaca. (A) Escore de cloaca = 4, cloaca média, pálida e seca. (B) Escore de cloaca = 5, cloaca pequena, vermelha clara e úmida. (C) Escore de cloaca = 6, cloaca grande, vermelha clara e seca. (D) Escore de cloaca = 8, cloaca grande, vermelha intensa e úmida. 38
- Figura 6 - Galo. Escores de pé. (A) Escore de pé = 0, ausência de calos. (B) Escore de pé = 1, calo leve em um pé. (C) Escore de pé = 4, calo moderado nos dois pés. (D) Escore de pé = 6, calo intenso nos dois pés. 39

---

---

ANEXOS

---

---

Anexo I - Protocolo CEUA/UFMG

52

## RESUMO

Assim como em outras espécies, em galos de matriz pesada, sabe-se que o peso dos testículos pode ser associado positivamente com a produção diária de espermatozoides e que alterações nos testículos irão refletir na fertilidade. Nas aves, os testículos estão localizados dentro da cavidade celomática, e, portanto, não são acessíveis para exame andrológico direto, como em mamíferos. A coleta e análise de parâmetros seminais necessita de estrutura e mão de obra especializadas e, por isso, não é economicamente viável nos sistemas de criação comerciais. A avaliação reprodutiva de galos se baseia principalmente em características fenotípicas. No presente trabalho buscou-se avaliar o potencial de associação de alguns parâmetros fenotípicos, como peso corporal (PC), escores de crista (ECR), escores de cloaca (ECL) e escores de pés (EP), com parâmetros morfológicos de testículos em galos Cobb® Mx em duas idades (25 e 45 semanas de idade). Galos leves apresentaram menor peso testicular (PT), menor diâmetro de túbulo seminífero (DT), e menores ECR e ECL que galos médios e pesados ( $P \leq 0.05$ ). Galos leves apresentaram maiores proporções de células de Sertoli (SE) e de Leydig (LE). Galos pesados possuem os maiores ECR e maiores valores para altura do epitélio seminífero (AE), e DT, juntamente com galos da categoria de peso médio. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as categorias de peso para escores de pé, índice gonadossomático (IGS), para as variáveis de proporção volumétrica de camada peritubular (CP); epitélio seminífero (ES); lúmen de túbulo seminífero (LTS); tecido conjuntivo intersticial (TCI); vasos sanguíneos e linfáticos (V); e porcentagens de túbulo seminífero (TS) e interstício (INT). Considerando-se o efeito da idade, galos com 45 semanas de idade apresentaram menores PT, IGS, S, LU, LE e TS que galos com 25 semanas de idade. Correlação positiva, moderada e significativa foi encontrada entre peso de testículo e características fenotípicas como escores de crista e de cloaca e peso corporal em galos de 45 semanas de idade. Foi encontrada correlação positiva, moderada e significativa entre peso corporal e características testiculares como DT e AE nas duas idades avaliadas. Conclui-se que em galos Cobb® Mx, ocorre regressão do peso testicular com o avanço da idade, e ela é mais intensa em galos com menor peso corporal. Além disso, conclui-se que o PC tem influência positiva no peso e qualidade histológica dos testículos, e que escores de crista e de cloaca podem ser utilizados com potencial moderado de predição para identificar galos com baixo peso de testículos em galos com 45 semanas de idade.

Palavras chave: matriz pesada, histomorfometria, testículo, características fenotípicas, regressão testicular

## ABSTRACT

As in other species, in broiler breeder roosters, the weight of the testis is positively associated with daily sperm production and any changes on testis will be reflected on fertility levels. In birds, the testis are located in the celomatic cavity, not being accessible to directly reproductive evaluation as mammalian testis. The reproductive evaluation of roosters is based on phenotypic characteristics. The aim of this paper was to evaluate the potential of association of phenotypic traits as body weight (BW), comb scores (COS), cloaca scores (CLS) and feet scores (FS) with testicular morphometric parameters in adult Cobb® Mx roosters in two ages (25 and 45 weeks of age). The low BW roosters had lighter testis (T), smaller seminiferous tubule diameter (STD) and lower COS and CLS than the medium and high BW roosters ( $P \leq 0.05$ ). Low BW roosters had bigger volumetric proportions of Sertoli (SC) and Leydig (LC) cells. Heavy roosters had the highest COS and bigger seminiferous epithelium height (SEH) and STD than the lighter roosters. There was no statistical difference between the BW categories in FS, gonadosomatic index (GI), in volumetric proportions of peritubular layer (PL), seminiferous epithelium (SE), lumen of the seminiferous tubule (LST), interstitial connective tissue (ICT), blood and lymphatic vessels (V) and percentage of seminiferous tubule (ST) and interstitial tissue (IT). Considering the age effect, roosters with 45 weeks of age had lower BW, GI, S, LST, LC and ST than 25-week roosters. Positive, moderate and significantly correlation was found between testis weight and phenotypic characteristics as BW, COS and CLS in 45week roosters, however these correlations were not seen in 25-week roosters. A positive, moderate and significantly correlation was found between body weight and histologic testicular characteristics as STD and SEH. In conclusion, there is a regression in the testis weight with age and it is more intense in Cobb® Mx roosters with lower BW. Furthermore, it is concluded that the BW positively influences the testis weight and histological quality of the testis. COS and CLS can be used with moderate potential prediction to identify roosters with low testis weight at 45 weeks of age.

Keywords: broiler breeder, histomorphometry, testis, phenotypic characteristics, testis regression

## 1. INTRODUÇÃO

Tem-se observado, no mundo, um aumento gradual no consumo de produtos de origem animal visando suprir as necessidades de ingestão de proteínas. A produção de carne de frango, por apresentar menor custo de produção quando comparada às carnes bovina e suína, ganhou destaque no mercado. O Brasil possui importante papel nesse setor, atingindo, em 2015, a marca de segundo maior produtor mundial de carne de frango, atrás apenas dos Estados Unidos, e mantendo a posição de maior exportador mundial nesse segmento (Livestock..., 2015). Nos últimos cinco anos, o consumo per capita de carne de frango aumentou em 43,02% e projeções mostram que até 2022 esse setor deve continuar a crescer 4,2% anualmente (Projeções..., 2011).

Para atender a demanda crescente por carne de frango é necessário aumentar, também, a produção de pintos de um dia, considerando-se o número de pintos por ave alojada, e a fertilidade de matrizes pesadas (*Gallus gallus domesticus*) desempenha um papel crítico nesse contexto. Os galos exercem grande influência nas taxas de fertilidade. Estima-se que, apenas um galo, durante toda a sua vida produtiva, seja responsável pela produção de 1530 pintos de corte (Maciel, 2006).

A eficiência reprodutiva dos galos está diretamente relacionada à expressão do potencial genético desses animais e a fatores externos como temperatura, umidade relativa do ar, luminosidade, manejo alimentar e peso corporal (Maciel, 2006). A seleção genética feita durante anos nas linhagens de matrizes pesadas é focada na produção de frangos de corte que consigam obter melhores índices de peso ao abate, rendimento de carcaça, peito e coxa/sobrecoxa com reduzida taxa de conversão alimentar (Vizcarra et al., 2010). Entretanto, esse sucesso visto na produção é contrastado com uma acentuada queda de fertilidade nas matrizes após as 45 semanas de idade, usualmente relacionada aos machos (Fragoso et al., 2013). Decréscimo dos níveis hormonais, queda na libido, menor concentração de espermatozoides no ejaculado, menor proporção de machos produzindo sêmen, além de problemas ósseos, locomotores e lesões nos coxins dos pés decorrentes de peso excessivo são alguns dos fatores responsáveis por essa queda na fertilidade (Hocking e Bernard, 1997; Maciel, 2006; Vizcarra et al., 2010).

Assim como em outras espécies, no galo doméstico, o peso dos testículos tem associação positiva com a produção diária de espermatozoides e com a fertilidade. Sabe-se que existe relação entre morfologia testicular, produção e qualidade do sêmen e que alterações nas gônadas do galo irão refletir na fertilidade (Hocking, 1990; Kirby et al., 1998). Nas aves, os testículos estão localizados dentro da cavidade celomática, e, portanto, não podem ser avaliados diretamente por exame andrológico, como em mamíferos. Devido à dificuldade de condicionamento desses animais para a coleta de sêmen, imposta pela criação em galpões, a avaliação de parâmetros seminais e de fertilidade individual não é feita nessa espécie sob condições comerciais de produção (Amann, 1999).

Alternativas de avaliação reprodutiva têm sido propostas para a seleção de galos geneticamente superiores e melhora da fertilidade. Entre elas, pode-se observar o uso de ultrassom testicular; a retirada de galos do plantel que apresentem características que possam levar à incompetência sexual, como, por exemplo, excesso ou deficiência de peso corporal; problemas associados a pernas e pés; e avaliação de características fenotípicas sugestivas de subfertilidade, tais como crista de baixa qualidade e cloaca pequena, pálida e seca (Amann, 1999; Rezende et. al., 2014).

Sabe-se que o peso corporal possui associação com o peso testicular e que, em galos com 71 semanas de idade, escores de crista e de cloaca podem ser utilizados com potencial moderado de

predição para identificar galos com baixo peso de testículos (Rezende et al., 2014). Com o objetivo de conhecer melhor o atual perfil reprodutivo de galos de matrizes pesadas e de buscar melhora na eficiência reprodutiva em lotes comerciais a partir da seleção de galos reprodutivamente superiores, é necessário o monitoramento do status reprodutivo de galos em diferentes fases da vida. Dessa forma, no presente trabalho, foram avaliadas características fenotípicas subjetivamente utilizadas na prática como critérios de seleção, em galos de matriz pesada provenientes de um lote comercial durante a puberdade e vida adulta. Foram estudadas características como peso corporal, morfologia de crista e de cloaca e condição de pés, além de parâmetros histológicos de testículos e as associações entre essas características.

## **2. HIPÓTESES**

- I. Galos com menor ganho de peso (categoria leve) têm menores escores de crista e de cloaca, bem como menores índices morfofuncionais dos testículos; enquanto galos com maior ganho de peso (categoria pesado) têm maiores escores de crista e de cloaca, bem como maiores índices morfofuncionais dos testículos;
- II. Galos adultos apresentam maiores escores de crista, cloaca, maior incidência de lesões nos coxins plantares e maior qualidade testicular que galos jovens.
- III. Existe associação entre características fenotípicas e características morfológicas testiculares compatíveis com maior produção espermática.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1. Geral**

Avaliar parâmetros fenotípicos de crista, cloaca, lesões de pé e peso corporal e a associação desses parâmetros com características testiculares durante a puberdade e vida adulta de galos de matriz pesada em condições normais de produção comercial.

### **3.2. Específicos**

- Verificar características de crista, cloaca e pés em diferentes categorias de pesos corporais;
- Comparar características testiculares em diferentes fases produtivas;
- Associar parâmetros fenotípicos de crista, cloaca, condição de pés e peso corporal com características testiculares.

## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1. Anatomia e fisiologia reprodutiva do galo

#### 4.1.1. Aparelho reprodutor

A diferenciação sexual tem início durante a vida embrionária e está associada a alguns fatores, tais como determinação do sexo cromossômico (estabelecida no momento da fertilização), diferenciação das gônadas, diferenciação dos genitais internos e externos (dependente do tipo de esteroide produzido) e da resposta de vários tecidos aos hormônios produzidos pelas gônadas para completar o fenótipo sexual. Nos mamíferos, a presença do cromossomo Y no genoma do embrião determina a evolução da gônada indiferenciada em testículos. A expressão do gene SR<sub>Y</sub> associado a esse cromossomo, leva à produção de um fator determinante de testículo (TDF) que, juntamente com a expressão de outros fatores, resulta na formação dos testículos. Em fêmeas, com a ausência do cromossomo Y e, portanto, desses genes, o embrião evolui naturalmente para o sexo feminino. Em aves domésticas, as fêmeas são o sexo heterogamético (ZW), mas o cromossomo W não influencia o desenvolvimento das gônadas de forma semelhante ao Y em mamíferos (Thurston e Korn, 2000).

O desenvolvimento do sistema genital em aves é controlado pela ação de hormônios produzidos durante a vida embrionária (Etches, 1996). A expressão de genes envolvidos na determinação sexual leva à produção do hormônio anti mulleriano, que inibe a diferenciação dos ductos de Muller em oviduto e, possivelmente, previne a expressão da enzima p450 aromatase, responsável pela conversão de andrógenos em estradiol, promovendo o desenvolvimento testicular e esteroidogênese (Thurston e Korn, 2000). Observou-se formação de testículo atípico e consequente fenótipo masculino em embriões femininos tratados com inibidores de p450 aromatase antes da diferenciação sexual (Abinawanto et al., 1996), ao passo que embriões machos expostos a estrógeno desenvolveram gônadas femininas (Nakabayashi et al., 1998). O crescimento e maturação de células de Sertoli e de Leydig, presentes nos cordões medulares da gônada indiferenciada, têm papel fundamental no desenvolvimento testicular de galos. As células de Sertoli produzem o hormônio anti mulleriano enquanto as células de Leydig iniciam a produção de andrógenos que promovem diferenciação das células germinativas, diferenciação dos ductos de Wolff em via seminífera extratesticular e desenvolvimento da genitália externa (Thurston e Korn, 2000).

O aparelho copulatório do galo consiste em um par de papilas dos ductos deferentes, um par de corpos vasculares paraclóacais, um par de pregas linfáticas e um falo, localizados na cloaca.

A cloaca das aves é a porção terminal comum dos sistemas digestório, urinário e reprodutivo. Apresenta-se em formato de cone e está dividida em coprodeu, urodeu e proctodeu. O coprodeu é o local onde termina o reto, e ambos são separados por uma prega anular que se encerra em um componente muscular circular, semelhante a um esfíncter. O urodeu é a porção mais curta dos três e é o local onde desembocam as papilas dos ductos deferentes e os ureteres. Na região mais externa, o proctodeu, encontram-se corpos linfáticos e pregas linfáticas além do falo, também chamado de pênis rudimentar (King, 1986).

O falo é formado por um corpo fático medial (corpo branco) e dois corpos fáticos laterais que são observados ao longo das pregas linfáticas e da prega uroproctodeal no animal em ereção (Bull et al., 2007). É o órgão responsável pela transferência de sêmen através do contato com a cloaca da fêmea em eversão durante a cópula. Durante a excitação sexual, a linfa, que chega aos corpos vasculares através da artéria pudenda interna, é separada do sangue e chega em grande quantidade ao falo através dos seios linfáticos. A pressão exercida por esse engurgitamento linfático, associada ao relaxamento do músculo retrator do pênis, leva à eversão da cloaca e protusão do falo. O sêmen é transferido pelo contato entre o falo e a vagina evertida da fêmea (Lake, 1957).

O galo não possui órgãos acessórios tais como vesícula seminal, próstata e glândula bulbouretral associados ao ducto deferente (Etches, 1996). Entretanto, segundo Nishiyama (1954) citado por Cesário (1994), as pregas linfáticas e os corpos vasculares são estruturas que podem ser consideradas análogas às glândulas acessórias reprodutivas dos mamíferos, uma vez que apresentam resposta positiva ao estímulo de andrógenos.

O fluido seminal é inteiramente derivado do testículo e dos ductos extra testiculares, o que faz com que o ejaculado das aves tenha baixo volume e alta concentração (tab.1) (Tingari e Lake, 1972). Normalmente possui coloração esbranquiçada, mas pode se tornar transparente e aquoso caso a concentração de espermatozoides esteja reduzida (Burke, 1996). Ao ser coletado por massagem da cavidade celomática, o sêmen pode ser contaminado com resíduos dos sistemas digestivos e urinário, além de linfa advinda dos seios linfáticos. A contribuição desses fatores não é facilmente controlada, existe considerável variação no volume e composição do sêmen entre indivíduos, e, em geral, machos produtores de frangos de corte (matriz pesada) produzem mais sêmen que aqueles produtores de poedeiras (matriz leve) (tab.1) (Etches, 1996).

