KATIA APARECIDA DA SILVA VIEGAS

“Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano”

**São Paulo
2004**

KATIA APARECIDA DA SILVA VIEGAS

“Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Cirurgia – Setor de Anatomia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Marcos Orsi

**São Paulo
2004**

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1420 FMVZ	<p>Viegas, Katia Aparecida da Silva</p> <p>Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (<i>Cortunix cortunix</i>) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano / Kátia Aparecida da Silva Viegas. - São Paulo : K. A. S. Viegas, 2004.</p> <p>95 f. : il.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2004.</p> <p>Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.</p> <p>Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Antonio Marcos Orsi.</p> <p>1. Codornas. 2. Morfologia animal. 3. Histofisiologia. 4. Reprodução. I. Título.</p>
----------------	---

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

PARECER

Interessado: Katia Aparecida da Silva Viegas

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento animal.

A Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, após analisar o projeto sob o número 346/2003, intitulado: "Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano", no qual foram utilizadas 24 codornas, sob responsabilidade do Prof. Dr. Antonio Marcos Orsi, constatou que o mesmo foi realizado de acordo com os princípios de bioética, adotados por esta Comissão.

São Paulo, 04 de agosto de 2004

Prof^aDr^a

Presidente da Comissão de Bioética

FMVZ/USP

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: VIEGAS, Katia Aparecida da Silva

Título: Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Dedicatória

Dedico este trabalho:

Ao meu querido mestre e amigo, Prof^o Orsi, que desde de quando eu comecei a trilhar os caminhos das Ciências Biológicas, me incentiva e me ajuda a realizar os meus sonhos.

Ao senhor dedico minha admiração, amizade e carisma.

Deus o abençoe por tudo o que já fez por mim.

A minha mãe pelo amor, pela paciência e por ter me ajudado a suportar os momentos mais difíceis dessa fase da minha vida.

"A melhor maneira de realizar seus sonhos é ajudar o maior número possível de pessoas a realizar os delas".

*Agradecimentos
Especiais*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus, por ser sempre tão generoso comigo, permitindo que eu realize meus sonhos e por me amparar e me dar forças nos momentos mais difíceis de mais esta etapa de minha vida.

Ao meu pai e ao meu irmão pelos momentos de descontração que passamos juntos neste período, que apesar de terem sido poucos devido ao tempo e a distância, valeram a pena e me fizeram muito bem.

Ao meu querido namorado, Davi Ricardo Reche Nunes, pela compreensão e paciência, pelo companheirismo e amor que me dedicou durante os momentos difíceis desta etapa, e pelos momentos maravilhosos e pelas alegrias que pudemos dividir, inclusive a de chegar até aqui e concluir este trabalho.

A família do meu namorado pela amizade e carinho com que sempre me tratam, em especial à minha cunhada Daniele e ao seu namorado Luis pelos momentos de diversão que me ajudaram a descansar um pouco.

A minha amiga Mônica Ap. dos Santos, por tantos anos de amizade e por estar por perto em mais uma conquista da minha vida.

Agradecimentos

AGRADECIMENTOS

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo financiamento deste trabalho através da concessão de bolsa de Mestrado (Processo nº 03/03367-0).

À Prof^a Maria Angélica Miglino pela concessão da bolsa CAPES que permitiu minha estadia em São Paulo no período inicial do Mestrado durante o curso das disciplinas no 1º semestre de 2003.

À minha colega Ana Rita de Lima pela convivência amigável no período em moramos juntas no início do Mestrado.

À Patrícia Fernanda Felipe Pinheiro e a sua família por ter me acolhido em sua casa durante a seleção para o Mestrado.

Ao amigo Edson José Benetti (Doutorando da Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ/USP) pela amizade que nasceu durante o período de seleção do Mestrado e que permaneceu até aqui e que faço questão de cultivar.

A todos os colegas de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ/USP pela amizade e companheirismo durante todas as fases do Mestrado, especialmente às amigas Ana Rita, Naianne, Karina, Dulcinéia e Ana Paula Vidotti por terem me acolhido em suas casas quando necessitei.

Aos amigos Rafael Carvalho Cardoso, André Luiz Casas, Alexandre Schmadaeck, Wilker e Vanessa pelos bons e maus momentos compartilhados.

Aos amigos André Philadelpho e Cadu (Carlos Eduardo de Mouras), que já passaram pelo curso de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ/USP, os quais tive a oportunidade de conhecer e conviver, agradeço pela amizade.

Aos técnicos do Departamento de Cirurgia – Setor de Anatomia da FMVZ/USP – Índio, Diogo e Ronaldo - pela amizade neste período de Mestrado.

A todos os docentes do Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ/USP, pela dedicação ao curso e pela amizade.

A amiga Dra. Karina Simões (UNIMEP – Lins) pelos momentos divididos durante esta etapa e pela sua preciosa ajuda na Microscopia Eletrônica de Transmissão.

A Raquel Fantin Domeniconi (Doutoranda – UNICAMP) pela amizade e pelos ensinamentos de Histoquímica que me concedeu durante o período de realização deste trabalho.

A Prof^a Maeli Dal Pai Silva (Docente responsável pelo Laboratório de Histologia e Histoquímica do Departamento de Morfologia do IBB/UNESP) por ceder seu

laboratório para os procedimentos histoquímicos realizados durante este trabalho e pelo esclarecimento que deu às minhas dúvidas sobre os métodos utilizados.

A Sueli Michelim (Técnica do Laboratório de Histologia e Histoquímica do Departamento de Morfologia do IBB/UNESP) pela assessoria nos trabalhos de histoquímica.

Aos colegas Célia Beu e Sérgio (Discentes do Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural da UNICAMP) pelo convívio amigável no Departamento de Anatomia do IBB/UNESP.

Aos técnicos do Departamento de Anatomia do IBB/UNESP – Gelson, Alcides, Marcos, Paulo e Luciano – pela amizade e presteza com que sempre me trataram.

Às colegas Maria Luíza (ex-secretária do Departamento de Anatomia do IBB/UNESP), Gersa (atual secretária) e D^a Cleusa pelo bom convívio e pela gentileza com que sempre me ajudaram quanto precisei.

A todos os docentes do Departamento de Anatomia do IBB/UNESP pela amizade firmada, em especial ao Prof^o Joffre Guazzelli Filho por ser sempre tão gentil e prestativo comigo.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica do IBB/UNESP, na pessoa do Sr. Nivaldo A. Basso, pela assistência técnica nas microscopias eletrônicas de transmissão e varredura realizadas neste trabalho.

Ao Prof^o Edvaldo Garcia do Departamento de Produção Animal da FCA/UNESP, Botucatu, por ceder as codornas para a realização deste trabalho; e a Sra. Marta da Fazenda Edgardia da FCA/UNESP, Botucatu.

RESUMO

VIEGAS, K.A.S. 2004. 95f. “Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano [Morphological study of the vas deferens of domestic quail (*Coturnix coturnix*) of Italian variety: structure, histophysiology and possible seasonal variability along the year]. 2004, 95f. Dissertação (Mestrado em Ciências - AC: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

Características morfológicas, histomorfométricas, ultraestruturais e tridimensionais do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana foram estudadas e descritas. Para tanto, foram utilizadas 30 codornas sexualmente maduras, procedentes de um criatório da Fazenda Edgardia de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. Os ductos deferentes foram coletados, observados e documentados ao longo do ano nas estações de outono, inverno, primavera e verão, e estudados por métodos de macro-mesoscopia, microscopia de luz, microscopias eletrônicas de transmissão (MET) e de varredura (MEV). Cada ducto deferente foi reduzido em três segmentos: proximal ou adepididimal; médio ou justa-renal, e distal ou adcloacal. Os estudos ultraestruturais e tridimensionais se concentraram no segmento médio do ducto. Diferenças marcantes na morfologia foram observadas, incluindo características estruturais e histomorfométricas, sobre os valores médios de altura epitelial, diâmetros tubular e luminal dos ductos deferentes, mensurados durante as quatro estações do ano, sendo mais marcantes as observações feitas no outono, a fase quiescente, e na primavera, a fase ativa, do ciclo testicular anual. Nas fases intermediárias do ciclo, compreendendo os meses de inverno (fase recrudescente), e de verão (fase regressiva), os reflexos da cinética testicular sobre a estrutura do ducto deferente se fizeram notar principalmente nas características subcelulares das células principais do epitélio de revestimento. As observações de MEV confirmaram a variabilidade morfológica do ducto deferente nas estações marcantes do ano (outono e primavera) em termos das fases do ciclo testicular anual. Estes estudos permitiram concluir que esta espécie de ave mostra um padrão circanual no ciclo reprodutivo, influenciando as características morfológicas dos ductos excretores do testículo.

Palavras-chaves: Codorna. Ducto Deferente. Morfologia. Histofisiologia. Reprodução Sazonal.

ABSTRACT

VIEGAS, K.A.S. 2004. 95f. Morphological study of the vas deferens of domestic quail (*Coturnix coturnix*) of Italian variety: structure, histophysiology and possible seasonal variability along the year [Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano]. 2004, 95f. Dissertação (Mestrado em Ciências – AC: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

The morphological, histomorphometric, ultrastructural and three-dimensional features of the vas deferens of quail (*Coturnix coturnix*) of the Italian variety were studied and described. For this study were utilized 30 adult sexually active quails taken from the experimental Edgardia Farm of the UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil. The vas deferens was collected, observed and documented along the year in the autumn, winter, spring and summer seasons, and studied by macro-mesoscopy, light microscopy, transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM). Each vas deferens was reduced in three segments: proximal (adepididymal); middle (just the median lobe of the kidney); and distal (adcloacal). The ultrastructural and three-dimensional studies were concentrated in the middle segment of the duct. It was verified marked morphologic differences in the vas deferens, including structural and histomorphometric features concerning the middle values of the epithelial height, tubular and luminal diameters measured during the four seasons of the year. The observations made in the autumn the quiescent phase and in the spring the active phase of the annual testicular cycle were more evident. In the intermediaries phases of the cycle, i.e., the winter (recrudescent phase) and summer (regressive phase), the influence of the testicular kinetic on the vas deferens structure was noted mainly in the subcellular characteristics of principal cells of the epithelium lining. The SEM observations confirmed the morphologic variability of the vas deferens in the main seasons of the year (autumn and spring) concerning to the annual testicular cycle phases. These studies allowed to conclude that this avian species showed a circunannual pattern of the reproductive cycle, influencing the morphological features of the excurrent ducts of the testis.

Key words: Quail. Vas deferens. Morphology. Histophysiology. Seasonal Reproduction.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3	MATERIAL E MÉTODO	25
3.1	Coleta e fixação do material.....	26
3.2	Microscopia de Luz.....	27
3.3	Histomorfometria.....	27
3.4	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	27
3.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	28
4	RESULTADOS	29
4.1	Morfologia e histomorfometria do ducto deferente de codorna.....	30
4.2	Ultraestrutura do ducto deferente de codorna.....	42
4.3	Estrutura tridimensional do ducto deferente de codorna.....	62
5	DISCUSSÃO.....	66
5.1	Sobre a morfologia; histomorfometria e histofisiologia sazonal do ducto deferente de codorna.....	67
5.2	Sobre a ultraestrutura e citofisiologia do ducto deferente de codorna.....	74
5.3	Sobre a estrutura tridimensional do ducto deferente da codorna.....	81
6	CONCLUSÕES.....	83
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A morfologia das gônadas e dos ductos excretores do testículo de aves tem sido pouco analisada e descrita, restringindo-se a um pequeno número de espécies comparada, por exemplo, aos mamíferos, e estudos considerando a influência de aspectos sazonais no ciclo reprodutivo das aves também são escassos (BREUCKER et al, 1982).

Na variedade japonesa de codorna (*Coturnix coturnix japonica*), os estudos de ARTONI (1993) e ARTONI et al. (1997), caracterizaram um padrão cíclico para a atividade sexual desta espécie, com base em estudos da cinética da espermatogênese. Todavia, se conhece que as codornas confinadas, em plantéis do mesmo sexo com contatos visuais e sonoros com plantéis similares e de sexo diferente, assim como descreveram SAMOUR et al. (1987), para psitacídeo, tendem a manter, aparentemente, uma atividade gonadal não propriamente cíclica. Isto porque as fêmeas fazem postura de ovos durante o ano todo, exceto com uma pequena redução de ovoposição no outono, conseqüentemente se mantendo ativas, e aparentemente constantes, as características do comportamento reprodutivo dos machos, especialmente na variedade italiana de codorna (ORSI, A. M. *Comunicação pessoal*, 2003).

Baseado em estudos da morfologia do ducto deferente de codorna (*Coturnix coturnix*), da variedade italiana, acompanhada sempre de análise concomitante do padrão estrutural testicular nesta espécie (ORSI et al., 2004), objetivou este trabalho investigar, além da estrutura e histofisiologia do ducto deferente, as possíveis variações sazonais morfológicas deste conduto nas diferentes estações do ano e verificar se o comportamento reprodutivo, seguiria os padrões definidos por BREUCKER et al. (1989), ou seja, cíclico, não cíclico ou semicíclico (intermediário).

Assim sendo o suporte de literatura relatado a seguir se faz com base na morfologia do ducto deferente de outras aves e com pequeno, mas necessário, enfoque em mamíferos para efeitos comparativos.

*Revisão da
Literatura*

2 REVISÃO DA LITERATURA

Cada ducto deferente de ave, topograficamente, é um tubo longo com característica serpentiniforme decorrente das ondulações fechadas que o ducto faz sobre si mesmo em seu trajeto celomático. O ducto é contínuo com a extremidade distal da região epididimária, a partir da qual se continua para além da porção caudal do testículo *ipsilateral*. O ducto deferente posiciona-se ventralmente aos rins, e se dirige caudalmente com trajeto tortuoso em direção à cloaca onde se abre no urodeo (GRAY, 1937; LAKE, 1957; 1981; TINGARI, 1971; 1972; AIRE et al., 1979; AIRE, 1980; STEFANINI et al., 1996).

No galo doméstico o ducto deferente apresenta externamente uma camada de tecido conjuntivo fibroso denso (fibro-muscular). Internamente ao tecido conjuntivo observa-se a camada muscular lisa. As fibras musculares se entrelaçam para formar dois estratos, não muito claramente demarcados, sendo um circular e outro longitudinal. O epitélio de revestimento tubular é do tipo pseudoestratificado colunar não ciliado (GRAY, 1937; TINGARI, 1971; 1972).

Após estudos fisiológicos e histofisiológicos sobre o transporte de espermatozóides nos ductos deferentes do galo doméstico, considerou-se que o movimento dos espermatozóides decorria da presença de mecanismos morfofuncionais envolvendo movimentos peristálticos ao longo deste ducto (DE REVIERS, 1975).

Com base comparativa na estrutura e histofisiologia dos ductos excretores dos testículos de mamíferos nota-se que, aparentemente, a estrutura muscular lisa do ducto deferente de aves estaria também relacionada à emissão dos espermatozóides estocados na cauda epididimária em direção à cloaca (DE REVIERS, 1975; STEFANINI, 1997). Nos mamíferos, em condições normais, a ejaculação dos espermatozóides é um processo de emissão violenta do sêmen, em direção à uretra prostática, que se observa ao se atingir o orgasmo masculino (VANWELKENHUYZEN, 1966; PABST, 1969; BAUMGARTEN et al., 1971; HIB et al., 1982; ORSI et al., 2000a, DIDIO, 2002).

Acrescido aos aspectos de histofisiologia do ducto deferente de aves, bem como de embasamentos anátomo-embriológicos (BUDRAS & MEIER, 1981), permitiu-se considerar que o ducto deferente tem estrutura e histofisiologia equivalentes ao corpo e a cauda do epidídimo, em sua zonação clássica nos mamíferos (vide para referência geral ROBAIRE & HERMO, 1988). Assim sendo, a região epididimal adtesticular de aves é correspondente à cabeça epididimária dos mamíferos (TINGARI,

1971; STEFANINI et al., 1996). STEFANINI et al. (1996), fizeram descrições sobre a morfologia e morfofisiologia do ducto deferente do pombo doméstico, sendo alguns aspectos destes estudos apresentados a seguir como literatura de embasamento.

No pombo doméstico, os ductos deferentes mostram disposição simétrica bilateralmente à linha mediana dorsal do celoma. Eles se posicionam lateralmente aos ureteres do mesmo lado, e se localizam predominantemente junto à porção caudal dos rins. Fazem trajeto caudal e se abrem no urodeo, o segmento médio da cloaca. A mucosa vaso-deferencial é revestida por epitélio pseudoestratificado colunar desprovido de cílios verdadeiros, sendo estas as células principais ou colunares, que coexistem com células basais desprovidas de superfície luminal e assentadas diretamente sobre a membrana basal tubular (STEFANINI et al., 1996).

Em nível ultraestrutural, as células colunares (ou principais) vaso-deferenciais de pombo apresentam intensa vesiculação apical, notando-se vesículas de diferentes configurações tais como: as vesículas revestidas com conteúdo denso, localizadas na face trans do aparelho reticular de Golgi (complexo de Golgi); as vesículas de superfície lisa com baixa eletrondensidade e também com revestimento por clatrina, e agregados envelopados de vesículas de baixa eletrondensidade, que constituem os corpos multivesiculares esparsos no citoplasma. Mitocôndrias com diferentes formas foram também observadas no citoplasma destas células (STEFANINI et al., 1996; 1999b).

As células basais do epitélio vaso-deferencial do pombo aparecem irregularmente cúbicas, tendo contorno celular ondulado e superfície lisa. Os núcleos são grandes, elípticos, com uma ou mais incisuras no envoltório nuclear, nucléolo bem evidente e muito eletrondenso e cromatina nuclear homogênea. A cromatina é predominantemente eucromatínica, porém ocorrem acúmulos heterocromatínicos na parte periférica interna da membrana nuclear (STEFANINI et al., 1996).

Observações preliminares de ORSI et al. (2002), permitiram verificar no epitélio tubular do segmento médio do ducto deferente de codorna doméstica a presença de: células colunares (principais) com microvilos apicais; células basais e um tipo celular densamente corado (basófilo ao HE), visível em microscopia de luz. Embora tais dados tenham sido apresentados como nota prévia, talvez as células basófilas pudessem corresponder às designadas células apicais ricas em mitocôndrias (MARTINEZ-GARCIA et al., 1995). Para estas células, descritas na maior parte do epitélio epididimal de mamíferos, onde se apresentam com diferentes configurações morfológicas,

MARTINEZ-GARCIA et al. (1995), sugeriram a possibilidade de serem células ativamente envolvidas em reabsorção e acidificação de fluido luminal do epidídimo.

Concernente também às células basais, tanto quanto às células ricas em mitocôndrias, ambas caracterizadas por alguns outros autores, não se conhece efetivamente o seu exato papel funcional (vide ROBAIRE & HERMO, 1988, para referência geral). Entretanto, de forma comparativa ao que se descreveu para as células basais da via respiratória aérea, EVANS et al. (2001), ainda que em nível até agora hipotético, aventaram que as células basais, além de estabilizarem o epitélio (função anteriormente também descrita no epidídimo por HAMILTON (1975), garantem movimento transepitelial de água, defesa oxidativa dos tecidos, formação do espaço lateral intercelular, com as células limitantes, regulação de inflamação neurogênica e possível resposta inflamatória. Por outro lado, HOLSHBACH & COOPER (2002) em estudos feitos em epidídimo de camundongo, levantaram a possibilidade das células basais terem origem extratubular, considerando a hipótese de serem monócitos recrutados a partir do sangue que irriga o epidídimo, possuindo, portanto, um possível papel imunológico.

As células colunares (principais) do ducto deferente de mamíferos foram investigadas com enfoque segmentar por HAMILTON & COOPER (1978). Estas mostraram algumas pequenas diferenças ultraestruturais regionais nos três segmentos do ducto (proximal, médio e distal). Estas células têm envolvimento com absorção de açúcares e com a incorporação glicídica em substâncias que são posteriormente secretadas para dentro do lúmen tubular (BENNETT et al., 1974).

Conseqüente às informações anteriores, para HERMO et al. (1994) as células colunares do ducto deferente de mamíferos estão equipadas com um aparelho secretório no qual se verificam: numerosas cisternas do retículo endoplasmático (RE) e um elaborado complexo de Golgi. Assim, em células principais do ducto deferente de rato foram observadas numerosas vesículas secretórias eletrônicas com diâmetros de 150 a 300 nm, com estrutura estável ou não labilizada quando traçadores eram introduzidos no lúmen tubular, porém foram observadas secretando no lúmen vasodeferencial (HERMO & MELO, 1987). No segmento terminal do ducto deferente ocorrem grupos discretos de células colunares, fazendo espermatofagia (COOPER & HAMILTON, 1977).

Às células colunares do ducto deferente de mamíferos, em função das características subcelulares descritas, foram propostas funções de absorção e endocitose

adsortiva de fase fluida; endocitose de proteínas e outras substâncias intraluminais (HERMO et al., 1994).

Estas substâncias, uma vez endocitadas, terminam por serem degradadas no interior de lisossomos secundários. Em células principais e apicais do ducto deferente de gerbilo, as principais funções observadas foram endocitose adsortiva e reabsorção de fluido seminífero (ORSI et al., 1999). Além disso, endocitose experimental de traçadores de membranas descrita por HERMO & MELO (1987) e possível transcitose célula a célula, por meio de vesículas de transcitose, foram observadas em nível das membranas plasmáticas laterais das células colunares vaso-deferenciais (HERMO & MELO, 1987; HERMO et al., 1994; ORSI et al., 1999).

No sistema vetor extratesticular de codorna da variedade japonesa, considerou-se: que o ducto deferente ocupa aproximadamente 66% do volume tubular total dos ductos extratesticulares, contendo a maior parte dos espermatozóides extragonadais (92,3%), e que os espermatozóides gastam o maior tempo (22,2 horas) para percorrê-lo totalmente, comparativamente com os outros ductos da via espermática (CLULOW & JONES, 1988). Em outro estudo morfométrico do ducto deferente de codorna doméstica da variedade japonesa, verificaram-se variações significativas no diâmetro tubular e na altura do epitélio de revestimento. Os maiores valores daquelas variáveis foram observados em março e abril e os menores valores em novembro. De outubro a fevereiro, contudo, não ocorreram variações significativas no epitélio de revestimento vaso-deferencial (MANOEL et al., 1998).

Em nível de observação preliminar ORSI et al. (2002) observaram, no ducto deferente de codorna da variedade italiana, os menores valores para as variáveis antes caracterizadas nos meses de outono, principalmente de final de março a meados de abril. Por outro lado, o assunto parece ser polêmico, uma vez que com base em estudos espermatogênicos, caracterizou-se na variedade japonesa de codorna doméstica um ciclo testicular anual cujas fases foram caracterizadas como de repouso no fim do verão; de recrudescência no outono; de proliferação ou maturação celular plena no final do inverno e início da primavera, e, de regressão na primavera e verão (ARTONI et al., 1997).

Face ao que foi até agora relatado e com base em descrições de fisiologia comportamental de aves, segundo WINGFIELD et al. (1994), verifica-se que os ritmos reprodutivos neste filo mostram grandes variabilidades mais dependentes, talvez, dos níveis de testosterona plasmática circulante, ou seja, de fatores endógenos atuantes

sobre a biologia da reprodução (FRAISSINET et al., 1987; WINGFIELD, 1993; WINGFIELD et al., 1994). Os ritmos reprodutivos em aves variam também com a durabilidade do fotoperíodo; pluviosidade e outros fatores climáticos e ambientais, isto é, com fatores parácrinos (HAMNER, 1966; FOLLET & SHARP, 1969; FRITH et al., 1976; KRUEGER et al., 1977; FUENZALIDA et al., 1989). Estes ritmos variam, inclusive nas condições de climas temperado; subtropical ou tropical úmido segundo se lê nos trabalhos citados, notando-se que as condições de climas subtropical ou tropical úmido são os mais observados em nosso meio.

Assim sendo, em perdiz foram verificados picos de andrógenos plasmáticos e de índice gonadossomático em abril, mês de primavera no hemisfério norte (norte da Itália), em que a plenitude dos estágios de espermatogênese foram morfológicamente observados, coincidindo este período de ativa proliferação celular com o período reprodutivo pleno destas aves. Notou-se ainda uma resposta gonadal ao LH no período de abril-maio (primavera), sendo as gônadas não responsivas em fevereiro, no inverno (FRAISSINET et al., 1987).

Em pombos das regiões semi-árida e árida da Austrália, no hemisfério sul, caracterizou-se um ciclo testicular anual com atividade espermatogênética máxima na primavera e verão. Contudo, os autores consideraram também que existe tendência para uma minoria dos pássaros estudados de apresentarem cinética de espermatogênese máxima no outono e no inverno, do que em outras estações do ano (FRITH et al., 1976).

No *Phasianus colchicus*, uma ave coreana, foi descrito que o pico reprodutivo em machos acontece durante a primavera e no início do verão (KIM & YANG, 2001). Os autores chegaram a esta conclusão observando que o peso testicular é mínimo no final do verão (agosto no hemisfério norte), sendo ainda baixo durante o outono e inverno (setembro a fevereiro). No início da primavera (março) o índice gonadossomático começa a aumentar, coincidentemente com os níveis plasmáticos de testosterona. Ambos os parâmetros são máximos na primavera alta e no início do verão (março a junho).

Em *Melospiza melodia melodia*, uma ave norte-americana, WINGFIELD (1993) propôs um mecanismo interativo entre o fotoperíodo e o programa hormonal endógeno, quanto ao controle da cinética da espermatogênese. O autor verificou que a diminuição da duração de luz diurna resultava em regressão gonadal. No entanto, durações similares de iluminação diurna teriam sido foto-estimulatórias para o desenvolvimento testicular no início da primavera. O autor sugeriu a presença de

programas endógenos (hormonais) de controle de atividade gonadal e que mudanças na duração da luz diurna poderiam atuar como um condutor do ciclo testicular anual. Equivale a dizer que haveria uma combinação de estímulos ambientais contínuos e ritmos endógenos no controle da reprodução. Estudos comparativos em aves, incluindo a *Coturnix coturnix* objeto deste estudo, têm indicado que a duração da luz diurna age como um condutor para o desenvolvimento testicular (FARNER & FOLLET, 1979; FARNER & GWINNER, 1980; FOLLET, 1984; WINGFIELD, 1993).

Em contrapartida ao que foi relatado, há estudos que questionam na *Coturnix coturnix* e em algumas outras espécies de aves passeriformes, uma ciclagem testicular anual padronizada, segundo o modelo mais usualmente descrito (WINGFIELD et al., 1994). Assim sendo, o desenvolvimento gonadal eventualmente ocorreria também em dias curtos (outono e inverno), sempre em ausência constante de luz (SHARP & STERLING, 1985; GUYOMARC'H & GUYOMARC'H, 1992).

