

<https://orcid.org/0000-0002-8110-9504>

Avaliação de patologias espermáticas em sêmen de aves domésticas (*Gallus gallus domesticus* - galos caipira) criados em fazendas

Tayna Nunes Pereira

Centro Universitário de Barra Mansa – UBM. Barra Mansa - RJ - Brasil

Médica Veterinária autônoma CRMV/RJ 15825.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1197-1692>

E-mail: taynapereirarc@hotmail.com

Jaci de Almeida

Centro Universitário de Barra Mansa – UBM. Barra Mansa - RJ - Brasil

Médico Veterinário CRMV/RJ 9263 e Professor titular de Reprodução

Animal do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Barra Mansa – UBM.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8110-9504>

E-mail: jaciveterinariorj@gmail.com

Resumo

A galinha doméstica (*Gallus gallus domesticus*) é uma ave com grande diversidade de raças, porte e produtividade, e apesar de ter sido domesticada a mais de 3.000 a.C., teve sua especialização para produção de ovos e carne direcionada para umas poucas raças. Nesse contexto, a galinha caipira acabou ficando relegada a pequenas criações, geralmente criadas por sitiantes, fazendeiros e outros indivíduos por hobby. Dessa forma, na maioria das vezes, esses animais são criados de forma empírica, sendo a seleção dos reprodutores feita pelo fenótipo. Sendo assim, este experimento teve como objetivos verificar, através dos exames andrológicos e de morfologia espermática, se esses animais teriam um percentual de patologias espermáticas mais elevados, uma vez que sua seleção geralmente é feita ao acaso, o que poderia levar a uma menor fertilidade dos reprodutores.

Palavras chave: reprodutores caipiras, condicionamento, sêmen.

Abstract

The domestic chicken (*Gallus gallus domesticus*) is a bird with great diversity of breeds, size and productivity, and although it was domesticated more than 3.000 a.C., it had its specialization in the production of eggs and meat directed to a few breeds. In this context, the free-range hen ended up being relegated to small creations, usually created by farmers, farmers and other individuals as a hobby. Thus, most of the time these animals are raised in an empirical way, with the selection of breeders being made by the phenotype. Thus, this experiment aimed to verify through andrological exams and sperm morphology, if these animals would have a higher percentage of sperm pathologies, since their selection is usually done at random, which could lead to less fertility of the animals breeding.

Keywords: redneck breeders. conditioning. semen.

Introdução

Sales (2005) reportou que a origem da galinha doméstica (*Gallus gallus domesticus*), ocorreu a milhares de anos. Segundo arqueólogos mais recentes, a domesticação dessa espécie ocorreu a 3000 a.C. No entanto, há evidências de que as galinhas já eram conhecidas na Suméria no II milênio a.C.

No Brasil, a origem da avicultura nos faz voltar à época do descobrimento do País pelos portugueses, pois o relato da primeira ave que aqui chegou foi registrado na famosa carta, redigida por Pero Vaz de Caminha, escrivão sob o comando de Pedro Álvares Cabral, que desembarcou em nosso País no dia 22 de abril de 1500, no litoral sul, atual estado da Bahia. Em um dos trechos da carta, Caminha descreve o entusiasmo, o espanto e o medo que os índios tiveram ao se deparar com tal animal (DIAS, 2016).

No tocante à reprodução aviária, os pioneiros na biotecnologia de reprodução avícola foram Burrows e Quinn (1937), que desenvolveram o método de massagem abdominal e pressão na região da cloaca para coletar sêmen de galos. Rutz et al. (2007) reportaram que a técnica de coletar sêmen de aves, o rápido manuseio e o transporte desse sêmen até as fêmeas permitiu flexibilidade da inseminação artificial (IA) e propiciou o desenvolvimento de procedimentos eficientes para preservar o sêmen de aves em condições “in vivo” por algumas horas.

Contudo, mesmo sendo uma técnica relativamente simples para uso na espécie aviária, se restringe a alguns poucos núcleos de reprodutores da avicultura industrial. Isso devido, principalmente, à necessidade de mão de obra especializada ou treinada para a obtenção de bons resultados, dificuldade de conservação do sêmen in vitro e reversão do oviduto em certas espécies para a IA, sem falar que esse tipo de biotecnologia da reprodução é pouco divulgada nas

disciplinas de reprodução nos cursos de Medicina Veterinária para esta espécie em particular.