Tabela 1 - Características do ejaculado de aves de diferentes espécies

Características do ejaculado	Tipo de reprodutor					
	Galo		Peru		Codorna	Galinha D'Angola
	Matriz Pesada	Matriz Leve	Pesado	Leve		
<b>Volume (ml)</b>	0,1 a 0,9	0,05 a 0,3	0,08 a 0,3	0,1 a 0,3	0,005 a 0,02	0,01 a 0,02
<b>Movimento de massa</b>	Presente	Presente	Presente	Presente	-	-
<b>Concentração espermática (10<sup>9</sup> células/ml)</b>	3,0 a 8,0	5,0 a 7,5	8,0 a 13,5	4,0 a 8,0	1,5 a 2,5	1,5 a 2,5
<b>Motilidade</b>	≥80%	≥80%	-	-	-	-
<b>Vigor</b>	≥3	≥3	≥3	≥3	≥3	≥3
<b>Espermatozoides normais</b>	≥90%	≥90%	-	-	-	-

Adaptado de Etches, 1994; Colégio..., 2013

Os espermatozoides devem possuir algumas características que os façam sobreviver no trato genital feminino até alcançar o óvulo. Primeiramente, devem apresentar motilidade progressiva a fim de alcançar as glândulas hospedeiras de espermatozoides (locais de armazenamento de espermatozoides na galinha). Desses locais, são transportados para o infundíbulo, onde devem ser capazes de se ligar e penetrar na membrana perivitelínica para que ocorra a fertilização (Etches, 1996). Assim como em outras espécies, os espermatozoides de galos são células altamente



especializadas constituídas por cabeça, peça intermediária e cauda. Possuem cabeça estreita e alongada e formato filiforme (Burke, 1996). Qualquer alteração nas características morfológicas pode comprometer a motilidade e sobrevivência dos espermatozoides. Segundo Correa e Arceo (1995), o percentual de defeitos espermáticos diminui com a idade, com 16% no início da vida reprodutiva dos galos e 11% durante a maturidade sexual.

#### 4.1.2. Testículos

No galo, os testículos são órgãos pares, localizados no interior do corpo, e são, proporcionalmente ao peso corporal, maiores que os de mamíferos. Se encontram fixados paralelamente à parede dorsal interna, adjacentes às glândulas adrenais e ventrais aos rins (Getty, 1981). Devido a sua localização, a produção de espermatozoides ocorre sob altas temperaturas corporais, que variam de 41 a 43°C. Segundo Mezquita et al. (1997), a presença de grandes quantidades de ubiquitina (proteína associada à termo tolerância) em espermátides de galos pode desempenhar importante função de proteção dessas células contra apoptose em altas temperaturas corporais e, com isso, a espermatogênese ocorre normalmente. Quanto ao formato, os testículos apresentam-se entre ovalado, alongado, curvo e tortuoso dependendo do seu grau de desenvolvimento. Possuem coloração amarelada no galo imaturo (até 20 semanas) e, a partir daí, sofrem aumento de tamanho e passam a ter formato ovalado e coloração esbranquiçada (Bull, 1994). Pode-se observar assimetria bilateral, com o testículo esquerdo ligeiramente mais pesado que o direito (Lake, 1957; Getty, 1981; Tyler e Gous, 2009), já que o testículo direito alcança seu máximo desenvolvimento às 23 semanas de idade, ao passo que o esquerdo continua crescendo até as 30 semanas (Bull et al., 2007). Diferentemente de mamíferos, o testículo de aves não é firme ao toque, provavelmente devido à fina espessura da túnica albugínea e à ausência de septos de tecido conjuntivo para o interior do órgão (Lake, 1957).

Internamente, os testículos são constituídos por duas partes morfológica e fisiologicamente distintas: os túbulos seminíferos e o tecido intersticial. Diferentemente da disposição em mamíferos, em aves não são observados septos de tecido conjuntivo partindo da túnica albugínea em direção aos túbulos seminíferos, que, portanto, não se encontram agrupados em lóbulos bem delineados e circundados por tecido conjuntivo, mas sim dispersos livremente no parênquima testicular (Rutz et al., 2005). Os túbulos seminíferos são envoltos por uma camada peritubular que, além de atuar como suporte mecânico e barreira fisiológica do túbulo seminífero, tem função de contratilidade, auxiliando no transporte de espermatozoides do interior dos túbulos para a via seminífera extratesticular (Rothwell e Tingari, 1973). É constituída internamente por fina membrana basal, em contato com as células do epitélio germinativo, e externamente por tecido conjuntivo contendo fibras colágenas, fibroblastos e células mióides contráteis (Aire e Ozegbe, 2007). Com o avançar da idade e aumento da atividade sexual, os túbulos seminíferos aumentam de diâmetro e a camada peritubular tende a ficar mais delgada (Rothwell e Tingari, 1973).

Os túbulos seminíferos de galos imaturos são constituídos por uma camada simples de células de Sertoli e espermatogônias, enquanto os machos maduros possuem túbulos compostos de epitélio germinativo com muitas camadas e células em diferentes estágios de desenvolvimento (Bakst e Bahr, 1995).

As células de Sertoli são responsáveis por sustentar, nutrir e comandar mudanças que devem ocorrer nas células germinativas durante a espermatogênese (Amann e Schanbacher, 1983). Possuem citoplasma que vai da base até o lúmen dos túbulos seminíferos, núcleo claro, de formato irregular arredondado a estrelado, que varia entre 5,6 e 8,1 µm e nucléolo que apresenta massa

proeminente (Gonzalez-Morán e Castro, 2010). Desenvolvem-se durante a vida embrionária a partir de tecido pluripotente da crista gonadal e são o tipo celular mais frequente até a 6ª semana de vida, presentes em contato imediato com espermatogônias indiferenciadas (Thurston and Korn, 2000). O número de células de Sertoli existente no testículo é proporcional ao seu tamanho, e está associado a capacidade de produção diária de espermatozoides, já que cada uma só consegue dar suporte a um número finito de células germinativas (Etches, 1996).

No galo sexualmente maduro, as células germinativas progridem em camadas em direção ao lúmen dos túbulos e constituem o epitélio seminífero. São representadas, em ordem de diferenciação, pelas espermatogônias, espermatócitos primários, espermatócitos secundários, espermátides e espermatozoides (de Reviers, 1971).

Os espaços formados entre as camadas peritubulares de três túbulos seminíferos adjacentes, geralmente dispostos em formato triangular, constituem o tecido intersticial composto por tecido conjuntivo frouxo, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e células endócrinas intersticiais, ou células de Leydig (Aire, 1997).

As células de Leydig encontram-se sozinhas ou agrupadas em pequeno número no tecido intersticial, mas raramente são encontradas entre os túbulos seminíferos onde suas respectivas lamina basais correm em paralelo (Aire, 1997). No galo doméstico, são células pequenas e possuem formato poligonal irregular. O núcleo geralmente é grande com formato alongado e apresenta cromatina granular com nucléolo proeminente. O citoplasma é rico em mitocôndrias e retículo endoplasmático liso e contém quantidades variáveis de gotículas de lipídios, que são utilizadas como precursores de andrógenos (Rothwell, 1973).

O comprimento, altura, largura e volume testiculares aumentam com o avançar da idade e seguem a mesma curva de crescimento corporal. Há um período de lento crescimento testicular até a 12ª semana de vida (1mg/d), correspondente à proliferação das células de Sertoli ainda imaturas, no qual o peso corporal aumenta mais rápido que o peso dos testículos (Thurston e Korn, 2000). Após esse período, os testículos passam por um intenso crescimento (87mg/d), correspondente ao período puberal, caracterizado pelo início da espermatogênese com proliferação das células germinativas e aumento no diâmetro dos túbulos seminíferos que pode se estender até a 28ª semana de vida (de Reviers, 1971; Gonzalez-Morán e Castro, 2010). Durante a fase adulta, o peso dos testículos sofre poucas variações até 40/45 semanas de idade, quando começa a decrescer à medida que os machos envelhecem. A variação no peso testicular e a queda na fertilidade variam entre linhagens, indivíduos e fatores ambientais e de manejo (Adjanohoun, 1994). Fragoso et al. (2013) observaram que, em matrizes pesadas Cobb 500, o peso dos testículos varia durante toda a vida reprodutiva. A partir de 19 semanas de idade ocorreu um aumento expressivo no peso dos dois testículos, que variou de 1g até mais de 50g, às 23 semanas. Observou-se regressão testicular entre 36 e 55 semanas de vida, resultando em um peso testicular total de 29,5g nessa idade.

A fertilidade de galos reprodutores pode ser avaliada histologicamente nos testículos a partir da observação do formato dos túbulos seminíferos; através da contagem dos tipos celulares (Lake, 1957); da mensuração do diâmetro tubular (Tanaka e Yasuda, 1980); determinação da altura do epitélio seminífero (Basurto-Kuba et al., 1984) ou proporção de túbulos em relação ao tecido intersticial (Aire, 1997). Segundo Aire (1997), os túbulos seminíferos de aves inativas sexualmente são fisiologicamente atroficos, com espessamento de camada peritubular, e possuem formato irregular com protusão de septos da membrana basal em direção ao lúmen.

### 4.1.3. Espermatogênese

A espermatogênese é definida como o processo em que as células germinativas se desenvolvem e se diferenciam até espermatozoides maduros. É caracterizada pela renovação de espermatogônias indiferenciadas e diferenciação até espermatócitos (fase de proliferação); meiose I e II dos espermatócitos; e espermiogênese (fase de diferenciação das espermátides até espermatozoides). É dependente de hormônios gonadotróficos e andrógenos (Kirby e Froman, 2000).

Durante a puberdade, há um gradual aumento na liberação pulsátil do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) no hipotálamo. O GnRH é secretado no sistema porta-hipotalâmico e transportado à hipófise anterior, que responde ao estímulo produzindo o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo estimulante (FSH), secretando-os no sistema circulatório. Vizcarra et al. (2004) observaram que em galos não há sincronismo entre os pulsos de LH e de FSH, o que sugere que essas gonadotrofinas são liberadas e reguladas de forma independente. Após sua liberação, LH e FSH se ligam a receptores específicos localizados, respectivamente, nas células de Leydig e de Sertoli presentes nos testículos (Thurston e Korn, 2000).

Células de Leydig possuem todo o aparato enzimático necessário para a produção de testosterona e respondem rapidamente ao estímulo do LH. Em galos com mais de 10g de peso testicular, observam-se, na circulação, pulsos na concentração de testosterona logo após pulsos de LH (Vizcarra et al., 2010). A testosterona é produzida a partir da conversão da pregnenolona, metabólito derivado da quebra de moléculas de colesterol, e no galo pode ser realizada por duas diferentes vias metabólicas, tendo como metabólitos intermediários a progesterona ou a diidroandrosterona (Nakamura e Tanabe, 1972). Segundo Tanabe et al. (1986), no galo, as concentrações de LH, testosterona e progesterona crescem durante o início da fase puberal, mas a última cai rapidamente durante a maturidade sexual e permanece baixa até o fim da vida reprodutiva. Em galos, a testosterona raramente é convertida em androstenediona ou outros metabólitos, o que revela que, nessa espécie, a testosterona é o produto terminal da esteroidogênese (Nakamura e Tanabe, 1972).

O FSH estimula a espermatogênese a partir da proliferação das células de Sertoli e induz a atividade de enzimas presentes nessas células, culminando na síntese de algumas proteínas, tais como proteína carreadora de tiamina e transferrina (Senger, 2003). Especula-se que a proteína carreadora de tiamina esteja envolvida no transporte de vitaminas para as células germinativas em desenvolvimento (Subramanian e Adiga, 1999), e que a transferrina intratesticular seja uma importante molécula utilizada no fornecimento do ferro necessário para a espermatogênese, já que a transferrina encontrada no plasma sanguíneo não consegue atravessar a barreira hemato-testicular (O'Bryan et al., 1997). Além do mecanismo de feedback por andrógenos, a secreção de FSH é regulada também pela inibina e ativina, por ação parácrina. A inibina controla a produção de andrógenos inibindo a secreção de FSH e a ativina estimula a secreção dessa glicoproteína. A folistatina é uma glicoproteína que pode modular as ações tanto da ativina quanto da inibina, entretanto, possui menor afinidade pela última (Thurston e Korn, 2000). Vizcarra et al., (2010) encontraram forte correlação positiva ( $r=0,95$ ) entre concentrações de FSH e peso testicular e sugeriram que variações nessa gonadotrofina podem prever a capacidade de produção espermática.

As espermatogônias são células diploides, presentes na base dos túbulos seminíferos, responsáveis tanto por se transformarem em espermatozoides ao longo da espermatogênese,

quanto por auto renovarem a quantidade de espermatogônias indiferenciadas durante a fase de proliferação (Russell et al., 1990). Observam-se espermatogônias-tronco com núcleo pálido, de formato oval e tamanho variável (diâmetro de 6 a 9  $\mu\text{m}$ ) e espermatogônias com núcleo menor e redondo (diâmetro de 4 a 6  $\mu\text{m}$ ), morfológicamente semelhantes a espermatócitos primários na fase de preleptóteno (de Reviers, 1971).

Seguindo o processo de diferenciação celular, as espermatogônias darão origem aos espermatócitos, células germinativas em processo de meiose, que podem ser classificados segundo seu processo de divisão celular: espermatócitos primários (meiose I) ou espermatócitos secundários (meiose II). Os espermatócitos primários podem, ainda, serem encontrados em diferentes fases da meiose I: preleptóteno, leptóteno, zigóteno, paquíteno e diplóteno (Russell et al., 1990). A medida que avançam as fases da meiose I, as células irão passar por modificações morfológicas que possibilitam caracterizá-las histologicamente. Espermatócitos primários em preleptóteno e espermatogônias, no galo, possuem semelhanças morfológicas e ocupam a mesma região do epitélio seminífero e, por isso, são classificados como células basais (de Reviers, 1971). Espermatócitos primários nas demais fases de desenvolvimento crescem de tamanho até chegar em fase de diplóteno (maiores células germinativas encontradas), passando de um formato arredondado para ovalado. Durante esse processo, pode-se observar condensação (leptóteno e zigóteno), pareamento (paquíteno) e divisão (diplóteno) dos cromossomos no núcleo das células. Espermatócitos secundários apresentam núcleos menores que os de espermatócitos primários, entretanto, possuem pequena longevidade e poucas estruturas distinguíveis, o que os torna de difícil identificação à microscopia óptica, sendo muitas vezes confundidos com espermátides (Russell et al., 1990).

As espermátides são células germinativas haploides que passam por alterações estruturais e de desenvolvimento até a formação de espermatozoides. Durante essa fase, também conhecida como fase de diferenciação, ou espermiogênese, as espermátides passam por formação do acrossoma, organização dos centríolos para a formação do flagelo, condensação e alongamento do núcleo, migração de mitocôndrias em direção à cauda com formação da bainha mitocondrial e eliminação de grande proporção do citoplasma (Thurston e Korn, 2000). Gunawardana e Scott (1977) citam que os primeiros estudos descritivos das mudanças morfológicas ocorridas nas espermátides durante a espermiogênese de galos foram feitos por Zlotnik (1947), que estudou as modificações de componentes citoplasmáticos dessas células. Cavazos e Mellampy (1954), citados por Gunawardana (1977) utilizaram o método de coloração PAS e classificaram as espermátides em quatro fases de desenvolvimento, utilizadas como determinantes dos estádios do ciclo do epitélio seminífero: fase de Golgi, fase de capa, fase acrossômica e fase de maturação. Já de Reviers (1971) baseando-se na morfologia nuclear das células, descreveu três categorias e oito estádios de espermátides. Gunawardana (1977), utilizando técnica histológica diferenciada, com inclusão em resina e cortes semi-finos de fragmentos de testículos, conseguiu determinar 10 estádios de espermátides durante a espermiogênese. Segundo de Reviers (1968), o intervalo necessário do início da meiose até a formação completa de espermatozoides varia de 10 a 14 dias no galo doméstico.

#### **4.1.4. Via seminífera extratesticular**

Diferentemente de mamíferos, o galo não possui os epidídimos subdivididos em cabeça, cauda e corpo (Lake, 1957). Após serem produzidos, os espermatozoides são levados dos túbulos seminíferos para a região epididimária através da comunicação direta com a rede testicular ou através dos túbulos retos, que possuem curta extensão e são dificilmente observados em secções

histológicas (Aire, 1982). A região epididimária recebe os espermatozoides na seguinte ordem: rede testicular/túbulos retos, ductos eferentes proximais e distais, túbulos curtos de conexão e ductos epididimários (Hess et al., 1976). Em aves, os ductos eferentes compõem de 70% da região epididimária (Aire, 1982). Além de pregas responsáveis por aumentar a área de superfície, os ductos eferentes proximais apresentam epitélio pseudo-estratificado contendo células ciliadas e não ciliadas responsáveis pela reabsorção de fluido, transporte, concentração espermática e secreção proteica (Ilio e Hess, 1994). A motilidade é adquirida à medida que os espermatozoides passam pela região epididimária. Segundo Howarth Jr. (1983) a movimentação dos espermatozoides é de 19% nos testículos e de 88% nos ductos eferentes.