Em condições de cativeiro, bem como em criações com confinamento de plantel, há tendências em aves silvestres como o periquito australiano, de acordo com SAMOUR et al., (1987), bem como em anatídeos, segundo BREUCKER et al. (1989), de haver rupturas na constância do ciclo testicular anual. Assim, em periquitos confinados com um grupo do mesmo sexo sob período constante de duração de luz - visualmente isolados, mas em contato vocal com outros periquitos de ambos os sexos - ocorreram algumas mudanças estruturais marcantes na cinética testicular ao longo do ano. Não se notou, por exemplo, regressão testicular, e a produção de espermatozóides ocorreu somente quatro vezes durante o ano, alternando-se com períodos de inatividade sexual (SAMOUR et al., 1987).

Na ave *Lophoneta specularioides*, com uma amostra analisada numa população Alto Andina, verificou-se um padrão circanual de alternância de fases de repouso e de atividade gonadal, e portanto reprodutiva, diferindo dos ciclos espermatogênicos anuais bem delimitados de aves de regiões temperadas, onde a reprodução é prevalente na primavera (BREUCKER et al., 1989). Os autores consideraram que essa espécie de pato andino apresenta um padrão intermediário entre a reprodução contínua e aquela claramente estacional, ou seja, semicíclico. Por outro lado, na variedade japonesa de codorna, o trabalho de ARTONI et al. (1997), definiu um padrão cíclico para a atividade sexual desta espécie, com base em estudos da cinética da espermatogênese.

Face ao exposto, neste estudo sobre a morfologia do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana, aparentemente ainda não estudado como órgão individualizado nesta espécie, são descritas características estruturais, histomorfométricas, ultraestruturais e tridimensionais.

*Material e
Métodos*

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta e fixação do material

Neste trabalho estudou-se a morfologia e a histofisiologia do ducto deferente (DD) de codorna (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana, macho, adulta, com peso corpóreo médio de 200 gramas. Utilizaram-se 30 aves procedentes do criatório experimental de codornas da Fazenda Edgárdia, pertencente ao complexo das fazendas experimentais da UNESP em Botucatu. Os animais foram mantidos nos plantéis de criação com dieta sólida e água administradas “*ad libitum*”. As condições de higiene das aves foram controladas mediante supervisão de Médicos Veterinários, tendo em vista que estes animais são amplamente utilizados com maior emprego em pesquisas de nutrição animal.

Os ductos deferentes das codornas foram coletados nos meses mais expressivos de cada estação ou seja: final de março a meados de abril (outono), junho-julho (inverno), outubro a meados de novembro (primavera), e janeiro-fevereiro (verão). Foram 12 animais para estudos em microscopia de luz e histomorfometria; 12 para microscopia eletrônica de transmissão; 6 para microscopia eletrônica de varredura, totalizando 30 aves.

Baseado na literatura consultada, há estimativa de possivelmente ocorrer maior atividade gonadal, que tende a se refletir na estrutura do ducto deferente, durante a primavera. Portanto, os resultados foram descritos, principalmente, com base nos eventos ocorridos na primavera e sequência das variabilidades estruturais estudadas nas demais estações.

As codornas foram anestesiadas mediante uma mistura de cloridrato de quetamina (20 mg/kg) e cloridrato de xilazina (1,5 mg/kg), aplicada por via intramuscular, obtendo-se eutanásia e a seguir foi feita laparotomia; evisceração do trato gastrointestinal e coleta dos testículos e ductos deferentes, obviamente se coletando também a região epididimária uma vez que esta conecta-se ao sistema tubular seminífero intratesticular e ao ducto deferente ipsilateral (ARTONI, 1993). Amostras adequadas do material foram fixadas nos seguintes fixadores: solução aquosa de formalina tamponada (tampão fosfato, pH 7,2, 0.1 M); fixador de Bouin e fixadores de Karnovsky, segundo Karnovsky (1965), e de McDowell (GLAUERT, 1991).

3.2 Microscopia de Luz

A rotina de microscopia de luz foi a usual, com fixação do material em solução aquosa de formalina tamponada (tampão fosfato, pH 7,2, 0.1 M); fixador de Bouin e fixador de Karnovsky. Os dois primeiros fixadores citados, foram utilizados para as amostras tissulares destinadas para estudos de microscopia de luz em materiais incluídos em *paraplast*® e o ultimo usado para aqueles incluídos em historesina (*Historesin*®, Leica, Alemanha). A seguir foram feitas a microtomia com cortes de 5 a 7 µm no material de *paraplast*® e de 2-4 µm no material de historesina, e colorações com HE e PAS/H. O material foi analisado com fotomicroscópio Olympus BX-41¹ e fotodocumentado com o emprego de câmera digital DP-12 (Olympus)¹.

3.3 Histomorfometria

Para a histomorfometria utilizou-se o material de microscopia de luz comum. A histomorfometria foi feita, tendo em vista obter os valores de alturas epiteliais e os diâmetros tubular e luminal dos DD, enfocando as análises morfométricas nos segmentos transversais do ducto deferente, obtidos do segmento médio. Foram utilizadas três lâminas de cada animal, contendo as lâminas três cortes histológicos com quatro medidas por corte.

As análises histomorfométricas foram feitas através do software Image-Pro version 4.5.1.3 for Windows 98/NT/ME/2000/XP¹, utilizando as imagens captadas através de câmera digital DP-12 (Olympus) acoplada ao microscópio BX-41 (Olympus). Os valores obtidos foram agrupados por estação do ano e tratados estatisticamente por métodos paramétricos - valores de médias aritméticas e desvios-padrão (MORRISON, 1976).

3.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As rotinas e investigações de MET foram feitas em amostras adequadas do segmento médio do DD, nos materiais coletados de 12 codornas (3 por estação). Os

¹ Equipamento adquirido com Auxílio à Pesquisa fornecido pela FAPESP (Proc. nº 03/00879-0). Responsável pelo projeto: Profº Dr. Antonio Marcos Orsi, Departamento de Anatomia, IBB/UNESP, Botucatu.

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 Morfologia e histomorfometria do ducto deferente de codorna

O ducto deferente de codorna é um tubo muito ondulado, serpentiniforme, tendo em média $6,0 \pm 0,33$ cm de comprimento. Ele percorre a parede abdominal dorsal, ao longo da linha média, e forma alças estreitas do tipo em “zigue-zague” (Figura 1a), exceto no outono quando se apresenta retilíneo, em todos os seus segmentos (Figura 3a, 4a e 5a). Em todo o seu percurso abdomino-pélvico cada ducto deferente faz sintopia com o ureter do mesmo lado, fazendo ambos trajetos paralelos entre si em direção à cloaca (Figura 1a). Cada ducto deferente de codorna se inicia na extremidade caudal da região epididimária (Figura 1b), e termina na parede dorsal do urodeo onde se abre caudalmente à abertura do ureter do mesmo lado (Figura 2). Para efeitos descritivos, e por razões de trajeto e sintopia, o ducto deferente pode ser dividido em três segmentos contínuos e seqüentes: cranial, médio e caudal (Figura 1c). O segmento proximal, ou cranial, está relacionado à parte visível do ureter logo abaixo do lobo médio do rim.

As secções histológicas transversais do ducto deferente mostram-no organizado como túbulos paralelos entre si (Figura 3b), em consequência das ondulações estreitas que o ducto faz sobre si mesmo. A luz tubular, freqüentemente, estoca grande quantidade de espermatozóides e fluido (Figura 3d), sendo esta característica morfológica notada em todos os segmentos tubulares, nas preparações de inverno (Figura 3b), primavera (Figura 3c) e verão (Figura 3d), exceto no outono (Figura 3a).

As secções tubulares transversais do ducto deferente de codorna têm formas variadas, com parede delgada e quase ausência de pregas longitudinais na parede tubular (Figuras 3b-d). Por outro lado, o DD de outono, por ser um tubo retilíneo, mostra parede mais espessa e pregas longitudinais que penetram na luz tubular, sendo formadas pelo epitélio e lâmina própria tubulares (Figura 3a).

A estrutura histológica vaso-deferencial guarda certas semelhanças no inverno (Figura 3b), primavera (Figura 3c) e verão (Figura 3d), que são estações do ano mais ativas em termos de cinética testicular e dos ductos excretores dos testículos (vide discussão). Assim, o aspecto histológico geral do ducto deferente proximal, observado em secções histológicas transversais, é caracterizado pelas secções irregulares e paralelas entre si do conduto ondulado (Figura 3b), revestido por epitélio

pseudoestratificado não muito elevado e estocagem de grande quantidade de material, sendo predominantemente espermatozóides, na luz tubular (Figuras 3c-d). No outono o padrão estrutural geral da histologia do ducto muda, tanto no segmento proximal (Figura 3a), como nos segmentos médio e distal (Figuras 4a e 5a), devido ao não-ondulamento, presença de pregas longitudinais no epitélio tubular e ausência de material intraluminal (Figuras 4a e 5a).

O segmento médio do ducto deferente de codorna se estende ao longo da margem medial do rim ipsilateral e perpassa o nível renal, em direção à parte pélvica do celoma onde se caracteriza o segmento caudal (Figura 1a). A estrutura histológica geral do segmento médio (Figura 4), à semelhança do que se descreveu no segmento proximal (Figura 3), e também ao que se observa, de modo similar, no segmento distal (Figura 5), não tem grandes variabilidades ao longo das estações. No outono o padrão retilíneo do conduto, em sua parte média se mantém, bem como a presença de pregas longitudinais no epitélio e ausência de material intraluminal (Figura 4).

O conjunto das camadas muscular + adventícia do ducto no segmento médio de outono, entretanto, mostra um ligeiro aumento (Figura 4a), relativamente ao segmento proximal de outono (Figura 3a). Este conjunto de camadas estruturais mostra-se ainda mais espesso no segmento distal do ducto deferente de outono (Figura 5a), ao que se supõe dada a sua capacidade de garantir a ejaculação no processo de emissão do sêmen (vide discussão). No segmento médio, no inverno (Figuras 4b), na primavera e no verão (Figuras 4c-d), bem como no segmento distal (Figuras 5b-d), o padrão ondulado não varia apreciavelmente daquele descrito proximalmente (Figuras 3b-d) quanto às características histológicas. Todavia, se ressalta que o epitélio pseudoestratificado que reveste o conduto (Figura 4d) é algo mais elevado do que no segmento proximal (vide Figura 3d), podendo ser visualizadas as células colunares (principais) e basais, e o interstício frouxo da lâmina própria tubular (Figura 4d).

O segmento caudal (distal ou terminal) do ducto deferente de codorna representa a parte pélvica deste conduto (Figura 1a), sendo ligeiramente dilatado nas adjacências da cloaca (Figura 1c). Ele termina como parte reta vaso-deferencial (Figura 5d), a qual precede a papila do ducto deferente de localização intra-urodeal (Figura 2).

Neste segmento distal, no outono, se destaca a espessura proporcionalmente maior da camada muscular, antes já destacada; a luz tubular tipicamente estrelada conseqüente à maior proeminência das pregas longitudinais presentes no epitélio tubular; a vascularização mais abundante em nível da lâmina própria, e a túnica

adventícia formada predominantemente por tecido conectivo frouxo, com fibras do conjuntivo evidentes (Figura 5a).

A “*pars recta ductus deferens*” aparece em nível mais distal, “ad cloacal”, junto ao segmento caudal, tendo características morfológicas gerais do ducto deferente distal e retílineo de outono (Figura 5d). Isto, em todas as estações do ano, destacando-se a *histiotopia* entre a parte distal do ducto e a parte reta do ducto deferente em preparações histológicas baseadas em secções transversais do ducto (Figura 5d). Assim sendo, o epitélio aparece colunar alto, com núcleos justabasais e verticalizados das células colunares postos de permeio, ou em plano ligeiramente superior, aos núcleos horizontalizados e ovalados das células basais (Figura 6).

No epitélio de revestimento da “*pars recta*”, células delgadas escuras são evidentes, mostrando aspecto caliciforme com plasmalemas laterais eosinófilos; glicocálix apical bem delineado e borda apical em escova evidente tendo microvilos curtos e delgados. Na lâmina própria, subepitelial, aparecem arranjos densos de fibras do conjuntivo entremeadas de muitos fibroblastos e fibrócitos. Arranjos variados de fibras musculares lisas, com predomínio aparente de disposição circular interna e longitudinal-oblíqua, são evidentes na espessa camada muscular parietal. Externamente a esta, a camada adventícia se faz notória, sendo de estrutura mais frouxa e dotada de pequenos vasos sanguíneos (Figura 6).

Os diâmetros tubular e luminal médios, mensurados no segmento médio do ducto deferente de codorna, são mostrados em gráfico e comparados entre si, nas quatro estações do ano. Observam-se pequenas diferenças nos diâmetros tubulares e luminais na primavera, no verão e no inverno, sendo nesta estação ambos os diâmetros um pouco maiores. Porém, as diferenças numéricas observadas nestas três estações do ano não foram significativas entre si (Figura 7). Por outro lado, ocorreu diminuição significativa dos diâmetros tubular e luminal médios do ducto deferente de outono, relativamente aos das outras estações do ano (Figura 7). Ademais, se observou que as alturas médias do epitélio de revestimento do segmento médio mostram pequenas variações numéricas, não significativas entre si, sendo mais alto o epitélio do ducto deferente no outono (Figura 7). Estas observações têm correlações com variações sazonais, conforme discutiremos posteriormente.

A estrutura histológica básica do ducto deferente de codorna tem pequenas variações histológicas segmentares em microscopia de luz, sendo caracterizada pela presença das camadas, ou túnicas: mucosa com epitélio de revestimento e lâmina

própria; muscular lisa e adventícia. O epitélio é pseudoestratificado; estereociliado (com microvilos), tendo células com formas entre cúbica e colunar (Figuras 8 a 11). A altura celular média das células epiteliais aumenta no outono, em todos os segmentos tubulares, porém de forma não significativa. Isto provavelmente decorreria do maior ondulamento do epitélio tubular nesta estação (Figuras 7 e 8). No epitélio do ducto deferente de codorna se encontram, basicamente, células basais; colunares (principais) com microvilos, não muito evidentes em microscopia de luz; e, delgadas escuras (Figuras 8 a 10).

A espessura da camada muscular lisa do ducto, conforme antes já fora descrita, varia com os segmentos do ducto considerados e com as estações do ano. Assim, tende a ser mais espessa nos segmentos distais em todas as estações, com melhor evidência no ducto deferente retilíneo de outono e na parte reta (vide Figuras 5a, 5d, 6 e 8). Na primavera (Figura 10) e verão (Figura 11), a espessura relativa da camada muscular é menor, talvez em função da grande contenção intraluminal de fluido e espermatozóides que, aparentemente, tornaria delgada a estrutura mural como um todo, para contrapor a dilatação excessiva da luz tubular. No inverno, há também grande retenção de fluido luminal e células na luz, com conseqüente adelgaçamento da parede tubular (vide Figura 4b). Porém, nesta estação, por vezes, foi observada uma associação estrutural entre as túnicas muscular e adventícia, onde aparentemente uma se funde ou se prolonga na outra, caracterizando-se uma nítida camada mio-estromal (Figura 9).

Figuras 1 a–c: Preparações anatômicas do ducto deferente esquerdo (DD), da codorna da variedade italiana “*in situ*” (a: 1,5x), e DD isolado, em visão dorso-lateral, juntamente com o testículo (T) e região epididimária (re, em b: 1,0x), e, DD isolado e ampliado (c: 1,5x), sendo apontados: o próprio DD (seta espessa) e seus segmentos cranial (1), médio (2) e caudal (3), e relações de vizinhança: com os lobos cranial (*) e caudal (* maior), do rim esquerdo; ureter esquerdo (seta longa) e artéria pudenda esquerda (deslocada, seta menor, em a); o DD (seta espessa) e seus segmentos (1, 2, 3); sua origem na porção caudal da região epididimária (re, em b) e sua terminação ampular (estrela) distal, e, as mesmas características regionais apontadas em b, ampliadas em c, notando-se o comportamento ondulado (convoluto), do DD em a e c.

Figura 2: Representação esquemática da cloaca de codorna italiana macho, em secção sagital com enfoque maior no antímero esquerdo, sendo indicados: reto (R), coprodeo (C), urodeo (U), ducto deferente esquerdo (*), cortado e visto de topo, corpo vascular esquerdo (CV), prega anal ventral (P), pregas linfáticas (* menores) e falo (F). Na luz do urodeo (U), se vêem o óstio uretérico (u) esquerdo e a papila vaso deferencial (p) da parte terminal do vaso deferente esquerdo.

Figuras 3 a–d: Fotomicrografias de secções transversais do segmento cranial (*adepididimal*), do ducto deferente (DD) de codorna italiana no outono (a: 100x, barra: 5 μ m), inverno (b: 20x, barra: 25 μ m), primavera (c: 200x, barra: 2,5 μ m), e verão (d: 100x, barra: 5 μ m), sendo visualizados a disposição retilínea do DD no outono (a) e convoluta (b a d), nas demais estações. São indicados: pregas longitudinais da mucosa (cabeças de setas), luz tubular (*) e conteúdo luminal (estrelas). Hematoxilina-fucsina em a, b, e d; HE em c.

Figuras 4 a – d: Secções transversais do segmento médio (*justarena*), do ducto deferente (DD) de codorna italiana no outono (a: 100x, barra: 5 μ m), inverno (b: 100x, barra: 5 μ m), primavera (c: 400x, barra: 1,25 μ m), e verão (d: 100x, barra: 0,5 μ m), sendo indicados: luz tubular (*) e conteúdo luminal (estrêlas); pregas longitudinais da mucosa (cabeças de setas) e epitélio tubular (e) com células basal (B) e principais (P); córion (c), muscular lisa (m) e adventícia (a), e, interstício peritubular (IT), com vasos sangüíneos (estrelas menores). HE, em todas as preparações.

Figura 5: Secções transversais do segmento caudal (*adcloacal*), do ducto deferente (DD) de codorna italiana no outono (a: 100x, barra: 5 μ m), inverno (b: 100x, barra: 5 μ m), primavera (c: 200x, barra: 2,5 μ m), e verão (d: 20x, barra: 25 μ m), sendo visualizados a disposição retilínea do DD no outono (a) e convoluta (d), no verão. São indicados: conteúdo luminal (estrêlas); pregas longitudinais da mucosa (cabeças de setas) e epitélio tubular (e); camada muscular lisa (m) e a parte reta terminal (seta) do DD em d. HE, em todas as preparações.

Figura 6: Parte reta do ducto deferente (DD) de codorna, em corte transversal sendo indicados os componentes da parede do DD: epitélio (E) da mucosa com células basais (b), principais (p) e delgadas (e = basófilas, “escuras”), glicocálice (setas menores), microvilos (seta); lâmina própria (L), muscular lisa (M), e adventícia (A) com arteríola (cabeça de seta). PAS/H, 400x, barra: 1,25 μ m.

Figura 7 - Variações morfométricas (valores médios) do ducto deferente médio da codorna durante as estações do ano. São Paulo, 2004.

Figuras 8 a 11: Secções transversais do segmento médio do ducto deferente (DD) de codorna italiana no outono (8: 400x, barra: 1,25 μ m, PAS/H), inverno (9: 1000x, barra: 0,5 μ m, HE), primavera (10: 400x, barra: 1,25 μ m, tricrômico de Masson-Goldner), e verão (11: 400x, barra: 1,25 μ m, HE), sendo indicados os componentes da parede do DD: epitélio (E) da mucosa com células basais (b), principais (p) e delgadas (e = basófilas, “escuras”), glicocálice (setas menores), microvilos (seta); lâmina própria (LP em 8, 9; L em 10, 11) e eixo conjuntivo de prega longitudinal da mucosa (estrela em 8), muscular lisa (M) e espermatozóides (z) na luz tubular em 11.

4.2 Ultraestrutura do ducto deferente de codorna

No epitélio de revestimento do ducto deferente de codorna da variedade italiana, ultraestruturalmente, se confirma a presença predominante de células colunares, ou principais, dotadas de pequenos microvilos apicais; de células basais; de células escuras (Figura 12), e de células delgadas escuras, ricas em mitocôndrias, que são mais observadas no epitélio vaso-deferencial de outono (Figura 13). A ultraestrutura das células colunares é bem típica na primavera (Figura 14), durante a fase intensamente proliferativa do ciclo testicular anual. Porém, as células colunares mostram características subcelulares marcadamente diferentes no outono, a etapa quiescente do processo espermatogénico (ORSI et al., 2004), bem como se observaram pequenas variações morfológicas, com peculiaridades similares nas estações mais extremadas do ano, ou seja, no inverno e no verão.

As células delgadas escuras têm a maior eletrondensidade núcleo-citoplasmática, dentre os outros tipos celulares descritos. O núcleo de cada célula delgada aparece irregularmente alongado; com cromatina escura, mas granular, e, com grandes aglomerados de heterocromatina aderentes à membrana nuclear, ou difusos no nucleoplasma. O citoplasma apresenta vesículas de diferentes dimensões e grande número de mitocôndrias, localizadas principalmente no citoplasma apical, em cuja borda luminal se visualizam cinetocílios (Figura 13). Esta célula escura é um tipo celular pouco observado nas estações do ano, especialmente no período ativo de primavera. Contudo, com grande frequência estas células aparecem na estrutura do epitélio vaso-deferencial de codorna durante o outono.

As células principais do epitélio vaso-deferencial de codorna são sempre observadas em maior número, relativamente aos demais tipos celulares do epitélio tubular deferente, nos três segmentos do ducto deferente e nas quatro estações do ano. A descrição de suas características ultraestruturais, a seguir, é feita como elas predominantemente aparecem durante a fase mais ativa do ciclo testicular anual, isto é, na primavera. O citoplasma das células principais aparece mais eletronalucente, ou mais eletrondenso, e ambos os tipos se mostram alternados entre si e entre os outros tipos celulares do epitélio pseudoestratificado, como as células escuras e ricas em mitocôndrias (Figuras 12 e 13). Células basais se posicionam adbasalmente junto ao citoplasma infranuclear de uma ou de duas células principais adjacentes (Figura 12).

Ambos os tipos de células principais do ducto deferente apresentam, de modo geral, as organelas citoplasmáticas usuais, notando-se grande número de mitocôndrias distribuídas em todos os níveis do citoplasma (Figuras 14 e 15). No citoplasma de células principais são vistas longas cisternas lamelares e cisternas vesiculares do retículo endoplasmático (RE), predominantemente granular, estando em íntima relação com mitocôndrias arredondadas e alongadas (Figuras 15 e 16). As cisternas lamelares do RE são predominantemente observadas no citoplasma basal (Figuras 12, 14 e 15). As lamelas e vesículas do RE granular se estendem ao longo do citoplasma lateral ou perinuclear (Figuras 15 a 17); atingem o citoplasma apical (Figuras 12 e 17); se inter-relacionam intimamente, via pontos de adesão, com o envoltório nuclear (Figura 16), e têm também relações de proximidade com as membranas plasmáticas laterais, delimitantes das células epiteliais adjacentes (Figuras 12 e 15). Neste último contato, via membranas plasmáticas laterais de células adjacentes, são observadas: cavéolas e vesículas, ocorrendo em níveis plasmalemal ou justaplasmalemal (Figura 15).

No citoplasma perinuclear das células principais, especialmente nas eletrólucidas, marcadamente no material vaso-deferencial de primavera, a disposição do abundante RE, predominantemente rugoso, e suas inter-relações submicroscópicas são notoriamente complexas (Figuras 16 e 17). Algumas cisternas lamelares longas do RE correm paralelamente e muito próximas do envoltório nuclear, ao qual contatam via pontos de adesão intermembranas. Outras cisternas vesiculares do RE misto, ou seja, granular-liso segundo (NISTAL et al., 1980), são observadas e, se avizinham de formações vesiculares, ou seja, o citoplasma inter-reticular contém abundante quantidade de vesículas, ribossomos livres e polisomas. As formações vesiculares observadas são vesículas de superfície plana; vesículas revestidas menores, densas e livres, ou agregadas em corpos multivesiculares, e vesículas muito eletrondensas, maiores, livres ou envoltas por endomembrana (Figura 16).

O complexo de Golgi, nas células principais, tem forma circunferencial e apresenta os dictiosomas superpostos mostrando vesículas claras (talvez pré-lisosômicas), em suas extremidades lamelares e vesículas pequenas, mais eletrondensas e revestidas, localizadas principalmente na face cis-Golgi (Figura 17). Nos espaços entre os dictiosomas se notam algumas pequenas vesículas revestidas e densas. Nas adjacências do Golgi aparecem alguns corpos multivesiculares, mitocôndrias e formações lamelares e vesiculares do RE, predominantemente granular, e polisomas.

Formações vesiculares com formato e conteúdo variados e corpos eletrondensos, com características de lisosomas, também são vistos (Figura 17).

As células principais claras, algumas vezes não alcançam o ápice luminal do epitélio vaso-deferencial, mostrando-se restritas entre células ciliadas escuras, ou então atingem o ápice luminal. Os seus núcleos apresentam formas entre esferoidal e ovalada; predomínio de eucromatina com flocos pequenos e dispersos de heterocromatina no nucleoplasma ou aderentes ao envelope nuclear e um nucléolo excêntrico bem evidente. Nas células C, claras e escuras, quando seus citoplasmas alcançam o lúmen tubular, a borda celular luminal mostra relativa escassez de microvilos que aparecem, geralmente, delgados e curtos (Figura 18). A forma das células principais escuras tende a ser triangular de base superior, sendo esta forma acompanhada pelo núcleo que pode exibir um recorte profundo no envelope nuclear. O citoplasma mostra-se eletrondenso, tendo predomínio de mitocôndrias, com diferentes formas, e lamelas do RE. Há concentração apical de vesículas pequenas, revestidas e escuras, e de vesículas maiores de superfície lisa e conteúdo eletronlucente, e alguns lisosomas podem ser vistos (Figura 19).

As células basais, no epitélio vaso-deferencial de codorna, têm formas entre ovalada e triangular, possuindo núcleos alongados; irregulares e dispostos paralelamente à lâmina basal ductular, sobre a qual se assentam (Figuras 12 e 20). Cada célula basal aproxima-se, através de estreita faixa de seu citoplasma apical, do citoplasma basal de células principais (Figura 20). A distribuição da cromatina nuclear, na célula basal, é similar à da maioria das células principais, mostrando as células basais recortes não muito grandes, ou profundos, no envelope nuclear, os quais contribuem para a irregularidade da forma nuclear (Figuras 12 e 20). O citoplasma destas células, de regra, é escasso, desprovido de superfície luminal (Figura 12), e dotado de pouca quantidade de organelas subcelulares. No citoplasma de algumas células basais, destaca-se um reduzido complexo de Golgi, em cujas adjacências se vêem vesículas de superfície plana, ou vesículas revestidas (Figura 20).

No decorrer do verão que caracteriza o período regressivo do ciclo testicular anual, os mesmos tipos celulares anteriormente descritos na primavera são visualizados, predominando as células principais claras, entremeadas por células delgadas escuras e ricas em mitocôndrias (Figura 21) e por células principais escuras (Figura 22), em função da diferente eletrondensidade citoplasmática. Junto ao citoplasma basal das células principais podem ser vistas células basais com forma triangular, presença de

poucas organelas citoplasmáticas e núcleo alongado, denteado e preenchido por nucleoplasma predominantemente eucromatínico (Figura 21).