Apesar dos avanços na avicultura, a IA ainda não é aplicada de forma ampla no Brasil, restringindo-se a algumas poucas espécies e raças de aves, como perus (*Meleagris gallopavo*) e galinhas d'angola (*Numida meleagris*), galinhas (*Gallus gallus domesticus*) e faisões (*Phasianus colchicus*), situação já relatada por Resende (1988) e que vem se mantendo até os dias atuais. Em galinhas os custos de inseminação não acompanharam o preço do pinto de um dia, tornando-se inviável para a produção industrial (LAVOR, 2011).

Enquanto as populações diminuem de tamanho (na natureza ou em cativeiro), a endogamia pode ocorrer com mais frequência, o que por sua vez, pode reduzir a aptidão reprodutiva (NEI et al., 1975), incluindo a fecundidade e a sobrevivência (RALLS, BALLOU, 1986). Quando a variação genética é mantida ou aumentada, o vigor da população e a capacidade de adaptação às mudanças ambientais são reforçadas permitindo a manutenção e preservação de diferentes espécies de aves, assim como de suas raças.

Para as aves conhecidas como galinhas caipiras, não houve uma seleção direcionada para a produção ou fertilidade como ocorreu para outras raças. Nesse contexto, este estudo visa, através da realização do exame andrológico e da morfologia espermática dos galos caipiras, criados em sítios e fazendas, verificar se existe um maior percentual de patologias podendo levar a uma menor fertilidade.

Materiais e métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Escola Vila Pepita em Barra Mansa/RJ., sendo as coletas e avaliações seminais realizadas nos meses de agosto a outubro de 2019.

Um total de 3 galos caipiras (*Gallus gallus domesticus*) foram utilizados. Esses animais foram acondicionados em viveiros contendo puleiro, bebedouro e comedouro e posteriormente condicionados para coleta de sêmen. A coleta de sêmen era realizada, rotineiramente, 2 vezes por semana (dias alternados) através de massagem abdominal (BURROWS e QUINN, 1937). As amostras eram usadas sem seleção conforme quantidade, apenas excluindo-se aquelas que apresentavam contaminação por sangue ou resíduos cloacais.

Imediatamente pós-coleta, cada ejaculado foi submetido às análises das características físicas e morfológicas do sêmen segundo recomendações do Manual do CBRA, (2013). Somente ejaculados com $\geq 80\%$ de motilidade, vigor ≥ 3 e anormalidades espermáticas $\leq 30\%$ e com no mínimo 800×10^6 SPTZ/mL foram utilizados.

A avaliação da motilidade espermática era realizada imediatamente pós-diluição final, sendo feita de forma subjetiva (microscópio de campo claro - T0 horas). Para a concentração espermática, utilizou-se a contagem de células na câmara hematocimétrica de Neubauer numa diluição de 1:1000 em solução formol-salina-tamponada (HANCOCK, 1957), também sob microscopia óptica convencional em aumento de 400 vezes (CBRA, 2013).

Posteriormente, foi feita a morfologia espermática usando uma alíquota de 50 μL de sêmen adicionada a 1000 μL de uma solução formol-salina-tamponada (HANCOCK, 1957), depositando-se estes conteúdos de avaliação em tubos Eppendorff® cônicos de 1,5 mL, sendo a análise realizada em câmara úmida, com microscópio de contraste de fase em aumento de 1000 vezes. As patologias eram classificadas em defeitos maiores (DM), menores (Dm) e totais (DT), segundo o preconizado pelo (CBRA, 2013).

Os dados foram analisados utilizando o pacote STATA 12.0 Statistical Analysis Software (STATA CORP, 2012).