Os ductos eferentes se conectam, através de túbulos curtos, aos ductos epididimários. Tratam-se de ductos espiralados, que correm da extremidade cranial para a caudal da superfície dorsal do epidídimo. A sua parte proximal é estreita, mas observa-se um aumento crescente em seu diâmetro à medida que se aproximam da extremidade caudal do epidídimo. Nesse local, abrem-se em pequenas dilatações dos ductos eferentes distais, conhecidas como ductos ejaculatórios, que constituem o principal local de armazenamento de espermatozoides do galo. São pares de tubos de formato cônico de 2 a 5 mm, com capacidade erétil, que se projetam nas papilas dos ductos eferentes presentes no urodeu da cloaca (Lake, 1957; Aire, 1982).

## **4.2. Fenótipo vs. Reprodução**

### **4.2.1. Características sexuais secundárias**

Na indústria avícola, a seleção dos galos é feita por características fenotípicas, tais como aspectos da crista e barbelas, cloaca, empenamento, condições dos pés e peso corporal. Essas características podem ser um indicativo do desenvolvimento testicular, já que os caracteres sexuais secundários são estimulados pela testosterona e diidrotestosterona durante seu desenvolvimento (Zeller, 1971).

O desenvolvimento e o tamanho da crista se associam com peso testicular e fertilidade (McGary *et al.*, 2002). Galos com crista mais vistosa cantam mais e atraem mais fêmeas (Graves et al., 1985; Parker e Ligon, 2002). Tyler e Gous (2009) observaram que há associação positiva e significativa entre o peso médio dos testículos e a área de crista em galos de matriz pesada Ross ( $r^2 = 0,69$ ;  $P < 0,001$ ). Celeghini et al. (2001) avaliaram as características seminais de galos da linhagem AgRoss divididos de acordo com o desenvolvimento da crista, durante todo o período reprodutivo desses animais (22 a 71 semanas de vida). Os galos com crista desenvolvida apresentaram médias de volume seminal, concentração espermática, motilidade e vigor maiores que os galos sem crista desenvolvida, no período compreendido entre 24 e 31 semanas de idade. Entretanto esses resultados não persistiram até o final do período reprodutivo, o que evidencia, segundo os autores, que a seleção de galos pela observação do desenvolvimento de crista seria um método eficiente somente no momento inicial. A coloração da crista é relacionada positivamente com a viabilidade espermática (Navara et al., 2012). Especula-se que a coloração vermelha escura de cristas e barbelas de galos seja o resultado do influxo de sangue (em particular, hemoglobina) em uma camada de pele muito vascularizada (Stettenheim, 2000). Pigmentos carotenoides responsáveis por muitas das cores vermelha, amarela e alaranjada na natureza foram isolados da crista de galinhas domésticas (Czeczuga, 1979). Tanto carotenoides quanto a hemoglobina demonstraram propriedades antioxidantes, que poderiam estar relacionadas com a

melhor viabilidade dos espermatozoides em galos com crista mais pigmentada (Gabbianelli et al., 1998; Blount et al., 2001; Navara et al., 2012).

Em galos domésticos, alguns aspectos da morfologia da cloaca parecem se associar com o status reprodutivo. Em um trabalho realizado por Fantini (2007), observou-se que galos de matriz pesada AgRoss 308 submetidos a períodos de jejum de cinco e sete dias apresentaram menores diâmetros de cloaca que os galos alimentados normalmente, além de diminuição em parâmetros testiculares como peso, comprimento, largura e espessura. Observou-se também correlação positiva, moderada e significativa entre peso corporal e coloração de cloaca.

Rezende et al. (2014) determinaram escores de cloaca e crista e associaram esses valores com características morfométricas de testículo em galos com 71 semanas de idade divididos em três categorias de peso (leve: <4,3 kg, médio 4,3 a 5,25 kg e pesado: >5,25 kg). Os autores observaram que o peso do testículo tem associação positiva, moderada e significativa com características histológicas compatíveis com maior capacidade de produção espermática. Nesse mesmo trabalho, galos da categoria pesado apresentaram maiores escores de crista e de cloaca, além de maior peso de testículos quando comparados aos galos da categoria leve. Ou seja, escores de cloaca e de crista podem ser utilizados com potencial moderado de predição para identificar galos com baixo peso de testículos.

As aves são reprodutores sazonais de dias longos e a quantidade de luminosidade pode influenciar diretamente na espermatogênese e nas características sexuais secundárias. O impulso luminoso atua em um receptor extra retinal e estimula o hipotálamo. A liberação de GnRh pelo hipotálamo promove a secreção das gonadotropinas LH e FSH, que controlam a função testicular e, conseqüentemente, múltiplas funções reprodutivas, comportamentais e fenotípicas (Etches, 1994). As aves possuem uma fase fotossensível na qual são capazes de detectar aumento ou diminuição do período de luminosidade diário. Essa fase, que tem a duração de duas horas, se estabelece 11 horas após o primeiro estímulo luminoso captado pelos receptores hipotalâmicos. Se, durante a fase fotossensível, houver um novo estímulo luminoso, o relógio circadiano entenderá que o dia é longo e a reprodução será estimulada (Bachman et al., 1986). Em períodos de dias curtos, quando um segundo estímulo luminoso não é detectado na fase sensível, a melatonina inibe a secreção de LH e, com isso, aves sazonais apresentam espermatogênese irregular e até mesmo atrofia do epitélio germinativo durante esse período (Muncher et al., 1995). Alguns autores não encontraram efeitos de fotoperíodo influenciando características reprodutivas e afirmam que o galo doméstico, por ter sido selecionado durante anos para reprodução contínua, perdeu essa dependência sazonal e exibe desenvolvimento testicular independente de condições climáticas, limitado somente pelo avanço da idade e condições patológicas (Parker e McCluskey, 1963, citado por Maciel, 2006; Muncher et al., 1995; Beaupré et al., 1997). Entretanto, outros autores mostram que ainda há um efeito da sazonalidade vestigial no mecanismo neuroendócrino que controla o desenvolvimento das gônadas e de características sexuais secundárias de galos. De Reviers (1980), observou que, em galos de matriz leve e pesada, um fotoperíodo contínuo não exerceu nenhum efeito no desenvolvimento dos testículos durante o crescimento até as 12 semanas de idade. Entretanto, durante o período puberal (12 a 24 semanas), dias curtos constantes de oito horas de luz retardaram a maturidade sexual em duas a quatro semanas, mas evitaram uma queda posterior do peso dos testículos, mantendo-os com peso médio de mais de 16 gramas até um período superior a 50 semanas.

Em um trabalho de Bachman et al. (1986), galos de matriz leve com 31 semanas de idade fotoestimulados com 24 horas de luz por dia durante quatro semanas, apresentaram maiores

parâmetros como concentração de testosterona, peso corporal, peso médio dos testículos, tamanho de crista e comportamento mais agressivo que aqueles fotoestimulados com 14 horas de luz. Segundo o autor, esse resultado demonstra que o fotoperíodo também influencia o fenótipo das características sexuais secundárias e o comportamento.

#### **4.2.2. Peso corporal**

A seleção genética para maior ganho de peso e melhor deposição de carne, em frangos de corte, tem sido acompanhada pelo aumento no consumo de alimento pelas matrizes (Renema e Robinson, 2004). Os centros de controle periféricos inibitórios de apetite têm sido alterados em linhagens de frangos de corte (Denbow, 1994), fazendo com que as aves se alimentem próximos à capacidade máxima intestinal (Brokkers e Koene, 2003). Estes animais não conseguem regular adequadamente o consumo voluntário para atingirem a exigência energética, o que altera o balanço cumulativo na ingestão de alimentos, podendo levar a um acúmulo de lipídios a longo prazo (Richards, 2003).

O sobrepeso tem implicações negativas na viabilidade das aves e na reprodução. Aves com excesso de peso possuem sistema imunológico menos ativo e maior propensão a distúrbios cardiovasculares (Katanbaf et al., 1989 citados por Rezende, et al., 2014). O excesso de peso pode resultar, também, em injúrias locomotoras (discondroplasia tibial e destruição da capsula articular levando a ruptura de tendões e ligamentos), e aumento na incidência de pododermatites e infecções estafilocócicas, prejudicando, portanto, a capacidade de cópula com consequente diminuição no percentual de eclodibilidade dos ovos (Adjanohoun, 1994; Fragoso et al., 2013). Em outro extremo, animais com baixo peso corporal podem comprometer as taxas de fertilidade ao serem impedidos pelos machos dominantes de acasalar (Hocking e Bernard, 1997); ao se alimentarem de ovos férteis, já que muitas vezes são animais subalimentados (Baião e Lúcio, 2005); e por possuírem testículos subdesenvolvidos incompatíveis com adequadas taxas de fertilidade (Ross, 2004).

O manejo de controle de peso corporal é mais rigoroso nos machos que nas fêmeas, devido à maior expressividade das características genéticas para apetite, ganho de peso, conversão alimentar e conformação corporal. Animais fora das condições ideais (excesso de peso, machucado, excessivamente leve) devem ser retirados da produção (Baião e López, 2001). Brown e McCartney (1983) constataram que aves em restrição alimentar usualmente adotada em granjas comerciais, apresentam maior persistência do peso dos testículos do que aves alimentadas à vontade, que tem sua fertilidade prejudicada a partir das 40 semanas de idade. Diante disso, torna-se necessária a adoção de manejos de restrição alimentar durante toda a vida produtiva em criações comerciais, além do controle no arraçamento, no qual o espaço de comedouro e a velocidade de arraçamento devem ser monitorados visando evitar que machos comam ração das fêmeas e, conseqüentemente, ocorra maior desenvolvimento de machos dominantes (Lara, 2015).

Machos selecionados devem ter uniformidade de peso corporal, sem anormalidades físicas com um bom empenamento, boa postura e boa musculatura. As características de maturidade sexual (coloração e crescimento de crista e barbela e tamanho, coloração e umidade de cloaca) devem indicar que os machos selecionados estão igualmente uniformes e em boas condições de maturidade sexual. Problemas relacionados lesões nos coxins plantares e pododermatites podem impedir os machos de realizar montas completas, e são, então, fatores de descarte (Ross, 2013). Hocking e Bernard (1997) sugerem que o peso corporal ótimo para maximizar a fertilidade de

galos de matriz pesada às 60 semanas de idade varia de 4,00 a 5,00 Kg e que ganho de peso controlado ao longo da vida reprodutiva tem implicações positivas na fertilidade.

### **4.2.3. Idade**

No galo, há uma queda na fertilidade, dada em porcentagem de ovos incubáveis, com o aumento da idade. Em galo de matriz pesada *Cornish*, a fertilidade alcança um pico de 96% de ovos incubáveis entre 23 e 32 semanas de idade, e decresce rapidamente após as 48 semanas atingindo valores de 68% às 70 semanas, idade em que, por razões econômicas, os galos já são considerados de baixa fertilidade. (Muncher et al., 1995). Em condições de produção, especula-se que a queda na fertilidade é causada por menor volume de sêmen (Hocking, 1990), menor produção de espermatozoides no ejaculado (Hocking, 1990; Brake, 1999), redução na porcentagem de galos produzindo sêmen (Couto et al., 1998) e pela redução da libido (Fragoso, et al., 2013).

Rosenstrauch et al., (1994) observaram pico de fertilidade em galos com 32 semanas de idade com posterior queda gradual até as 110 semanas. Os autores atribuem essa queda à diminuição da concentração de espermatozoides/ml de sêmen e do número total de espermatozoides no ejaculado, e ao aumento no número de complexos de células de Sertoli com espermátides ou espermatozoides retidos em seu citoplasma, o que indica falha na espermiacção. Alterações morfológicas nas células de Leydig, como redução de citoplasma, de organelas e de gotículas de lipídios ou até mesmo degeneração dessas células estão associadas à queda na fertilidade (Rosenstrauch et al.,1998). Fragoso et al. (2013) ao estudar galos Cobb 500 demonstraram que com o avançar da idade observa-se queda no peso dos testículos associada a quedas nas concentrações de testosterona, no número de cópulas e na produção espermiática. Além disso, pode-se observar acentuado aumento nas concentrações de cortisol, hormônio relacionado ao estresse e que interfere negativamente na reprodução, principalmente em galos mais leves, que, numa escala hierárquica, sofrem mais agressões e comem menos (McGary et al., 2005).

Apesar de evidências mostrarem queda no percentual de ovos incubáveis com a idade, a produção de espermatozoides pode ser mantida em níveis satisfatórios durante todo o período reprodutivo. Manter um bom programa de luz, evitar estresse calórico e, principalmente, adotar um manejo nutricional capaz de manter galos com boa uniformidade de peso corporal, evitando o estabelecimento de dominância com galos muito leves ou muito pesados, são medidas importantes a serem tomadas (Hocking e Bernard, 2000).

## **5. MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1. Animais e tratamentos**

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG (Protocolo nº.79/2015) (Anexo I).

Os animais utilizados foram provenientes de um matrizeiro situado em Pitangui-MG. Pintos machos e fêmeas, da linhagem Cobb® Mx, foram criados de maneira convencional, separadamente, até 22 semanas de idade, respeitando a densidade de criação, iluminação e



temperatura ambiente recomendada pelo manual da linhagem, com fornecimento hídrico *ad libitum* e submetidos a restrição alimentar.

Com 22 semanas de idade, considerada como fase de produção, os machos e as fêmeas passaram a ser criados juntos, na proporção de 1 macho para cada 10 fêmeas. Na fase de produção, utilizou-se comedouro automático do tipo calha para fêmeas e comedouro manual suspenso tipo calha para machos com a finalidade de evitar que machos se alimentassem no comedouro das fêmeas. As dietas foram as mesmas para machos e fêmeas, segundo manejo de rotina da granja. A quantidade de alimento fornecida seguiu a tabela da linhagem com ajustes semanais visando manter o padrão de peso da linhagem em cada semana de criação.

Durante todo o período de produção os animais receberam 14 horas contínuas de luz por dia, independentemente do fotoperíodo natural, já que nos meses em que os dias foram mais curtos, o período de luz natural foi complementado e antecedido por luz artificial.

Para esse experimento, duas idades foram avaliadas: 25 semanas de idade (coleta em fevereiro de 2015), considerada como o início da vida reprodutiva, e 45 semanas de idade (julho de 2015), considerada como idade adulta. Em cada idade avaliada, pesou-se uma amostra aleatória de aproximadamente 3% do total de galos do galpão, antes do primeiro arraçamento da manhã (7:30am). A partir desse dado, três categorias de peso foram estabelecidas. Os valores de peso  $\pm 10\%$  da média de peso da amostragem foram considerados como limítrofes entre as categorias pesado/médio e médio/leve, conforme metodologia utilizada por Rezende et al. (2014).

Foi utilizado um total de 60 animais, com 30 galos em cada idade, divididos nas três categorias: leve, médio e pesado. Os tratamentos e os valores de peso corporal utilizados na determinação das categorias de peso nas diferentes idades estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição dos animais segundo a idade e o peso corporal

Categoria de peso	Idade		Total
	25 semanas (Média = 3,8Kg)	45 semanas (Média = 4,71Kg)	
Leve	10 galos $\leq 3,42\text{Kg}$	10 galos $\leq 4,24\text{Kg}$	20 animais
Médio	10 galos entre 3,43 e 4,17Kg	10 galos entre 4,25 e 5,17Kg	20 animais
Pesado	10 galos $\geq 4,18\text{Kg}$	10 galos $\geq 5,18\text{Kg}$	20 animais
<b>Total</b>	30 animais	30 animais	60 animais

## 5.2. Determinação dos escores

Após a pesagem e estabelecimento das categorias de peso, todos os galos foram inspecionados, por um mesmo avaliador treinado, para a avaliação da morfologia de crista e de cloaca e presença de lesões nos pés, seguindo a mesma metodologia descrita por Rezende et al. (2014).