No citoplasma das células principais escuras, em todos os níveis, se observa absoluto predomínio de cisternas lamelares longas do RE predominantemente granular. Entre as lamelas longas que se estendem desde o citoplasma basal (Figura 23) até o citoplasma apical (Figura 22), se observam cisternas lamelares menores, vesículas com diferentes formas, dimensões e conteúdos; mitocôndrias preponderantemente alongadas, polisomas e ribosomas livres e alguns corpos eletrondensos (Figuras 22 e 23). Interdigitações complexas das membranas plasmáticas de células principais adjacentes se fazem nítidas (Figura 23) ocorrendo reforços apicais através de junções íntimas (Figura 22).

No citoplasma das células principais claras, em níveis basal (Figura 24) e apical (Figura 25) ocorre também um predomínio de formações do RE, porém não se observando formações lamelares tão longas quanto aquelas do RE granular das células escuras. Assim sendo, nas células P claras se observam cisternas lamelares curtas coexistindo com cisternas vesiculares do RE, aparentemente misto, ou seja, granular-liso (NISTAL et al., 1980); mitocôndrias e vesículas variadas quanto à forma e dimensões. Formações vesiculares com dupla membrana e conteúdo eletronalucente e também formações vesiculares com características de endosomas são observadas, assim como são notadas também vesículas menores revestidas e de conteúdo eletrondenso (Figura 24). Complexos de Golgi bem definidos não foram visualizados nas células escuras e também nas células claras (Figuras 24 e 22, respectivamente).

As células delgadas escuras caracterizam-se pela elevada eletrondensidade citoplasmática apresentando uma extensa faixa de citoplasma apical preenchida por numerosas mitocôndrias, alguns corpos eletrondensos e grande reticulação-vesiculação citoplasmática, a qual aparentemente decorre do grande desenvolvimento do retículo endoplasmático que aparenta ser predominantemente liso (Figura 26). A borda apical destas células, bem como as bordas apicais das células principais claras e escuras, antes descritas, mostram microvilos apicais. Estes aparentam ser mais abundantes nas células ricas em mitocôndrias (Figuras 21 e 26) do que nas células principais escuras (Figura 22) e claras (Figura 25).

Durante o outono quando se caracteriza o período quiescente do ciclo testicular anual de codorna, se observam modificações marcantes na ultraestrutura do ducto deferente e das células do revestimento do epitélio vaso-deferencial (Figuras 27 a

29). O diâmetro tubular vaso-deferencial sofre forte regressão e com ele também regride o diâmetro luminal (Figura 7 e Figura 27). Assim, no final de março e abril, quando a quiescência testicular é mais acentuada, o lúmen tubular vaso-deferencial de outono fica muito restrito embora sempre patente. Nota-se posição centralizada dos núcleos das células P, que mostram forma irregular, tendendo a quadrangular, e com recortes no envelope nuclear. As membranas plasmáticas laterais se justapõem, interdigitando-se entre si e reforços apicais por junções de membrana são evidentes. Os citoplasmas infranucleares das células P parecem coalescer, neles se notando mitocôndrias; formações do RE e vesículas associadas, tendo características subcelulares mal definidas (Figura 27).

Ainda no decorrer do outono, as modificações morfológicas do epitélio vaso-deferencial, se acentuam. Assim sendo, partes expressivas do citoplasma apical das células P se expandem na luz tubular, mostrando-se como áreas pálidas e desprovidas de organelas citoplasmáticas. Imediatamente subjacente às áreas pálidas apicais, notam-se alguns poucos microvilos remanescentes e alguns vacúolos apicais. O citoplasma supranuclear, marcadamente eletrólucido, mostra formações discretas do RE, poucas mitocôndrias e corpos eletrodensos (Figura 28). Em outras secções do vaso deferente de outono, observam-se características degenerativas do citoplasma apical das células P, claras e escuras. O citoplasma apical das células invade a luz tubular ocluindo-a, através de formações vacuolizadas eletrólucidas, e também foram notados debridamentos celulares eletrondensos (Figura 29).

No inverno, que constitui o período recrudescente na cinética do ciclo testicular anual da codorna (ORSI et al., 2004), dispondo-se entre a fase proliferativa de primavera e a fase quiescente de outono, se observaram algumas alterações típicas na ultraestrutura das células principais. Dentre elas se destacam, especialmente nas células principais, a ocorrência de grandes vacúolos citoplasmáticos. Esses vacúolos eletrólucidos são adjacentes ao envelope nuclear, ocupando posição predominantemente látero-basal ao núcleo e sendo delimitados por membranas. Estes corpos vacuolares podem conter vesículas lisas, com conteúdo lucente (Figura 30) ou contém um material finamente granular (Figura 31). Adjacentes aos grandes vacúolos se notam principalmente mitocôndrias; cisternas lamelares longas do RE granular e ribossomos livres. Raros corpos eletrondensos apicais (talvez lisossomos) bem como vesículas pequenas e claras foram notados (Figuras 30 e 31).

Outra característica ultraestrutural bem típica no epitélio vaso-deferencial de inverno é a marcante presença de grande quantidade de vesículas revestidas por membrana, de tamanhos e formatos variados e com conteúdo claro, ou ligeiramente granular, em seus interiores. Aparentemente tais vesículas se destacam (extruem-se), a partir do citoplasma apical, de algumas células P, para o lúmen tubular do ducto deferente (Figura 32). Além das vesículas apicais e intraluminais, observadas em algumas secções transversais do ducto deferente de inverno, se observaram, intraluminalmente e de permeio a estruturas subcelulares de espermatozóides seccionados, a presença de formações grandes e esferoidais soltas na luz tubular (Figura 33).

Cada formação esferoidal, observada livremente no lúmen vaso-deferencial, durante o inverno, talvez caracterize uma célula ou fragmentos de células isoladas e desgarradas, mostrando em seus interiores numerosas vesículas, geralmente delimitadas por membranas, de conteúdo claro ou eletrondenso; e núcleo excêntrico e com nucléolo também excêntrico (Figura 33). Aparentemente, seriam células esfoliadas de segmentos precedentes da via espermática, segundo interpretações decorrentes de observações subcelulares feitas na via extratesticular de rato albino (HERMO et al., 1988, 1992).

Figura 12: Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) do ducto deferente (DD) de codorna doméstica, mostrando: células principais ou colunares claras (**P**); célula colunar escura (**rosácea menor**); célula basal (**B**); célula delgada escura (**E**); lâmina própria (**rosácea maior**); retículo endoplasmático rugoso (**seta**); e microvilos (**cabeças de seta**). 5.750x

Figura 13: MET do DD de codorna doméstica, observado no *outono*, onde se visualiza: célula delgada escura (**D**) rica em mitocôndria (**m**); microvilos (**asterisco**); e célula principal (**P**). 23.000x

Figura 14: MET do DD de codorna doméstica, analisado na *primavera*, onde se vê a estrutura típica das células colunares ou principais (**P**) escura (**rosácea**) e clara (**asterisco**); microvilos apicais (**cabeça de seta**) e retículo endoplasmático rugoso (**seta**). 9.750x

Figura 15: MET do DD de codorna doméstica, visto na *primavera*, notando-se um célula principal com grande número de mitocôndrias (**m**); retículo endoplasmático rugoso com cisternas lamelares (**setas maiores**) e cisternas vesiculares (**setas menores**), lisossomo (**seta branca**) e núcleo (**n**). 17.000x

Figura 16: MET do DD de codorna doméstica, observado na *primavera*, onde se vê a íntima relação do retículo endoplasmático (**asterisco**) com o núcleo (**n**) via pontos de adesão (**seta espessa**); vesículas de superfície lisa (**cabeças de seta**); vesículas revestidas (**setas menores**); corpos multivesiculares (**seta longa**); endossomo (**seta curta**). 67.500x

Figura 17: MET do DD de codorna doméstica, observado na *primavera*, mostrando uma célula principal contendo: complexo de Golgi (**G**); cisternas lamelares (**asteriscos**) e vesiculares (**estrelas**) do retículo endoplasmático; mitocôndrias (**m**); lisossomos (**asteriscos brancos**); corpos multivesiculares (**seta longa**); núcleo (**n**). 23.000x

Figura 18: MET do DD de codorna doméstica, analisado na *primavera*, sendo indicados: células principais (**P**) e seu núcleo (**asterisco**); célula delgada escura (**rosácea**) e microvilos (**cabeças de seta**). 5.750x

Figura 19: MET do DD de codorna doméstica, visto na *primavera*, na qual se observa uma célula escura (**E**); mitocôndrias (**m**); lisossomos (**cabeças de seta**); concentração apical de vesículas pequenas (**estrela**) e vesículas maiores de superfície lisa (**seta espessa**). 23.000x

Figura 20: MET do DD de codorna doméstica, observado no *inverno*. São indicados: célula basal (**B**); complexo de Golgi (**seta**); vesículas de forma e conteúdo variado (**cabeças de seta**); e lâmina própria (**LP**). 17.000x

Figura 21: MET do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, sendo indicados: células principais claras (**P**); célula delgada escura (**E**); célula basal (**B**) e seu núcleo denteado (**n**); microvilos (**cabeças de seta**). 5.750x

Figura 22: MET do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, onde se pode ver: célula principal escura (**rosácea**); cisternas lamelares (**seta**) e vesiculares (**quadrado**) do retículo endoplasmático rugoso; mitocôndria (**m**); núcleo (**n**) e junções íntimas (**círculos**). 17.000x

Figura 23: MET da célula principal escura do DD de *verão*, mostrando: cisternas lamelares (**asteriscos**) do retículo endoplasmático granular; mitocôndrias (**m**); vesículas densas (**setas**); interdigitações (**quadrado**). 23.000x

Figura 24: MET do citoplasma basal (infranuclear) de uma célula principal clara do DD de codorna doméstica, observado no *verão*. São indicados: cisternas vesiculares (*estrelas*) do retículo endoplasmático misto; mitocôndrias (*asteriscos brancos*) e núcleo (*n*). 23.000x

Figura 25: MET do citoplasma apical (supranuclear) de uma célula principal clara do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, onde se visualiza: cisternas lamelares (*estrelas*) e vesiculares (*asteriscos*) do retículo endoplasmático misto; mitocôndrias (*rosácea branca*); microvilos (*cabeças de seta*); e núcleo (*n*). 23.000x

Figura 26: MET do citoplasma apical (supranuclear) de uma célula delgada escura do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, mostrando: cisternas lamelares (*estrelas*) e vesiculares (*asteriscos*) do retículo endoplasmático misto; mitocôndrias (*rosácea branca*); microvilos (*cabeças de seta*); e núcleo (*n*). 23.000x

Figura 27: MET do DD de codorna doméstica, observado no *outono*, na qual se observa: células principais (**P**); lúmen tubular (**rosácea**); membrana plasmática lateral (**setas**) com interdigitações (**quadrado**); junções oclusivas (**cabeças de seta**). 13.250x

Figura 28: MET do DD de codorna doméstica, observado no *outono* mostrando o citoplasma apical (supranuclear) das células principais (**P**); mitocôndria (**m**); lisossomos (**cabeças de seta**); microvilos (**setas**); vacúolos apicais (**estrelas**); expansão citoplasmática (**rosácea**). 23.000x

Figura 29: MET do DD de codorna doméstica, visto no *outono*, sendo indicados: células principais (**P**); formações vacuolizadas citoplasmáticas (**asteriscos pretos**); e debris celulares (**asteriscos brancos**). 7.750x

Figura 30: MET do DD de codorna doméstica, observado no *inverno*, mostrando: células principais (**P**); corpos vacuolares – vacúolos (**estrelas**); cisterna lamelares do retículo endoplasmático rugoso (**asteriscos**). 9.750x

Figura 31: MET do citoplasma basal de uma célula principal do DD de codorna doméstica, visto no *inverno*, na qual estão indicados: corpos vacuolares – vacúolos (**estrelas**); mitocôndrias (**cabeças de seta**); retículo endoplasmático rugoso (**asteriscos**) e núcleo (**n**). 17.000x

Figura 32: MET de uma célula principal do DD de codorna doméstica, observada no *inverno*, onde se visualiza: mitocôndrias (m); lisossomos (cabeças de seta); extrusões citoplasmáticas (rosáceas). 17.000x

Figura 33: MET do lúmen do DD de codorna doméstica, observado no *inverno*, mostrando: formações esferoidais com fragmentos celulares (estrelas) e espermatozoides seccionados (cabeças de seta). 4.350x

4.3 Estrutura tridimensional do ducto deferente de codorna

As investigações em microscopia eletrônica de varredura (MEV) do ducto deferente da codorna doméstica da variedade italiana mostram a disposição ondulada, em “zigue-zague” do ducto durante a primavera e outras estações do ano exceto no outono. Esta ondulação permitiu visualizar os segmentos transversais do ducto que aparecem como ilhas isoladas, estando envolvidos os segmentos tubulares por tecido conjuntivo frouxo com alguma infiltração de gordura. Os agregados tubulares por sua vez são envolvidos por tecido adensado, e aparentemente por tecido muscular liso, disposto como um estroma delimitante (Figura 34). Cada secção transversal do ducto deferente na primavera é formada por um epitélio conspícuo o qual delimita o lúmen tubular preenchido por um aglomerado de espermatozóides e fluido seminal. O tecido estromal disposto entre as secções do ducto deferente, nas ilhas citadas anteriormente, aparece principalmente como arranjos de fibras densas dispostas com diferentes orientações espaciais recordando em alguns casos uma disposição em “favos de mel” (Figura 35). Nas estações de verão e inverno as observações em MEV do deferente de codorna são similares às descritas na primavera.

No outono, corroborando as observações anteriormente descritas em microscopias de luz e eletrônica de transmissão, o ducto deferente é visto na varredura com disposição retilínea, adotando um padrão morfológico mais discreto do que aquele observado nas outras estações onde descreve trajeto em “zigue-zague” (ondulado). Assim sendo o ducto mostra um epitélio de revestimento alto disposto ao redor do lúmen vazio de conteúdo e com aspecto estrelado, conseqüente às pregas longitudinais observadas na estrutura mural do ducto deferente (Figura 36). Estas pregas formam elevações e reentrâncias no epitélio tubular conforme se observa também nos preparados de microscopia de luz (vide Figuras 3a, 4a e 8a). O tecido “estromal” (ou mioestromal) circundante do ducto deferente outonal, relativamente àquele observado nas outras estações, mostra uma distribuição mais regular de fibras arranjadas de forma concêntrica e recordando lamelas com disposição preponderantemente circular ao redor do ducto (Figura 36).

Figura 34: Microscopia eletrônica de varredura do ducto deferente de codorna doméstica observado na primavera, mostrando a disposição em “ilhas”. 18x.

Figura 35: Microscopia eletrônica de varredura de fragmento do ducto deferente de codorna doméstica observado na primavera, onde pode ser visto o lúmen preenchido por um “plug” de espermatozóides. 36x.

Figura 36: Microscopia eletrônica de varredura do ducto deferente de codorna doméstica observado no outono, mostrando o lúmen estrelado vazio. 69x.

Discussão

5 DISCUSSÃO

5.1 Sobre a morfologia; histomorfometria e histofisiologia sazonal do ducto deferente de codorna

As características anatômicas gerais do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*), da variedade italiana, uma ave destinada para corte e ovoposição, quanto aos aspectos de sintopia; trajeto e comportamento ondulado, serpeante, ou em “zigue-zague”, descritas em nossos resultados, são similares às caracterizadas em aves domésticas, como o galo (KING, 1975), peru (HESS et al., 1976), e pombo (STEFANINI et al., 1996).

O aspecto de retificação do formato no trajeto crânio-caudal do vaso deferente de codorna, no outono, durante o período quiescente do ciclo testicular anual, não foi relatado, ao menos na literatura ao alcance. Em contrapartida, a disposição em “zigue-zague” no trajeto celomático do ducto deferente, e a sua sintopia com o lobo médio do rim e ureter, *ipsilaterais*, observadas em codorna, foram de modo similar descritas em outras aves domésticas (LAKE, 1957, 1981; TINGARI, 1971, 1972; AIRE et al., 1979; AIRE 1980; STEFANINI et al., 1996).

A disposição muito ondulada do ducto deferente de codorna, observada na primavera, verão e inverno, exceto no outono, relacionar-se-ia com a maior capacidade de reserva funcional e condução de sêmen vaso-deferencial. Isto, consoante a tese de que os ductos excretores dos testículos em aves, principalmente os ductos deferentes, apresentam mecanismos histofisiológicos e fisiológicos para estocagem e condução de sêmen, incluindo peristalse tubular ativa (DE REVIERS, 1975). A capacidade de reserva funcional de sêmen, e consequentemente de espermatozóides, certamente diminui no período quiescente de outono, quando o vaso deferente se torna retilíneo. Ademais, a peristalse ativa deve também diminuir nesta etapa, em face da parada estacional do ciclo testicular anual. Todavia, a espessura mural vaso-deferencial é marcante no outono, sendo dada, talvez, pela relativa diminuição da luz tubular, que aparece vazia de conteúdo seminal nesta estação.

Como apoio a estas considerações anteriormente GRAY (1937) e TINGARI (1971; 1972), haviam caracterizado na estrutura do ducto deferente do galo doméstico uma camada fibro-muscular, que se caracterizou no vaso deferente de codorna como uma “camada mio-estromal”. Esta seria, muito possivelmente, a formação mural mais

ativa na emissão e ejaculação dos espermatozóides. Tal afirmação encontra apoio em observações similares, feitas em mamíferos, concernentes à histologia e histofisiologia do DD (VANWELKENHUYZEN, 1966; PABST, 1969; BAUMGARTEN et al., 1971; HIB et al., 1982; ORSI et al., 2000a, DI DIO & LEÃO, 2002).

Em codorna, se observou ainda a parte reta do ducto deferente, que precede a papila vaso-deferencial intra-urodeal, sendo ambas as estruturas também caracterizadas no galo doméstico (KING, 1975). O alargamento relativo do ducto deferente na *pars recta* decorreria do incremento relativo de tecido conjuntivo e músculo liso murais, relativamente maior nesta região tubular (LAKE, 1957). Esta observação fora evidenciada também na parte pélvica distal do ducto deferente de codorna.

Quanto à organização histológica geral do vaso deferente de codorna, a observação em sua estrutura mural de túnicas superpostas e seqüentes, caracterizando-se: mucosa, lâmina própria, muscular e adventícia, é bem típica, como se caracterizara, talvez em um dos primeiros relatos em aves, no ducto deferente de galo (GRAY, 1937). A mucosa vaso-deferencial, em codorna, é revestida por epitélio pseudoestratificado, predominantemente colunar e não ciliado, no que tange à ausência de cinetocílios, como caracterizou AIRE (2002) em outras aves, mas tendo borda apical formada por microvilos, ou estereocílios. No epitélio vaso-deferencial, como fora caracterizado também no ducto deferente de outras aves por LAKE (1981), se viu a presença predominante de células principais (P), e também a ocorrência de células delgadas escuras, e basais.

Células delgadas escuras (E), dotadas de cinetocílios apicais, foram observadas no epitélio vaso-deferencial de codorna, assim como se observou no epitélio vaso-deferencial do periquito australiano (BALDAN et al., 2003). Corresponderiam, possivelmente, com base em suas características estruturais, às células ricas em mitocôndrias descritas no epidídimo de mamíferos (MARTINEZ-GARCIA et al., 1995). Por outro lado, talvez se aparentariam a uma linhagem celular escura do epitélio epididimal segundo VIOTTO et al. (1996), e também do epitélio vaso-deferencial (ORSI et al., 1999).

As células E poderiam, eventualmente, ser consideradas como células senescentes, em processo apoptótico, ou pertencerem a um ciclo celular holócrino, assinalado no epitélio epididimal de porco doméstico (BRIZ et al. 1993). Porém a presença de um ciclo “secretor” holócrino no epitélio epididimal fora, anteriormente a BRIZ et al. e posteriormente a MARTAN & RISLEY (1963) e MARTAN et al. (1964),

denegada (CLERMONT & FLANNERY, 1972). Isto, com base na baixa capacidade de renovação epitelial epididimária, devida à relativamente baixa capacidade de divisões mitóticas das células do epitélio epididimal.

Acrescenta-se que às hipóteses antes consideradas, foram elaboradas outras interpretações sobre a citofisiologia de células delgadas, vide MARTINEZ-GARCIA et al. (1995) como referência especial sobre o assunto, tendo base em suportes anteriores na literatura de VON MÖLLENDORFF (1930). Assim se considerou que as células delgadas e escuras corresponderiam a um tipo celular apartado da população epitelial epididimária mais comum. Essa teria por base uma linhagem progenitora de células basais, seguindo-se → células colunares (principais) e → células apicais claras que mostram citoplasmas menos eletrondensos do que as células escuras, e são mais freqüentes na estrutura de epitélios pseudoestratificados como os da via aérea, segundo EVANS et al. (2001), e da via espermática (ROBAIRE & HERMO, 1988; HOLSCHBACH & COOPER, 2002).

Referente ainda à estrutura histológica geral do ducto deferente de codorna, a lâmina própria mural deste conduto é um estrato delgado, formado por tecido conjuntivo frouxo e vascular. A túnica muscular lisa é geralmente delgada, talvez em função da expansão tubular e luminal e da intensa concentração de espermatozóides, estocados na luz do ducto, durante todas as etapas mais representativas do ciclo testicular anual. Este, em verdade, obedece a um padrão cíclico circanual nesta espécie, à semelhança do que se observou em anatídeos sul-americanos (BREUCKER et al., 1989; SIMÕES et al., 2003).

O padrão espermatogenético semicíclico, extensivo à estrutura e histofisiologia dos ductos excretores dos testículos, na codorna, é decorrente da fluutuabilidade e duração das fases do ciclo testicular anual nas diferentes estações do ano, bem como da variabilidade na cinética da espermatogênese, conforme SIMÕES et al. (2003), caracterizaram no pato doméstico de criação extensiva. Estes aspectos têm reflexos na morfologia e na histofisiologia da via espermática, compreendendo a região epididimária e seus túbulos e o ducto deferente, de aves, conforme as observações aqui relatadas em codorna.

Segundo ARTONI et al. (1997), a codorna doméstica apresenta espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos durante todo o ano, o que pressupõe uma atividade gonadal constante. Essa, seria regida principalmente por fatores endógenos, ou seja, por influência hormonal e como decorrência natural dos ritmos

biológicos, caracterizados em aves por WINGFIELD (1993) e por WINGFIELD et al. (1994), do que em decorrência direta da influência de fatores parácrinos, ou ambientais, também influentes (SIMÕES et al., 2003).

Para ARTONI et al. (1997), com base na cinética testicular da codorna, estabeleceram-se quatro fases de desenvolvimento gonadal, sendo predominantemente: a quiescência outonal (em março); uma recrudescência moderada no outono-inverno (de abril a agosto); a proliferação ativa primaveril (com pico máximo em outubro), e, uma regressão moderada no verão (de dezembro a fevereiro).

Em contrapartida, as observações morfológicas aqui feitas, no ducto deferente de codorna, mostraram, mediante também a análise da histologia testicular, a ocorrência de um padrão cíclico circanual, talvez, de atividade testicular. Este padrão tem reflexos na morfologia e histofisiologia dos túbulos da via espermática, conquanto as atividades de quiescência testicular e tubular espermáticas, propriamente ditas, de ocorrência outonal, e de proliferação ativa primaveril, observadas nos túbulos seminíferos e nos ductos excretores dos testículos, ocorreram de modo alternado. Isto, em função das peculiaridades marcantes de histotopologia e histomorfometria do ducto deferente, e de ultraestrutura do epitélio vaso-deferencial (ver adiante), verificadas nestas etapas do ciclo testicular anual, bem como das observações, antes relatadas, sobre a morfologia dos ductos da região epididimária de codorna.

Quanto à influência de fatores parácrinos e de aspectos de sazonalidade reprodutiva em aves sabe-se, por outro lado, que a duração da luz diurna, inclusive em codorna, é um dos fatores mais marcantes da ciclagem testicular, influenciando os períodos de atividade e quiescência gonadal (FARNER & FOLLET, 1979; FARNER & GWINNER, 1980; FOLLET, 1984; WINGFIELD, 1993).

Outros fatores, igualmente exógenos, como a disponibilidade de alimento; luminosidade, pluviosidade, duração do fotoperíodo e temperatura (correlacionados geralmente com as características climáticas das estações do ano), têm desempenhado papéis relevantes nos ritmos reprodutivos de aves (KEMP, 1973; SILVERIN, 1975). Isso, principalmente, em passeriformes e em algumas espécies domésticas de clima temperado (HAMNER, 1966; KRUEGER et al., 1977; FARNER & FOLLET, 1979; FARNER & GWINNER, 1980; BREUCKER, 1982; FOLLET, 1984; SHARP & STERLING, 1985; FRAISSINET et al., 1987; SAMOUR et al., 1987; FUENZALIDA et al., 1989; WINGFIELD et al., 1994).

Mediante outros enfoques, há estudos que questionam a ocorrência de ciclagens testiculares anuais convencionais, ou seja, com quatro fases bem definidas, inclusive em *Coturnix coturnix*, a espécie aqui estudada, e em algumas outras espécies de aves passeriformes,. Assim sendo, o desenvolvimento gonadal eventualmente ocorreria também em dias curtos, durante o outono e inverno, ou seja, em dias de fotoperíodo curto; em constante ausência de luz (SHARP & STERLING, 1985; GUYOMARC'H & GUYOMARC'H, 1992). Aqui nas observações sobre a morfologia do ducto deferente, e com base também na estrutura testicular, verificou-se um padrão cíclico circanual, algo diferente daquele de alguns anseriformes sul-americanos (BREUCKER et al., 1989; SIMÕES et al., 2003).

No pato doméstico, contudo, cujo ciclo testicular anual vem sendo estudado, tendo em vista que procedeu de criatório extensivo e livre (na natureza), verificaram-se melhores definições tanto para o período proliferativo quanto para o período de regressão testicular, segundo SIMÕES et al. (2003), sendo geralmente mais longos e bem definidos os períodos do ciclo testicular anual relativamente aos de codorna doméstica aqui enfocada. Ressaltam-se as condições de criatório e manejo da variedade de codorna aqui estudada, feitos em condições de confinamento. Os machos estavam apartados das fêmeas, mas com elas mantinham contatos visuais; vocais e possivelmente de “segregação de feromônios”, que se sabe são estimulatórios à libido e talvez ao prolongamento da não quiescência testicular. Para tanto, há suporte monográfico comparativo em descrições de WINGFIELD et al. (1994), bem como há descrição de aspectos similares, de criação e respostas sexual e reprodutiva, no periquito australiano (SAMOUR et al., 1987).