Resultados e discussão

O condicionamento dos galos quando manejados todos os dias geralmente ocorre entre 15 a 20 dias (dados não publicados). No entanto, os três galos utilizados neste estudo, demoraram um pouco mais que o esperado (30-45 dias), isso porque só era possível manipulá-los 2 vezes por semana, devido a impossibilidade de ir ao local onde estavam alojados. Outro fator que contribuiu para o atraso no condicionamento foi que os animais passaram por restrição alimentar durante a fase inicial de coleta de sêmen. No entanto, com todos esses contratemplos, com 45 dias, os três animais já estavam ejaculando.

Foram realizadas várias coletas de sêmen até que todos os animais tivessem produzindo ejaculados com regularidade e que atendessem aos parâmetros mínimos recomendados pelo CBRA (2013). Um ejaculado de cada reprodutor foi coletado e avaliado para as características físicas do sêmen, sendo os valores demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Características físicas do ejaculado de aves (*Gallus gallus domesticus* n=3, 1 coleta por reprodutor) coletadas pelo método da massagem dorso-abdominal.

Parâmetros / Animais	Volume (mL)	Turbilhão (1-5)	Motilidade (%)	Vigor (1-5)	Concentração (milhões/mm ³)
1	0,6	3	85	3	4,9 x10 ⁶
2	0,5	4	90	4	5,1 x10 ⁶
3	0,5	4	90	4	5,3 x10 ⁶

mL = mililitros e % = Porcentagem.

Os valores para os parâmetros espermáticos avaliados neste estudo foram superiores aos encontrados por Andrade et al. (1989) ao avaliar o sêmen de galos da linhagem pesada Hubbard White Mountain, exceto para o volume, tendo os autores obtido média de 0,75 mL.

Resende et al. (1983) ao avaliarem ejaculados de galos, verificaram variações nas médias de volume entre os dados de diferentes autores, o que continua sendo observado na atualidade. Assim, afirmaram que essas variações no volume de sêmen ocorrem devido ao tipo, linhagem, idade do reprodutor, fatores climáticos, regime alimentar, frequência e tecnologia de coletas.

A concentração espermática encontrada para galos caipiras no presente trabalho (Tabela 1), foi similar à obtida por Celeghini et al. (2001) e está acima da média de $(1,99 \times 10^6)$ obtida por Andrade et al. (1989) e também superior aos valores de 2×10^6 a 4×10^6 espermatozoides/mm³ descrita por Graft et al. (1926) para galos. Isso demonstra que, mesmo não havendo uma seleção genética direcionada para galos caipiras, houve um avanço genético positivo para essas aves nesse quesito.

Os bons valores obtidos para os ejaculados dos galos, utilizados no estudo (Tabela 1), demonstram que o condicionamento foi realizado de forma adequada, e que após o início das coletas de sêmen, os animais tendem a manter uma regularidade e qualidade na produção espermática. Isso porque os animais estavam no período reprodutivo, pois, quando fora do mesmo, apresentam uma redução no tamanho de suas gônadas (testículos) e isso faz com que a produção espermática tanto em volume quanto em qualidade fique abaixo do esperado, impossibilitando em alguns momentos sua utilização para a reprodução.

A avaliação da motilidade espermática constitui uma prática bastante vantajosa na criação de reprodutores (CARVALHO et al., 1978), e é um dos parâmetros mais frequentemente utilizados na avaliação do sêmen (HOLSBERGER et al., 1998) e o teste mais utilizado para prever a capacidade fertilizante do sêmen (FOOT, 2003). No entanto, divergências de valores referentes a motilidade espermática encontradas na literatura devem-se principalmente, às diferentes escalas, locais, raças utilizadas e também por ser um parâmetro altamente subjetivo.

As taxas de motilidade espermática obtidas para todos os galos neste estudo são suficientes para fertilizar o óvulo, conforme revelado na Tabela 1.

Após realizadas as avaliações físicas do sêmen, foram realizados 2 esfregaços do sêmen de cada reprodutor, sendo estes posteriormente corados com eosina e panótipo respectivamente (Figuras 1 e 2).



Figura 1 - Coloração de espermatozoides de galos caipiras com eosina.



Figura 2 - Coloração de espermatozoides de galos caipiras com panótipo.