### 5.2.1. Escore de crista

Os escores de crista foram determinados subjetivamente, por inspeção visual de tamanho, coloração, turgidez e aspecto da pele da crista. Esses parâmetros fenotípicos foram mensurados em todos os galos e registrados, conforme a Tabela 3.

Tabela 3 – Galo doméstico. Características observadas para determinação do escore de crista

<b>Características avaliadas na crista</b>	<b>Escore de crista</b>
Crista subdesenvolvida e/ou pálida e/ou murcha com pele rugosa	1
Crista média ou grande, vermelha clara, túrgida e com pele lisa	2
Crista grande, vermelha intensa, túrgida e com pele lisa	3
Crista muito grande, vermelha intensa, túrgida e com pele lisa	4

Adaptado de Rezende et al. (2014)

### 5.2.2. Escore de cloaca

Os escores de cloaca foram determinados por inspeção visual de tamanho, coloração e lubrificação da cloaca. Para cada um desses aspectos foi dada uma pontuação, e o escore foi obtido a partir do somatório desses pontos, com valor mínimo 3 e valor máximo 8 (Tab.4).

Tabela 4 – Galo doméstico. Características observadas para determinação do escore de cloaca

<b>Características avaliadas na cloaca</b>	<b>Escore de cloaca</b>
<i>Tamanho</i>	
Pequena	1
Média	2
Grande	3
<i>Coloração</i>	
Pálida	1
Vermelho claro	2
Vermelho intenso	3
<i>Lubrificação</i>	
Seca	1
Úmida	2
<b>Total</b>	<b>3-8</b>

Adaptado de Rezende et al. (2014)

### 5.2.3. Escore de pé

Para a determinação da qualidade dos pés, foi avaliada a presença e intensidade de lesão no coxim plantar (calo de pé), que pode levar ao aparecimento de infecções e, por causarem desconforto, podem reduzir a atividade de cobertura. Foi dada uma pontuação levando-se em consideração a

presença em um ou ambos os pés e a intensidade das lesões, podendo o escore variar de 0 (ausência de lesões) a 6 pontos (calos intensos em ambos os pés) (Tab. 5).

Tabela 5 – Galo doméstico. Características observadas para determinação do escore de pé

Características avaliadas nos pés		Escore de pé
<i>Ausência de calos</i>		0
<i>Leve</i>		
	Em um pé	1
	Nos dois pés	2
<i>Moderado</i>		
	Em um pé	2
	Nos dois pés	4
<i>Intenso</i>		
	Em um pé	3
	Nos dois pés	6

### 5.3. Índice gonadossomático (%)

Após as avaliações fenotípicas e determinação dos escores, os galos foram identificados pelas pernas através de anilhas numeradas, separados em caixas, de acordo com a categoria de peso, e transportados ao abatedouro localizado no município de Pitangui-MG.

No abatedouro, os galos foram içados pelos membros pélvicos, insensibilizados com choque elétrico e abatidos pela secção dos grandes vasos cervicais, seguindo as normas de abate humanitário. Em seguida, os testículos foram removidos e pesados individualmente em balança analítica digital.

Para o cálculo do índice gonadossomático (IGS), o somatório dos pesos dos testículos direito e esquerdo (em gramas) foi dividido pelo peso corporal do animal (em gramas) e o resultado foi multiplicado por 100, segundo a fórmula:

$$\text{IGS} = \text{PT/PC} \times 100$$

Na qual,

**PT** = Peso dos testículos

**PC** = Peso corporal

### 5.4. Histologia dos testículos

Após separação e pesagens, os testículos foram acondicionados em solução fixadora de Karnovsky (paraformaldeído a 4% e glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,2M pH 7,2). Foram colocados inteiros e sem remoção da albugínea em recipientes contendo a solução fixadora onde permaneceram por duas horas em temperatura ambiente. Essa pré-fixação é usualmente utilizada em galos, já que, nessa espécie, a túnica albugínea é delgada e não emite septos de tecido conjuntivo para o interior do parênquima testicular, e dessa forma, os testículos perderiam sua organização estrutural caso seccionados prontamente, inviabilizando o processamento histológico posterior.

Após as duas primeiras horas de pré-fixação, foram realizados alguns furos, utilizando agulha de costura, na albugínea dos testículos, a fim de melhorar a penetração do fixador. O testículo esquerdo de todos os galos foi selecionado para histologia. Um corte sagital foi efetuado ao longo dos testículos, dividindo-os em duas metades, que foram acondicionadas em uma nova solução de Karnovsky. Com a completa fixação do tecido, fragmentos com 2,0 por 3,0 cm e aproximadamente 3mm de espessura foram obtidos na região central dos testículos, sempre mais próxima à superfície, onde a preservação tecidual é melhor. Os cortes foram, então, observados em lupa estereoscópica para a verificação se os túbulos seminíferos se encontravam cortados transversalmente.

Os fragmentos obtidos foram desidratados em banhos de imersão, de 30 minutos de duração cada, em baterias de álcoois de concentrações crescentes (70%, 80%, 90% e álcool absoluto I e II). Após o segundo banho de álcool absoluto, os fragmentos foram imersos em resina histoquímica (Leica), composta de solução de Metil-Metacrilato (MMA I), por duas horas. Os fragmentos foram, então, transferidos para uma nova solução de Metil-Metacrilato (MMA II), onde permaneceram por 24 horas. Em seguida, foram incluídos em solução composta por MMA acrescida do catalisador (peróxido de benzoíla), conforme recomendação do fabricante. Com o completo endurecimento da resina, os fragmentos foram colados em suporte de madeira e cortados em secções de 3µm de espessura utilizando-se navalha de vidro em micrótomo eletrônico. As lâminas foram coradas em solução de azul de Toluidina e montadas com Entellan® (Merck), segundo técnica de rotina.

#### **5.4.1. Diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero**

Para as análises do diâmetro tubular; altura do epitélio seminífero; proporção volumétrica dos constituintes e proporção volumétrica de túbulos e área intersticial, imagens digitais dos campos histológicos foram obtidas através de câmera acoplada em microscópio presente no laboratório de biologia celular do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Utilizou-se o software cell<sup>^</sup>F para a obtenção das imagens e o software ImageJ v1.50f para as análises.

O diâmetro tubular médio por animal foi obtido a partir da mensuração de imagens correspondentes a 20 secções transversais de túbulos seminíferos por animal, em aumento de 200x. Foram obtidos de forma aleatória os túbulos que apresentavam contorno o mais circular possível. Para as mensurações, foram feitas duas medidas perpendiculares em cada campo (Fig.1), e a média aritmética entre esses valores foi utilizada para as análises estatísticas.

As mesmas imagens utilizadas para mensuração dos diâmetros foram utilizadas para mensuração da altura do epitélio seminífero. A partir da medida do menor diâmetro, foram realizadas duas medidas de altura de epitélio, tomadas a partir da membrana basal até o lúmen tubular (Fig.1), conforme metodologia utilizada por Rezende et al. (2014). A média aritmética entre esses valores foi utilizada para as análises estatísticas.

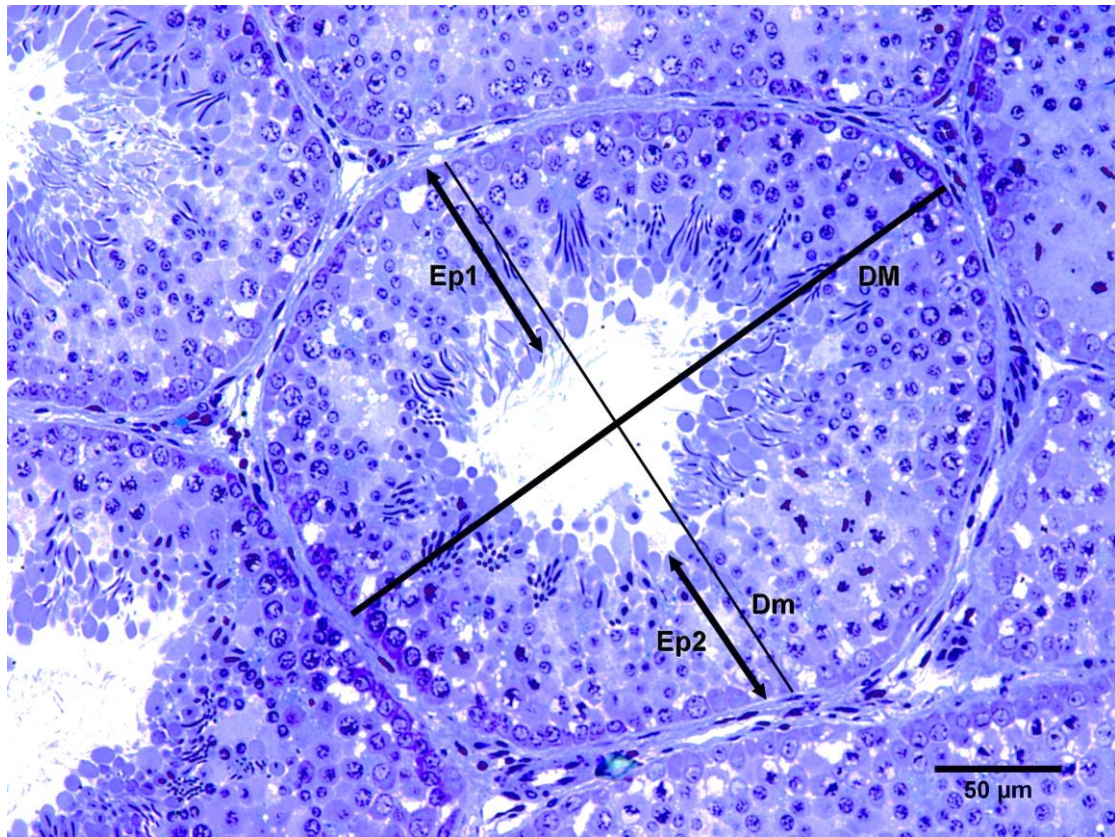


Figura 1 – Galo doméstico. Túbulo seminífero em corte transversal. Fotografia esquematizando as mensurações de diâmetro maior (DM), diâmetro menor (Dm) e alturas de epitélio seminífero (Ep1 e Ep2). Galo da categoria leve com 45 semanas de idade (200x, Azul de Toluidina).

#### 5.4.2. Proporção volumétrica de túbulo seminífero e tecido intersticial

Para o estudo da proporção volumétrica de túbulo seminífero (TS) e tecido intersticial (INT) foram utilizados 10 campos aleatórios em aumento de 200x sobre os quais foi sobreposta graticula com 475 interseções equidistantes consideradas como pontos. Todos os pontos foram contabilizados de acordo com a estrutura em que incidiam (Fig. 2).

O somatório dos pontos incidentes em cada uma das estruturas avaliadas foi dividido por 4.750 e multiplicado por 100 para obtenção da proporção volumétrica. Como a densidade do testículo é em torno de 1, a massa do testículo foi considerada igual a seu volume (França et al., 2003).

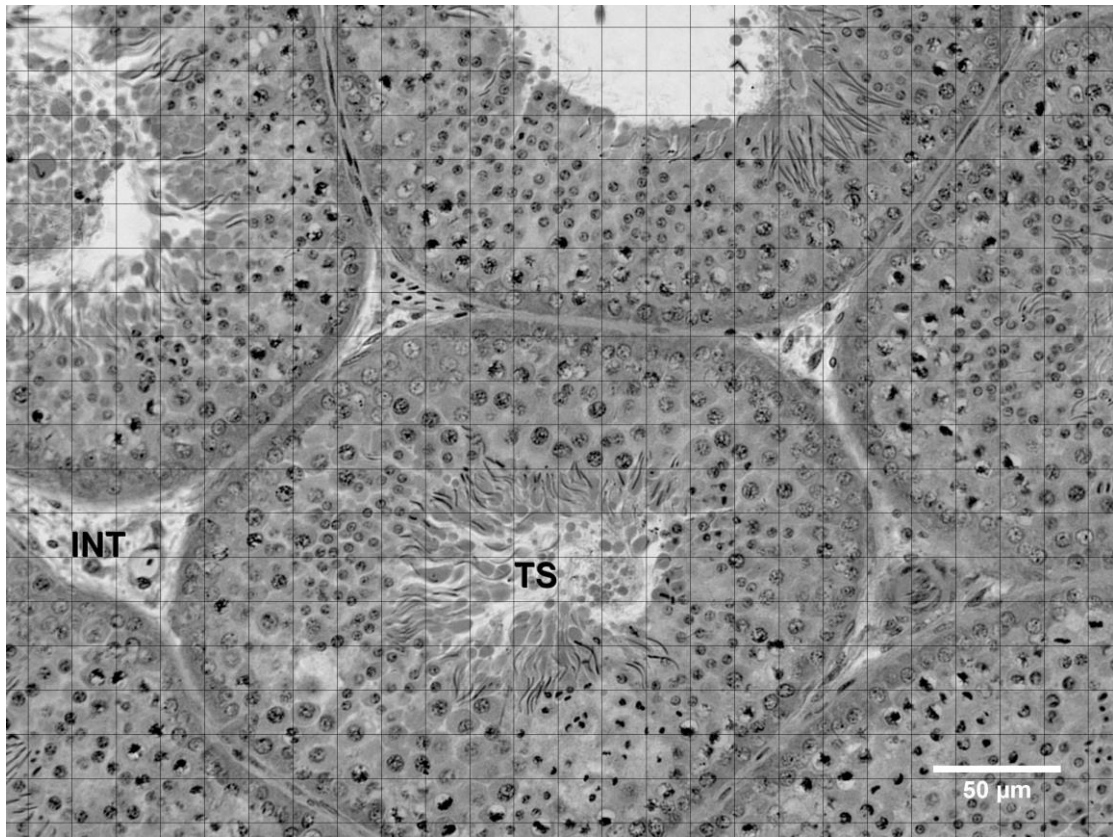


Figura 2 – Galo doméstico. Grade de 475 pontos equidistantes sobrepondo campo de testículo cortado transversalmente evidenciando túbulos seminíferos (TS) e tecido intersticial (INT). Galo da categoria pesado com 25 semanas de idade. (200x, Azul de Toluidina).

#### 5.4.3. Proporção volumétrica de constituintes dos testículos

O estudo da proporção volumétrica de constituintes dos testículos foi realizado utilizando-se fotos em aumento de 400x sobre as quais foi sobreposta uma grátula com 475 interseções equidistantes consideradas como pontos. Foram analisados 10 campos aleatórios por lâmina, totalizando 4750 pontos por animal. Todos os pontos foram contabilizados de acordo com a estrutura em que incidiam (Fig. 3).

O somatório dos pontos incidentes em cada uma das estruturas avaliadas foi dividido por 4.750 e multiplicado por 100 para obtenção da proporção volumétrica. Como a densidade do testículo é em torno de 1, a massa do testículo foi considerada igual a seu volume (França et al., 2003). As estruturas analisadas foram:

Nos túbulos seminíferos:

- I. Camada peritubular (CP) – pontos que incidiram sobre a membrana basal, células mióides e tecido conjuntivo peritubular e seus constituintes celulares;
- II. Epitélio seminífero (ES) – pontos que incidiram sobre células do epitélio seminífero, independentemente do estágio de desenvolvimento e sobre os espaços intercelulares;
- III. Células de Sertoli (SE) - pontos que incidiram somente sobre o núcleo dessas células;

- IV. Lúmen de túbulo seminífero (LTS) – pontos que incidiram sobre a área de lúmen, inclusive em células ou debris celulares presentes no interior desse local;

No tecido intersticial:

- V. Células de Leydig (LE);  
VI. Tecido conjuntivo intersticial (TC) – pontos que incidiram em qualquer ponto do interstício que não fosse vasos ou células de Leydig;  
VII. Vasos intersticiais (VI) – pontos que incidiram sobre o lúmen, endotélio e células endoteliais de vasos sanguíneos e linfáticos.