Em codorna, puderam ser definidos dois períodos marcantes: a quiescência outonal com forte expressão em março, e, a intensa proliferação primaveril, expressada entre outubro e novembro, em parte concordando com as observações de ARTONI et al. (1997), no que tange à quiescência testicular marcante em março, observada na variedade japonesa de codorna estudada pelos autores. Todavia, se ressalva que, aparentemente fora do período outonal (segunda quinzena de março à aproximadamente meados de abril), a espermatocitogênese nunca cessou. Assim sendo, se flagrou abundância de espermatozóides intraluminais, ao longo dos túbulos da via espermática, havendo ademais grande estocagem de gametas no ducto deferente, como é usual nos períodos de proliferação (atividade) testicular em aves (LAKE, 1981).

O ducto deferente de codorna, seguindo aproximadamente o padrão de variabilidade estrutural testicular, nos mesmos animais e nos mesmos períodos do ano, mostrou diferenças morfológicas e histomorfométricas bem marcantes durante o outono e primavera. A histotopologia do ducto deferente, bem como a sua histologia geral e histomorfometria não variaram muito nos períodos intermediários de recrudescência (no inverno), e de aparente regressão (no verão), comparativamente às observações de primavera. Estas interpretações representariam, talvez, um certo “ineditismo” em termos das observações aqui feitas. Uma possível explicação para estas observações, aparentemente, correlacionar-se-ia com aspectos fisiológicos do comportamento reprodutivo cíclico circanual de codorna, ao menos aquele aqui observado nas condições criatório intensivo, em cativeiro, com plantéis de aves de ambos os sexos confinados e separados, temporariamente entre si, na maior parte do tempo.

Ao longo do ano, notaram-se poucas variabilidades estruturais na morfologia do ducto deferente de codorna, exceto no outono quando modificações estruturais vaso-deferenciais foram muito expressivas, especialmente no período decorrente entre meados de março e meados de abril. No outono, coincidindo com uma queda na frequência de ovoposição das fêmeas, o testículo assiste a uma certa “parada” na cinética espermatogenética, refletida por alterações estruturais do próprio epitélio seminífero (ORSI et al., 2004). Estes dados, entretanto, diferem das descrições de ARTONI et al. (1997), que consideraram a morfologia testicular, em linhas gerais, constante ao longo do ano. Porém, no relato anterior de ARTONI (1993), alterações no número de figuras de meiose e noutros parâmetros histológicos e citológicos foram notadas, o que levou a autora a propor um padrão cíclico de atividade gonadal nesta espécie. Pelas observações aqui feitas, volta-se a enfatizar, este padrão parece ser cíclico circanual, e dependente de fatores exógenos (parácrinos) e endógenos, influências estas descritas para a ciclagem gonadal rítmica de outras aves (WINGFIELD, 1993; WINGFIELD et al., 1994).

Concernente ainda à estruturação morfológica do vaso deferente de codorna, na dimensão específica de microscopia de luz, a túnica adventícia é conjuntiva, preponderantemente frouxa, porém mostra algumas fibras do tecido conjuntivo e vasos sangüíneos e nervos. A presença desta disposição estratigráfica na estrutura vaso-deferencial de codorna fora, em linhas gerais, também descrita no galo doméstico por GRAY (1937); TINGARI (1971, 1972); LAKE (1957, 1981); no peru por HESS et al. (1976) e no pombo doméstico (STEFANINI et al., 1996). A ocorrência de vasos

sangüíneos na lâmina própria e também na adventícia do ducto deferente de codorna, com base comparativa na estrutura vaso-deferencial de mamífero, segundo ORSI et al. (2000b), permitiria caracterizá-las como espaços “vaso-condutores”. Através deles se recebe; se distribui e se drena a vascularização sangüínea, referente a todos os estratos murais vaso-deferenciais, conforme fora descrita também em estrutura de transição segmentar, observada entre órgãos ocos do canal alimentar de cobaio (ORSI et al., 1990).

5.2 Sobre a ultraestrutura e citofisiologia do ducto deferente de codorna

Concernente às características subcelulares das células do epitélio vaso-deferencial de codorna, com especial ênfase nas observações sobre a ultraestrutura do ducto deferente na primavera, notaram-se peculiaridades bem marcantes na distribuição e interação organelar das células principais (P). Assim, merecem destaques os orgânulos subcelulares da maquinaria de síntese e secreção celulares, tais como: o RE preponderantemente granular, o complexo de Golgi e as vesículas secretoras associadas, bem caracterizadas e correlacionadas entre si por FLICKINGER (1983, 1985), quanto aos aspectos de síntese e secreção protéica, no epidídimo de camundongo. Outras organelas também associadas com processos citofisiológicos de endocitose; digestão heterofágica; excreção e secreção, segundo descrições de ROBAIRE & HERMO (1988); HERMO et al. (1994) e ORSI et al. (1999) no vaso deferente de mamíferos, de forma comparativa, foram vistas se inter-relacionando nas células P “ativas” (primaveris), de codorna da variedade italiana, aqui estudada.

Os aspectos antes enfatizados foram aqui revisitados com embasamento comparativo, estando apoiados em conceitos emitidos a partir de estudos realizados sobre a morfologia da via espermática de roedores laboratoriais feitos por FLICKINGER (1983, 1985), ROBAIRE & HERMO (1988); HERMO et al. (1988), 1992, 1994; ORSI et al., (1994, 1998, 1999), bem como com os estudos, de enfoques similares, realizados também em aves (STEFANINI et al., 1999a,b,c; AIRE, 2000, 2002; BALDAN et al., 2003).

Durante a primavera, no citoplasma das células principais do epitélio vaso-deferencial de codorna, que foram caracterizadas como células não ciliadas, ou seja, desprovidas de cinetocílios na borda luminal, similarmente ao mesmo tipo celular (células P) descrito no epitélio vaso-deferencial de galo e pato domésticos por AIRE (2002), observou-se ultraestruturalmente a presença de organelas secretoras de proteínas. Assim, foram visualizados o grande desenvolvimento do RE granular e do complexo de Golgi, inter-relacionados, e, a ocorrência de muitas mitocôndrias e vesículas de diferentes formas e dimensões, predominando as vesículas revestidas e de superfície lisa.

As células P, morfologicamente preponderantes na população celular dos ductos excretores dos testículos, segundo revisão monográfica de HAMILTON (1975), foram identificadas como células secretoras de proteínas (secreção micro-merócrina)

por NICANDER & MALMQUIST (1979), no epidídimo de mamíferos domésticos. As células P estão presentes também como parte predominantemente ativa, em termos citofisiológicos, na população celular epitelial da via espermática de mamíferos, de acordo como os estudos e descrições de HAMILTON (1975), NICANDER & MALMQUIST (1979), FLICKINGER (1983, 1985), COOPER et al. (1987), HERMO & MELO (1987), HERMO et al. (1992, 1994), ORSI et al. (1994, 1998, 1999) e SCHIMMING et al. (2001), assim também se comportando na via espermática de aves (STEFANINI et al., 1996, 1999a,b,c AIRE, 2002 e BALDAN et al., 2003).

As células principais não ciliadas, secretoras de proteínas, presentes no ducto deferente de aves como o periquito australiano, segundo BALDAN et al. (2003), e a codorna doméstica aqui enfocada, guardam certas similaridades subcelulares com células epiteliais presentes no ácino do pâncreas exócrino (PALADE, 1966). No vaso deferente de aves, talvez este tipo celular secretor possa ser identificado com a célula colunar do tipo II de acordo com o trabalho de TINGARI (1972). Entretanto, este último tipo é mais usualmente encontrado no epitélio de túbulos da região epididimária, mas fora caracterizado por BALDAN et al. (2003) na estrutura vaso-deferencial de periquito australiano.

Na codorna doméstica, crê-se que, independentemente do tipo celular de classificações celulares anteriores propostas por TINGARI (1972); AIRE et al. (1979), ou atuais de AIRE (2002), a célula principal clara (eletronlucente), vaso-deferencial de codorna, tem características de ser secretora de proteínas. Este seria, talvez, um processo relevante para o enriquecimento do “*milieu*” intraluminal, ou talvez visaria acrescentar à membrana plasmática dos espermatozóides proteínas variadas, e metabolicamente ativas, como as proteínas de motilidade para frente; espermadesina, actina, dineína, etc. (ROBAIRE & HERMO, 1988; HERMO et al., 1994; HOSHIBA & SINOWATZ, 1998). Tais processos devem predominar nas etapas mais ativas do ciclo testicular, com reflexos na cinética das células de revestimento epitelial da via espermática, como bem se notou nas características subcelulares de células P vaso-deferenciais, neste trabalho.

Por outro lado, há características subcelulares das células colunares (P) vaso-deferenciais de codorna, especialmente notadas em células colunares com citoplasma mais eletronlucente, como a presença marcante de vesículas abundantes, com diferentes tamanhos e configurações; ocorrência de endosomas e corpos multivesiculares e presença de lisosomas, que permitem supor serem células envolvidas em processos de

endocitose ativa de fluido e solutos, com base comparativa na ultraestrutura de células epiteliais principais vaso-deferenciais de mamíferos (HERMO & MELO, 1987; HERMO et al., 1994; ORSI et al., 1999). Outro aspecto subcelular relevante nestas células é a inter-relação de endomembranas do RE lamelar e preponderantemente granular com a membrana nuclear e daquelas com a membrana plasmática lateral, ou apical das células P. Tais inter-relações sugerem a presença de “sítios” ou “rotas” privilegiados na intimidade citoplasmática atinentes à translocação núcleo-citoplasmática (e talvez vice-versa), de proteínas arquiteturais e citocinéticas (VILAR et al., 1970; FRANCHIMONT et al., 1977; CHEMES et al., 1978; NISTAL et al., 1980; ORSI et al., 1993).

Quanto às células basais presentes no epitélio vaso-deferencial da codorna, sendo bem características na primavera, mas também vistas nas demais estações do ano, são células cujo papel funcional não está ainda bem esclarecido. HOLSCHBACH & COOPER (2002), discutiram que as células B seriam: possíveis células progenitoras da linhagem epitelial de revestimento da via aérea, (e possivelmente também da via espermática segundo HERMO et al., 1994); células imunocompetentes (HOLSCHBACH & COOPER, 2002), ou ainda células estabilizadoras da estrutura do epitélio de revestimento dos túbulos (ductos), da via espermática de mamíferos (HAMILTON, 1975; HERMO et al., 1994). Estas células, igualmente presentes na papila vaso-deferencial do peru, segundo HESS et al. (1976), têm estrutura bem típica no ducto deferente de codorna, embora não tenham sido observadas no epitélio vaso-deferencial de periquito australiano (BALDAN et al., 2003).

Referente às variabilidades observadas nos diâmetros tubular e luminal, e na altura do epitélio de revestimento do vaso deferente de codorna, em nível do seu segmento médio, notaram-se as maiores variações tubulares no outono, as quais são inclusive estatisticamente significativas em relação às mesmas variáveis mensuradas nas outras três estações do ano. As observações outonais parecem decorrer do período quiescente na cinética da espermatogênese notado nos meses desta estação, especialmente de meados de março a meados de abril, concordantemente, em parte, com as observações sobre o ciclo testicular anual da variedade japônica desta ave doméstica (ARTONI, 1993; ARTONI et al., 1997).

Com a quiescência testicular outonal, em termos da espermatocitogênese que sofre uma “parada” nesta época do ano, os ductos excretórios do testículo, e dentre eles os ductos deferentes, tendem a mostrar modificações estruturais marcantes em sua

morfologia. Estas foram bem caracterizadas em microscopia eletrônica de transmissão (MET), conforme os resultados aqui apresentados. Observações similares às aqui feitas em MET não foram, aparentemente, descritas em aves. Todavia, de modo similar, foram comparativamente observadas, e descritas, nos ductulos eferentes do esquilo terrestre *Citellus lateralis*, segundo PUDNEY & FAWCETT (1984), obviamente resguardando-se algumas peculiaridades espécie-específicas,.

O esquilo terrestre norte-americano, citado, é um mamífero sazonal, quanto à sua biologia reprodutiva. Os animais desta espécie são sexualmente ativos nos meses de primavera (abril e maio), e sofrem regressão na atividade testicular nos meses do verão, em julho e agosto, respectivamente (PUDNEY & FAWCETT, 1984). Relataram os autores, que as células não ciliadas (principais) e ciliadas do epitélio de revestimento dos ductulos eferentes epididimários, sofrem profundas modificações, comparativamente com os mesmos tipos celulares observados na primavera. Outras modificações foram notadas na ultraestrutura tubular dos *eferentes*, como a presença de expansões citoplasmáticas e vacuolizações citoplasmáticas apicais, que invadem e restringem o lúmen tubular, e presença de *debris* celulares intraluminais (PUDNEY & FAWCETT, 1984).

De modo similar ao que caracterizaram na via espermática do esquilo, PUDNEY & FAWCETT (1984), na etapa regressiva testicular, observada no verão neste mamífero, verificou-se na histotopologia do ducto deferente de codorna, bem como nas células colunares epiteliais deste ducto, na etapa quiescente de outono, com ênfase ao período de final de março a meados de abril, configurações morfológicas similares às caracterizadas para as células colunares dos eferentes epididimários do esquilo. Assim sendo, dentre as observações notadas no ducto deferente de codorna, no outono, caracterizaram-se: (1) invasão da luz dos ductos deferentes por expansões citoplasmáticas eletrolucentes das células principais; (2) vacuolizações intraluminais, aparentando estar os vacúolos se destacando do citoplasma apical eletrolucente e vacuolizado, e, (3) presença de *debris* celulares eletrodensos, coexistindo com intensa vacuolização notada no interior da luz vaso-deferencial.

Estas modificações no padrão tubular-celular do ducto deferente de codorna, no outono, seriam dependentes da quiescência testicular, sendo que a reversão destes eventos se dá no inverno, a fase de recrudescência do ciclo testicular anual. Por outro lado, noutras células principais vaso-deferenciais de codorna, especialmente na segunda quinzena de março, verificou-se intensa restrição do diâmetro luminal médio, o qual, no

entanto, permaneceu patente. Houve aparente coalescência dos citoplasmas basais das células principais, que interdigitaram lateralmente as suas membranas plasmáticas, e, apicalmente se reforçaram os plasmalemas laterais por meio de complexos juncionais de membrana plasmática. Os núcleos se mostraram mais quadrangulares e os envelopes nucleares mais denteados. O número de mitocôndrias se mostrou relativamente elevado, em todo o outono, apesar de se mostrarem discretos outros orgânulos, como o RE, complexo de Golgi e lisosomas.

O conjunto das características celulares observadas nas células principais vaso-deferenciais de outono, na codorna, indicariam a sincronia de eventos entre os túbulos seminíferos e seu revestimento epitelial (epitélio seminífero), intensamente citogênico, havendo confirmada interação entre a espermatocitogênese e a espermição, bem como com a citofisiologia das células dos ductos excretórios do testículo (SIMÕES, et al., 2003). Isto, em termos de condução, metabolismo, maturação, emissão e estocagem dos espermatozoides (vide para revisões ROBAIRE & HERMO, 1988; HERMO et al., 1994, SETCHELL et al., 1994). Logo, se há uma parada na espermatocitogênese na fase recessiva do ciclo testicular anual de codorna, há também uma quiescência, ou presença de características regressivas nos ductos vetores da via espermática do mamífero sazonal (*Citellus lateralis*), como caracterizaram PUDNEY & FAWCETT (1984).

No inverno e no verão se observaram, respectivamente, as fases de relativa recrudescência e regressão testiculares. Estas fases são, respectivamente, os períodos intermediários àqueles de atividade testicular plena, ou seja, de proliferação primaveril, e de quiescência testicular total caracterizada por uma breve parada espermatocitogenética outonal, já anteriormente comentados. Logo, no inverno e no verão, as características ultraestruturais notadas no revestimento epitelial vaso-deferencial de codorna foram menos marcantes, dado o padrão cíclico circanual do ciclo testicular anual desta ave, já também caracterizado, e comparado a anatídeos sul-americanos (BREUCKER et al., 1989; SIMÕES et al., 2003). Portanto, características ultraestruturais verificadas na histopologia geral do ducto deferente e em nível do citoplasma de células colunares (P), nestas fases intermediárias, são discutidas em seqüência.

Relativamente, à presença de grande número de vesículas revestidas, com conteúdo interno heterogêneo, e aparentemente destacadas do citoplasma apical de células principais vaso-deferenciais de codorna, através da borda periluminal de microvilos, para o interior da luz tubular, talvez se caracterize um processo de exocitose

ativa, bem típico na fase invernal do ciclo testicular anual e da via espermática extratesticular. Embora não se fizesse, ainda, pesquisa de reatividades enzimáticas no epitélio vaso-deferencial de codorna, a presença destas vesículas, com diferentes configurações morfológicas, presentes no interior da luz do ducto deferente é sugestiva de que, de alguma forma, elas influenciariam o micro-ambiente intraluminal vaso-deferencial. Isto com base comparativa em estudos de FORNES et al. (1995a, b), discutidos em seqüência.

Logo, base comparativa em achados similares de vesículas intraluminais, com pelo menos dois tipos morfo-histoenzimáticos bem definidos no epidídimo de rato (FORNES et al., 1995a, b), permite-se pressupor que as vesículas, originando-se do citoplasma apical das células epiteliais da via espermática extratesticular carregam macromoléculas específicas, as enzimas β -galactosidase e N-acetil- β -D-glicosaminidase. As macromoléculas constituídas de enzimas, e talvez também de glicoproteínas, segundo HERMO et al. (1994), participam na composição do fluido epididimal, ou vaso-deferencial no caso da codorna. Assim, formariam um micro-ambiente intraluminal favorável para a manutenção e maturação dos espermatozóides (FORNES et al., 1995a, b).

A presença de grandes corpos multivesiculares, com conteúdo eletrólucido, no citoplasma das células colunares no inverno e no verão, guardam semelhança com formações similares observadas no citoplasma apical de células principais (claras) presentes no epitélio epididimário distal de camundongo isogênico, inclusive quanto às inter-relações entre os corpos multivesiculares e organelas como o RE e mitocôndrias (ORSI et al., 1994). Tais formações parecem estar relacionadas como a presença de endocitose adsorptiva e de fase fluida, conforme as observações dos AA. citados, em nível epididimal-eferencial, de acordo com ORSI et al. (1994; 1998), e também com observações e interpretações similares em células epiteliais vaso-deferenciais de gerbilo (ORSI et al., 1999).

Os aspectos ultraestruturais caracterizados no parágrafo anterior, em células P vaso-deferenciais de codorna, durante a retomada do processo espermatocitogenético, isto é, fase de recrudescência invernal, implicariam numa reativação natural da cinética dos ductos vetores do testículo, quanto ao metabolismo e à capacitação ulterior dos espermatozóides jovens, recém-gerados. Por outro lado, há uma relativa diminuição de atividade gonadal, e em decorrência da cinética da via extratesticular, com o ducto

deferente incluso, na etapa relativamente regressiva de verão, precedendo a quiescência outonal.

Logo, face ao que se comentou, parece haver uma relativa similaridade entre o que se notou no epitélio vaso-deferencial de codorna, no inverno e no verão, em nível organelar citoplasmático nas células principais, acarretando exacerbação de algumas funções celulares que implicariam mecanismos de transportes ativos de membranas, como a ocorrência de endocitose e digestão lisossômica, autofágica e heterofágica, principalmente no período regressivo de verão. Há também a manutenção ativa do “aparelho lisossômico” citoplasmático, conforme análise de ROBAIRE & HERMO (1988), associando-o aos processos de digestão celular na etapa recrudescente, e noutros períodos do ciclo, em função do papel digestivo lisosomal, vide ALBERTS et al. (2004) como referência geral, e como decorrência das interações lisosomais com o complexo de Golgi (HERMO et al., 1994).

Outrossim, se mantém ativo o “aparelho secretor de proteínas e glicoproteínas” no citoplasma das células P, com implicações, por exemplo, no transporte de glicosidases, sendo todas as moléculas exocitadas, associadas ao micro-ambiente luminal da via extratesticular de mamíferos, e ao metabolismo e capacitação intraluminal de espermatozóides ao longo da via (NICANDER & MALMQUIST, 1977; FLICKINGER, 1983, 1985; COOPER et al., 1987; ROBAIRE & HERMO, 1988; HERMO & MORALES, 1988; HERMO et al., 1988, 1992, 1994, ORSI et al., 1999; SCHIMMING et al., 2001; dentre outros autores).

5.3 Sobre a estrutura tridimensional do ducto deferente da codorna

A disposição ondulada, em zigue-zague, do ducto deferente de codorna observada na maioria das estações do ano, exceto no outono onde o ducto apareceu retilíneo, é similar a observação do comportamento morfológico deste mesmo ducto observado no pombo doméstico (STEFANINI et al., 1996). A retificação do trajeto do ducto deferente tem relação com a breve parada do processo espermatogenético na codorna italiana durante um curto período outonal (ORSI et al., 2004), sendo este aspecto de retificação tubular já sido discutido anteriormente nas observações de microscopias de luz e de transmissão.

A descrição tridimensional de formação pelo ducto deferente de codorna de ilhas isoladas formadas por segmentos tubulares transversais que se superpõem, enrolando-se entre si, através da disposição fortemente ondulada deste conduto, exceto no outono, não foi encontrada, de modo similar, na literatura sobre os ductos extratesticulares de aves. Por outro lado, a disposição ondulante do ducto deferente de aves, nas etapas ativas do ciclo reprodutivo, aparentemente circanual nesta espécie (ORSI et al., 2004), poderia encontrar respaldo teórico em informações anteriores de TINGARI (1971; 1972).

Para TINGARI (1971; 1972), os ductos epididimário e deferente de aves poderiam ser considerados segmentos de uma mesma unidade morfofisiológica distinta, com indicação de atuar o ducto deferente como o corpo e cauda do epidídimo de mamíferos, quando comparado morfofuncionalmente com aquele dos mamíferos (vide ROBAIRE & HERMO, 1988). Esta tese de TINGARI (1971; 1972), foi esposada por STEFANINI et al. (1999b), quando procederam as interpretações morfofuncionais sobre o ducto deferente de pombo, aparentemente em período ativo da cinética testicular.

Em termos comparativos com a MEV de roedor (ORSI et al., 2000b), no ducto deferente outonal de codorna, possivelmente como decorrência do seu trajeto retilíneo, observaram-se pregas longitudinais no epitélio tubular, cujas elevações e reentrâncias possibilitam visualizar a luz tubular com forma estrelada. Pregas similares foram descritas no ducto deferente do gerbilo a partir do segmento médio deste conduto (ORSI et al., 2000b), com possível significado de reserva de capacitância em termos de expansão luminal quando o ducto estoca e conduz fluido seminal e espermatozóides. Esta é a situação que se observou no ducto deferente das outras estações do ano, especialmente na primavera conforme nossos achados em MEV (vide Figura 34).

Para apoiar a hipótese anterior há que se considerar que para o ducto deferente de mamíferos foram propostas, ao que se conhece, pelo menos três funções básicas quais sejam: emissão; estocagem e ejaculação dos espermatozóides. Estas funções são diretamente vinculadas com a estrutura morfológica do ducto em termos de construção mural, havendo participação ativa do epitélio de revestimento (túnica mucosa) e da túnica muscular lisa (VANWELKENHUYZEN, 1966).

A emissão compreende o transporte contínuo dos espermatozóides desde a cauda do epidídimo até a porção distal (ampular) do ducto deferente. Quanto à ejaculação do sêmen esta envolve um processo dinâmico de forte contração dos componentes musculares lisos do estroma periepididimário (cauda epididimal) e da túnica muscular vaso-deferencial desencadeando uma forte peristalse para esvaziamento da via espermática (VANWELKENHUYZEN, 1966; PABST, 1969; HIB et al., 1982; DI DIO & LEÃO, 2002). Talvez estas características morfofuncionais pudessem ocorrer também em aves, havendo breve suporte teórico nas publicações de STEFANINI et al. (1996; 1999a; 1999), porém necessitando comprovação por meio de novos estudos.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

- Anatomicamente o ducto deferente de codorna da variedade italiana é um órgão tubular, ondulado que forma alças estreitas do tipo em “zigue-zague”, exceto no outono, quando se apresenta retilíneo em todos os seus segmentos, ou seja, nos segmentos proximal, médio e distal.

- As secções histológicas transversais do ducto deferente de codorna mostram-no organizado como túbulos irregulares e paralelos entre si, em consequência das ondulações estreitas que o ducto faz sobre si mesmo, aparecendo grande quantidade de espermatozóides e fluido seminal estocado na luz tubular nas preparações de inverno, primavera e verão, exceto no outono.

- No outono, a fase quiescente do ciclo testicular anual de codorna, as secções histológicas transversais do ducto deferente aparecem não onduladas; arredondadas, sendo a parede tubular relativamente mais espessa e organizada, tendo luz estrelada em consequência da presença de pregas longitudinais na parede tubular, e ausência de material no interior da luz.

- Todos os segmentos tubulares vaso-deferenciais têm estrutura mural similar nas diferentes estações do ano, sendo formada por mucosa revestida por epitélio colunar pseudoestratificado, lâmina própria com elementos fibrosos do tecido conjuntivo, túnica muscular lisa e adventícia bem nítidas nas preparações de outono, sendo que às vezes estas últimas podem se imbricar entre si caracterizando uma camada mio-estromal.

- Observações qualitativas sobre as espessuras relativas do epitélio de revestimento e da camada muscular lisa vaso-deferencial variam com os segmentos do ducto considerados e com as estações do ano, aparecendo a muscular mais espessa no segmento distal que está relacionado com o processo de ejaculação do sêmen.

- Análises histomorfométricas realizadas no segmento médio vaso-deferencial da codorna sobre os parâmetros diâmetros tubular e luminal médios, mostram valores altos

com pequenas diferenças numéricas, não significativas entre si, nas estações de primavera, verão e inverno, indicando relativa constância do ritmo do ciclo testicular anual. No outono, ocorreu diminuição significativa nos valores numéricos dos diâmetros tubular e luminal médios do ducto deferente, em decorrência da quiescência do ciclo anual.

- Ultraestruturalmente, o epitélio de revestimento do ducto deferente da codorna da variedade italiana é formado por células principais (colunares) claras e escuras quanto a eletrondensidade núcleo-citoplasmática; células basais; e células delgadas escuras (ricas em mitocôndrias) sendo estas mais observadas no outono.

- O complexo organelar do citoplasma das células principais, aparentemente com maior destaque nas células claras, exceto no outono, mostram características de ocorrência de papéis funcionais ativos tais como: endocitose de fase fluida (pinocitose) e adsorptiva (fagocitose), exocitose, secreção protéica (micro-merócrina) e absorção a partir do lúmen tubular.

- As células principais do epitélio vaso-deferencial do outono mostram características degenerativas como a presença de extensas áreas pálidas apicais, perda marcante de microvilos, eletronluscência do citoplasma supranuclear, invasão da luz tubular pelo citoplasma apical vacuolizado e eletronluscência e presença de debridamentos celulares eletrondensos presentes na luz tubular, sendo todas estas características da fase de quiescência do ciclo anual.