Para a avaliação da morfologia espermática foram contados 200 espermatozoides em cada esfregaço (Tabela 2). Conforme pode ser verificado nas imagens das lâminas coradas e supracitadas. No entanto, a coloração com eosina ficou mais fácil de identificar as patologias, quando comparada a coloração com panótipo. Isso provavelmente se deve a qualidade do panótipo utilizado, pois o mesmo estava com data de validade vencida o que pode ter contribuído para a produção de uma lâmina de qualidade inferior a coloração com eosina.

Devido a qualidade inferior da lâmina corada com o panótipo, não foi possível tecer maiores comentários sobre as patologias encontradas, sendo possível apenas classificá-las em defeitos maiores e menores (Tabela 2). No entanto, as patologias espermáticas se mantiveram baixas e com percentual similar para os três reprodutores avaliados. O que foi uma surpresa, pois como eram reprodutores sem nenhum tipo de seleção reprodutiva, de lugares, genética e criados em sistema extensivos diferentes, era esperado que apresentassem diferença espermática, tanto no tipo de patologias como no percentual das mesmas.

Tabela 2 - Características morfológicas do sêmen de galos (*Gallus gallus domesticus* n=3, 1 coleta por reprodutor) usando dois métodos de coloração (eosina e panótipo).

	Eosina			Panótipo		
Animais						
Patologias	1	2	3	1	2	3
Defeitos Menores	10	6	7	9	5	6
Defeitos Maiores	5	4	3	6	5	4
Defeitos Totais	15	10	10	15	10	10

Pensando em fazer uma avaliação mais detalhada e criteriosa do sêmen dos galos para a morfologia espermática, foram também coletadas amostras para a avaliação pelo método da câmara úmida, utilizando microscopia de contraste de fase, sendo os resultados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Avaliação morfológica do sêmen de aves galos (*Gallus gallus domesticus* n=3, 1 coleta por reprodutor) pelo método de câmara úmida.

Características Espermáticas	Animais		
	1	2	3
SPTZ normais (%)	85	90	90
Acrossoma	1	0	0
Cauda dobrada	4	3	2
Cauda enrolada	5	3	4
Cauda fortemente dobrada	2	2	1
Cauda fortemente enrolada	3	2	3
Defeitos totais	15	10	10

% = Porcentagem.

Na avaliação espermática por câmara úmida foi possível identificar as principais patologias presentes no sêmen dos reprodutores (Tabela 3). Como todos os reprodutores apresentaram uma alta motilidade espermática, já era de se esperar que houvesse poucas patologias. No entanto, mesmo em pequeno percentual, foi possível detectar patologias de cabeça do espermatozoide no sêmen de um dos reprodutores, assim como observar que todos apresentavam patologias de cauda. Como foi avaliado apenas um ejaculado de cada reprodutor, não foi possível fazer maiores observações.

A maioria das anormalidades espermáticas ocorreram na cauda, seguida pela cabeça, corroborando com os achados de Feyisa et al. (2018) ao avaliar quatro diferentes raças de galinhas nativas na Coreia. Ainda segundo estes autores essas partes dos espermatozoides são mais suscetíveis a fatores ambientais.

Como as aves utilizadas neste estudo possuíam mais de 48 semanas de vida, já haviam passado pelo período crítico (≤ 20 semanas) onde apresentariam maior percentual de patologias espermáticas. Confirmado os achados de Correa e Arceo (1995), que reportaram a percentagem de defeitos espermáticos sendo

maior no início da vida reprodutiva dos galos (16%) e diminuindo ao alcançar a maturidade sexual (11%).

Percentual de patologias inferior ao do presente estudo foram reportados por Maciel et al. (2008), ao avaliar os efeitos de diferentes fotoperíodos sobre o desempenho e características do sêmen de galos de linhagem leve, obtendo uma média de 8,8%.

Uma outra forma mais simples de selecionar os galos sem a realização do exame andrológico seria pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias (presença ou não de crista), pois é um método simples e de fácil aplicabilidade prática em granjas comerciais, não requerendo a manipulação individual dos animais. Forma de seleção eficiente, segundo Celeghini et al. (2001), que em estudo com galos com e sem crista, relataram um percentual de defeitos espermáticos maiores para reprodutores sem crista nos períodos entre 24 e 27 e entre 32 e 35 semanas de idade.