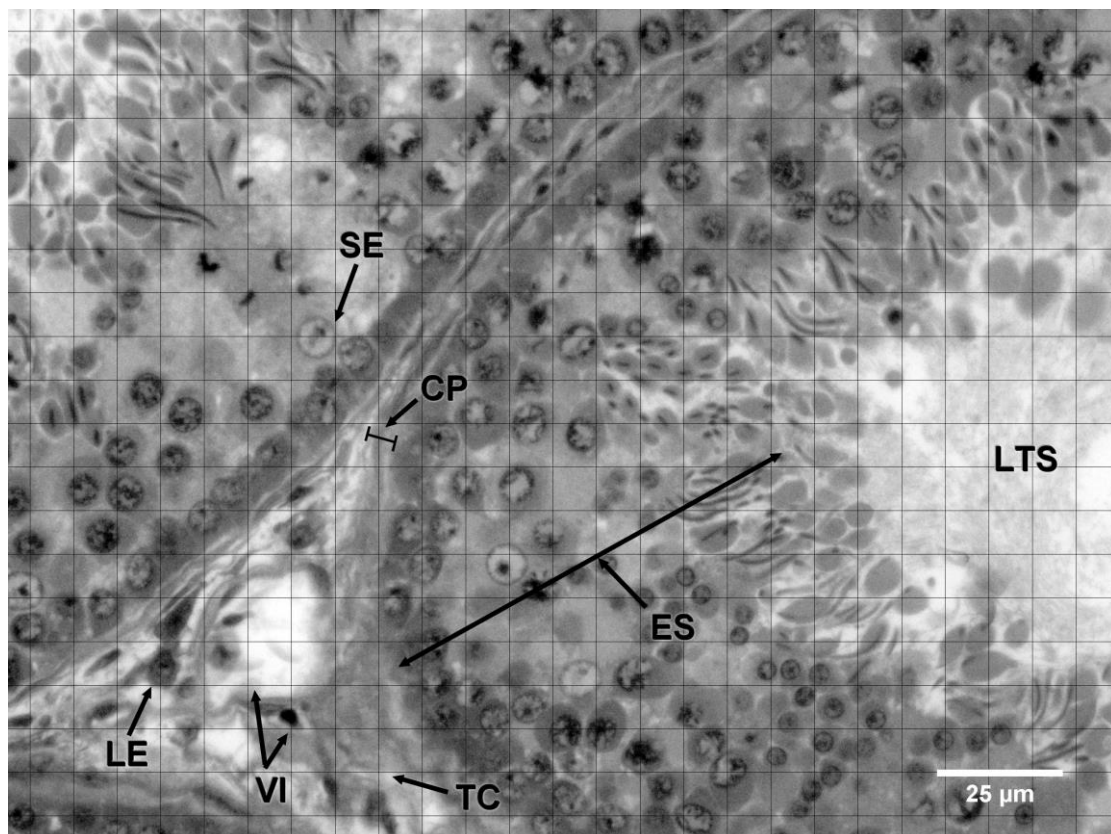


Figura 3 – Galo doméstico. Grade de 475 pontos equidistantes sobrepondo campo de testículo cortado transversalmente evidenciando estruturas analisadas: camada peritubular (CP), epitélio seminífero (ES), células de Sertoli (SE), lúmen de túbulo seminífero (LTS), células de Leydig (LE), tecido conjuntivo intersticial (TC) e vasos intersticiais (VI). Galo da categoria pesado com 45 semanas de idade. (400x, Azul de Toluidina).

#### 5.4.4. Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi completamente ao acaso, em esquema fatorial 2x3: duas idades (25 semanas e 45 semanas) e três categorias de peso (leve, médio ou pesado) com 10 repetições cada, sendo a unidade experimental constituída de 1 animal. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SAS (SAS Institute, 2002) com nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

Os dados normais e com variâncias homogêneas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (coeficiente de variação menor que 10%) ou Duncan (coeficiente de variação maior que 10%).

Para variáveis com distribuição não normal, tais como os escores de crista (ECR), escore de cloaca (ECL), escore de pé (EP) e o percentual de células de Sertoli (SE), as comparações das médias de idade foram realizadas utilizando o teste de Mann & Whitney e as médias das faixas de peso foram comparadas utilizando o teste de Kruskal-Wallis, e em caso de significância, foram comparadas duas a duas utilizando o teste de Mann & Whitney.

Para o estudo das correlações entre as variáveis de distribuição normal, foi utilizada a correlação de Pearson. Para as correlações entre os escores: ECR, ECL, EP, e destes com as demais características, foi utilizada a correlação de Spearman.

## **6. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1. Peso corporal, peso de testículos e índice gonadossomático**

No presente experimento, o galo com menor peso corporal apresentou 2,87kg e o galo mais pesado apresentou 5,79kg, pertencentes, respectivamente, à categoria leve com 25 semanas e categoria pesado com 45 semanas. A variação encontrada entre a média de PC de todos os galos utilizados no experimento (4,296 kg) e média de peso recomendada pelo manual da linhagem (4,35 kg para 45 semanas de idade) (Cobb...2013) foi de aproximadamente 1%, o que demonstra que os galos utilizados no experimento estavam submetidos a um eficiente manejo nutricional, seguindo a curva de crescimento recomendada pelo manual da linhagem.

Os resultados de peso corporal médio (PC), peso de testículo direito (PTD), peso de testículo esquerdo (PTE), peso testicular total (PTT) e índice gonadossomático (IGS) estão apresentados na Tabela 6.



Tabela 6 - Peso corporal médio (PC), peso de testículo direito (PTD), peso de testículo esquerdo (PTE), peso testicular total (PTT) e índice gonadossomático (IGS) de galos Cobb Mx em função da idade e da categoria de peso

Tratamentos	Variáveis				
	PC (g) <sup>1</sup>	PTD (g) <sup>2</sup>	PTE (g) <sup>2</sup>	PTT (g) <sup>2</sup>	IGS <sup>2</sup>
<b>Idade</b>					
25	3917,33 <b>b</b>	14,16 <b>a</b>	16,19 <b>a</b>	30,49 <b>a</b>	0,781
45	4674,67 <b>a</b>	9,62 <b>b</b>	11,39 <b>b</b>	20,1 <b>b</b>	0,443
<b>Categoria</b>					
Leve	3606 <b>c</b>	9,81 <b>b</b>	10,97 <b>b</b>	20,76 <b>b</b>	0,588
Médio	4270,5 <b>b</b>	12,38 <b>a</b>	14,17 <b>a</b>	26,54 <b>a</b>	0,597
Pesado	5011,5 <b>a</b>	13,48 <b>a</b>	15,97 <b>a</b>	29,45 <b>a</b>	0,640
<b>Efeito Anova</b>					
Idade (I)	<0,0001 *	<0,0001 *	<0,0001 *	<0,0001 *	<,0001 *
Peso (P)	<0,0001 *	0,0010 *	0,0001 *	0,0003 *	0,5457 <sup>ns</sup>
Interação I x P	0,1905 <sup>ns</sup>	0,2532 <sup>ns</sup>	0,0637 <sup>ns</sup>	0,1103 <sup>ns</sup>	0,0136 *
CV (%)	5,3	25,3	23,92	23,86	23

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>2</sup> Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Duncan ( $p \leq 0,05$ ).

ns = não significativo pelo teste de F ( $p > 0,05$ ). \* = significativo pelo teste de F ( $p \leq 0,05$ ).

CV = coeficiente de variação.

Não houve interação entre idade e peso (IxP) para as variáveis PC, PTE, PTD e PTT. Houve efeito da idade e das categorias de peso ( $p \leq 0,05$ ) nessas variáveis. Na média, galos Cobb Mx com 25 semanas de idade foram mais leves (3,917 Kg) que galos com 45 semanas (4,675 Kg) ( $p \leq 0,05$ ), o que vai ao encontro da afirmativa que o PC é uma característica que aumenta com a idade (Hocking e Bernard, 1997). Como esperado, houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os pesos corporais dos galos de diferentes categorias: leve (3,606 Kg), médio (4,271 Kg) e pesado (5,012 Kg). O baixo coeficiente de variação para PC (CV=5,3%) demonstra boa uniformidade do lote (Tab. 6).

Galos com 25 semanas de idade apresentaram maiores PTD, PTE e PTT que galos com 45 semanas de idade ( $p \leq 0,05$ ). Uma característica fisiológica de aves é a queda no peso testicular após um período máximo de fertilidade. O momento exato de ocorrência desse evento pode variar, pois sofre influência de diversos fatores como fotoperíodo, idade, linhagem e manejo nutricional (Adjanohoun, 1994; Fragoso et al., 2013; Lara, 2015). Com os resultados obtidos, especula-se que a regressão testicular já possa ter ocorrido em galos Cobb Mx com 45 semanas de idade. Fragoso et. al., (2013) ao estudar galos Cobb 500 Slow, observaram que até 44% do peso testicular pode ser perdido entre 36 e 55 semanas de idade. No presente trabalho, observou-se queda de 31% nessa característica entre 25 e 45 semanas de idade. Em trabalho realizado por Young et al. (2001), os autores observaram que em aves sazonais, a regressão dos testículos foi decorrente de atrofia do epitélio seminífero causada principalmente por apoptose de células de Sertoli e degeneração de células da linhagem espermatogênica após períodos de fotorefratariedade. Entretanto, no galo, os mecanismos fisiológicos que induzem a regressão dos testículos ainda não foram totalmente elucidados. Nessa espécie, a queda na fertilidade pode ocorrer sem que haja regressão testicular e parece estar mais associada a falhas na espermição do que regressão do epitélio seminífero (Muncher, et al., 1995; Vizcarra, et al., 2010). No atual experimento, os animais receberam a mesma quantidade de luz durante todo o período de produção, utilizando-se

complementação com luz artificial nos períodos de dias curtos, entretanto, especula-se que a luz artificial não tenha a mesma eficácia que a luz natural na estimulação de mecanismos neuroendócrinos que mantenham o desenvolvimento testicular, visto que em galos com 45 semanas, que viviam em um período de fotoperíodo negativo com complementação com luz artificial, houve regressão dos testículos.

Não foi encontrada correlação entre peso corporal e peso de testículos (Tab.7). Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Vizcarra, et al. (2010), e podem ser explicados pela grande variação no peso testicular entre galos de diferentes idades. Contudo, ao observar o comportamento dessa associação em cada idade, separadamente, foi encontrada correlação positiva, moderada e significativa entre PC e PTT em galos com 45 semanas de idade, mas não significativa em galos com 25 semanas de idade (Tab.7). Esses resultados mostram que em galos adultos, um alto peso corporal pode estar associado a alto peso testicular. Observa-se que apesar de galos pesados também terem sofrido regressão no peso de testículos com o avanço da idade, essa queda não foi tão acentuada (14,39%) quanto em galos médios (35,65%) e leves (40,74%). Isso indica que galos mais pesados sofrem menos com a regressão testicular e apresentam maior peso de testículos quando mais velhos. Os dados vão de encontro aos achados de Rezende et al. (2014), que encontraram correlação positiva, moderada e significativa entre PC e PT em galos com 71 semanas idade, nos quais o alto peso testicular apresentou implicações positivas na prevenção de atrofia testicular.

Galos da categoria leve apresentaram menores PTD, PTE e PTT que aqueles das categorias médio e pesado ( $p \leq 0,05$ ). Geralmente, galos com testículos que pesam menos que 5g são considerados inférteis (testículos atróficos ou hipoplásicos); aqueles que possuem testículos pesando entre 6 e 10g são considerados subférteis e testículos acima de 10g são considerados funcionais (Ross, 2004). No atual trabalho, quatro dos cinco galos observados com peso testicular abaixo de 10g pertenciam à categoria leve e possuíam 45 semanas de idade. Esses galos pesaram entre 3,6kg e 4,1kg e, possivelmente, são aqueles que nunca atingiram o peso corporal ótimo em nenhum estágio de desenvolvimento. Sexton et al. (1989) mostraram que galos Ross submetidos à restrição alimentar energética severa, obtiveram peso corporal inferior a 4,00kg às 52 semanas e pararam de ejacular ou ejacularam sêmen com baixa concentração de espermatozoides. Galos leves, em uma escala hierárquica, sofrem mais agressões e comem menos. É possível que galos dessa categoria possam ter sofrido uma restrição alimentar mais severa e isso, associado a maiores concentrações séricas de cortisol tenha resultado em queda mais acentuada do peso testicular, entretanto estudos são necessários para confirmar essa hipótese.

Tabela 7 - Correlações de Pearson e Spearman entre peso corporal (PC); peso do testículo esquerdo (PTE); peso testicular total (PTT); índice gonadossomático (IGS); diâmetro de túbulo seminífero (DT); altura do epitélio seminífero (AE) percentual de túbulos seminíferos (TS), percentual interstício (INT) e escores de crista (ECR), cloaca (ECL) e pé (EP) em galos Cobb Mx

Idade	Variáveis											
	PTD	PTE	PTT	IGS	DT	AE	TS	INT	ECR	ECL	EP	
PC	25 sem.	<b>0,37 *</b>	0,36	0,36	<b>-0,41 *</b>	<b>0,68 ***</b>	<b>0,38 *</b>	-0,34	0,34	<b>0,51 **</b>	0,13	0,28
	45 sem.	<b>0,57 ***</b>	<b>0,64 ***</b>	<b>0,62 ***</b>	0,36	<b>0,50 **</b>	<b>0,65 ****</b>	0,36	-0,36	<b>0,64 ***</b>	<b>0,54 **</b>	0,29
	Total	0,05	0,12	0,08	<b>-0,39 **</b>	<b>0,39 **</b>	<b>0,69 ****</b>	-0,16	0,16	<b>0,49 ****</b>	<b>0,48 ****</b>	<b>0,49 ****</b>
PTE	25 sem.			<b>0,97 ****</b>	<b>0,67 ****</b>	<b>0,53 **</b>	0,32	<b>-0,45 *</b>	<b>0,45 *</b>	0,14	-0,01	0,18
	45 sem.			<b>0,99 ****</b>	<b>0,92 ****</b>	<b>0,58 ***</b>	<b>0,54 **</b>	0,14	-0,14	<b>0,66 ****</b>	<b>0,65 ****</b>	0,21
	Total			<b>0,99 ****</b>	<b>0,85 ****</b>	<b>0,57 ****</b>	-0,19	0,20	-0,20	<b>0,34 **</b>	0,12	-0,20
PTT	25 sem.				<b>0,70 ****</b>	<b>0,56 **</b>	0,34	<b>-0,43 *</b>	<b>0,43 *</b>	0,1	-0,03	0,23
	45 sem.				<b>0,95 ****</b>	<b>0,59 ***</b>	<b>0,57 ***</b>	0,16	-0,16	<b>0,64 ****</b>	<b>0,63 ***</b>	0,21
	Total				<b>0,88 ****</b>	<b>0,58 ****</b>	-0,21	0,22	-0,22	<b>0,30 *</b>	0,08	-0,21
IGS	25 sem.					0,03	0,06	-0,15	0,15	-0,26	-0,19	-0,03
	45 sem.					<b>0,55 **</b>	<b>0,44 *</b>	0,10	-0,10	<b>0,56 **</b>	<b>0,59 ****</b>	0,12
	Total					<b>0,36 **</b>	<b>-0,50 ****</b>	<b>0,32 **</b>	<b>-0,32 **</b>	0,10	-0,10	<b>-0,44 ***</b>
DT	25 sem.						<b>0,45 *</b>	-0,19	0,19	<b>0,56 ***</b>	0,19	0,14
	45 sem.						<b>0,69 ****</b>	<b>0,50 **</b>	<b>-0,50 **</b>	<b>0,38 *</b>	0,18	-0,02
	Total						0,16	0,25	-0,25	<b>0,45 ***</b>	0,11	-0,08
AE	25 sem.							0,16	-0,16	0,22	0,01	0,03
	45 sem.							<b>0,53 **</b>	<b>-0,53 **</b>	<b>0,42 *</b>	0,21	0,05
	Total							-0,12	0,12	0,17	<b>0,33 *</b>	<b>0,49 ****</b>
TS	25 sem.								<b>-1,0 ****</b>	0,04	0,22	<b>-0,50 **</b>
	45 sem.								<b>-1,0 ****</b>	0,34	0,15	-0,04
	Total								<b>-1,0 ****</b>	0,17	0,03	<b>-0,40 **</b>
INT	25 sem.									-0,04	-0,22	<b>0,50 **</b>
	45 sem.									-0,34	-0,15	0,04
	Total									-0,17	-0,03	<b>0,40 **</b>
ECR	25 sem.										<b>0,44 *</b>	0,13
	45 sem.										<b>0,64 ****</b>	0,31
	Total										<b>0,53 ****</b>	0,20
ECL	25 sem.											-0,31
	45 sem.											0,05
	Total											0,11

Valores expressos em coeficiente de correlação (r). Asteriscos indicam que a correlação é significativa e representam o nível de significância  $P \leq 0,05$  (\*),  $P \leq 0,01$  (\*\*),  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) e  $P \leq 0,0001$  (\*\*\*\*). Os parâmetros DT, AE, TS e INT foram avaliados no testículo esquerdo. Associações entre características de distribuição normal foram estudadas pela correlação de Pearson. Associações entre os ECR, ECL, EP e SE, e destes com as demais características foram estudadas pela correlação de Spearman.