- As características ultraestruturais do citoplasma das células principais observadas no verão, a fase regressiva do ciclo anual, de modo muito sutil, parecem preceder as marcantes modificações morfológicas degenerativas observadas no outono, sendo que aparentemente ocorre uma reorganização do complexo organelar citoplasmático destas células no inverno que constitui o período recrudescente do ciclo anual, precedendo a fase intensamente proliferativa da primavera.

- A interpretação citofisiológica sobre as células delgadas escuras é difícil de se fazer com base em suas características ultraestruturais, havendo propostas de corresponderem possivelmente às células ricas em mitocôndrias, ou poderiam ser

células de uma linhagem celular escura do epitélio vaso-deferencial ou seriam células em processo apoptótico e ainda poderiam, talvez, pertencer a um ciclo celular holócrino.

- As observações de MEV no ducto deferente de codorna na primavera e no outono corroboram com as verificações sobre a variabilidade morfológica deste conduto, nestas estações marcantes do ano, em termos das fases do ciclo testicular anual e de seus reflexos nos ductos excretores do testículo.

- Com base nas observações morfológicas feitas em todas as dimensões de análises, permite-se concluir ainda que o ciclo reprodutivo anual da codorna doméstica da variedade italiana obedece a um ritmo circanual.

Referências Bibliográficas

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, J.D. *Biologia molecular da célula*. Porto Alegre: Artes Médicas, 20004.

AIRE, T.A. The ductuli efferentes of the epididymal region of birds. *J. Anat.*, London, v.130, n.4, p.707-723, 1980.

AIRE, T.A. Aspects of the functional morphology of the ductus epididymidis in domestic anseriform and galliform birds. *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.29, p.179-191, 2000.

AIRE, T.A. Cyclical reproductive changes in the non-ciliated epithelia of the epididymis of birds. *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.31, p.113-118, 2002.

AIRE, T.A.; AYENI, J.S.; OLOWO-OKORUN, M.O. The structure of the excurrent ducts of the testis of the guinea-fowl (*Numida meleagris*). *J. Anat.*, London, v.129, p.633-643, 1979.

ARTONI, S.M.B. *Considerações sobre a morfologia e histofisiologia do testículo da codorna (Coturnix coturnix japonica)*. 1993. 73f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ARTONI, S.M.B.; ORSI, A.M.; CARVALHO, T.L.L.; LOPES, R.A. The annual testicular cycle of the domestic quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.26, p.337-339, 1997.

BALDAN, C.; ORSI, A.M.; VIOTTO, M.J.S.; ARTONI, S.M.B.; STEFANINI, M.A. Morphology of the vas deferens of the budgerigar (*Melopsitacus undulatus*). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, Siena, v.35, n.1, p.77-82, 2003.

BAUMGARTEN, H.G.; HOLSTEIN, A.F.; ROSENGREN, E. Arrangement, ultrastructure, and adrenergic innervation of smooth musculature of the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens of man. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, Berlin, v.120, p.37-79, 1971.

BENNETT, G.; LEBLOND, C.P.; HADDAD, A. Migration of glycoprotein from the Golgi apparatus to the surface of various cell types as shown by autoradiography after labelled fucose injection into rats. *J. Cell. Biol.*, New York, v.60, p.258-284, 1974.

BREUCKER, H. Seasonal spermatogenesis in the mut swan (*Cygnus olor*). *Anat. Embryol. Cell Biol.*, New York, v.72, p.1-91, 1982.

BREUCKER, H.; SCHAFER, E.; BUSTOS-OBREGON, E. Spermatogenesis of *Lophonetta specularioides* (Anatidae, Aves) in the high plateau of the southern Andes: a light and electron microscopic study. *Micr. Electr. Biol. Cel.*, Mendoza, v.13, n.2, p.167-182, 1989.

- BRIZ, M.; BONET, S.; FRADERA, A. A morphologic study of the ductus epididymis of *Sus scrofa*. *J. Morphol.*, Philadelphia, v.215, p.183-193, 1993.
- BUDRAS, K.D.; MEIER, U. The epididymis and its development in ratite birds (*Ostrich, Emu, Rhea*). *Anat. Embryol.*, Berlin, v.162, p.291-299, 1981.
- CHEMES, H.E.; FAWCETT, D.W.; DYM, M. Unusual features of the nuclear envelope in human spermatogenetic cells. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.192, p.493-512, 1978.
- CLERMONT, Y.; FLANNERY, J. Mitotic activity in the epithelium of the epididymis in young and adult rats. *Biol. Reprod.*, New York, v.3, p.283-292, 1970.
- CLULOW, J.; JONES, R.C. Studies of fluid and spermatozoa transport in the extratesticular genital ducts of the Japanese quail. *J. Anat.*, London, v.157, p.1-11, 1988.
- COOPER, T.G. ; HAMILTON, D.W. Phagocytosis of spermatozoa in the terminal region and gland of the vas deferens of the rat. *Am. J. Anat.*, Philadelphia, v.150, p.247-268, 1977.
- COOPER, T.G.; YOUNG, C.H.; BERGMANN, M. Protein transport to the epididymal lumen. *Cell Tiss. Res.*, Berlin, v.248, p.527-530, 1987.
- DE REVIERS, M. Sperm transport and survival in male birds. In: *The biology of spermatozoa*. Basel: Karger, 1975.
- DI DIO, L.J.A.; LEÃO, P.P. Sistema genital masculino In: DI DIO, L.J.A. *Tratado de anatomia sistêmica e aplicada*. Atheneu, São Paulo, 2002, v. 2, p. 621-652.
- EVANS, M.J.; WINKLE, L.S.V.; FANUCCHI, M.V.; PLOPPER, C.G. Cellular and molecular characteristics of basal cells in airway epithelium. *Exp. Lung Res.*, London, v.27, p.401-415, 2001.
- FARNER, D.S.; FOLLET, B.K. Reproductive periodicity in birds. In: BARRINGTON, E.J.W. (ed.). *Hormones and Evolution*, Academic Press, New York, 1979, p. 829-872.
- FARNER, D.S.; GWINNER, E. Photoperiodicity, circannual and reproductive cycles. In: EPPLE, A.; STETSON, M. H. (eds.). *Avian Endocrinology*, Academic Press, New York, 1980, p. 331-366.
- FLICKINGER, C.J. Synthesis and secretion of glycoprotein by the epididymal epithelium. *J. Androl.*, Philadelphia, v.4, p.57-161, 1983.
- FLICKINGER, C.J. Autoradiographic analysis of the secretory pathway for glycoprotein in principal cells of the mouse epididymis exposed to H³ fucose. *Biol. Reprod.*, New York, v.32, p.377-389, 1985.
- FOLLET, B.K.; SHARP, P.J. Circadian rhythmicity in photoperiodically induced gonadotrophin release and gonadal growth in the quail. *Nature*, London, v.223, p.968-971, 1969.

FOLLET, B.K. Birds. In: LAMMING, G.E. (ed.), *Marshall's Physiology and Reproduction*. Churchill Livingstone, London, 1984, v.1, p.283-350.

FORNES, M.W.; BARBIERI, M.A.; CAVICCHIA, J.C. Morphological and enzymatic study of membrane-bound vesicles from the lumen of the rat epididymis. *Andrologia*, Berlin, v.26, p.1-5, 1995a.

FORNES, M.W.; SOSA, M.A.; BERTINI, F.; BURGOS, M.H. Vesicles in rat epididymal fluid: existence of two populations differing in ultrastructure and enzymatic composition. *Andrologia*, Berlin, v.27, p.233-237, 1995b.

FRAISSINET, M.; VARRIALE, R.; PIERANTONI, R. *et al.* Annual testicular activity in the grey partridge (*Perdix perdix* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.68, p.28-32, 1987.

FRANCHIMONT, P.; CHARI, D.; HAZEE-HAGELSTEIN, M.T.; DEBRUCHE, M.L.; DURAISWAMI, S. Evidence for the existence of inhibin. In: *The testis in normal and infertile men*. New York: Raven Press, 1977, p.253-259.

FRITH, H.J.; CARPENTER, S.M.; BRAITHWAITE, L.W. Sexual cycles of pigeons in arid and semiarid Australia. *Aust. J. Zool.*, East Melbourne, v.24, p.331-351, 1976.

FUENZALIDA, H.; LEYTON, V.; VALENCIA, J. *et al.* Morfología del testículo de *Pygoscelis papua* (Foster) durante el periodo de actividad sexual. *Arch. Anat. Embriol.*, Madrid, v.20, p.79-91, 1989.

GLAUERT, A.M. *Practical methods in electron microscopy: fixation, dehydration and embedding of biological specimens*. Amsterdam: North-Holland, 1991, 207p.

GRAY, J.C. The anatomy of the male genital ducts in the fowl. *J. Morphol.*, Philadelphia, v.60, p.393-405, 1937.

GUYOMARC'H, C.; GUYOMARC'H, J.C. Sexual development and free-running period in quail kept in constant darkness. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.86, p.103-110, 1992.

HAMILTON, D.W. Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferentes, ductus epididymidis, and ductus deferens in the rat. In: HAMILTON, D.W.; GREEP, R.O. (eds.). *Handbook of Physiology*, American Physiological Society, Washington, D.C., 1975, v.5, p.259-301.

HAMILTON, D.W.; COOPER, T.G. Gross histological variations along the length of the rat vas deferens. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.190, p.795-810, 1978.

HAMNER, W.M. Photoperiod control of the annual testicular cycle in the house finch, *Carpodacus mexicanus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.7, p.224-233, 1966.

HERMO, L.; MORALES, C. Endocytosis in nonciliated epithelial cells of the ductuli efferentes of the rat. *Am. J. Anat.*, Philadelphia, v.171, p.59-74, 1984.

HERMO, L.; MELO, V.R. Endocytotic apparatus and transcytosis in epithelial cells of the vas deferens in the rat. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.217, p.153-163, 1987.

HERMO, L.; SPIER, N.; NADLER, N.J. Role of the apical tubules in endocytosis in non ciliated cells of the ductuli efferentes in the rat. *Am. J. Anat.*, Philadelphia, v.182, p.107-119, 1988.

HERMO, L.; BARIN, K.; ROBAIRE, B. Structural differentiation of the epithelial cells of the testicular excurrent ducts system of rats, during the post-natal development. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.233, p.205-228, 1992.

HERMO, L.; OKO, R.; MORALES, C. Secretion and endocytosis in the male reproductive tract: a role in sperm maturation. *Int. Rev. Cytol.*, New York, v.154, p.105-189, 1994.

HESS, R.A. ; THURSTON, R.J.; BIELLIER, H.V. Morphology of the epididymal region and ductus deferens of the turkey (*Meleagris gallopavo*). *J. Anat.*, London, v.122, p.241-252, 1976.

HIB, J.; PONZIO, R.; VILAR, O. Contractility of the rat cauda epididymidis and vas deferens during seminal emission. *J. Reprod. Fert.*, Cambridge, v.66, n.1, p.47-50, 1982.

HOLSHBACH, C.; COOPER, T.G. A possible extratubular origin of epididymal basal cells in mice. *Reproduction*, Cambridge, v. 123, p. 517-525, 2002.

HOSHIBA H.; SINOWATZ, F. Immunohistochemical localization of spermadhesin AWN-1 in the equine male genital tract. *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.27, p.351-353, 1998.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, New York, v.27, p.137-138, 1965.

KEMP, A.C. Environmental factors affecting the onset of breeding in some Southern African hombills. *Fertil. Steril.* (suppl.), Birmingham, v.19, p.319-331, 1973.

KIM, S.I.; YANG, H.H. Seasonal changes of testicular weight, sperm production, serum testosterone, and *in vitro* testosterone release in Korean ring-necked pheasants (*Phasianus colchicus karpowi*). *J. Vet. Med. Sci.*, Tokyo, v.63, n.2, p.151-156, 2001.

KING, A.S. Sistema urogenital das aves. In: Getty, R. (ed) *Sisson e Grossman – Anatomia dos animais domésticos*. 5 ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981, v.2.

KRUEGER, K.K.; OWEN, J.A.; KRUEGER, C.E.; FERGUSON, T.M. Effect of feed or light restriction during the growing and breeding cycles in the reproductive performances of broad breasted white turkey males. *Poultry Sci.*, College Station, v.56, p.1566-1574, 1977.

LAKE, P.E. The male reproductive tract of the fowl. *J. Anat.*, London, v.91, p.116-129, 1957.

- LAKE, P.E. Male genital organs. In: KING, A.S. e MCLELLAND, J. *Form and function in birds*. London: Academic Press, v.2, 1981.
- MANOEL, H.L.; ARTONI, S.M.B.; ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; ARAUJO, M.L. Aspectos morfológicos do ducto deferente da codorna, *Coturnix coturnix japonica*, no decorrer do ano. *Biotemas*, Florianópolis, v.11, n.2, p.97-104, 1998.
- MARTAN, J.; RISLEY, P. Holocrine secretory cells of the rat epididymis. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.146, p.173-189, 1963.
- MARTAN, J.; RISLEY, P.; HRUBAN, Z. Holocrine secretory cells of the human epididymis. *Fertil. Steril.*, Birmingham, v.15, p.180-187, 1964.
- MARTINEZ-GARCIA, F.; REGADERA, J.; COBO, P. *et al.* The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia*, Berlin, v.27, p.195-206, 1995.
- MORRISON, D.F. *Multivariate statistical methods*. Tokio: Kogakusha, 1976.
- NAKAI, M.; HASHIMOTO, Y.; KITAGAWA, H. *et al.* Histological study on seminal plasma absorption and spermiophagy in the epididymal region of domestic fowl. *Poultry Sci.*, College Station, v.68, p.582-589, 1989.
- NICANDER, L; MALMQVIST, M. Ultrastructural observations suggesting merocrine secretion in the initial segment of the mammalian epididymis. *Cell Tiss. Res.*, Berlin, v.184, p.487-490, 1977.
- NISTAL, M.; PANIAGUA, R.; ESPONDA, P. Development of the endoplasmic reticulum during human spermatogenesis. *Acta Anat.*, Basel, v.108, p.238-249, 1980.
- ORSI, A.M.; VIOTTO, M.J.S.; MARTINS, M.R.F.B. Considerações sobre a angioarquitetura da junção esofagogastrica da cobaia (*Cavia porcellus*, L.). *Ciência e Cultura*, São Paulo, v.42, p.721-724, 1990.
- ORSI, A.M.; VICENTINI, C.A.; VIOTTO, M.J.S. Características ultraestruturais de espermatogônias e espermatócitos primários do morcego hematófago (*Desmodus rotundus*, G.). *Naturalia*, São Paulo, v.18, p.15-26, 1993.
- ORSI, A.M.; VICENTINI, C.A.; VICENTINI, I.B.F.; STEFANINI, M.A.; ORSI, A.C. Ultrastructure of epididymal epithelium of the black isogenic mouse. *Rev. Chil. Anat.*, Santiago, v.14, p.189-196, 1994.
- ORSI, A.M.; MATHEUS, S.M.M.; GREGÓRIO, E.A.; BEU, C.C.L. Morphological investigations of the surface epithelium of ductuli efferentes of black isogenic mice (*Mus musculus*). *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.27, p.215-218, 1998.
- ORSI, A.M.; MATHEUS, S.M.M.; VICENTINI, C.A.; RIBEIRO, A.A.C.M.; MIGLINO, M.A. Fine structure of the lining epithelium of the ductus deferens in gerbil: a segmental study. *Braz. J. Morphol. Sci.*, São Paulo, v.16, p.189-195, 1999.

ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; BEU, C.C.L.; DUARTE, H.E.. Algumas observações histoquímicas no ducto deferente do gerbilo (*Meriones unguiculatus*). *Biotemas*, Florianópolis, v. 13, p. 89-101, 2000a.

ORSI, A.M.; MATHEUS, S.M.M.; FRANCIA-FARJE, L.A.D.; ORSI, D.C.; ARTONI, S.M.B. Estudio por microscopia electronica de barrido de la estructura del conduto deferente del gerbo (*Meriones unguiculatus*). *Acta Biol. Venez.*, Caracas, v.20, n.4, p.29-33, 2000b.

ORSI, A.M.; CRUZ, C.; VIEGAS, K.A.S.; MACHADO, M.R.F.; DOMENICONI, R.F.; SIMÕES, K.; ARTONI, S.M.B. O ducto deferente de codorna: estrutura e possíveis variações morfológicas sazonais. *Anais: XX Congresso Brasileiro de Anatomia*. Maceió, AL, 06 a 11-10-2002, v.1, p.159.

ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; VIEGAS, K.A.S.; SIMÕES, K.; ARTONI, S.M.B. Aspectos morfológicos do ciclo testicular anual de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana. *Braz. J. Med. Vet. Anim. Sci.*, São Paulo, In press, 2004.

PABST, R. Untersuchungen über bau und funktion des menschlichen Samenleiters. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.*, v.129, p.154-176, 1969.

PALADE, G.E. Structure and function at the cell level. *J. Am. Med. Assoc.*, Chicago, v.198, p.815-825, 1966.

PUDNEY, J.; FAWCETT, D.W. Seasonal changes in fine structure of the ductuli efferentes of the ground squirrel, *Clitellus lateralis* (Say). *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.208, p.383-389, 1984.

REYNOLDS, E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, New York, v.17, p.208-212, 1963.

ROBAIRE, B.; HERMO, L. Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. In: KONOBIL, E. Y.; J.D. NEILL (eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, v.1, p.999-1080, 1988.

SAMOUR, J.H.; MOORE, H.D.M.; BAILEY, I.T.; WATSON, P.F. Annual testicular cycle in captive budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *J. Zool. Lond.*, London, v.212, p.465-473, 1987.

SCHIMMING, B.; VICENTINI, C.A.; ORSI, A.M. Scanning electron microscopic study of the epididymis in the dog (*Canis familiaris*, L.). *Rev. Chil. Anat.*, Santiago, v.19, p.155-160, 2001.

SHARP, P.J.; STERLING, R.J. Photoperiodic requirement for the dissipation of scotorefractoriness in Japanese quail. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.58, p.169-173, 1985.

SILVERIN, B. Reproductive organs and breeding behaviour of the male Pied Flycatcher *Ficedula hypoleuca* (Pallas). *Ornis Scand.*, v.6, p.15-26, 1976.

SIMÕES, K.; ORSI, A.M.; ARTONI, S.M.B.; CRUZ, C. *Características morfológicas da estrutura testicular, variabilidade dos níveis plasmáticos de testosterona e ciclo espermatogênético no pato doméstico, Anas platyrrinchos*. Monografia apresentada à Universidade Federal de São Paulo (Sociedade Brasileira de Anatomia). Prêmio Renato Locchi de Ciências Morfológicas, Maceió, In: XX Congresso Brasileiro de Anatomia, Outubro de 2003, 20f.

SETCHELL, B.P.; MADDOCKS, S.; BROOKS, D.E., Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. In: KONOBIL, E. Y., J.D. NEILL (eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, 2. ed., v.1, p.1063-1175, 1994.

STEFANINI, M.A.; VICENTINI, C.A.; ORSI, A.M.; VICENTINI, I.B.F.; ARTONI, S.M.B. Características morfológicas do ducto deferente do pombo (*Columba livia*). *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v.56, p.605-612, 1996.

STEFANINI, M.A. *Estrutura da via espermática extratesticular do pombo doméstico (Columba livia)*. 1997. 66f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; ARTONI, S.M.B.; VICENTINI, C.A.; VICENTINI, I.B.F. Morphological study of the rete testis of the pigeon. *Braz. J. Morphol. Sci.*, São Paulo, v.16, n.2, jul-dez, 1999.

STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; GREGÓRIO, E.A.; VIOTTO, M.J.S.; ARTONI, S.M.B. Morphologic study of the efferent ductules of the pigeon (*Columba livia*). *J. Morphol.*, Philadelphia, v.242, p.247-255, 1999a.

STEFANINI, M.A.; MIGLINO, M.A.; DIDIO, L.J.A.; ORSI, A.M. Morphological study of the vas deferens of the pigeon (*Columba livia*). *Ital. J. Anat. Embryol.*, Firenze, v.104, p.33-139, 1999b.

STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; BEU, C.C.L.; VICENTINI, I.B.F.; MICHELIM, S.C. Estudo histoquímico da região epididimária do pombo (*Columba livia*). *Acta Biol. Leopold.*, São Leopoldo, v.21, p.119-126, 1999c.

TINGARI, M.D. On the structure of the epididymal region and ductus deferens of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *J. Anat.*, London, v.109, p.423-435, 1971.

TINGARI, M.D. The fine structure of the epithelial lining of the excurrent duct system of the testis of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Qt. J. Exp. Physiol.*, Cambridge, v.57, p.271-295, 1972.

VANWELKENHUYZEN, P. Le motilité du canal deferent. *Acta Urol. Belg.*, Bruxelles, v.34, p.385-466, 1966.

VILAR, P.; PAULSEN, C.A.; MOORE, D.J. Electron microscopy of the seminiferous tubules. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York: Raven Press, 1970, v.1, p. 63-74.

VIOTTO, M.J.S.; ORSI, A.M.; GREGORIO, E.A. Ultrastructural characteristics of the epididymal epithelium of the cat (*Felis domestica*, L.). *Braz. J. Morphol. Sci.*, São Paulo, v.13, p.51-58, 1996.

VON MÖLLENDORFF, W. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Berlin: Springer, 1930, Bd. 7, Teil I-II.

WINGFIELD, J.C. Control of testicular cycles in the song sparrow, *Melospiza melodia melodia*: interaction of photoperiod and an endogenous program?. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.92, p.388-401, 1993.

WINGFIELD, J.C.; WHALING, C.S.; MARLER, P. Communication in vertebrate aggression and reproduction: The role of hormones: male-male interactions in birds. In: KONOBIL, E. Y.; NEILL, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, 2. ed., v.1, p.310-312, 1994.

KATIA APARECIDA DA SILVA VIEGAS

“Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Cirurgia – Setor de Anatomia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Marcos Orsi

**São Paulo
2004**

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1420 FMVZ	<p>Viegas, Katia Aparecida da Silva</p> <p>Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (<i>Cortunix cortunix</i>) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano / Kátia Aparecida da Silva Viegas. - São Paulo : K. A. S. Viegas, 2004.</p> <p>95 f. : il.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2004.</p> <p>Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.</p> <p>Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Antonio Marcos Orsi.</p> <p>1. Codornas. 2. Morfologia animal. 3. Histofisiologia. 4. Reprodução. I. Título.</p>
----------------	---

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

PARECER

Interessado: Katia Aparecida da Silva Viegas

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento animal.

A Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, após analisar o projeto sob o número 346/2003, intitulado: "Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano", no qual foram utilizadas 24 codornas, sob responsabilidade do Prof. Dr. Antonio Marcos Orsi, constatou que o mesmo foi realizado de acordo com os princípios de bioética, adotados por esta Comissão.

São Paulo, 04 de agosto de 2004

Prof^aDr^a Julia Maria Mader

Presidente da Comissão de Bioética

FMVZ/USP

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: VIEGAS, Katia Aparecida da Silva

Título: Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Dedicatória

Dedico este trabalho:

Ao meu querido mestre e amigo, Prof^o Orsi, que desde de quando eu comecei a trilhar os caminhos das Ciências Biológicas, me incentiva e me ajuda a realizar os meus sonhos.

Ao senhor dedico minha admiração, amizade e carisma.

Deus o abençoe por tudo o que já fez por mim.

A minha mãe pelo amor, pela paciência e por ter me ajudado a suportar os momentos mais difíceis dessa fase da minha vida.

"A melhor maneira de realizar seus sonhos é ajudar o maior número possível de pessoas a realizar os delas".

*Agradecimentos
Especiais*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus, por ser sempre tão generoso comigo, permitindo que eu realize meus sonhos e por me amparar e me dar forças nos momentos mais difíceis de mais esta etapa de minha vida.

Ao meu pai e ao meu irmão pelos momentos de descontração que passamos juntos neste período, que apesar de terem sido poucos devido ao tempo e a distância, valeram a pena e me fizeram muito bem.

Ao meu querido namorado, Davi Ricardo Reche Nunes, pela compreensão e paciência, pelo companheirismo e amor que me dedicou durante os momentos difíceis desta etapa, e pelos momentos maravilhosos e pelas alegrias que pudemos dividir, inclusive a de chegar até aqui e concluir este trabalho.

A família do meu namorado pela amizade e carinho com que sempre me tratam, em especial à minha cunhada Daniele e ao seu namorado Luis pelos momentos de diversão que me ajudaram a descansar um pouco.

A minha amiga Mônica Ap. dos Santos, por tantos anos de amizade e por estar por perto em mais uma conquista da minha vida.

Agradecimentos

AGRADECIMENTOS

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo financiamento deste trabalho através da concessão de bolsa de Mestrado (Processo nº 03/03367-0).

À Prof^a Maria Angélica Miglino pela concessão da bolsa CAPES que permitiu minha estadia em São Paulo no período inicial do Mestrado durante o curso das disciplinas no 1º semestre de 2003.

À minha colega Ana Rita de Lima pela convivência amigável no período em moramos juntas no início do Mestrado.

À Patrícia Fernanda Felipe Pinheiro e a sua família por ter me acolhido em sua casa durante a seleção para o Mestrado.

Ao amigo Edson José Benetti (Doutorando da Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ/USP) pela amizade que nasceu durante o período de seleção do Mestrado e que permaneceu até aqui e que faço questão de cultivar.

A todos os colegas de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ/USP pela amizade e companheirismo durante todas as fases do Mestrado, especialmente às amigas Ana Rita, Naianne, Karina, Dulcinéia e Ana Paula Vidotti por terem me acolhido em suas casas quando necessitei.

Aos amigos Rafael Carvalho Cardoso, André Luiz Casas, Alexandre Schmadaeck, Wilker e Vanessa pelos bons e maus momentos compartilhados.

Aos amigos André Philadelpho e Cadu (Carlos Eduardo de Mouras), que já passaram pelo curso de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ/USP, os quais tive a oportunidade de conhecer e conviver, agradeço pela amizade.

Aos técnicos do Departamento de Cirurgia – Setor de Anatomia da FMVZ/USP – Índio, Diogo e Ronaldo - pela amizade neste período de Mestrado.

A todos os docentes do Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ/USP, pela dedicação ao curso e pela amizade.

A amiga Dra. Karina Simões (UNIMEP – Lins) pelos momentos divididos durante esta etapa e pela sua preciosa ajuda na Microscopia Eletrônica de Transmissão.

A Raquel Fantin Domeniconi (Doutoranda – UNICAMP) pela amizade e pelos ensinamentos de Histoquímica que me concedeu durante o período de realização deste trabalho.

A Prof^a Maeli Dal Pai Silva (Docente responsável pelo Laboratório de Histologia e Histoquímica do Departamento de Morfologia do IBB/UNESP) por ceder seu

laboratório para os procedimentos histoquímicos realizados durante este trabalho e pelo esclarecimento que deu às minhas dúvidas sobre os métodos utilizados.