Os resultados encontrados para os valores de concentração espermática (Tabela 1) e morfologia espermática (Tabela 3), estavam acima dos parâmetros mínimos recomendados pelo manual de andrologia do CBRA (2013) para aves domésticas. Indicando que os reprodutores após condicionados e manejados apresentavam qualidade seminal que permitiria seu uso como reprodutor e para a IA.

Os animais utilizados para este estudo eram novos (menos de 1 ano de idade), o que permite que sejam utilizados em reprodução ainda por algum tempo. Porém, as características seminais, tais como volume seminal, concentração espermática e motilidade espermática são influenciadas pela idade dos galos, aumentando nas primeiras semanas reprodutivas até alcançar a maturidade sexual completa (CORREA E ARCEO, 1995 e CEROLINE et al., 1997) e diminuindo após um período de pico de produção (HOCKING, 1989; FASENKO et al., 1992; ROSENSTRAUCH et al., 1994; HOCKING e BERNAD,

1997 e CEROLINE et al., 1997). Diante desse fato, é necessário a realização de exames andrológicos para os reprodutores e testes para verificar o percentual de eclosão em ovos, visando a manutenção da fertilidade nas criações de aves caipiras.

Trabalhos posteriores avaliando o efeito da idade e a penetração do espermatozoide na membrana perivitelina interna de galinhas reprodutoras (GUMULKA e KAPKOWSKA, 2005) mostram redução do número de perfurações e conseqüente fertilidade com aves de 56 e 62 semanas de idade e sugeriram que essa queda de fertilidade relacionada à idade pode estar relacionada à diminuição de eficiência dos túbulos de armazenamento de espermatozoide com o passar do tempo.

Na atualidade tem-se preconizado a utilização de métodos objetivos para a avaliação do sêmen como por exemplo o CASA. No entanto, esses métodos requerem equipamentos de elevado custo e que a maioria das Universidades e criatórios de aves não possuem. Nesse contexto, os métodos de avaliação subjetivos continuam sendo eficientes, práticos, acessíveis e de fácil execução permitindo sua ampla utilização. Mas embora os métodos subjetivos de avaliação do sêmen antes de seu processamento ou uso posterior para fins de inseminação artificial sejam muito importantes, a seleção de galos reprodutores com base na qualidade do sêmen é igualmente importante (BAHR et al., 1987; MCDANIEL, 1995 e MELLOR, 2001).

Realizando uma busca na literatura disponível e em compêndios, livros e artigos on-line sobre reprodução de aves, verificou-se que há poucos trabalhos sobre avaliação seminal em aves domésticas “galos caipiras” (*Gallus gallus domesticus*), possivelmente reflexo de uma avicultura comercial extremamente eficiente para a produção de proteína e fechada ao público em geral, o que acaba não despertando o interesse da indústria em realizar pesquisas com a espécie de aves domésticas de produção (galos caipira), ficando esse conhecimento na

maioria das vezes retido a poucos criadores e proprietários entusiastas, motivados pelo conhecimento e pelo hobby.

Em trabalhos comparativos de diferentes tipos de eosina-negrosina, avaliadores e raças de galos domésticos (LUKASZEWICZ et al., 2008) reportaram que este corante foi extremamente eficiente quando usado para avaliar a qualidade do sêmen e, como consequência, estimar o potencial fertilizante dos espermatozoides.

Em relação aos custos dos corantes eosina e panótipo, os valores são muito variáveis, dependendo da quantidade no frasco, marca, concentração e do volume adquirido. Mas em uma pesquisa rápida em sites de empresas comerciais observou-se que o maior valor encontrado ainda possui preço bem inferior a outros corantes e métodos objetivos de avaliação espermática.

Diante dos resultados encontrados, pode-se afirmar que a eosina é recomendável para a avaliação da morfologia espermática de galos caipiras, pois além de um método simples, não invasivo e barato, permite além das patologias verificar o percentual de espermatozoides viáveis (vivos morfologicamente intactos), possuindo desta forma uma vantagem em relação a coloração com panótipo que só permite a avaliação das patologias espermáticas.