Para IGS (relação entre peso testicular x peso corporal) houve interação IxP ( $p \leq 0,05$ ) e o desdobramento dessa interação está demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8 – Galo doméstico. Desdobramento da interação entre idade (25 e 45 semanas) e categoria de pesos (leve, médio e pesado) para índice gonadossomático

Categoria	Idade		Média
	25	45	
<b>Leve</b>	0,81 <b>Aa</b>	0,38 <b>Ab</b>	0,59
<b>Médio</b>	0,84 <b>Aa</b>	0,44 <b>Ab</b>	0,64
<b>Pesado</b>	0,69 <b>Aa</b>	0,50 <b>Aa</b>	0,60
<b>Média</b>	0,78	0,44	

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Dentro de uma mesma idade não houve diferença para IGS entre as diferentes categorias de peso. Ao compararmos duas diferentes idades, nota-se que houve queda no IGS de galos das categorias leve e médio, mas para galos pesados o IGS permaneceu o mesmo ( $p \leq 0,05$ ). O valor do IGS é dado pela divisão do somatório do peso testicular pelo peso corporal. Como o peso corporal variou de maneira semelhante em todas as categorias de peso com o avanço da idade (aumento de 15,69%, 18,62% e 14,46% para as categorias leve, médio e pesado, respectivamente), a queda de IGS observada nas categorias leve e médio se deu, portanto, por uma queda no peso testicular mais acentuada. Como não houve diferença de IGS com o aumento da idade em galos da categoria pesados, pode-se inferir que nesse caso, PC e PTT variam de forma proporcional, o que mostra que o maior peso corporal tem implicações positivas na diminuição da intensidade da regressão testicular.

## 6.2. Escores de crista, de cloaca e de pé

Os resultados de escore de crista (ECR), escore de cloaca (ECL) e escore de pé (EP) estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Escore de crista (ECR); escore de cloaca (ECL) e escore de pé (EP) de galos Cobb Mx em função da idade e do peso corporal

Tratamentos	Variáveis		
	ECR (1 a 4)	ECL (3 a 8)	EP (0 a 6)
<b>Idade</b>			
<b>25</b>	2,93	5,43 <b>b</b>	0,50 <b>b</b>
<b>45</b>	2,90	6,17 <b>a</b>	2,53 <b>a</b>
<b>Pesos</b>			
<b>Leve</b>	2,35 <b>c</b>	5,15 <b>b</b>	1,30
<b>Médio</b>	2,90 <b>b</b>	6,10 <b>a</b>	1,15
<b>Pesado</b>	3,50 <b>a</b>	6,15 <b>a</b>	2,10
<b>Efeito Anova</b>			
<b>Idade (I)</b>	0,9496 <sup>ns</sup>	0,0218*	<0,0001 *
<b>Peso (P)</b>	<0,0001 *	0,0261 *	0,0955 <sup>ns</sup>

ns= Não significativo pelo teste Kruskal-Wallis ( $p > 0,05$ ).

\*= Significativo pelo teste Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ).

Não houve diferença estatística para ECR entre galos com 25 e 45 semanas de idade. Pode-se observar efeito da categoria de peso nessa característica, já que galos da categoria pesado foram os que apresentaram os maiores ECR, e galos da categoria leve os menores ( $p \leq 0,05$ ) (Tab.9). Sabe-se que testosterona e diidrotestosterona influenciam no crescimento de crista e barbelas, pois estimulam a produção de fluido intracelular por fibroblastos nesses locais. Sabe-se também que o peso testicular tem associação positiva com a produção de testosterona (Hardesty 1939, citado por Navara et al., 2012; Zeller, 1971; Harding, 1986). No atual experimento, foi encontrada correlação positiva, moderada e significativa entre ECR e PC. Correlação positiva e moderada foi encontrada também entre ECR e PTT (Tab.7). Esses resultados sugerem que galos mais pesados possuem maiores testículos, com maior capacidade de produção de andrógenos que irão influenciar no maior ECR. Resultado semelhante foi obtido por Rezende et al. (2014) para ambas as associações. Para a determinação do ECR, foram observados, no presente estudo, parâmetros como tamanho, coloração, turgidez e aspecto da pele da crista. Tyler e Gous (2009) observaram forte associação entre a área de crista e o peso médio dos testículos e Navara et al. (2012) encontraram correlação positiva entre coloração de crista e viabilidade espermática. Dessa forma, estudos são necessários para determinar quais dos parâmetros influenciam de forma mais efetiva no desenvolvimento da crista. Correlação positiva, moderada e significativa foi encontrada entre ECR e diâmetro de túbulo seminífero para as duas idades, e entre ECR e AE em galos com 45 semanas (Tab.7). Esses achados sugerem que o escore de crista, determinado no atual experimento, pode ser utilizado com potencial moderado de predição para seleção de galos com características histológicas compatíveis com maior produção espermática. Entretanto, esses resultados vão parcialmente contra os encontrados por Rezende, et al. (2014) que não obtiveram essa associação em galos com 71 semanas de idade.

Na Figura 4 encontram-se exemplos de morfologia de crista de quatro galos Cobb Mx e suas classificações em escores.

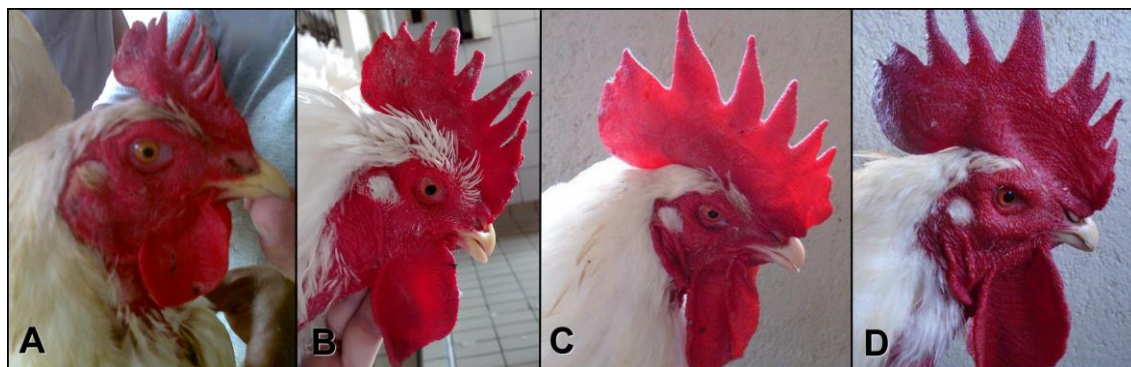


Figura 4 – Galo doméstico. Escores de crista. (A) Escore de crista = 1, crista subdesenvolvida. (B) Escore de crista = 2, crista média, vermelha clara e túrgida. (C) Escore de crista = 3, crista grande, vermelha intensa e túrgida. (D) Escore de crista = 4, crista muito grande, vermelha intensa e túrgida.

Galos adultos apresentaram maiores escores de cloaca que galos jovens ( $p \leq 0,05$ ), o que pode ser explicado pelo fato que, no presente experimento, correlação positiva, moderada e significativa foi encontrada entre ECL e peso corporal (Tab.7). Como galos com 45 semanas apresentaram os maiores pesos corporais (Tab.6), maiores escores de cloaca também foram observados. Resultados semelhantes foram encontrados por Rezende et al. (2014) que observaram correlação positiva e leve entre PC e ECL em galos com 71 semanas de idade. Fantini (2007) encontrou correlação positiva, moderada e significativa entre PC e coloração de cloaca. No atual

experimento, ECL foi estabelecido a partir da inspeção visual de três diferentes características da cloaca: tamanho, coloração e umidade. Estudos são necessários para avaliar se a interferência no ECL é andrógeno-dependente, se, em outra hipótese, está associada a maior atividade sexual ou se ambos os efeitos influenciam no tamanho, coloração e umidade da cloaca. Correlação positiva e moderada foi observada entre ECL e altura de epitélio seminífero (Tab.7), o que sugere que galos com maiores escores de cloaca tenham maior capacidade de produção espermática. Rezende et al. (2014) utilizando a mesma metodologia para determinação de ECL que foi utilizada nesse trabalho, obtiveram média de 6,1 de ECL para galos com 71 semanas de idade. Esses dados são numericamente semelhantes aos encontrados no presente trabalho para galos com 45 semanas, o que nos leva a pensar que, apesar do ECL aumentar entre a puberdade e a vida adulta, ele se mantém praticamente constante até o final da vida reprodutiva após uma certa idade. Houve influência das categorias de peso nessa variável, e galos das categorias médio e pesado apresentaram maiores ECL que galos da categoria leve ( $p \leq 0,05$ ). Fantini (2007) observou que galos submetidos a jejum de cinco e sete dias apresentaram queda, respectivamente, de 6,7% e 15,6% do diâmetro da cloaca. Durante o período de produção, galos de matrizes pesadas vivem em constante restrição alimentar. Dentro de uma escala hierárquica, galos leves são os que tem menor acesso ao alimento. Possivelmente, um maior tempo em jejum alimentar possa ter influenciado no menor tamanho da cloaca, resultando em menor ECL nos galos da categoria leve.

Na Figura 5 encontram-se exemplos de morfologia de cloaca de quatro galos Cobb Mx e suas classificações em escores.



Figura 5 - Galo doméstico. Escores de cloaca. (A) Escore de cloaca = 4, cloaca média, pálida e seca. (B) Escore de cloaca = 5, cloaca pequena, vermelha clara e úmida. (C) Escore de cloaca = 6, cloaca grande, vermelha clara e seca. (D) Escore de cloaca = 8, cloaca grande, vermelha intensa e úmida.

Galos de 45 semanas idade apresentaram maior EP que galos com 25 semanas de idade ( $p \leq 0,05$ ). Esse resultado era esperado, já que as condições da cama em que os galos vivem interferem diretamente no aparecimento de pododermatites e lesões nos coxins plantares (Ross, 2013). Com o tempo, a qualidade da cama tende a ser pior, já que ocorre aumento da umidade acumulada e maior fermentação, predispondo os animais a maiores problemas de pododermatites. O controle e a redução da umidade da cama reduzem lesões nos coxins plantares dos galos, e isso pode influenciar positivamente na capacidade de cópula dessas aves (Lara, 2015). Não foi observado efeito da categoria de peso para EP. Entretanto, o estudo da associação entre essas características demonstrou que há correlação positiva, moderada e significativa entre EP e peso corporal quando utilizados os dados referentes a todos os animais (Tab.7). Isso confirma a hipótese que, apesar de apresentarem maiores pesos testiculares (Tab.6) e maiores características histológicas compatíveis com maior capacidade de produção espermática como DT e AE (Tab.9), galos com maior peso corporal tendem a ter maior quantidade de lesões no coxim plantar. Entretanto, um estudo comportamental seria necessário para determinar se essas lesões influenciaram negativamente na quantidade de cópulas, o que não foi feito no presente experimento.

Na Figura 6 encontram-se exemplos de presença e intensidade de calos nos pés em quatro galos Cobb Mx e suas classificações em escores.



Figura 6 - Galo doméstico. Escores de pé. (A) Escore de pé = 0, ausência de calos. (B) Escore de pé = 1, calo leve em um pé. (C) Escore de pé = 4, calo moderado nos dois pés. (D) Escore de pé = 6, calo intenso nos dois pés.

### 6.3. Histologia

#### 6.3.1. Diâmetro, altura e proporção de túbulos seminíferos e interstício

Os resultados obtidos para diâmetro de túbulo seminífero (DT), altura de epitélio seminífero (AE), proporção de túbulos seminíferos (TS) e proporção de tecido intersticial (INT) estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Diâmetro de túbulo seminífero (DT), altura do epitélio seminífero (AE), proporção de túbulos seminíferos (TS) e proporção de tecido intersticial (INT) em galos Cobb Mx em função da idade e da categoria de peso.

Tratamentos	Variáveis			
	AE ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>	DT ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1</sup>	TS (%) <sup>1</sup>	INT (%) <sup>2</sup>
<b>Idade</b>				
25	95,02 <b>b</b>	274,49	92,67	7,33
45	127,36 <b>a</b>	263,74	90,70	9,3
<b>Categoria</b>				
Leve	105,13 <b>b</b>	249,33 <b>b</b>	91,43	8,57
Médio	108,48 <b>b</b>	271,48 <b>a</b>	91,73	8,27
Pesado	119,98 <b>a</b>	286,55 <b>a</b>	91,9	8,10
<b>Efeito Anova</b>				
Idade (I)	<0,0001*	0,0615 <sup>ns</sup>	0,0006*	0,0006*
Peso (P)	<0,0001*	<0,0001*	0,7718 <sup>ns</sup>	0,7718 <sup>ns</sup>
Interação I x P	0,1399 <sup>ns</sup>	0,5282 <sup>ns</sup>	0,0146*	0,0146*
CV (%)	9,09	8,10	2,27	25,01

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>2</sup> Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Duncan ( $p \leq 0,05$ ).

ns = não significativo pelo teste de F ( $p > 0,05$ ). \* = significativo pelo teste de F ( $p \leq 0,05$ ).

CV = coeficiente de variação.

Não houve interação entre os tratamentos para as variáveis AE e DT. Para a variável AE houve efeito da idade e das categorias de peso ( $p \leq 0,05$ ). Segundo Etches (1996), a atividade espermatogênica medida pela proliferação celular é determinada pelo aumento no diâmetro dos túbulos seminíferos e na altura do epitélio seminífero. Galos adultos apresentaram maiores AE que os de jovens ( $p \leq 0,05$ ). Esse resultado, indica que galos com 45 semanas mostram maior proliferação do epitélio seminífero que galos com 25 semanas. Esses dados poderiam ser interpretados como imaturidade sexual dos galos com 25 semanas, entretanto, pela avaliação das lâminas histológicas, todos os galos dessa idade apresentaram espermatogênese aparentemente normal. Com relação às categorias de peso, galos pesados apresentaram maior AE que galos médios e leves e correlação positiva, moderada e significativa foi encontrada entre peso corporal e AE (tab.7). Observa-se também que os galos pesados foram também os que apresentaram maiores pesos de testículos (tab.6). Vizcarra et al. (2010) encontraram forte correlação entre peso de testículos e FSH, hormônio associado à proliferação de células de Sertoli, importantes no desenvolvimento da espermatogênese. Especula-se que galos pesados tenham maior concentração de gonadotropinas circulantes, o que influencia diretamente em proliferação de células da linhagem espermatogênica, levando à maior altura de epitélio.

Para DT, não houve efeito da idade, mas foi observado efeito das categorias de peso. Galos leves apresentaram menor DT que galos médios e pesados ( $p \leq 0,05$ ), os quais não apresentaram diferença para essa variável.

Para as variáveis TS e INT houve interação entre os tratamentos ( $p \leq 0,05$ ) e os desdobramentos dessa interação estão demonstrados nas tabelas 11 e 12, respectivamente. Essas variáveis estão relacionadas entre si e um aumento na proporção de TS implica em diminuição de INT, sendo o contrário também verdadeiro.

Tabela 11 – Galo doméstico. Desdobramento da interação entre idade (25 e 45 semanas) e categoria de peso (leve, médio e pesado) para porcentagem de túbulos seminíferos

Peso	Idade		Média
	25	45	
Leve	93,48 Aa	89,38 Ab	91,43
Médio	92,72 Aa	91,08 Aa	91,90
Pesado	91,81 Aa	91,65 Aa	91,73
Média	92,67	90,70	

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).



Tabela 12 – Galo doméstico. Desdobramento da interação entre idade (25 e 45 semanas) e categoria de peso (leve, médio e pesado) para porcentagem de tecido intersticial

Peso	Idade		Média
	25	45	
Leve	6,52 Aa	10,62 Ab	8,57
Médio	7,28 Aa	8,92 Aa	8,10
Pesado	8,19 Aa	8,35 Aa	8,27
Média	7,33	9,30	

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Com o aumento da idade, pode-se observar que galos da categoria leve sofrem redução na proporção de TS e, conseqüentemente, aumento na proporção de INT ( $p \leq 0,05$ ). Galos da categoria leve foram os que apresentaram também menores PTT, DT e AE, o que indica que a regressão testicular nessa categoria é mais intensa. Essa regressão parece ser causada principalmente pela diminuição da proporção de TS em relação a INT, já que houve redução de 4,4% na proporção de TS em galos leves enquanto em médios e pesados essa redução foi de 1,8% e 0,2%, respectivamente. Com base nos dados de AE, DT, TS e INT há a indicação que o baixo peso corporal tem influência negativa na reprodução e galos leves sofrem regressão testicular mais acentuada entre as três categorias de peso avaliadas.