A Sueli Michelim (Técnica do Laboratório de Histologia e Histoquímica do Departamento de Morfologia do IBB/UNESP) pela assessoria nos trabalhos de histoquímica.

Aos colegas Célia Beu e Sérgio (Discentes do Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural da UNICAMP) pelo convívio amigável no Departamento de Anatomia do IBB/UNESP.

Aos técnicos do Departamento de Anatomia do IBB/UNESP – Gelson, Alcides, Marcos, Paulo e Luciano – pela amizade e presteza com que sempre me trataram.

Às colegas Maria Luíza (ex-secretária do Departamento de Anatomia do IBB/UNESP), Gersa (atual secretária) e D^a Cleusa pelo bom convívio e pela gentileza com que sempre me ajudaram quanto precisei.

A todos os docentes do Departamento de Anatomia do IBB/UNESP pela amizade firmada, em especial ao Prof^o Joffre Guazzelli Filho por ser sempre tão gentil e prestativo comigo.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica do IBB/UNESP, na pessoa do Sr. Nivaldo A. Basso, pela assistência técnica nas microscopias eletrônicas de transmissão e varredura realizadas neste trabalho.

Ao Prof^o Edvaldo Garcia do Departamento de Produção Animal da FCA/UNESP, Botucatu, por ceder as codornas para a realização deste trabalho; e a Sra. Marta da Fazenda Edgardia da FCA/UNESP, Botucatu.

RESUMO

VIEGAS, K.A.S. 2004. 95f. “Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano [Morphological study of the vas deferens of domestic quail (*Coturnix coturnix*) of Italian variety: structure, histophysiology and possible seasonal variability along the year]. 2004, 95f. Dissertação (Mestrado em Ciências - AC: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

Características morfológicas, histomorfométricas, ultraestruturais e tridimensionais do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana foram estudadas e descritas. Para tanto, foram utilizadas 30 codornas sexualmente maduras, procedentes de um criatório da Fazenda Edgardia de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. Os ductos deferentes foram coletados, observados e documentados ao longo do ano nas estações de outono, inverno, primavera e verão, e estudados por métodos de macro-mesoscopia, microscopia de luz, microscopias eletrônicas de transmissão (MET) e de varredura (MEV). Cada ducto deferente foi reduzido em três segmentos: proximal ou adepididimal; médio ou justa-renal, e distal ou adcloacal. Os estudos ultraestruturais e tridimensionais se concentraram no segmento médio do ducto. Diferenças marcantes na morfologia foram observadas, incluindo características estruturais e histomorfométricas, sobre os valores médios de altura epitelial, diâmetros tubular e luminal dos ductos deferentes, mensurados durante as quatro estações do ano, sendo mais marcantes as observações feitas no outono, a fase quiescente, e na primavera, a fase ativa, do ciclo testicular anual. Nas fases intermediárias do ciclo, compreendendo os meses de inverno (fase recrudescente), e de verão (fase regressiva), os reflexos da cinética testicular sobre a estrutura do ducto deferente se fizeram notar principalmente nas características subcelulares das células principais do epitélio de revestimento. As observações de MEV confirmaram a variabilidade morfológica do ducto deferente nas estações marcantes do ano (outono e primavera) em termos das fases do ciclo testicular anual. Estes estudos permitiram concluir que esta espécie de ave mostra um padrão circanual no ciclo reprodutivo, influenciando as características morfológicas dos ductos excretores do testículo.

Palavras-chaves: Codorna. Ducto Deferente. Morfologia. Histofisiologia. Reprodução Sazonal.

ABSTRACT

VIEGAS, K.A.S. 2004. 95f. Morphological study of the vas deferens of domestic quail (*Coturnix coturnix*) of Italian variety: structure, histophysiology and possible seasonal variability along the year [Contribuição ao estudo morfológico do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana: estrutura, histofisiologia e possíveis variações sazonais ao longo do ano]. 2004, 95f. Dissertação (Mestrado em Ciências – AC: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

The morphological, histomorphometric, ultrastructural and three-dimensional features of the vas deferens of quail (*Coturnix coturnix*) of the Italian variety were studied and described. For this study were utilized 30 adult sexually active quails taken from the experimental Edgardia Farm of the UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil. The vas deferens was collected, observed and documented along the year in the autumn, winter, spring and summer seasons, and studied by macro-mesoscopy, light microscopy, transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM). Each vas deferens was reduced in three segments: proximal (adepididymal); middle (just the median lobe of the kidney); and distal (adcloacal). The ultrastructural and three-dimensional studies were concentrated in the middle segment of the duct. It was verified marked morphologic differences in the vas deferens, including structural and histomorphometric features concerning the middle values of the epithelial height, tubular and luminal diameters measured during the four seasons of the year. The observations made in the autumn the quiescent phase and in the spring the active phase of the annual testicular cycle were more evident. In the intermediaries phases of the cycle, i.e., the winter (recrudescent phase) and summer (regressive phase), the influence of the testicular kinetic on the vas deferens structure was noted mainly in the subcellular characteristics of principal cells of the epithelium lining. The SEM observations confirmed the morphologic variability of the vas deferens in the main seasons of the year (autumn and spring) concerning to the annual testicular cycle phases. These studies allowed to conclude that this avian species showed a circunannual pattern of the reproductive cycle, influencing the morphological features of the excurrent ducts of the testis.

Key words: Quail. Vas deferens. Morphology. Histophysiology. Seasonal Reproduction.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3	MATERIAL E MÉTODO	25
3.1	Coleta e fixação do material.....	26
3.2	Microscopia de Luz.....	27
3.3	Histomorfometria.....	27
3.4	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	27
3.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	28
4	RESULTADOS	29
4.1	Morfologia e histomorfometria do ducto deferente de codorna.....	30
4.2	Ultraestrutura do ducto deferente de codorna.....	42
4.3	Estrutura tridimensional do ducto deferente de codorna.....	62
5	DISCUSSÃO.....	66
5.1	Sobre a morfologia; histomorfometria e histofisiologia sazonal do ducto deferente de codorna.....	67
5.2	Sobre a ultraestrutura e citofisiologia do ducto deferente de codorna.....	74
5.3	Sobre a estrutura tridimensional do ducto deferente da codorna.....	81
6	CONCLUSÕES.....	83
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A morfologia das gônadas e dos ductos excretores do testículo de aves tem sido pouco analisada e descrita, restringindo-se a um pequeno número de espécies comparada, por exemplo, aos mamíferos, e estudos considerando a influência de aspectos sazonais no ciclo reprodutivo das aves também são escassos (BREUCKER et al,1982).

Na variedade japonesa de codorna (*Coturnix coturnix japonica*), os estudos de ARTONI (1993) e ARTONI et al. (1997), caracterizaram um padrão cíclico para a atividade sexual desta espécie, com base em estudos da cinética da espermatogênese. Todavia, se conhece que as codornas confinadas, em plantéis do mesmo sexo com contatos visuais e sonoros com plantéis similares e de sexo diferente, assim como descreveram SAMOUR et al. (1987), para psitacídeo, tendem a manter, aparentemente, uma atividade gonadal não propriamente cíclica. Isto porque as fêmeas fazem postura de ovos durante o ano todo, exceto com uma pequena redução de ovoposição no outono, conseqüentemente se mantendo ativas, e aparentemente constantes, as características do comportamento reprodutivo dos machos, especialmente na variedade italiana de codorna (ORSI, A. M. *Comunicação pessoal*, 2003).

Baseado em estudos da morfologia do ducto deferente de codorna (*Coturnix coturnix*), da variedade italiana, acompanhada sempre de análise concomitante do padrão estrutural testicular nesta espécie (ORSI et al., 2004), objetivou este trabalho investigar, além da estrutura e histofisiologia do ducto deferente, as possíveis variações sazonais morfológicas deste conduto nas diferentes estações do ano e verificar se o comportamento reprodutivo, seguiria os padrões definidos por BREUCKER et al. (1989), ou seja, cíclico, não cíclico ou semicíclico (intermediário).

Assim sendo o suporte de literatura relatado a seguir se faz com base na morfologia do ducto deferente de outras aves e com pequeno, mas necessário, enfoque em mamíferos para efeitos comparativos.

*Revisão da
Literatura*

2 REVISÃO DA LITERATURA

Cada ducto deferente de ave, topograficamente, é um tubo longo com característica serpentiniforme decorrente das ondulações fechadas que o ducto faz sobre si mesmo em seu trajeto celomático. O ducto é contínuo com a extremidade distal da região epididimária, a partir da qual se continua para além da porção caudal do testículo *ipsilateral*. O ducto deferente posiciona-se ventralmente aos rins, e se dirige caudalmente com trajeto tortuoso em direção à cloaca onde se abre no urodeo (GRAY, 1937; LAKE, 1957; 1981; TINGARI, 1971; 1972; AIRE et al., 1979; AIRE, 1980; STEFANINI et al., 1996).

No galo doméstico o ducto deferente apresenta externamente uma camada de tecido conjuntivo fibroso denso (fibro-muscular). Internamente ao tecido conjuntivo observa-se a camada muscular lisa. As fibras musculares se entrelaçam para formar dois estratos, não muito claramente demarcados, sendo um circular e outro longitudinal. O epitélio de revestimento tubular é do tipo pseudoestratificado colunar não ciliado (GRAY, 1937; TINGARI, 1971; 1972).

Após estudos fisiológicos e histofisiológicos sobre o transporte de espermatozóides nos ductos deferentes do galo doméstico, considerou-se que o movimento dos espermatozóides decorria da presença de mecanismos morfofuncionais envolvendo movimentos peristálticos ao longo deste ducto (DE REVIERS, 1975).

Com base comparativa na estrutura e histofisiologia dos ductos excretores dos testículos de mamíferos nota-se que, aparentemente, a estrutura muscular lisa do ducto deferente de aves estaria também relacionada à emissão dos espermatozóides estocados na cauda epididimária em direção à cloaca (DE REVIERS, 1975; STEFANINI, 1997). Nos mamíferos, em condições normais, a ejaculação dos espermatozóides é um processo de emissão violenta do sêmen, em direção à uretra prostática, que se observa ao se atingir o orgasmo masculino (VANWELKENHUYZEN, 1966; PABST, 1969; BAUMGARTEN et al., 1971; HIB et al., 1982; ORSI et al., 2000a, DIDIO, 2002).

Acrescido aos aspectos de histofisiologia do ducto deferente de aves, bem como de embasamentos anátomo-embriológicos (BUDRAS & MEIER, 1981), permitiu-se considerar que o ducto deferente tem estrutura e histofisiologia equivalentes ao corpo e a cauda do epidídimo, em sua zonação clássica nos mamíferos (vide para referência geral ROBAIRE & HERMO, 1988). Assim sendo, a região epididimal adtesticular de aves é correspondente à cabeça epididimária dos mamíferos (TINGARI,

1971; STEFANINI et al., 1996). STEFANINI et al. (1996), fizeram descrições sobre a morfologia e morfofisiologia do ducto deferente do pombo doméstico, sendo alguns aspectos destes estudos apresentados a seguir como literatura de embasamento.

No pombo doméstico, os ductos deferentes mostram disposição simétrica bilateralmente à linha mediana dorsal do celoma. Eles se posicionam lateralmente aos ureteres do mesmo lado, e se localizam predominantemente junto à porção caudal dos rins. Fazem trajeto caudal e se abrem no urodeo, o segmento médio da cloaca. A mucosa vaso-deferencial é revestida por epitélio pseudoestratificado colunar desprovido de cílios verdadeiros, sendo estas as células principais ou colunares, que coexistem com células basais desprovidas de superfície luminal e assentadas diretamente sobre a membrana basal tubular (STEFANINI et al., 1996).

Em nível ultraestrutural, as células colunares (ou principais) vaso-deferenciais de pombo apresentam intensa vesiculação apical, notando-se vesículas de diferentes configurações tais como: as vesículas revestidas com conteúdo denso, localizadas na face trans do aparelho reticular de Golgi (complexo de Golgi); as vesículas de superfície lisa com baixa eletrondensidade e também com revestimento por clatrina, e agregados envelopados de vesículas de baixa eletrondensidade, que constituem os corpos multivesiculares esparsos no citoplasma. Mitocôndrias com diferentes formas foram também observadas no citoplasma destas células (STEFANINI et al., 1996; 1999b).

As células basais do epitélio vaso-deferencial do pombo aparecem irregularmente cúbicas, tendo contorno celular ondulado e superfície lisa. Os núcleos são grandes, elípticos, com uma ou mais incisuras no envoltório nuclear, nucléolo bem evidente e muito eletrondenso e cromatina nuclear homogênea. A cromatina é predominantemente eucromatínica, porém ocorrem acúmulos heterocromatínicos na parte periférica interna da membrana nuclear (STEFANINI et al., 1996).

Observações preliminares de ORSI et al. (2002), permitiram verificar no epitélio tubular do segmento médio do ducto deferente de codorna doméstica a presença de: células colunares (principais) com microvilos apicais; células basais e um tipo celular densamente corado (basófilo ao HE), visível em microscopia de luz. Embora tais dados tenham sido apresentados como nota prévia, talvez as células basófilas pudessem corresponder às designadas células apicais ricas em mitocôndrias (MARTINEZ-GARCIA et al., 1995). Para estas células, descritas na maior parte do epitélio epididimal de mamíferos, onde se apresentam com diferentes configurações morfológicas,

MARTINEZ-GARCIA et al. (1995), sugeriram a possibilidade de serem células ativamente envolvidas em reabsorção e acidificação de fluido luminal do epidídimo.

Concernente também às células basais, tanto quanto às células ricas em mitocôndrias, ambas caracterizadas por alguns outros autores, não se conhece efetivamente o seu exato papel funcional (vide ROBAIRE & HERMO, 1988, para referência geral). Entretanto, de forma comparativa ao que se descreveu para as células basais da via respiratória aérea, EVANS et al. (2001), ainda que em nível até agora hipotético, aventaram que as células basais, além de estabilizarem o epitélio (função anteriormente também descrita no epidídimo por HAMILTON (1975), garantem movimento transepitelial de água, defesa oxidativa dos tecidos, formação do espaço lateral intercelular, com as células limitantes, regulação de inflamação neurogênica e possível resposta inflamatória. Por outro lado, HOLSHBACH & COOPER (2002) em estudos feitos em epidídimo de camundongo, levantaram a possibilidade das células basais terem origem extratubular, considerando a hipótese de serem monócitos recrutados a partir do sangue que irriga o epidídimo, possuindo, portanto, um possível papel imunológico.

As células colunares (principais) do ducto deferente de mamíferos foram investigadas com enfoque segmentar por HAMILTON & COOPER (1978). Estas mostraram algumas pequenas diferenças ultraestruturais regionais nos três segmentos do ducto (proximal, médio e distal). Estas células têm envolvimento com absorção de açúcares e com a incorporação glicídica em substâncias que são posteriormente secretadas para dentro do lúmen tubular (BENNETT et al., 1974).

Conseqüente às informações anteriores, para HERMO et al. (1994) as células colunares do ducto deferente de mamíferos estão equipadas com um aparelho secretório no qual se verificam: numerosas cisternas do retículo endoplasmático (RE) e um elaborado complexo de Golgi. Assim, em células principais do ducto deferente de rato foram observadas numerosas vesículas secretórias eletrônicas com diâmetros de 150 a 300 nm, com estrutura estável ou não labilizada quando traçadores eram introduzidos no lúmen tubular, porém foram observadas secretando no lúmen vasodeferencial (HERMO & MELO, 1987). No segmento terminal do ducto deferente ocorrem grupos discretos de células colunares, fazendo espermatofagia (COOPER & HAMILTON, 1977).

Às células colunares do ducto deferente de mamíferos, em função das características subcelulares descritas, foram propostas funções de absorção e endocitose

adsortiva de fase fluida; endocitose de proteínas e outras substâncias intraluminais (HERMO et al., 1994).

Estas substâncias, uma vez endocitadas, terminam por serem degradadas no interior de lisossomos secundários. Em células principais e apicais do ducto deferente de gerbilo, as principais funções observadas foram endocitose adsortiva e reabsorção de fluido seminífero (ORSI et al., 1999). Além disso, endocitose experimental de traçadores de membranas descrita por HERMO & MELO (1987) e possível transcitose célula a célula, por meio de vesículas de transcitose, foram observadas em nível das membranas plasmáticas laterais das células colunares vaso-deferenciais (HERMO & MELO, 1987; HERMO et al., 1994; ORSI et al., 1999).

No sistema vetor extratesticular de codorna da variedade japonesa, considerou-se: que o ducto deferente ocupa aproximadamente 66% do volume tubular total dos ductos extratesticulares, contendo a maior parte dos espermatozóides extragonadais (92,3%), e que os espermatozóides gastam o maior tempo (22,2 horas) para percorrê-lo totalmente, comparativamente com os outros ductos da via espermática (CLULOW & JONES, 1988). Em outro estudo morfométrico do ducto deferente de codorna doméstica da variedade japonesa, verificaram-se variações significativas no diâmetro tubular e na altura do epitélio de revestimento. Os maiores valores daquelas variáveis foram observados em março e abril e os menores valores em novembro. De outubro a fevereiro, contudo, não ocorreram variações significativas no epitélio de revestimento vaso-deferencial (MANOEL et al., 1998).

Em nível de observação preliminar ORSI et al. (2002) observaram, no ducto deferente de codorna da variedade italiana, os menores valores para as variáveis antes caracterizadas nos meses de outono, principalmente de final de março a meados de abril. Por outro lado, o assunto parece ser polêmico, uma vez que com base em estudos espermatogênicos, caracterizou-se na variedade japonesa de codorna doméstica um ciclo testicular anual cujas fases foram caracterizadas como de repouso no fim do verão; de recrudescência no outono; de proliferação ou maturação celular plena no final do inverno e início da primavera, e, de regressão na primavera e verão (ARTONI et al., 1997).

Face ao que foi até agora relatado e com base em descrições de fisiologia comportamental de aves, segundo WINGFIELD et al. (1994), verifica-se que os ritmos reprodutivos neste filo mostram grandes variabilidades mais dependentes, talvez, dos níveis de testosterona plasmática circulante, ou seja, de fatores endógenos atuantes

sobre a biologia da reprodução (FRAISSINET et al., 1987; WINGFIELD, 1993; WINGFIELD et al., 1994). Os ritmos reprodutivos em aves variam também com a durabilidade do fotoperíodo; pluviosidade e outros fatores climáticos e ambientais, isto é, com fatores parácrinos (HAMNER, 1966; FOLLET & SHARP, 1969; FRITH et al., 1976; KRUEGER et al., 1977; FUENZALIDA et al., 1989). Estes ritmos variam, inclusive nas condições de climas temperado; subtropical ou tropical úmido segundo se lê nos trabalhos citados, notando-se que as condições de climas subtropical ou tropical úmido são os mais observados em nosso meio.

Assim sendo, em perdiz foram verificados picos de andrógenos plasmáticos e de índice gonadossomático em abril, mês de primavera no hemisfério norte (norte da Itália), em que a plenitude dos estágios de espermatogênese foram morfológicamente observados, coincidindo este período de ativa proliferação celular com o período reprodutivo pleno destas aves. Notou-se ainda uma resposta gonadal ao LH no período de abril-maio (primavera), sendo as gônadas não responsivas em fevereiro, no inverno (FRAISSINET et al., 1987).

Em pombos das regiões semi-árida e árida da Austrália, no hemisfério sul, caracterizou-se um ciclo testicular anual com atividade espermatogênética máxima na primavera e verão. Contudo, os autores consideraram também que existe tendência para uma minoria dos pássaros estudados de apresentarem cinética de espermatogênese máxima no outono e no inverno, do que em outras estações do ano (FRITH et al., 1976).

No *Phasianus colchicus*, uma ave coreana, foi descrito que o pico reprodutivo em machos acontece durante a primavera e no início do verão (KIM & YANG, 2001). Os autores chegaram a esta conclusão observando que o peso testicular é mínimo no final do verão (agosto no hemisfério norte), sendo ainda baixo durante o outono e inverno (setembro a fevereiro). No início da primavera (março) o índice gonadossomático começa a aumentar, coincidentemente com os níveis plasmáticos de testosterona. Ambos os parâmetros são máximos na primavera alta e no início do verão (março a junho).

Em *Melospiza melodia melodia*, uma ave norte-americana, WINGFIELD (1993) propôs um mecanismo interativo entre o fotoperíodo e o programa hormonal endógeno, quanto ao controle da cinética da espermatogênese. O autor verificou que a diminuição da duração de luz diurna resultava em regressão gonadal. No entanto, durações similares de iluminação diurna teriam sido foto-estimulatórias para o desenvolvimento testicular no início da primavera. O autor sugeriu a presença de

programas endógenos (hormonais) de controle de atividade gonadal e que mudanças na duração da luz diurna poderiam atuar como um condutor do ciclo testicular anual. Equivale a dizer que haveria uma combinação de estímulos ambientais contínuos e ritmos endógenos no controle da reprodução. Estudos comparativos em aves, incluindo a *Coturnix coturnix* objeto deste estudo, têm indicado que a duração da luz diurna age como um condutor para o desenvolvimento testicular (FARNER & FOLLET, 1979; FARNER & GWINNER, 1980; FOLLET, 1984; WINGFIELD, 1993).

Em contrapartida ao que foi relatado, há estudos que questionam na *Coturnix coturnix* e em algumas outras espécies de aves passeriformes, uma ciclagem testicular anual padronizada, segundo o modelo mais usualmente descrito (WINGFIELD et al., 1994). Assim sendo, o desenvolvimento gonadal eventualmente ocorreria também em dias curtos (outono e inverno), sempre em ausência constante de luz (SHARP & STERLING, 1985; GUYOMARC'H & GUYOMARC'H, 1992).

Em condições de cativeiro, bem como em criações com confinamento de plantel, há tendências em aves silvestres como o periquito australiano, de acordo com SAMOUR et al., (1987), bem como em anatídeos, segundo BREUCKER et al. (1989), de haver rupturas na constância do ciclo testicular anual. Assim, em periquitos confinados com um grupo do mesmo sexo sob período constante de duração de luz - visualmente isolados, mas em contato vocal com outros periquitos de ambos os sexos - ocorreram algumas mudanças estruturais marcantes na cinética testicular ao longo do ano. Não se notou, por exemplo, regressão testicular, e a produção de espermatozóides ocorreu somente quatro vezes durante o ano, alternando-se com períodos de inatividade sexual (SAMOUR et al., 1987).

Na ave *Lophoneta specularioides*, com uma amostra analisada numa população Alto Andina, verificou-se um padrão circanual de alternância de fases de repouso e de atividade gonadal, e portanto reprodutiva, diferindo dos ciclos espermatogênicos anuais bem delimitados de aves de regiões temperadas, onde a reprodução é prevalente na primavera (BREUCKER et al., 1989). Os autores consideraram que essa espécie de pato andino apresenta um padrão intermediário entre a reprodução contínua e aquela claramente estacional, ou seja, semicíclico. Por outro lado, na variedade japonesa de codorna, o trabalho de ARTONI et al. (1997), definiu um padrão cíclico para a atividade sexual desta espécie, com base em estudos da cinética da espermatogênese.

Face ao exposto, neste estudo sobre a morfologia do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana, aparentemente ainda não estudado como órgão individualizado nesta espécie, são descritas características estruturais, histomorfométricas, ultraestruturais e tridimensionais.

*Material e
Métodos*

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta e fixação do material

Neste trabalho estudou-se a morfologia e a histofisiologia do ducto deferente (DD) de codorna (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana, macho, adulta, com peso corpóreo médio de 200 gramas. Utilizaram-se 30 aves procedentes do criatório experimental de codornas da Fazenda Edgárdia, pertencente ao complexo das fazendas experimentais da UNESP em Botucatu. Os animais foram mantidos nos plantéis de criação com dieta sólida e água administradas “*ad libitum*”. As condições de higiene das aves foram controladas mediante supervisão de Médicos Veterinários, tendo em vista que estes animais são amplamente utilizados com maior emprego em pesquisas de nutrição animal.

Os ductos deferentes das codornas foram coletados nos meses mais expressivos de cada estação ou seja: final de março a meados de abril (outono), junho-julho (inverno), outubro a meados de novembro (primavera), e janeiro-fevereiro (verão). Foram 12 animais para estudos em microscopia de luz e histomorfometria; 12 para microscopia eletrônica de transmissão; 6 para microscopia eletrônica de varredura, totalizando 30 aves.

Baseado na literatura consultada, há estimativa de possivelmente ocorrer maior atividade gonadal, que tende a se refletir na estrutura do ducto deferente, durante a primavera. Portanto, os resultados foram descritos, principalmente, com base nos eventos ocorridos na primavera e sequência das variabilidades estruturais estudadas nas demais estações.

As codornas foram anestesiadas mediante uma mistura de cloridrato de quetamina (20 mg/kg) e cloridrato de xilazina (1,5 mg/kg), aplicada por via intramuscular, obtendo-se eutanásia e a seguir foi feita laparotomia; evisceração do trato gastrointestinal e coleta dos testículos e ductos deferentes, obviamente se coletando também a região epididimária uma vez que esta conecta-se ao sistema tubular seminífero intratesticular e ao ducto deferente ipsilateral (ARTONI, 1993). Amostras adequadas do material foram fixadas nos seguintes fixadores: solução aquosa de formalina tamponada (tampão fosfato, pH 7,2, 0.1 M); fixador de Bouin e fixadores de Karnovsky, segundo Karnovsky (1965), e de McDowell (GLAUERT, 1991).

3.2 Microscopia de Luz

A rotina de microscopia de luz foi a usual, com fixação do material em solução aquosa de formalina tamponada (tampão fosfato, pH 7,2, 0.1 M); fixador de Bouin e fixador de Karnovsky. Os dois primeiros fixadores citados, foram utilizados para as amostras tissulares destinadas para estudos de microscopia de luz em materiais incluídos em *paraplast*® e o ultimo usado para aqueles incluídos em historesina (*Historesin*®, Leica, Alemanha). A seguir foram feitas a microtomia com cortes de 5 a 7 µm no material de *paraplast*® e de 2-4 µm no material de historesina, e colorações com HE e PAS/H. O material foi analisado com fotomicroscópio Olympus BX-41¹ e fotodocumentado com o emprego de câmera digital DP-12 (Olympus)¹.

3.3 Histomorfometria

Para a histomorfometria utilizou-se o material de microscopia de luz comum. A histomorfometria foi feita, tendo em vista obter os valores de alturas epiteliais e os diâmetros tubular e luminal dos DD, enfocando as análises morfométricas nos segmentos transversais do ducto deferente, obtidos do segmento médio. Foram utilizadas três lâminas de cada animal, contendo as lâminas três cortes histológicos com quatro medidas por corte.