Considerações Finais

O percentual de patologias encontradas foi baixa se considerar que foram utilizados animais não selecionados geneticamente e criados em sistemas extensivos, sem passar por vacinações, manejo controlado e seleção genética direcionada para a reprodução.

Na atualidade, constata-se que a maioria dos galos caipiras são selecionados para a reprodução pelo seu fenótipo, o que acaba mascarando o aspecto reprodutivo.

Apesar do exame andrológico em aves de produção, principalmente *Gallus gallus domesticus* ser uma prática de fácil realização, desde que o técnico criador ou Veterinário tenham passados por um treinamento, ainda é pouco conhecido e realizado, na prática, mesmo, pelos Veterinários, que muitas vezes saem das Universidades sem ter o conhecimento de como coletar e avaliar o sêmen dessa espécie.

Diante desse fato, é necessário realizar uma divulgação e treinamento de pessoas para uso dessa técnica de reprodução para a espécie avícola, uma vez que permitiria a eliminação de acasalamentos preferenciais e aumentaria o ganho genético da criação com a utilização de animais com potencial reprodutivo conhecido, o que somente é possível através da realização de exames andrológicos.

Em conclusão, o método pode ser recomendado para uso em morfologia espermática de galos caipiras onde as criações são reproduzidas por cobertura ou inseminação artificial com sêmen fresco.

Referências

ANDRADE, M.A.A.; LIMA, C.T.F.; FILHO, E.F.; WISCHRAL, A. Estudo das características físicas e pH do sêmen de galos Hubbard White Mountain (*Gallus gallus domesticus*, L.) criados no Estado de Pernambuco. **Caderno Ômega da Universidade Federal de Pernambuco**, Série Veterinária, Recife, n.3, p.51-58, 1989.

BAHR, J.M.; BAKST, M.R.; POULTRY. In: HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B., Eds. *Reproduction in Farm Animals*. Lea e Fibiger, Philadelphia, p.379-497, 1987.

BURROWS, W.H.; QUINN, J.P. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*. v.14, p.251-254, 1937.

CARVALHO, M.R.; MEGALE, F.; CHQUILOFF, M.A.G. Relações de três características do sêmen de galos White Leghorn com a fertilidade. *Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG*, Belo Horizonte, v.30, p.35-39, 1978.

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3 ed. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte. 104p., 2013.

CELEGHINI, E.C.C.; ALBUQUERQUE, R.; ARRUDA, R.P.; LIMA, C.G. Avaliação das características seminais de galos selecionados para a reprodução pelo desenvolvimento da crista. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. São Paulo, v.38, n.4, p.177-183, 2001.

CEROLINI, S.; KELSO, K.A.; NOBLE, R.C.; SPEAKE, B.K.; PIZZI, F.; CAVALCHINI, L.G. Relationship between spermatozoan lipid composition and fertility during aging of chicken. *Biology of Reproduction*, v.57, n.5, p.976-980, 1997.

CORREA, J.C.S.; ARCEO, A.M.A. Edad a la pubertad y características seminales de Gallos Rhode Island y Criollos Cuello desnudo bajo condiciones tropicales. *Veterinária México*, v.26, n.4, p.375-379, 1995.

CRAFT, W.A.; McELORY, V.H.; PENQUITE, R. The influence of certain feeds upon the production of spermatozoa by the domestic chicken. *Poultry Science*, Texas, v.5, n.3, p.187-189, 1926.

DIAS, E.M.R. **Estudo de caso sobre créditos de impostos pagos em uma empresa do setor avícola**. 2016. 48p. Monografia (Especialização - programa de pós-graduação em gestão contábil e financeira) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2016.

FASENKO, G.M.; HARDIN, R.T.; ROBINSON, F.E. Relationship of hen age and egg sequence position with fertility, hatchability, viability, and pre incubation embryonic development in broiler breeders. **Poultry Science**, v.71, p.1374-1383, 1992.

FEYISA, S.G.; PARK, Y.H.; KIM, Y.M.; LEE, B.R.; JUNG, K.M.; CHOI, S.B.; CHO, C.Y.; HAN, JY. [Morphological defects of sperm and their association with motility, fertility, and hatchability in four Korean native chicken breeds](#). **Asian-Australas Journal of Animal Science**, v.31, n.8, p.1160-1168, 2018.