### 6.3.2. Proporção de constituintes dos testículos

Na Tabela 13 encontram-se os resultados obtidos na análise de proporção volumétrica de constituintes de testículos. Foram avaliados, nos túbulos seminíferos, a camada peritubular (CP), epitélio seminífero (ES), células de Sertoli (SE) e lúmen de túbulo seminífero (LTS), enquanto no tecido intersticial foram contabilizadas células de Leydig (LE), tecido conjuntivo intersticial (TC) e vasos (V).

Não houve interação entre os tratamentos para as variáveis CP, ES, SE, LTS, LE e TC. Para CP, não houve efeito significativo da idade e nem da categoria de peso, e não se observa diferença entre os tratamentos. Segundo Rothwell e Tingari (1973), com o avançar da idade e aumento da atividade sexual, os túbulos seminíferos aumentam de diâmetro e a camada peritubular tende a ficar mais delgada. Não houve aumento do diâmetro de túbulos no atual experimento (Tab.10) e, dessa forma, não foi possível observar espessamento da camada peritubular (Tab.13). Entretanto, essa hipótese pode ser confirmada já que correlação negativa, moderada e significativa (anexo III) foi encontrada entre diâmetro de túbulo e camada peritubular em galos com 45 semanas. Ou seja, quanto maior o diâmetro, mais delgada a camada peritubular e menor sua proporção.

Tabela 13 - Proporção de camada peritubular (CP), epitélio seminífero (ES), sertoli (SE), lúmen de túbulo seminífero (LTS), Leydig (LE), tecido conjuntivo intersticial (TC), vasos (V), em galos Cobb Mx em função da idade e da categoria de peso.

Tratamentos	Variáveis testiculares						
	CP (%) <sup>2</sup>	ES (%) <sup>1</sup>	SE (%) <sup>3</sup>	LTS (%) <sup>2</sup>	LE (%) <sup>2</sup>	TC (%) <sup>2</sup>	V (%) <sup>2</sup>
<b>Idade</b>							
25	6,88	55,85 <b>b</b>	1,47 <b>a</b>	28,47 <b>a</b>	1,74 <b>a</b>	4,37 <b>b</b>	1,22
45	6,53	59,01 <b>a</b>	0,91 <b>b</b>	24,26 <b>b</b>	1,32 <b>b</b>	5,29 <b>a</b>	2,69
<b>Categoria</b>							
Leve	7,15	58,06	1,54 <b>a</b>	24,67	1,86 <b>a</b>	4,48	2,23
Médio	6,60	56,71	1,13 <b>b</b>	27,45	1,48 <b>b</b>	4,81	1,81
Pesado	6,35	57,51	0,90 <b>c</b>	26,97	1,26 <b>b</b>	5,19	1,82
<b>Efeito Anova</b>							
Idade (I)	0,2674 <sup>ns</sup>	0,0064 <sup>*</sup>	<0,0001 <sup>3*</sup>	0,0025 <sup>*</sup>	0,0016 <sup>*</sup>	0,0328 <sup>*</sup>	<0,0001 <sup>*</sup>
Peso (P)	0,1050 <sup>ns</sup>	0,6099 <sup>ns</sup>	0,0006 <sup>3*</sup>	0,1978 <sup>ns</sup>	0,0012 <sup>*</sup>	0,3966 <sup>ns</sup>	0,3161 <sup>ns</sup>
Interação I x P	0,5597 <sup>ns</sup>	0,2345 <sup>ns</sup>	-	0,8167 <sup>ns</sup>	0,2953 <sup>ns</sup>	0,4754 <sup>ns</sup>	<0,0001 <sup>*</sup>
CV (%)	17,93	7,51	-	19,48	31,87	33,74	17,01

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>2</sup> Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Duncan ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>3</sup> Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ).

Ns = não significativo pelo teste de F ( $p \geq 0,05$ ). \* = significativo pelo teste de F ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>3\*</sup> = significativo pelo teste Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ).

CV = coeficiente de variação.

Com o aumento da idade, pode-se observar o aumento na proporção de células do epitélio seminífero ( $p \leq 0,05$ ). No presente trabalho, galos adultos apresentaram também maior altura do epitélio seminífero (Tab.10). Possivelmente, maior altura do epitélio seminífero, associada a maior proporção de células da linhagem espermatogênica presentes no ES obtidos para galos com 45 semanas de idade, indicam que esses galos possuem maior concentração de gonadotrofinas circulantes que são responsáveis pelo processo de proliferação celular do que galos com 25 semanas de idade. Muncher et al. (1995) afirmaram que a fertilidade (percentual de ovos incubáveis) começa a cair após as 48 semanas de idade em galos. Com os resultados obtidos, especula-se que, nas condições do atual experimento, galos com 45 semanas ainda possam estar em uma fase de boa produção de espermatozoides viáveis, entretanto não foi feita análise de sêmen ou de fertilidade que comprovasse essa hipótese. Não foi observado efeito da categoria de peso para ES.

Houve efeito da idade e da categoria de peso na proporção de células de Sertoli. Young et al. (2001) sugerem que a regressão testicular ocorrida em aves sazonais envolva a apoptose e diminuição de SE. Essa poderia ser uma hipótese para explicar a diminuição na proporção dessas células com o avanço da idade encontrada no presente trabalho ( $p \leq 0,05$ ). Entretanto, galos da categoria leve foram os que apresentaram maior proporção de SE, mas menor peso testicular (Tab.6) e, de maneira inversamente proporcional, galos da categoria pesado apresentaram menores proporções de SE que as outras categorias de peso ( $p \leq 0,05$ ), mas maiores pesos testiculares (Tab.6), o que indica que a queda no PTT não foi causada pela diminuição na proporção de SE. Células de Sertoli encontram-se nos túbulos seminíferos ancoradas entre as células do epitélio seminífero e a proliferação no número dessas células se dá somente durante as primeiras 12 semanas de idade no galo (Thurston e Korn, 2000; Bozkurt et al. 2007). Como houve aumento na proporção de ES, e levando-se em consideração que não houve proliferação de SE, o

número de pontos que incidiram sobre as células de Sertoli, proporcionalmente, diminuiu em galos com 45 semanas de idade. Dessa forma, especula-se que não houve redução real, mas sim redução proporcional dessas células. De modo semelhante, Gonzalez-Moran, et al. 2008, avaliando galos com 6 e 48 semanas de idade, observaram que com o aumento da idade houve diminuição na proporção de células de Sertoli em relação à proporção de células da linhagem espermatogênica, justamente por conta da proliferação das últimas.

Com relação às células de Leydig, tanto o efeito da idade, quanto das categorias de peso podem ser observados. Observou-se menor proporção dessas células em galos com 45 semanas de idade que em galos com 25 semanas de idade. Em mamíferos, há uma intensa proliferação das células de Leydig durante a puberdade até a formação de uma população definida de células na vida adulta. As células de Leydig em um indivíduo adulto, normalmente não se proliferam, e podem, no máximo, se regenerar caso a população original seja eliminada (Chen et al., 2009). Além disso, em galos monitorados durante toda a vida reprodutiva, observou-se degeneração de células de Leydig somente às 110 semanas de idade (Rosenstrauch et al., 1998). Especula-se então que, assim como o ocorrido com as células de Sertoli, não houve redução real, mas somente redução proporcional dessas células, já que foi observado um aumento no tecido conjuntivo intersticial (Tab.13), local em que elas estão distribuídas. Outra possível hipótese seria a que a queda na testosterona observada com a idade (Vizcarra et al., 2010) pudesse ser causada pela queda no número de células de Leydig. Entretanto, Chen et al. (2009) demonstraram que isso não ocorre devido à queda no número de células, mas sim por mudanças morfológicas que ocorrem nessas células diminuindo sua capacidade esteroidogênica com o avanço da idade, tais como: danos causados por radicais livres à membrana, comprometimento do transporte de colesterol e diminuição de organelas e gotículas de lipídio necessárias para a produção de testosterona. Galos da categoria de peso leve apresentaram maior proporção de LE que galos médios e pesados ( $p \leq 0,05$ ). Esse resultado pode ser explicado pelo fato que, para galos dessa categoria, houve aumento de 38,6% na proporção de INT com a idade (Tab.12), local em que LE estão distribuídas. Isso fez com que, mesmo com a regressão dos testículos, houvesse queda somente de 9,1% em LE, enquanto para as categorias médio e pesado a queda fosse de 24,5% e 41,7%, respectivamente.

Observa-se efeito da idade na proporção de LU, com diminuição dessa característica com o aumento da idade ( $p \leq 0,05$ ). O aumento da altura do epitélio sem, entretanto, haver diminuição do diâmetro do túbulo (Tab.10), leva à diminuição na proporção de pontos incidindo sobre LU.

Houve interação IxP para a proporção de vasos sanguíneos. Os desdobramentos da interação podem ser observados na Tabela 14.

Tabela 14 – Galo doméstico. Desdobramento da interação entre idade (25 e 45 semanas) e categoria de pesos (leve, médio e pesado) para vasos

Peso	Idade		Média
	25	45	
Leve	0,91 Bb	3,55 Aa	2,23
Médio	1,02 Bb	2,61 ABa	1,81
Pesado	1,73 Aa	1,90 Ba	1,82
<b>Média</b>	1,22	2,69	

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Comparados dentro de uma mesma idade, observa-se que galos pesados com 25 semanas possuem maior proporção de vasos que galos de outras categorias ( $p \leq 0,05$ ). Já com 45 semanas, galos leves apresentam maior proporção de vasos intersticiais, quando comparados com galos pesados, e não há diferença entre leves e médios ou médios e pesados ( $p \leq 0,05$ ). Para galos pesados, houve um aumento na vascularização de 8,75%, enquanto em galos leves e médios, esse aumento foi de 74,3% e 60,8%, respectivamente. Especula-se que esse aumento seja causado por conta do aumento na proporção de tecido intersticial, local em que se encontram os vasos, que foi mais acentuado nas categorias leve (38,6%) e médio (18,3%), enquanto em galos pesados foi de apenas (1,89%) (Tab.12).

## 7. CONCLUSÕES

Considerando galos Cobb Mx, conclui-se que:

- Para galos de uma mesma idade, maior peso corporal tem implicações positivas na capacidade reprodutiva (maior peso de testículos e características histológicas compatíveis com produção espermática);
- Ocorre regressão dos testículos com o avanço da idade e ela é mais intensa em galos com baixo peso corporal;
- Galos mais pesados têm chance moderada de apresentarem maiores escores de crista e de cloaca e também maior quantidade de lesões nos pés;
- Em galos com 45 semanas de idade, escore de crista pode ser utilizado com potencial moderado de predição para seleção de galos com maior peso de testículos e características compatíveis com maior capacidade de produção espermática (diâmetro de túbulo e altura de epitélio).

## 8. REFERÊNCIAS

- ABINAWANTO, K.; SHIMADA, K. YOSHIDA; SAITO, N. Effects of aromatase inhibitor on sex differentiation and levels of P45017 $\alpha$  and P450 arom messenger ribonucleic acid of gonads in chicken embryos. *Gen. Comp. Endocrinol.*, v.102, p.241–246, 1996.
- ADJANOHOON, E. Fertilidade relacionada aos machos. Fisiologia da reprodução de aves. *Campinas: Apinco*, p.107-116. 1994.
- AIRE, T. A. The rete testis of birds. *J. Anat.*, v.135, n.1, p.97-110, 1982.
- AIRE, T. A. The structure of the interstitial tissue of the active and resting avian testis. *J. Vet. Res.*, v.64, n.4, p.291-299, 1997.
- AIRE, T. A.; OZEGBE, P. C. The testicular capsule and peritubular tissue morphometry, histology, ultrastructure and immunohistochemistry. *J. Anat.*, v.210, p.731-740, 2007.
- AMANN, R. P.; SCHANBACHER, B. D. Physiology of male reproduction. *J. Anim. Sci.*, v.57, n.2, p. 380-403, 1983.
- AMANN, R. P. Lessons for the poultry industry gleaned from experiences with other commodity species. *Poult. Sci.*, v.78, p.419-427, 1999.
- BACHMAN, S. E.; BACHMAN, J. M.; MASHALY, M. M. Effect of photoperiod on the diurnal rhythm of plasma testosterone, dihydrotestosterone and androstenedione in mature male chickens. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 87A, n.3, p.775-779, 1986.
- BAIÃO, N.C.; LÚCIO, C.G. Nutrição de matrizes pesadas. In: MACARI, M.; MENDES, A.A. (Ed.). *Manejo de matrizes de corte*. Campinas: FACTA, 2005, p.197-216.
- BAIÃO, N. C.; LOPEZ, C. A. A. Manejo nutricional de reprodutoras pesadas e o impacto na qualidade do ovo e do pinto de um dia. In: 5º ENCONTRO TÉCNICO EM CIÊNCIAS AVIÁRIAS, Uberlândia. *Anais...Uberlândia*, 2001, p.7-24.
- BAKST, M.R.; BAHR, J.M. Aves domésticas. In: *Hafez, E.S.E. Reprodução animal*. São Paulo: Manole, 1995, 582p.
- BASURTO-KUBA, V.M.; HEATH, E.; WAGNER. Spermatozoa and testes in boar: correlative analysis of sperm morphologic features, seminiferous epithelial area, and testes weight. *Am. J. Vet. Res.*, v.45, p.1328-1332, 1984.
- BEAUPRÉ, C.E.; TRESSLER C.J.; BAUPRÉ S.J.; *et al.* Determination of testis temperature rhythms and effects of constant light on testicular function in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Biol. Reprod.*, Champaign, v.56, p.1570-1575, 1997.
- BLOUNT J.D., MOLLER A.P., HOUSTON D.C. Antioxidants, showy males, and sperm quality. *Ecol Lett.*, v.4, p.393–396, 2001.

- BOZKURT, H. H.; AKTAS A.; ULKAY, M. B; FIRAT. U. B. Sertoli cell proliferation during the post hatching period in domestic fowl. *J. Vet. Sci.*, v.8, p.219-222, 2007.
- BRAKE, J. Recientes avances en nutrición y alimentación de reproductoras pesadas. III Manejo de machos. *Avicul. Prof.*, v.17, n.9, p.24-28, 1999.
- BROKKERS, E. A. M.; KOENE, P. Eating behaviour, and preprandial and postprandial correlation in male broiler and layer chickens. *Br. Poult. Sci.*, v.44, p.538-544, 2003.
- BROWN, H. B.; MCCARTNEY, M. G. Effects of dietary restriction on reproductive performance of broiler breeder males. *Poult. Sci.*, Champaign, v.62, p. 1885-1888, 1983.
- BULL, M. L. Anatomia do aparelho reprodutor do macho e da fêmea. In: *Fisiologia da reprodução de aves*. Campinas. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1994.
- BULL, M. L.; MARTINS, M. R. F. B.; CESÁRIO M. D.; *et al.* Anatomical Study on Domestic Fowl (*Gallus domesticus*) Reproductive System. *Int. J. Morphol.*, Temuco, v. 25, n. 4, p. 709-716, Dec. 2007.
- BURKE, W. H. Reprodução das aves. In: Swenson, M.J.; Reece, W.O. *Dukes: fisiologia dos animais domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p.731-743, 1996.
- CAVAZOS, L. F.; MELLAMPY, R. M. A comparative study of periodic acid reactive carbohydrates in vertebrates. *Americ. J. of Anat.* v. 95, p. 467-497, 1954.
- 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.
- CESÁRIO, M. D. Gametogênese e histologia dos aparelhos reprodutores. In: *Fisiologia da reprodução de aves*. Campinas: Apinco, p.13-30. 1994.
- CHEN, H.; GE, R. S.; ZIRKIN, B. R. Leydig cells: from stem cells to aging. *Mol. Cell. Endocrinol.*, v.306, n.1-2, p.9-16, 2009.
- COBB-VANTRESS. Suplemento de manejo de machos Cobb Mx empenamento lento. 2013. Disponível em: <<http://www.cobb-vantress.com>>. Acesso em: 22 maio, 2015.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal. 3. ed. Belo Horizonte, CBRA. 104p. 2013.
- CORREA, J. C. S; ARCEO, A. M. A. Edad a la puberdade y características seminales de gallos Rhode Island y Criollos Cuello Desnudo bajo condiciones tropicales. *Vet. Méx.*, México, v.26, n.4, p.375-379, 1995.
- COUTO, H. P.; FONSECA, J. B.; ROSTAGNO, H. S. *et al.* Níveis de proteína em rações de galos reprodutores de corte. *Rev. Bras. Zootec.*, v.27, n.1, p.95-103, 1998.