As análises histomorfométricas foram feitas através do software Image-Pro version 4.5.1.3 for Windows 98/NT/ME/2000/XP¹, utilizando as imagens captadas através de câmera digital DP-12 (Olympus) acoplada ao microscópio BX-41 (Olympus). Os valores obtidos foram agrupados por estação do ano e tratados estatisticamente por métodos paramétricos - valores de médias aritméticas e desvios-padrão (MORRISON, 1976).

3.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As rotinas e investigações de MET foram feitas em amostras adequadas do segmento médio do DD, nos materiais coletados de 12 codornas (3 por estação). Os

¹ Equipamento adquirido com Auxílio à Pesquisa fornecido pela FAPESP (Proc. nº 03/00879-0). Responsável pelo projeto: Profº Dr. Antonio Marcos Orsi, Departamento de Anatomia, IBB/UNESP, Botucatu.

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 Morfologia e histomorfometria do ducto deferente de codorna

O ducto deferente de codorna é um tubo muito ondulado, serpentiforme, tendo em média $6,0 \pm 0,33$ cm de comprimento. Ele percorre a parede abdominal dorsal, ao longo da linha média, e forma alças estreitas do tipo em “zigue-zague” (Figura 1a), exceto no outono quando se apresenta retilíneo, em todos os seus segmentos (Figura 3a, 4a e 5a). Em todo o seu percurso abdomino-pélvico cada ducto deferente faz sintopia com o ureter do mesmo lado, fazendo ambos trajetos paralelos entre si em direção à cloaca (Figura 1a). Cada ducto deferente de codorna se inicia na extremidade caudal da região epididimária (Figura 1b), e termina na parede dorsal do urodeo onde se abre caudalmente à abertura do ureter do mesmo lado (Figura 2). Para efeitos descritivos, e por razões de trajeto e sintopia, o ducto deferente pode ser dividido em três segmentos contínuos e seqüentes: cranial, médio e caudal (Figura 1c). O segmento proximal, ou cranial, está relacionado à parte visível do ureter logo abaixo do lobo médio do rim.

As secções histológicas transversais do ducto deferente mostram-no organizado como túbulos paralelos entre si (Figura 3b), em consequência das ondulações estreitas que o ducto faz sobre si mesmo. A luz tubular, freqüentemente, estoca grande quantidade de espermatozóides e fluido (Figura 3d), sendo esta característica morfológica notada em todos os segmentos tubulares, nas preparações de inverno (Figura 3b), primavera (Figura 3c) e verão (Figura 3d), exceto no outono (Figura 3a).

As secções tubulares transversais do ducto deferente de codorna têm formas variadas, com parede delgada e quase ausência de pregas longitudinais na parede tubular (Figuras 3b-d). Por outro lado, o DD de outono, por ser um tubo retilíneo, mostra parede mais espessa e pregas longitudinais que penetram na luz tubular, sendo formadas pelo epitélio e lâmina própria tubulares (Figura 3a).

A estrutura histológica vaso-deferencial guarda certas semelhanças no inverno (Figura 3b), primavera (Figura 3c) e verão (Figura 3d), que são estações do ano mais ativas em termos de cinética testicular e dos ductos excretores dos testículos (vide discussão). Assim, o aspecto histológico geral do ducto deferente proximal, observado em secções histológicas transversais, é caracterizado pelas secções irregulares e paralelas entre si do conduto ondulado (Figura 3b), revestido por epitélio

pseudoestratificado não muito elevado e estocagem de grande quantidade de material, sendo predominantemente espermatozóides, na luz tubular (Figuras 3c-d). No outono o padrão estrutural geral da histologia do ducto muda, tanto no segmento proximal (Figura 3a), como nos segmentos médio e distal (Figuras 4a e 5a), devido ao não-ondulamento, presença de pregas longitudinais no epitélio tubular e ausência de material intraluminal (Figuras 4a e 5a).

O segmento médio do ducto deferente de codorna se estende ao longo da margem medial do rim ipsilateral e perpassa o nível renal, em direção à parte pélvica do celoma onde se caracteriza o segmento caudal (Figura 1a). A estrutura histológica geral do segmento médio (Figura 4), à semelhança do que se descreveu no segmento proximal (Figura 3), e também ao que se observa, de modo similar, no segmento distal (Figura 5), não tem grandes variabilidades ao longo das estações. No outono o padrão retilíneo do conduto, em sua parte média se mantém, bem como a presença de pregas longitudinais no epitélio e ausência de material intraluminal (Figura 4).

O conjunto das camadas muscular + adventícia do ducto no segmento médio de outono, entretanto, mostra um ligeiro aumento (Figura 4a), relativamente ao segmento proximal de outono (Figura 3a). Este conjunto de camadas estruturais mostra-se ainda mais espesso no segmento distal do ducto deferente de outono (Figura 5a), ao que se supõe dada a sua capacidade de garantir a ejaculação no processo de emissão do sêmen (vide discussão). No segmento médio, no inverno (Figuras 4b), na primavera e no verão (Figuras 4c-d), bem como no segmento distal (Figuras 5b-d), o padrão ondulado não varia apreciavelmente daquele descrito proximalmente (Figuras 3b-d) quanto às características histológicas. Todavia, se ressalta que o epitélio pseudoestratificado que reveste o conduto (Figura 4d) é algo mais elevado do que no segmento proximal (vide Figura 3d), podendo ser visualizadas as células colunares (principais) e basais, e o interstício frouxo da lâmina própria tubular (Figura 4d).

O segmento caudal (distal ou terminal) do ducto deferente de codorna representa a parte pélvica deste conduto (Figura 1a), sendo ligeiramente dilatado nas adjacências da cloaca (Figura 1c). Ele termina como parte reta vaso-deferencial (Figura 5d), a qual precede a papila do ducto deferente de localização intra-urodeal (Figura 2).

Neste segmento distal, no outono, se destaca a espessura proporcionalmente maior da camada muscular, antes já destacada; a luz tubular tipicamente estrelada conseqüente à maior proeminência das pregas longitudinais presentes no epitélio tubular; a vascularização mais abundante em nível da lâmina própria, e a túnica

adventícia formada predominantemente por tecido conectivo frouxo, com fibras do conjuntivo evidentes (Figura 5a).

A “*pars recta ductus deferens*” aparece em nível mais distal, “ad cloacal”, junto ao segmento caudal, tendo características morfológicas gerais do ducto deferente distal e retílineo de outono (Figura 5d). Isto, em todas as estações do ano, destacando-se a *histiotopia* entre a parte distal do ducto e a parte reta do ducto deferente em preparações histológicas baseadas em secções transversais do ducto (Figura 5d). Assim sendo, o epitélio aparece colunar alto, com núcleos justabasais e verticalizados das células colunares postos de permeio, ou em plano ligeiramente superior, aos núcleos horizontalizados e ovalados das células basais (Figura 6).

No epitélio de revestimento da “*pars recta*”, células delgadas escuras são evidentes, mostrando aspecto caliciforme com plasmalemas laterais eosinófilos; glicocálix apical bem delineado e borda apical em escova evidente tendo microvilos curtos e delgados. Na lâmina própria, subepitelial, aparecem arranjos densos de fibras do conjuntivo entremeadas de muitos fibroblastos e fibrócitos. Arranjos variados de fibras musculares lisas, com predomínio aparente de disposição circular interna e longitudinal-oblíqua, são evidentes na espessa camada muscular parietal. Externamente a esta, a camada adventícia se faz notória, sendo de estrutura mais frouxa e dotada de pequenos vasos sanguíneos (Figura 6).

Os diâmetros tubular e luminal médios, mensurados no segmento médio do ducto deferente de codorna, são mostrados em gráfico e comparados entre si, nas quatro estações do ano. Observam-se pequenas diferenças nos diâmetros tubulares e luminais na primavera, no verão e no inverno, sendo nesta estação ambos os diâmetros um pouco maiores. Porém, as diferenças numéricas observadas nestas três estações do ano não foram significativas entre si (Figura 7). Por outro lado, ocorreu diminuição significativa dos diâmetros tubular e luminal médios do ducto deferente de outono, relativamente aos das outras estações do ano (Figura 7). Ademais, se observou que as alturas médias do epitélio de revestimento do segmento médio mostram pequenas variações numéricas, não significativas entre si, sendo mais alto o epitélio do ducto deferente no outono (Figura 7). Estas observações têm correlações com variações sazonais, conforme discutiremos posteriormente.

A estrutura histológica básica do ducto deferente de codorna tem pequenas variações histológicas segmentares em microscopia de luz, sendo caracterizada pela presença das camadas, ou túnicas: mucosa com epitélio de revestimento e lâmina

própria; muscular lisa e adventícia. O epitélio é pseudoestratificado; estereociliado (com microvilos), tendo células com formas entre cúbica e colunar (Figuras 8 a 11). A altura celular média das células epiteliais aumenta no outono, em todos os segmentos tubulares, porém de forma não significativa. Isto provavelmente decorreria do maior ondulamento do epitélio tubular nesta estação (Figuras 7 e 8). No epitélio do ducto deferente de codorna se encontram, basicamente, células basais; colunares (principais) com microvilos, não muito evidentes em microscopia de luz; e, delgadas escuras (Figuras 8 a 10).

A espessura da camada muscular lisa do ducto, conforme antes já fora descrita, varia com os segmentos do ducto considerados e com as estações do ano. Assim, tende a ser mais espessa nos segmentos distais em todas as estações, com melhor evidência no ducto deferente retilíneo de outono e na parte reta (vide Figuras 5a, 5d, 6 e 8). Na primavera (Figura 10) e verão (Figura 11), a espessura relativa da camada muscular é menor, talvez em função da grande contenção intraluminal de fluido e espermatozóides que, aparentemente, tornaria delgada a estrutura mural como um todo, para contrapor a dilatação excessiva da luz tubular. No inverno, há também grande retenção de fluido luminal e células na luz, com conseqüente adelgaçamento da parede tubular (vide Figura 4b). Porém, nesta estação, por vezes, foi observada uma associação estrutural entre as túnicas muscular e adventícia, onde aparentemente uma se funde ou se prolonga na outra, caracterizando-se uma nítida camada mio-estromal (Figura 9).

Figuras 1 a–c: Preparações anatômicas do ducto deferente esquerdo (DD), da codorna da variedade italiana “*in situ*” (a: 1,5x), e DD isolado, em visão dorso-lateral, juntamente com o testículo (T) e região epididimária (re, em b: 1,0x), e, DD isolado e ampliado (c: 1,5x), sendo apontados: o próprio DD (seta espessa) e seus segmentos cranial (1), médio (2) e caudal (3), e relações de vizinhança: com os lobos cranial (*) e caudal (* maior), do rim esquerdo; ureter esquerdo (seta longa) e artéria pudenda esquerda (deslocada, seta menor, em a); o DD (seta espessa) e seus segmentos (1, 2, 3); sua origem na porção caudal da região epididimária (re, em b) e sua terminação ampular (estrela) distal, e, as mesmas características regionais apontadas em b, ampliadas em c, notando-se o comportamento ondulado (convoluto), do DD em a e c.

Figura 2: Representação esquemática da cloaca de codorna italiana macho, em secção sagital com enfoque maior no antímero esquerdo, sendo indicados: reto (R), coprodeo (C), urodeo (U), ducto deferente esquerdo (*), cortado e visto de topo, corpo vascular esquerdo (CV), prega anal ventral (P), pregas linfáticas (* menores) e falo (F). Na luz do urodeo (U), se vêem o óstio uretérico (u) esquerdo e a papila vaso deferencial (p) da parte terminal do vaso deferente esquerdo.

Figuras 3 a–d: Fotomicrografias de secções transversais do segmento cranial (*adepididimal*), do ducto deferente (DD) de codorna italiana no outono (a: 100x, barra: 5 μ m), inverno (b: 20x, barra: 25 μ m), primavera (c: 200x, barra: 2,5 μ m), e verão (d: 100x, barra: 5 μ m), sendo visualizados a disposição retilínea do DD no outono (a) e convoluta (b a d), nas demais estações. São indicados: pregas longitudinais da mucosa (cabeças de setas), luz tubular (*) e conteúdo luminal (estrelas). Hematoxilina-fucsina em a, b, e d; HE em c.

Figuras 4 a – d: Secções transversais do segmento médio (*justarenal*), do ducto deferente (DD) de codorna italiana no outono (a: 100x, barra: 5 μ m), inverno (b: 100x, barra: 5 μ m), primavera (c: 400x, barra: 1,25 μ m), e verão (d: 100x, barra: 0,5 μ m), sendo indicados: luz tubular (*) e conteúdo luminal (estrêlas); pregas longitudinais da mucosa (cabeças de setas) e epitélio tubular (e) com células basal (B) e principais (P); córion (c), muscular lisa (m) e adventícia (a), e, interstício peritubular (IT), com vasos sangüíneos (estrelas menores). HE, em todas as preparações.

Figura 5: Secções transversais do segmento caudal (*adcloacal*), do ducto deferente (DD) de codorna italiana no outono (a: 100x, barra: 5 μ m), inverno (b: 100x, barra: 5 μ m), primavera (c: 200x, barra: 2,5 μ m), e verão (d: 20x, barra: 25 μ m), sendo visualizados a disposição retilínea do DD no outono (a) e convoluta (d), no verão. São indicados: conteúdo luminal (estrêlas); pregas longitudinais da mucosa (cabeças de setas) e epitélio tubular (e); camada muscular lisa (m) e a parte reta terminal (seta) do DD em d. HE, em todas as preparações.

Figura 6: Parte reta do ducto deferente (DD) de codorna, em corte transversal sendo indicados os componentes da parede do DD: epitélio (E) da mucosa com células basais (b), principais (p) e delgadas (e = basófilas, “escuras”), glicocálice (setas menores), microvilos (seta); lâmina própria (L), muscular lisa (M), e adventícia (A) com arteríola (cabeça de seta). PAS/H, 400x, barra: 1,25 μ m.

Figura 7 - Variações morfométricas (valores médios) do ducto deferente médio da codorna durante as estações do ano. São Paulo, 2004.

Figuras 8 a 11: Secções transversais do segmento médio do ducto deferente (DD) de codorna italiana no outono (8: 400x, barra: 1,25 μ m, PAS/H), inverno (9: 1000x, barra: 0,5 μ m, HE), primavera (10: 400x, barra: 1,25 μ m, tricrômico de Masson-Goldner), e verão (11: 400x, barra: 1,25 μ m, HE), sendo indicados os componentes da parede do DD: epitélio (E) da mucosa com células basais (b), principais (p) e delgadas (e = basófilas, “escuras”), glicocálice (setas menores), microvilos (seta); lâmina própria (LP em 8, 9; L em 10, 11) e eixo conjuntivo de prega longitudinal da mucosa (estrela em 8), muscular lisa (M) e espermatozóides (z) na luz tubular em 11.

4.2 Ultraestrutura do ducto deferente de codorna

No epitélio de revestimento do ducto deferente de codorna da variedade italiana, ultraestruturalmente, se confirma a presença predominante de células colunares, ou principais, dotadas de pequenos microvilos apicais; de células basais; de células escuras (Figura 12), e de células delgadas escuras, ricas em mitocôndrias, que são mais observadas no epitélio vaso-deferencial de outono (Figura 13). A ultraestrutura das células colunares é bem típica na primavera (Figura 14), durante a fase intensamente proliferativa do ciclo testicular anual. Porém, as células colunares mostram características subcelulares marcadamente diferentes no outono, a etapa quiescente do processo espermatogénico (ORSI et al., 2004), bem como se observaram pequenas variações morfológicas, com peculiaridades similares nas estações mais extremadas do ano, ou seja, no inverno e no verão.

As células delgadas escuras têm a maior eletrondensidade núcleo-citoplasmática, dentre os outros tipos celulares descritos. O núcleo de cada célula delgada aparece irregularmente alongado; com cromatina escura, mas granular, e, com grandes aglomerados de heterocromatina aderentes à membrana nuclear, ou difusos no nucleoplasma. O citoplasma apresenta vesículas de diferentes dimensões e grande número de mitocôndrias, localizadas principalmente no citoplasma apical, em cuja borda luminal se visualizam cinetocílios (Figura 13). Esta célula escura é um tipo celular pouco observado nas estações do ano, especialmente no período ativo de primavera. Contudo, com grande frequência estas células aparecem na estrutura do epitélio vaso-deferencial de codorna durante o outono.

As células principais do epitélio vaso-deferencial de codorna são sempre observadas em maior número, relativamente aos demais tipos celulares do epitélio tubular deferente, nos três segmentos do ducto deferente e nas quatro estações do ano. A descrição de suas características ultraestruturais, a seguir, é feita como elas predominantemente aparecem durante a fase mais ativa do ciclo testicular anual, isto é, na primavera. O citoplasma das células principais aparece mais eletronalucente, ou mais eletrondenso, e ambos os tipos se mostram alternados entre si e entre os outros tipos celulares do epitélio pseudoestratificado, como as células escuras e ricas em mitocôndrias (Figuras 12 e 13). Células basais se posicionam adbasalmente junto ao citoplasma infranuclear de uma ou de duas células principais adjacentes (Figura 12).

Ambos os tipos de células principais do ducto deferente apresentam, de modo geral, as organelas citoplasmáticas usuais, notando-se grande número de mitocôndrias distribuídas em todos os níveis do citoplasma (Figuras 14 e 15). No citoplasma de células principais são vistas longas cisternas lamelares e cisternas vesiculares do retículo endoplasmático (RE), predominantemente granular, estando em íntima relação com mitocôndrias arredondadas e alongadas (Figuras 15 e 16). As cisternas lamelares do RE são predominantemente observadas no citoplasma basal (Figuras 12, 14 e 15). As lamelas e vesículas do RE granular se estendem ao longo do citoplasma lateral ou perinuclear (Figuras 15 a 17); atingem o citoplasma apical (Figuras 12 e 17); se inter-relacionam intimamente, via pontos de adesão, com o envoltório nuclear (Figura 16), e têm também relações de proximidade com as membranas plasmáticas laterais, delimitantes das células epiteliais adjacentes (Figuras 12 e 15). Neste último contato, via membranas plasmáticas laterais de células adjacentes, são observadas: cavéolas e vesículas, ocorrendo em níveis plasmalemal ou justaplasmalemal (Figura 15).

No citoplasma perinuclear das células principais, especialmente nas eletrólucidas, marcadamente no material vaso-deferencial de primavera, a disposição do abundante RE, predominantemente rugoso, e suas inter-relações submicroscópicas são notoriamente complexas (Figuras 16 e 17). Algumas cisternas lamelares longas do RE correm paralelamente e muito próximas do envoltório nuclear, ao qual contatam via pontos de adesão intermembranas. Outras cisternas vesiculares do RE misto, ou seja, granular-liso segundo (NISTAL et al., 1980), são observadas e, se avizinham de formações vesiculares, ou seja, o citoplasma inter-reticular contém abundante quantidade de vesículas, ribossomos livres e polisomas. As formações vesiculares observadas são vesículas de superfície plana; vesículas revestidas menores, densas e livres, ou agregadas em corpos multivesiculares, e vesículas muito eletrondensas, maiores, livres ou envoltas por endomembrana (Figura 16).

O complexo de Golgi, nas células principais, tem forma circunferencial e apresenta os dictiosomas superpostos mostrando vesículas claras (talvez pré-lisosômicas), em suas extremidades lamelares e vesículas pequenas, mais eletrondensas e revestidas, localizadas principalmente na face cis-Golgi (Figura 17). Nos espaços entre os dictiosomas se notam algumas pequenas vesículas revestidas e densas. Nas adjacências do Golgi aparecem alguns corpos multivesiculares, mitocôndrias e formações lamelares e vesiculares do RE, predominantemente granular, e polisomas.

Formações vesiculares com formato e conteúdo variados e corpos eletrondensos, com características de lisosomas, também são vistos (Figura 17).

As células principais claras, algumas vezes não alcançam o ápice luminal do epitélio vaso-deferencial, mostrando-se restritas entre células ciliadas escuras, ou então atingem o ápice luminal. Os seus núcleos apresentam formas entre esferoidal e ovalada; predomínio de eucromatina com flocos pequenos e dispersos de heterocromatina no nucleoplasma ou aderentes ao envelope nuclear e um nucléolo excêntrico bem evidente. Nas células C, claras e escuras, quando seus citoplasmas alcançam o lúmen tubular, a borda celular luminal mostra relativa escassez de microvilos que aparecem, geralmente, delgados e curtos (Figura 18). A forma das células principais escuras tende a ser triangular de base superior, sendo esta forma acompanhada pelo núcleo que pode exibir um recorte profundo no envelope nuclear. O citoplasma mostra-se eletrondenso, tendo predomínio de mitocôndrias, com diferentes formas, e lamelas do RE. Há concentração apical de vesículas pequenas, revestidas e escuras, e de vesículas maiores de superfície lisa e conteúdo eletronlucente, e alguns lisosomas podem ser vistos (Figura 19).

As células basais, no epitélio vaso-deferencial de codorna, têm formas entre ovalada e triangular, possuindo núcleos alongados; irregulares e dispostos paralelamente à lâmina basal ductular, sobre a qual se assentam (Figuras 12 e 20). Cada célula basal aproxima-se, através de estreita faixa de seu citoplasma apical, do citoplasma basal de células principais (Figura 20). A distribuição da cromatina nuclear, na célula basal, é similar à da maioria das células principais, mostrando as células basais recortes não muito grandes, ou profundos, no envelope nuclear, os quais contribuem para a irregularidade da forma nuclear (Figuras 12 e 20). O citoplasma destas células, de regra, é escasso, desprovido de superfície luminal (Figura 12), e dotado de pouca quantidade de organelas subcelulares. No citoplasma de algumas células basais, destaca-se um reduzido complexo de Golgi, em cujas adjacências se vêem vesículas de superfície plana, ou vesículas revestidas (Figura 20).

No decorrer do verão que caracteriza o período regressivo do ciclo testicular anual, os mesmos tipos celulares anteriormente descritos na primavera são visualizados, predominando as células principais claras, entremeadas por células delgadas escuras e ricas em mitocôndrias (Figura 21) e por células principais escuras (Figura 22), em função da diferente eletrondensidade citoplasmática. Junto ao citoplasma basal das células principais podem ser vistas células basais com forma triangular, presença de

poucas organelas citoplasmáticas e núcleo alongado, denteado e preenchido por nucleoplasma predominantemente eucromatínico (Figura 21).

No citoplasma das células principais escuras, em todos os níveis, se observa absoluto predomínio de cisternas lamelares longas do RE predominantemente granular. Entre as lamelas longas que se estendem desde o citoplasma basal (Figura 23) até o citoplasma apical (Figura 22), se observam cisternas lamelares menores, vesículas com diferentes formas, dimensões e conteúdos; mitocôndrias preponderantemente alongadas, polisomas e ribosomas livres e alguns corpos eletrondensos (Figuras 22 e 23). Interdigitações complexas das membranas plasmáticas de células principais adjacentes se fazem nítidas (Figura 23) ocorrendo reforços apicais através de junções íntimas (Figura 22).

No citoplasma das células principais claras, em níveis basal (Figura 24) e apical (Figura 25) ocorre também um predomínio de formações do RE, porém não se observando formações lamelares tão longas quanto aquelas do RE granular das células escuras. Assim sendo, nas células P claras se observam cisternas lamelares curtas coexistindo com cisternas vesiculares do RE, aparentemente misto, ou seja, granular-liso (NISTAL et al., 1980); mitocôndrias e vesículas variadas quanto à forma e dimensões. Formações vesiculares com dupla membrana e conteúdo eletronalucente e também formações vesiculares com características de endosomas são observadas, assim como são notadas também vesículas menores revestidas e de conteúdo eletrondenso (Figura 24). Complexos de Golgi bem definidos não foram visualizados nas células escuras e também nas células claras (Figuras 24 e 22, respectivamente).

As células delgadas escuras caracterizam-se pela elevada eletrondensidade citoplasmática apresentando uma extensa faixa de citoplasma apical preenchida por numerosas mitocôndrias, alguns corpos eletrondensos e grande reticulação-vesiculação citoplasmática, a qual aparentemente decorre do grande desenvolvimento do retículo endoplasmático que aparenta ser predominantemente liso (Figura 26). A borda apical destas células, bem como as bordas apicais das células principais claras e escuras, antes descritas, mostram microvilos apicais. Estes aparentam ser mais abundantes nas células ricas em mitocôndrias (Figuras 21 e 26) do que nas células principais escuras (Figura 22) e claras (Figura 25).

Durante o outono quando se caracteriza o período quiescente do ciclo testicular anual de codorna, se observam modificações marcantes na ultraestrutura do ducto deferente e das células do revestimento do epitélio vaso-deferencial (Figuras 27 a

29). O diâmetro tubular vaso-deferencial sofre forte regressão e com ele também regride o diâmetro luminal (Figura 7 e Figura 27). Assim, no final de março e abril, quando a quiescência testicular é mais acentuada, o lúmen tubular vaso-deferencial de outono fica muito restrito embora sempre patente. Nota-se posição centralizada dos núcleos das células P, que mostram forma irregular, tendendo a quadrangular, e com recortes no envelope nuclear. As membranas plasmáticas laterais se justapõem, interdigitando-se entre si e reforços apicais por junções de membrana são evidentes. Os citoplasmas infranucleares das células P parecem coalescer, neles se notando mitocôndrias; formações do RE e vesículas associadas, tendo características subcelulares mal definidas (Figura 27).

Ainda no decorrer do outono, as modificações morfológicas do epitélio vaso-deferencial, se acentuam. Assim sendo, partes expressivas do citoplasma apical das células P se expandem na luz tubular, mostrando-se como áreas pálidas e desprovidas de organelas citoplasmáticas. Imediatamente subjacente às áreas pálidas apicais, notam-se alguns poucos microvilos remanescentes e alguns vacúolos apicais. O citoplasma supranuclear, marcadamente eletrólucido, mostra formações discretas do RE, poucas mitocôndrias e corpos eletrodensos (Figura 28). Em outras secções do vaso deferente de outono, observam-se características degenerativas do citoplasma apical das células P, claras e escuras. O citoplasma apical das células invade a luz tubular ocluindo-a, através de formações vacuolizadas eletrólucidas, e também foram notados debridamentos celulares eletrondensos (Figura 29).

No inverno, que constitui o período recrudescente na cinética do ciclo testicular anual da codorna (ORSI et al., 2004), dispondo-se entre a fase proliferativa de primavera e a fase quiescente de outono, se observaram algumas alterações típicas na ultraestrutura das células principais. Dentre elas se destacam, especialmente nas células principais, a ocorrência de grandes vacúolos citoplasmáticos. Esses vacúolos eletrólucidos são adjacentes ao envelope nuclear, ocupando posição predominantemente látero-basal ao núcleo e sendo delimitados por membranas. Estes corpos vacuolares podem conter vesículas lisas, com conteúdo lucente (Figura 30) ou contém um material finamente granular (Figura 31). Adjacentes aos grandes vacúolos se notam principalmente mitocôndrias; cisternas lamelares longas do RE granular e ribossomos livres. Raros corpos eletrondensos apicais (talvez lisossomos) bem como vesículas pequenas e claras foram notados (Figuras 30 e 31).