FOOT, R.H. Fertility estimation: review of past experience and future prospects. **Animal Reproduction Science**. Amsterdam, v.75, p.119-139, 2003.

GUMULKA, M.; KAPKOWSKA, E. Age effect of broiler breeders on fertility and sperm penetration of the perivitelline layer of the ovum. **Animal Reproduction Science**, v.90, p.135-148, 2005.

HANCOCH, J.L. The morphology of boar spermatozoa. **Journal of Reproductive Microscopy Society**, n.76, p.84-97, 1957.

HOCKING, P. M. Effect of dietary crude protein concentration on semen yield and quality in male broiler breeder fowls. **British Poultry Science**, v.30, n.935-945, 1989.

HOCKING, P. M.; BERNAD, R. Effect of dietary crude protein content and food intake on the production of semen in two lines of broiler breeder males. **British Poultry Science**, v.38, n.2, p.199-202, 1997.

HOLSBERGER, D.R.; DONOGHUE, A.; FROMAN, D.; OTTINGER, M. Assessment of ejaculate quality and sperm characteristics in turkeys: sperm mobility phenotype is independent of time. **Poultry Science**, v.77, p.1711-1717, 1998.

LAVOR, C.T.B. *Avaliação do meio de conservação à base de água de coco em pó (ACP-108) sobre a qualidade do sêmen de galos (*Gallus gallus domesticus*) e capotes (*Numida Meleagris*)*. 2011. 253p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) -

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Estadual do Ceará, 2011.

LUKASZEWICZ, E.; JERYSZ, A.; PARTYKA, A.; SIUDZIN'SKA, A. Efficacy of evaluation of rooster sperm morphology using different staining methods. **Research in Veterinary Science**, v.85, p.583-588, 2008.

MACIEL, M.P.; COTTA, J.T.B.; MURGAS, L.D.S.; FREITAS, R.T.F. Desempenho e características do sêmen de galos leves submetidos a diferentes fotoperíodos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.4, p.1287-1291, jul./ago., 2008.

MCDANIEL, G.R. Managing broiler breeders for maximum fertility. **World Poultry**, v.9, p.25-27. 1995.

MELLOR, S. Selecting males by sperm quality. **World Poultry**, v.17, p.32-34, 2001.

NEI, M.; MARUYAMA, T.; CHAKRABORTY, R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. **Evolution**, v.29, p.1-10, 1975.

RALLS, K.; BALLOU, J.D. Preface to the proceedings of the workshop on genetic management of captive populations. **Zoo Biology**, v.5, p.81-86, 1986.

RESENDE, O.A. 20 anos de inseminação artificial em aves. **In: Reunião de atualização em técnicas de inseminação artificial em aves**. FCAVJ-UNESP, Jaboticabal, SP, 1988.

RESENDE, O.A.; MONTEIRO, J.M.L.; SANTOS, M.W., DIAS, P.G.O.; SOUZA, S.O. Inseminação artificial em galinhas. Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro, **Boletim técnico**, n.6, Niterói, maio, 1983.

ROSENSTRAUCH, A.; DEGEN, A. A.; FRIEDLÄNDER, M. Spermatozoa retention by Sertoli cells during the decline in fertility in aging roosters. **Biology of Reproduction**, v.50, n.1, p.129-136, 1994.

PEREIRA, T.N.; ALMEIDA, J.. Avaliação de patologias espermáticas em sêmen de aves domésticas (*Gallus gallus domesticus* - galos caipira) criados em fazendas UBM - Barra Mansa (RJ), ano XXV, v. 22, n. 42, 1. Sem. 2020 p. 138-155.
ISSN 1516-4071

RUTZ, F.; ANCIUTI, M.A.; XAVIER, E.G.; ROLL, V.F.B.; ROSSI, P. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.307-317, 2007.

SALES, M.N.G. Criação de galinhas em sistemas agroecológicos. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, **INCAPER**, Ed. DCM - **INCAPER** - ES, p.19-25, 2005.

STATA CORP. **Longitudinal-Data/Panel-Data Reference Manual**. Release 12. College Station, TX: StataCorp Press, 2012.