- CZECZUGA B. Carotenoids in the skin of certain species of birds. *Comp Biochem Physiol B*. v.62, p.107–109, 1979.
- DE REVIERS, M. Determination de la durée des processus spermatogénétiques chez Le coq à l'aide de thymidine tritiée. In: 6th International Congress of Animal. Reproduction, 1968, Paris. *Proc...Paris*, p.183-185, 1968.
- DE REVIERS, M. Le développement testiculaire chez le Coq. II. Morphologie de l'épithélium séminifère et établissement de la spermatogenèse. *Ann. Biol. Anim. Biophys. Bioch.* v.11, n.4, p.531-546, 1971.
- DE REVIERS, M. Photoperiodism, testis development and sperm production in the fowl. In: International Congress of Animal Reproduction, 9. Madrid. *Proceedings...Madrid*, p.519-526. 1980.
- DENBOW, D. M. - Appetite and its control. *Poult. Sci. Rev.*, v. 5, p. 209-229, 1994.
- DONOGHUE, A. M. Prospective approaches to avoid flock fertility: predictive assessment of sperm function traits in poultry. *Poult. Sci.*, v.78, p.437-443, 1999.
- ETCHES, E. J. Inseminação artificial. In: *Fisiologia da reprodução de aves*. Campinas: Apinco, p.117-127, 1994.
- ETCHES R. J. Reproduction in poultry. Wallingford, UK: *CAB International*, 1996.
- FANTINI, M. O. O. Efeitos da redução do peso corporal sobre as características reprodutivas de galos adultos de matriz pesada. 2007. 42f. Tese (Doutorado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- FRAGOSO, J. S.; Relationships between fertility and some parameters in male broiler breeders (Body and Testicular Weight, Histology and Immunohistochemistry of Testes, Spermatogenesis and Hormonal Levels). *Reprod Dom Anim* v.48, p.345–352, 2013.
- FRANÇA, LUIZ R.; GODINHO, CHRISTIANE L. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length, and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*). *Biol. of Reprod.*, v. 68, n.5, p.1554-1561, 2003.
- GABBIANELLI, R.; SANTRONI, A. M.; FEDELI, D.; *et al.* Antioxidant activities of different hemoglobin derivatives. *Biochem Biophys Res Commun.*, v.242, p.560–564, 1998.
- GETTY, R. Anatomia dos animais domésticos. 5ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Interamericana, 1981.
- GONZALEZ-MORÁN, M. G., SORIA-CASTRO, E. Histological and stereological studies on Leydig cells in the testes of *Gallus domesticus* from pre-hatching to sexual maturity. *Anim. Reprod. Sci.*, v.120, p.129–135, 2010.
- GRAVES, H. B.; HABLE, C. P.; JENKINS, T. H. Sexual selection in gallus: Effects of morphology and dominance on female spatial behavior. *Behav. Proc.*, v.11, p.189-197, 1985.

- GUNAWARDANA, V. Stages of spermatids in the domestic fowl: a light microscope study using araldite sections. *J. Anat.*, v.123, n.2, p.351-360, 1977.
- GUNAWARDANA, V.; SCOTT, M. G. A. D. Ultrastructural studies on the differentiation of spermatids in the domestic fowl. *J. Anat.*, v.124, 3, p.741-755, 1977.
- HARDESTY M. The structural basis for the response of the comb of the brown leghorn fowl to the sex hormone. *Am. J. Anat.*, v.47, p.277-323, 1939.
- HARDING, C. F. The importance of androgen metabolism in the regulation of reproductive behavior in the avian male. *Poult. Sci.*, v. 65, n. 12, p. 2344-2351, 1986.
- HESS, R. A.; THURSTON, R. J.; BIELLIER, H. V. Morphology of the epididymal region and ductus deferents of the turkey. *J. Anat.*, v.122, p.241-252, 1976.
- HOCKING, P. M. The relationships between dietary crude protein, body weight, and fertility in naturally mated broiler breeder males. *Br. Poult. Sci.*, v.31, p.743-757, 1990.
- HOCKING, P. M.; BERNARD, R. Effects of male body weight, strain and dietary protein content on fertility and musculo-skeletal disease in naturally mated broiler breeder males. *Br. Poult. Sci.*, v.38, n.1, p.29-37, 1997.
- HOCKING, P. M. Effects of the age of male and female broiler breeders on sexual behavior, fertility and hatchability of eggs. *Br. Poult. Sci.*, v.41, p.370-377, 2000.
- HOWARTH JR, B. Fertilizing ability of cock spermatozoa from the testis epididymis and vas deferents following intramaginal insemination. *Biol. of Reproduc.*, Champaign, v.28, p.586-590, 1983.
- ILIO, K. Y.; HESS, R. A. Structure and function of the ductuli efferents: a review. *Microsc. Res. Tech.*, v.29, p.432-467, 1994
- KATANBAF, M. N.; DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Restricted feeding in early and late-feathering chickens. 2. Reproductive responses. *Poult. Sci.*, v.68, p.352-358, 1989
- KIRBY, J. D.; WASHINGTON, J.; RHOADS, M. L. *et al.* Impaired testis development and spermatogenesis in adult male fowl following unrestricted prepubertal growth and subsequent growth restriction. *Poult. Sci.*, v.77 (suppl.1), p.91 (abst.), 1998.
- KIRBY, J. D.; FROMAN, D. P. Reproduction in male birds. In: Whittow GC (Ed.). *Sturkie's avian physiology*. 5th ed. New York, NY: Academic Press., p.597-616, 2000.
- KING, A. S. Aparelho urogenital das aves. In: *Getty, R. Sisson and Grossman's. Anatomia dos animais domésticos*. 5ª ed. Rio de Janeiro, interamericana, v. 2, p.1805-13, 1986.
- LAKE, P. E. The male reproductive tract of the fowl. *J. Anat.*, v.91, n.1, p.116-129, 1957.
- LARA, J. C. L. Reprodução nas aves: Desafios do manejo e da nutrição. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.85-90, 2015.



LIVESTOCK and poultry: world markets and trade. USDA, 2015. Disponível em: <[http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock\\_poultry.pdf](http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf)>. Acessado em: 21 Dez. 2015.

MACIEL, M. P.; Características reprodutivas de galos leves e semi-pesados submetidos a diferentes fotoperíodos. Tese. UFLA, 2006.

McGARY, S.; ESTEVEZ, I.; BAKST, M. R. *et al.* Phenotypic traits as reliable indicators of fertility in male broiler breeders, *Poult. Sci.*, v.81, p.102-111, 2002.

McGARY BROUGHER, S; ESTEVEZ, I; OTTINGER, M. A. Can testosterone and corticosterone predicted the rate of display of male sexual behavior, development of secondary characters and fertility potential in primary broiler breeders? *Br. Poult. Sci.*, v.46, n.5, p.621-625, 2005.

MEZQUITA, J.; PAU, M.; MEZQUITA, C. Heat-shock inducible polyubiquitin gene UbI undergoes alternative initiation and alternative splicing in mature chicker testes. *Mol. Reprod. Dev.*, v.46, p.471-475, 1997.

MUNCHER, Y.; SOD-MORIAH, U. A.; WEIL, S. *et al.* Intratesticular retention of sperm and premature decline in fertility in the domestic rooster, *Gallus domesticus*. *J. Exp. Zool.*, v.273, n.1, p.76-81, 1995.

NAKAMURA, T.; TANABE, Y. In vitro steroidogenesis by testes of the chicken (*Gallus domesticus*). *Gen. and Compar. Endocrin.*, v.19, p.432-440. 1972.

NAKABAYASHI, O.; KIKUCHI, H.; KIKUCHI, T.; MIZUNO, S. Differential expression of genes for aromatase and estrogen receptor during the gonadal development in chicken embryos. *J. Mol. Endocrinol.* v.20, p.193-202, 1998.

NAVARA K .J; ANDERSON E. M.; EDWARDS M. L. Comb size and color relate to sperm quality: a test of the phenotype-linked fertility hypothesis. *Behav. Ecol.*, v.23, p.1036-1041, 2012.

NISHIYAMA, H. Studies on the reproductive physiology of the cock. V. The influence of androgen on the accessory organs of the phallus. *Proc. Xth World's Poult. Congr. Sect. A*, p.88-90, 1954.

O'BRYAN, M. K.; J. GRIMA; D. MRUK; C. Y. CHEN. Haptoglobin is a Sertoli cell product in the rat seminiferous epithelium: Its purification and regulation. *J. Androl.*, v.18, p.637-645, 1997.

PARKER, J. E.; MCCLUSKEY, W. H. The effect of the length of daily light periods on the volume and fertilizing capacity of sêmen from male chickens. *Poult. Sci.*, Champaign, v.1, p.1401-1405, 1963.

PARKER, T. H.; LIGON, J. D. Dominant male red jungle fowl (*Gallus gallus*) test the dominance status of other males. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, v.53, p.20-24, 2002.


PROJEÇÕES do agronegócio 2011/2012 a 2021/2022. MAPA, 2011. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acessado em: 22 out. 2015.

- RENEMA, R. A.; ROBINSON, F. E. Defining normal: comparison of feed restriction and full feeding of female broiler breeders. *Worlds Poult. Sci. J.*, v. 60, n. 4, p. 508-522, 2004.
- REZENDE, C. A.; BAIÃO, N. C.; RUIZ L. E. A.; MARQUES JÚNIOR, A. P. Escores de cloaca e de crista e morfometria testicular em galos de matriz pesada com 71 semanas de idade e três categorias de peso corporal. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.66, p.395-404, 2014.
- RICHARDS, M. P. Genetic regulation of feed intake and energy balance in poultry. *Poult. Sci.*, v. 82, n. 6, p. 907-916, 2003.
- ROSENSTRAUCH, A.; DEGEN, A. A.; FRIEDLÄNDER, M. Spermatozoa retention by Sertoli cells during the decline in fertility in aging roosters. *Biol. Reprod.*, v.50, p.129-136, 1994.
- ROSENSTRAUCH, A.; WEIL, S.; DEGEN, A. A. *et al.* Leydig cell functional structure and plasma androgen level during the decline in fertility in aging roosters. *Gen. Comp. Endocrinol.*, v.109, p.251-258, 1998.
- ROSS CO, 2004. Peso de los testículos, fertilidad y peso corporal. *Technical notes*, 2004.
- ROSS-AVIAGEN. Manual de manejo de matriz Ross, 2013.
- ROTHWELL, B. The ultrastructure of Leydig cells in the testis of the domestic fowl. *J. Anat.*, v.116, n.2, p.245-253, 1973.
- ROTHWELL, B.; TINGARI, M. D. The ultrastructure of the boundary tissue of the seminiferous tubule in the testis of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *J. Anat.*, v.114, n.3, p.321-328, 1973.
- RUSSELL, L. D.; ETTLIN, R. A.; SINHAHIKIM, A. P. *et al.* The classification and timing of spermatogenesis. In: *Histological and histopatological evaluation of the testis*, 1.ed. Clearwater, FL: Cache River Press, p.41-58, 1990.
- RUTZ, F.; ANCIUTI, M. A.; PAN, E. A. Fisiologia e manejo reprodutivo de aves. In: *Manejo de Matrizes de Corte*, Campinas, SP, p.75-143, 2005.
- SAS user's guide: statistics. *SAS Institute Inc.*, Cary, NC, 2002.
- SENGER, P.L. The organization and function of the male reproductive system. In: *SENGER, P.L. Pathways to pregnancy and parturition*. Second ed. USA: Current Conception, cap.3, p.44-79. 2003.
- SEXTON, K. J.; RENDEN, J. A.; MARPLE, D. N. *et al.* Effects of ad libitum and restricted feeding on semen quantity and quality, body composition, and blood chemistry of caged broiler breeder males. *Poult. Sci.*, v.68, p.569-576, 1989.
- STETTENHEIM, P. R. The integumentary morphology of modern birds - an overview. *Am. Zool.*, v.40, p.461-477, 2000.

- SUBRAMANIAN, S.; ADIGA, P. R. Characterization and hormonal modulation of immunoreactive thiamin carrier protein in immature rat Sertoli cells in culture. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, v.68, p.23–30, 1999.
- TANABE, Y.; SAITO, N.; NAKAMURA, T. Ontogenic steroidogenesis by testis, ovary and adrenals of embryonic and postembryonic chickens (*Gallus domesticus*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, v.63, p.456–63, 1986.
- TANAKA, S.; YASUDA, M. Histological changes in the testis of the domestic fowl after adenohipophysectomy. *Poult. Sci.*, v.59, n.7, p.1538-1545, 1980.
- THURSTON, R. J.; KORN, N. Spermiogenesis in commercial poultry species: anatomy and control. *Poult. Sci.*, v.79, p.1650-1668, 2000.
- TINGARI M. D.; LAKE P. E. Ultrastructural studies on the uterovaginal sperm host glands of the domestic hen, *Gallus domesticus*. *J. Reprod Fertil*, v.34, p.423-431, 1972.
- TYLER, N. C.; GOUS, R. M. The effect of photoperiod on testis weight and comb area of male broiler breeders. *Br. Poult. Sci.*, v.52, n.4, p.517-522, 2009.
- YOUNG, K. A.; BALL, G. F., NELSON, R. J. Photoperiod induced testicular apoptosis in European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Biol. Reprod.*, v.64, p.706-713, 2001
- VIZCARRA, J. A.; KREIDER D. L.; KIRBY, D. Episodic gonadotropin secretion in the mature fowl: Serial blood sampling from unrestrained male broiler breeders (*Gallus domesticus*). *Biol. Reprod.*, v.70, p.1798–1805, 2004.
- VIZCARRA, J. A.; KIRBY, J. D.; KREIDER, D. L. Testis development and gonadotropin secretion in broiler breeder males. *Poult. Sci.*, v.89, p.328-334, 2010.
- ZELLER, F. J. The effects of testosterone and dihydrotestosterone on the comb, testis, and pituitary gland of the female fowl. *J. Reprod. Fert.* v.25, p.125-127, 1971.
- ZLOTNIK, I. The cytoplasmic components of germ cells during spermatogenesis in the domestic fowl. *Quart. J. Microsc. Sci.*, v.88, p.353-365, 1947.

## 9. ANEXOS

### 9.1. Anexo I – Certificado CEUA

	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS CEUA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS</p>
<p><b>UFMG</b></p>	
<p><b>CERTIFICADO</b></p>	
<p>Certificamos que o Protocolo nº. 79 / 2015, relativo ao projeto intitulado "Escores de crista e cloaca e morfometria testicular de galos de matriz pesada com três diferentes idades e três categorias de peso corporal", que tem como responsável Antônio de Pinho Marques Jr., está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG), tendo sido aprovado na reunião de 22/06/2015. Este certificado expira-se em 22/06/2020.</p>	
<p><b>CERTIFICATE</b></p>	
<p>We hereby certify that the Protocol nº. 79 / 2015, related to the Project entitled "Comb and cloaca scores and testicular morphometry in broiler breeder roosters with three different ages and three body weight categories", under the supervision of Antônio de Pinho Marques Jr., is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA/UFMG), and was approved in 22/06/2015. This certificate expires in 22/06/2020.</p>	
<p>Cleuza Maria de Faria Rezende Coordenador(a) da CEUA/UFMG Belo Horizonte, 22/06/2015.</p>	
<p>Atenciosamente.</p>	
<p>Sistema CEUA-UFMG <a href="https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/">https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/</a></p>	
<p>Universidade Federal de Minas Gerais Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005 31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592 <a href="http://www.ufmg.br/bioetica/cetea">www.ufmg.br/bioetica/cetea</a> - <a href="mailto:cetea@prpq.ufmg.br">cetea@prpq.ufmg.br</a></p>	