Outra característica ultraestrutural bem típica no epitélio vaso-deferencial de inverno é a marcante presença de grande quantidade de vesículas revestidas por membrana, de tamanhos e formatos variados e com conteúdo claro, ou ligeiramente granular, em seus interiores. Aparentemente tais vesículas se destacam (extruem-se), a partir do citoplasma apical, de algumas células P, para o lúmen tubular do ducto deferente (Figura 32). Além das vesículas apicais e intraluminais, observadas em algumas secções transversais do ducto deferente de inverno, se observaram, intraluminalmente e de permeio a estruturas subcelulares de espermatozóides seccionados, a presença de formações grandes e esferoidais soltas na luz tubular (Figura 33).

Cada formação esferoidal, observada livremente no lúmen vaso-deferencial, durante o inverno, talvez caracterize uma célula ou fragmentos de células isoladas e desgarradas, mostrando em seus interiores numerosas vesículas, geralmente delimitadas por membranas, de conteúdo claro ou eletrondenso; e núcleo excêntrico e com nucléolo também excêntrico (Figura 33). Aparentemente, seriam células esfoliadas de segmentos precedentes da via espermática, segundo interpretações decorrentes de observações subcelulares feitas na via extratesticular de rato albino (HERMO et al., 1988, 1992).

Figura 12: Microscopia Eletr3nica de Transmiss3o (MET) do ducto deferente (DD) de codorna dom3stica, mostrando: c3lulas principais ou colunares claras (**P**); c3lula colunar escura (**ros3cea menor**); c3lula basal (**B**); c3lula delgada escura (**E**); l3mina pr3pria (**ros3cea maior**); ret3culo endoplasm3tico rugoso (**seta**); e microvilos (**cab3ças de seta**). 5.750x

Figura 13: MET do DD de codorna dom3stica, observado no *outono*, onde se visualiza: c3lula delgada escura (**D**) rica em mitoc3ndria (**m**); microvilos (**asterisco**); e c3lula principal (**P**). 23.000x

Figura 14: MET do DD de codorna doméstica, analisado na *primavera*, onde se vê a estrutura típica das células colunares ou principais (**P**) escura (**rosácea**) e clara (**asterisco**); microvilos apicais (**cabeça de seta**) e retículo endoplasmático rugoso (**seta**). 9.750x

Figura 15: MET do DD de codorna doméstica, visto na *primavera*, notando-se um célula principal com grande número de mitocôndrias (**m**); retículo endoplasmático rugoso com cisternas lamelares (**setas maiores**) e cisternas vesiculares (**setas menores**), lisossomo (**seta branca**) e núcleo (**n**). 17.000x

Figura 16: MET do DD de codorna doméstica, observado na *primavera*, onde se vê a íntima relação do retículo endoplasmático (**asterisco**) com o núcleo (**n**) via pontos de adesão (**seta espessa**); vesículas de superfície lisa (**cabeças de seta**); vesículas revestidas (**setas menores**); corpos multivesiculares (**seta longa**); endossomo (**seta curta**). 67.500x

Figura 17: MET do DD de codorna doméstica, observado na *primavera*, mostrando uma célula principal contendo: complexo de Golgi (**G**); cisternas lamelares (**asteriscos**) e vesiculares (**estrelas**) do retículo endoplasmático; mitocôndrias (**m**); lisossomos (**asteriscos brancos**); corpos multivesiculares (**seta longa**); núcleo (**n**). 23.000x

Figura 18: MET do DD de codorna doméstica, analisado na *primavera*, sendo indicados: células principais (**P**) e seu núcleo (**asterisco**); célula delgada escura (**rosácea**) e microvilos (**cabeças de seta**). 5.750x

Figura 19: MET do DD de codorna doméstica, visto na *primavera*, na qual se observa uma célula escura (**E**); mitocôndrias (**m**); lisossomos (**cabeças de seta**); concentração apical de vesículas pequenas (**estrela**) e vesículas maiores de superfície lisa (**seta espessa**). 23.000x

Figura 20: MET do DD de codorna doméstica, observado no *inverno*. São indicados: célula basal (**B**); complexo de Golgi (**seta**); vesículas de forma e conteúdo variado (**cabeças de seta**); e lâmina própria (**LP**). 17.000x

Figura 21: MET do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, sendo indicados: células principais claras (**P**); célula delgada escura (**E**); célula basal (**B**) e seu núcleo denteado (**n**); microvilos (**cabeças de seta**). 5.750x

Figura 22: MET do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, onde se pode ver: célula principal escura (**rosácea**); cisternas lamelares (**seta**) e vesiculares (**quadrado**) do retículo endoplasmático rugoso; mitocôndria (**m**); núcleo (**n**) e junções íntimas (**círculos**). 17.000x

Figura 23: MET da célula principal escura do DD de *verão*, mostrando: cisternas lamelares (**asteriscos**) do retículo endoplasmático granular; mitocôndrias (**m**); vesículas densas (**setas**); interdigitações (**quadrado**). 23.000x

Figura 24: MET do citoplasma basal (infranuclear) de uma célula principal clara do DD de codorna doméstica, observado no *verão*. São indicados: cisternas vesiculares (*estrelas*) do retículo endoplasmático misto; mitocôndrias (*asteriscos brancos*) e núcleo (*n*). 23.000x

Figura 25: MET do citoplasma apical (supranuclear) de uma célula principal clara do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, onde se visualiza: cisternas lamelares (*estrelas*) e vesiculares (*asteriscos*) do retículo endoplasmático misto; mitocôndrias (*rosácea branca*); microvilos (*cabeças de seta*); e núcleo (*n*). 23.000x

Figura 26: MET do citoplasma apical (supranuclear) de uma célula delgada escura do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, mostrando: cisternas lamelares (*estrelas*) e vesiculares (*asteriscos*) do retículo endoplasmático misto; mitocôndrias (*rosácea branca*); microvilos (*cabeças de seta*); e núcleo (*n*). 23.000x

Figura 27: MET do DD de codorna doméstica, observado no *outono*, na qual se observa: células principais (**P**); lúmen tubular (**rosácea**); membrana plasmática lateral (**setas**) com interdigitações (**quadrado**); junções oclusivas (**cabeças de seta**). 13.250x

Figura 28: MET do DD de codorna doméstica, observado no *outono* mostrando o citoplasma apical (supranuclear) das células principais (**P**); mitocôndria (**m**); lisossomos (**cabeças de seta**); microvilos (**setas**); vacúolos apicais (**estrelas**); expansão citoplasmática (**rosácea**). 23.000x

Figura 29: MET do DD de codorna doméstica, visto no *outono*, sendo indicados: células principais (**P**); formações vacuolizadas citoplasmáticas (**asteriscos pretos**); e debris celulares (**asteriscos brancos**). 7.750x

Figura 30: MET do DD de codorna doméstica, observado no *inverno*, mostrando: células principais (**P**); corpos vacuolares – vacúolos (**estrelas**); cisterna lamelares do retículo endoplasmático rugoso (**asteriscos**). 9.750x

Figura 31: MET do citoplasma basal de uma célula principal do DD de codorna doméstica, visto no *inverno*, na qual estão indicados: corpos vacuolares – vacúolos (**estrelas**); mitocôndrias (**cabeças de seta**); retículo endoplasmático rugoso (**asteriscos**) e núcleo (**n**). 17.000x

Figura 32: MET de uma célula principal do DD de codorna doméstica, observada no *inverno*, onde se visualiza: mitocôndrias (m); lisossomos (**cabeças de seta**); extrusões citoplasmáticas (**rosáceas**). 17.000x

Figura 33: MET do lúmen do DD de codorna doméstica, observado no *inverno*, mostrando: formações esferoidais com fragmentos celulares (**estrelas**) e espermatozoides seccionados (**cabeças de seta**). 4.350x

4.3 Estrutura tridimensional do ducto deferente de codorna

As investigações em microscopia eletrônica de varredura (MEV) do ducto deferente da codorna doméstica da variedade italiana mostram a disposição ondulada, em “zigue-zague” do ducto durante a primavera e outras estações do ano exceto no outono. Esta ondulação permitiu visualizar os segmentos transversais do ducto que aparecem como ilhas isoladas, estando envolvidos os segmentos tubulares por tecido conjuntivo frouxo com alguma infiltração de gordura. Os agregados tubulares por sua vez são envolvidos por tecido adensado, e aparentemente por tecido muscular liso, disposto como um estroma delimitante (Figura 34). Cada secção transversal do ducto deferente na primavera é formada por um epitélio conspícuo o qual delimita o lúmen tubular preenchido por um aglomerado de espermatozóides e fluido seminal. O tecido estromal disposto entre as secções do ducto deferente, nas ilhas citadas anteriormente, aparece principalmente como arranjos de fibras densas dispostas com diferentes orientações espaciais recordando em alguns casos uma disposição em “favos de mel” (Figura 35). Nas estações de verão e inverno as observações em MEV do deferente de codorna são similares às descritas na primavera.

No outono, corroborando as observações anteriormente descritas em microscopias de luz e eletrônica de transmissão, o ducto deferente é visto na varredura com disposição retilínea, adotando um padrão morfológico mais discreto do que aquele observado nas outras estações onde descreve trajeto em “zigue-zague” (ondulado). Assim sendo o ducto mostra um epitélio de revestimento alto disposto ao redor do lúmen vazio de conteúdo e com aspecto estrelado, conseqüente às pregas longitudinais observadas na estrutura mural do ducto deferente (Figura 36). Estas pregas formam elevações e reentrâncias no epitélio tubular conforme se observa também nos preparados de microscopia de luz (vide Figuras 3a, 4a e 8a). O tecido “estromal” (ou mioestromal) circundante do ducto deferente outonal, relativamente àquele observado nas outras estações, mostra uma distribuição mais regular de fibras arranjadas de forma concêntrica e recordando lamelas com disposição preponderantemente circular ao redor do ducto (Figura 36).

Figura 34: Microscopia eletrônica de varredura do ducto deferente de codorna doméstica observado na primavera, mostrando a disposição em “ilhas”. 18x.

Discussão

5 DISCUSSÃO

5.1 Sobre a morfologia; histomorfometria e histofisiologia sazonal do ducto deferente de codorna

As características anatômicas gerais do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*), da variedade italiana, uma ave destinada para corte e ovoposição, quanto aos aspectos de sintopia; trajeto e comportamento ondulado, serpeante, ou em “zigue-zague”, descritas em nossos resultados, são similares às caracterizadas em aves domésticas, como o galo (KING, 1975), peru (HESS et al., 1976), e pombo (STEFANINI et al., 1996).

O aspecto de retificação do formato no trajeto crânio-caudal do vaso deferente de codorna, no outono, durante o período quiescente do ciclo testicular anual, não foi relatado, ao menos na literatura ao alcance. Em contrapartida, a disposição em “zigue-zague” no trajeto celomático do ducto deferente, e a sua sintopia com o lobo médio do rim e ureter, *ipsilaterais*, observadas em codorna, foram de modo similar descritas em outras aves domésticas (LAKE, 1957, 1981; TINGARI, 1971, 1972; AIRE et al., 1979; AIRE 1980; STEFANINI et al., 1996).

A disposição muito ondulada do ducto deferente de codorna, observada na primavera, verão e inverno, exceto no outono, relacionar-se-ia com a maior capacidade de reserva funcional e condução de sêmen vaso-deferencial. Isto, consoante a tese de que os ductos excretores dos testículos em aves, principalmente os ductos deferentes, apresentam mecanismos histofisiológicos e fisiológicos para estocagem e condução de sêmen, incluindo peristalse tubular ativa (DE REVIERS, 1975). A capacidade de reserva funcional de sêmen, e consequentemente de espermatozóides, certamente diminui no período quiescente de outono, quando o vaso deferente se torna retilíneo. Ademais, a peristalse ativa deve também diminuir nesta etapa, em face da parada estacional do ciclo testicular anual. Todavia, a espessura mural vaso-deferencial é marcante no outono, sendo dada, talvez, pela relativa diminuição da luz tubular, que aparece vazia de conteúdo seminal nesta estação.

Como apoio a estas considerações anteriormente GRAY (1937) e TINGARI (1971; 1972), haviam caracterizado na estrutura do ducto deferente do galo doméstico uma camada fibro-muscular, que se caracterizou no vaso deferente de codorna como uma “camada mio-estromal”. Esta seria, muito possivelmente, a formação mural mais

ativa na emissão e ejaculação dos espermatozóides. Tal afirmação encontra apoio em observações similares, feitas em mamíferos, concernentes à histologia e histofisiologia do DD (VANWELKENHUYZEN, 1966; PABST, 1969; BAUMGARTEN et al., 1971; HIB et al., 1982; ORSI et al., 2000a, DI DIO & LEÃO, 2002).

Em codorna, se observou ainda a parte reta do ducto deferente, que precede a papila vaso-deferencial intra-urodeal, sendo ambas as estruturas também caracterizadas no galo doméstico (KING, 1975). O alargamento relativo do ducto deferente na *pars recta* decorreria do incremento relativo de tecido conjuntivo e músculo liso murais, relativamente maior nesta região tubular (LAKE, 1957). Esta observação fora evidenciada também na parte pélvica distal do ducto deferente de codorna.

Quanto à organização histológica geral do vaso deferente de codorna, a observação em sua estrutura mural de túnicas superpostas e seqüentes, caracterizando-se: mucosa, lâmina própria, muscular e adventícia, é bem típica, como se caracterizara, talvez em um dos primeiros relatos em aves, no ducto deferente de galo (GRAY, 1937). A mucosa vaso-deferencial, em codorna, é revestida por epitélio pseudoestratificado, predominantemente colunar e não ciliado, no que tange à ausência de cinetocílios, como caracterizou AIRE (2002) em outras aves, mas tendo borda apical formada por microvilos, ou estereocílios. No epitélio vaso-deferencial, como fora caracterizado também no ducto deferente de outras aves por LAKE (1981), se viu a presença predominante de células principais (P), e também a ocorrência de células delgadas escuras, e basais.

Células delgadas escuras (E), dotadas de cinetocílios apicais, foram observadas no epitélio vaso-deferencial de codorna, assim como se observou no epitélio vaso-deferencial do periquito australiano (BALDAN et al., 2003). Corresponderiam, possivelmente, com base em suas características estruturais, às células ricas em mitocôndrias descritas no epidídimo de mamíferos (MARTINEZ-GARCIA et al., 1995). Por outro lado, talvez se aparentariam a uma linhagem celular escura do epitélio epididimal segundo VIOTTO et al. (1996), e também do epitélio vaso-deferencial (ORSI et al., 1999).

As células E poderiam, eventualmente, ser consideradas como células senescentes, em processo apoptótico, ou pertencerem a um ciclo celular holócrino, assinalado no epitélio epididimal de porco doméstico (BRIZ et al. 1993). Porém a presença de um ciclo “secretor” holócrino no epitélio epididimal fora, anteriormente a BRIZ et al. e posteriormente a MARTAN & RISLEY (1963) e MARTAN et al. (1964),

denegada (CLERMONT & FLANNERY, 1972). Isto, com base na baixa capacidade de renovação epitelial epididimária, devida à relativamente baixa capacidade de divisões mitóticas das células do epitélio epididimal.

Acrescenta-se que às hipóteses antes consideradas, foram elaboradas outras interpretações sobre a citofisiologia de células delgadas, vide MARTINEZ-GARCIA et al. (1995) como referência especial sobre o assunto, tendo base em suportes anteriores na literatura de VON MÖLLENDORFF (1930). Assim se considerou que as células delgadas e escuras corresponderiam a um tipo celular apartado da população epitelial epididimária mais comum. Essa teria por base uma linhagem progenitora de células basais, seguindo-se → células colunares (principais) e → células apicais claras que mostram citoplasmas menos eletrondensos do que as células escuras, e são mais freqüentes na estrutura de epitélios pseudoestratificados como os da via aérea, segundo EVANS et al. (2001), e da via espermática (ROBAIRE & HERMO, 1988; HOLSCHBACH & COOPER, 2002).

Referente ainda à estrutura histológica geral do ducto deferente de codorna, a lâmina própria mural deste conduto é um estrato delgado, formado por tecido conjuntivo frouxo e vascular. A túnica muscular lisa é geralmente delgada, talvez em função da expansão tubular e luminal e da intensa concentração de espermatozóides, estocados na luz do ducto, durante todas as etapas mais representativas do ciclo testicular anual. Este, em verdade, obedece a um padrão cíclico circanual nesta espécie, à semelhança do que se observou em anatídeos sul-americanos (BREUCKER et al., 1989; SIMÕES et al., 2003).

O padrão espermatogenético semicíclico, extensivo à estrutura e histofisiologia dos ductos excretórios dos testículos, na codorna, é decorrente da fluutuabilidade e duração das fases do ciclo testicular anual nas diferentes estações do ano, bem como da variabilidade na cinética da espermatogênese, conforme SIMÕES et al. (2003), caracterizaram no pato doméstico de criação extensiva. Estes aspectos têm reflexos na morfologia e na histofisiologia da via espermática, compreendendo a região epididimária e seus túbulos e o ducto deferente, de aves, conforme as observações aqui relatadas em codorna.

Segundo ARTONI et al. (1997), a codorna doméstica apresenta espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos durante todo o ano, o que pressupõe uma atividade gonadal constante. Essa, seria regida principalmente por fatores endógenos, ou seja, por influência hormonal e como decorrência natural dos ritmos

biológicos, caracterizados em aves por WINGFIELD (1993) e por WINGFIELD et al. (1994), do que em decorrência direta da influência de fatores parácrinos, ou ambientais, também influentes (SIMÕES et al., 2003).

Para ARTONI et al. (1997), com base na cinética testicular da codorna, estabeleceram-se quatro fases de desenvolvimento gonadal, sendo predominantemente: a quiescência outonal (em março); uma recrudescência moderada no outono-inverno (de abril a agosto); a proliferação ativa primaveril (com pico máximo em outubro), e, uma regressão moderada no verão (de dezembro a fevereiro).

Em contrapartida, as observações morfológicas aqui feitas, no ducto deferente de codorna, mostraram, mediante também a análise da histologia testicular, a ocorrência de um padrão cíclico circanual, talvez, de atividade testicular. Este padrão tem reflexos na morfologia e histofisiologia dos túbulos da via espermática, conquanto as atividades de quiescência testicular e tubular espermáticas, propriamente ditas, de ocorrência outonal, e de proliferação ativa primaveril, observadas nos túbulos seminíferos e nos ductos excretores dos testículos, ocorreram de modo alternado. Isto, em função das peculiaridades marcantes de histotopologia e histomorfometria do ducto deferente, e de ultraestrutura do epitélio vaso-deferencial (ver adiante), verificadas nestas etapas do ciclo testicular anual, bem como das observações, antes relatadas, sobre a morfologia dos ductos da região epididimária de codorna.

Quanto à influência de fatores parácrinos e de aspectos de sazonalidade reprodutiva em aves sabe-se, por outro lado, que a duração da luz diurna, inclusive em codorna, é um dos fatores mais marcantes da ciclagem testicular, influenciando os períodos de atividade e quiescência gonadal (FARNER & FOLLET, 1979; FARNER & GWINNER, 1980; FOLLET, 1984; WINGFIELD, 1993).

Outros fatores, igualmente exógenos, como a disponibilidade de alimento; luminosidade, pluviosidade, duração do fotoperíodo e temperatura (correlacionados geralmente com as características climáticas das estações do ano), têm desempenhado papéis relevantes nos ritmos reprodutivos de aves (KEMP, 1973; SILVERIN, 1975). Isso, principalmente, em passeriformes e em algumas espécies domésticas de clima temperado (HAMNER, 1966; KRUEGER et al., 1977; FARNER & FOLLET, 1979; FARNER & GWINNER, 1980; BREUCKER, 1982; FOLLET, 1984; SHARP & STERLING, 1985; FRAISSINET et al., 1987; SAMOUR et al., 1987; FUENZALIDA et al., 1989; WINGFIELD et al., 1994).

Mediante outros enfoques, há estudos que questionam a ocorrência de ciclagens testiculares anuais convencionais, ou seja, com quatro fases bem definidas, inclusive em *Coturnix coturnix*, a espécie aqui estudada, e em algumas outras espécies de aves passeriformes,. Assim sendo, o desenvolvimento gonadal eventualmente ocorreria também em dias curtos, durante o outono e inverno, ou seja, em dias de fotoperíodo curto; em constante ausência de luz (SHARP & STERLING, 1985; GUYOMARC'H & GUYOMARC'H, 1992). Aqui nas observações sobre a morfologia do ducto deferente, e com base também na estrutura testicular, verificou-se um padrão cíclico circanual, algo diferente daquele de alguns anseriformes sul-americanos (BREUCKER et al., 1989; SIMÕES et al., 2003).

No pato doméstico, contudo, cujo ciclo testicular anual vem sendo estudado, tendo em vista que procedeu de criatório extensivo e livre (na natureza), verificaram-se melhores definições tanto para o período proliferativo quanto para o período de regressão testicular, segundo SIMÕES et al. (2003), sendo geralmente mais longos e bem definidos os períodos do ciclo testicular anual relativamente aos de codorna doméstica aqui enfocada. Ressaltam-se as condições de criatório e manejo da variedade de codorna aqui estudada, feitos em condições de confinamento. Os machos estavam apartados das fêmeas, mas com elas mantinham contatos visuais; vocais e possivelmente de “segregação de feromônios”, que se sabe são estimulatórios à libido e talvez ao prolongamento da não quiescência testicular. Para tanto, há suporte monográfico comparativo em descrições de WINGFIELD et al. (1994), bem como há descrição de aspectos similares, de criação e respostas sexual e reprodutiva, no periquito australiano (SAMOUR et al., 1987).

Em codorna, puderam ser definidos dois períodos marcantes: a quiescência outonal com forte expressão em março, e, a intensa proliferação primaveril, expressada entre outubro e novembro, em parte concordando com as observações de ARTONI et al. (1997), no que tange à quiescência testicular marcante em março, observada na variedade japonesa de codorna estudada pelos autores. Todavia, se ressalva que, aparentemente fora do período outonal (segunda quinzena de março à aproximadamente meados de abril), a espermatocitogênese nunca cessou. Assim sendo, se flagrou abundância de espermatozóides intraluminais, ao longo dos túbulos da via espermática, havendo ademais grande estocagem de gametas no ducto deferente, como é usual nos períodos de proliferação (atividade) testicular em aves (LAKE, 1981).

O ducto deferente de codorna, seguindo aproximadamente o padrão de variabilidade estrutural testicular, nos mesmos animais e nos mesmos períodos do ano, mostrou diferenças morfológicas e histomorfométricas bem marcantes durante o outono e primavera. A histotopologia do ducto deferente, bem como a sua histologia geral e histomorfometria não variaram muito nos períodos intermediários de recrudescência (no inverno), e de aparente regressão (no verão), comparativamente às observações de primavera. Estas interpretações representariam, talvez, um certo “ineditismo” em termos das observações aqui feitas. Uma possível explicação para estas observações, aparentemente, correlacionar-se-ia com aspectos fisiológicos do comportamento reprodutivo cíclico circanual de codorna, ao menos aquele aqui observado nas condições criatório intensivo, em cativeiro, com plantéis de aves de ambos os sexos confinados e separados, temporariamente entre si, na maior parte do tempo.

Ao longo do ano, notaram-se poucas variabilidades estruturais na morfologia do ducto deferente de codorna, exceto no outono quando modificações estruturais vaso-deferenciais foram muito expressivas, especialmente no período decorrente entre meados de março e meados de abril. No outono, coincidindo com uma queda na frequência de ovoposição das fêmeas, o testículo assiste a uma certa “parada” na cinética espermatogenética, refletida por alterações estruturais do próprio epitélio seminífero (ORSI et al., 2004). Estes dados, entretanto, diferem das descrições de ARTONI et al. (1997), que consideraram a morfologia testicular, em linhas gerais, constante ao longo do ano. Porém, no relato anterior de ARTONI (1993), alterações no número de figuras de meiose e noutros parâmetros histológicos e citológicos foram notadas, o que levou a autora a propor um padrão cíclico de atividade gonadal nesta espécie. Pelas observações aqui feitas, volta-se a enfatizar, este padrão parece ser cíclico circanual, e dependente de fatores exógenos (parácrinos) e endógenos, influências estas descritas para a ciclagem gonadal rítmica de outras aves (WINGFIELD, 1993; WINGFIELD et al., 1994).

Concernente ainda à estruturação morfológica do vaso deferente de codorna, na dimensão específica de microscopia de luz, a túnica adventícia é conjuntiva, preponderantemente frouxa, porém mostra algumas fibras do tecido conjuntivo e vasos sangüíneos e nervos. A presença desta disposição estratigráfica na estrutura vaso-deferencial de codorna fora, em linhas gerais, também descrita no galo doméstico por GRAY (1937); TINGARI (1971, 1972); LAKE (1957, 1981); no peru por HESS et al. (1976) e no pombo doméstico (STEFANINI et al., 1996). A ocorrência de vasos

sangüíneos na lâmina própria e também na adventícia do ducto deferente de codorna, com base comparativa na estrutura vaso-deferencial de mamífero, segundo ORSI et al. (2000b), permitiria caracterizá-las como espaços “vaso-condutores”. Através deles se recebe; se distribui e se drena a vascularização sangüínea, referente a todos os estratos murais vaso-deferenciais, conforme fora descrita também em estrutura de transição segmentar, observada entre órgãos ocos do canal alimentar de cobaio (ORSI et al., 1990).

5.2 Sobre a ultraestrutura e citofisiologia do ducto deferente de codorna

Concernente às características subcelulares das células do epitélio vaso-deferencial de codorna, com especial ênfase nas observações sobre a ultraestrutura do ducto deferente na primavera, notaram-se peculiaridades bem marcantes na distribuição e interação organelar das células principais (P). Assim, merecem destaques os orgânulos subcelulares da maquinaria de síntese e secreção celulares, tais como: o RE preponderantemente granular, o complexo de Golgi e as vesículas secretoras associadas, bem caracterizadas e correlacionadas entre si por FLICKINGER (1983, 1985), quanto aos aspectos de síntese e secreção protéica, no epidídimo de camundongo. Outras organelas também associadas com processos citofisiológicos de endocitose; digestão heterofágica; excreção e secreção, segundo descrições de ROBAIRE & HERMO (1988); HERMO et al. (1994) e ORSI et al. (1999) no vaso deferente de mamíferos, de forma comparativa, foram vistas se inter-relacionando nas células P “ativas” (primaveris), de codorna da variedade italiana, aqui estudada.

Os aspectos antes enfatizados foram aqui revisitados com embasamento comparativo, estando apoiados em conceitos emitidos a partir de estudos realizados sobre a morfologia da via espermática de roedores laboratoriais feitos por FLICKINGER (1983, 1985), ROBAIRE & HERMO (1988); HERMO et al. (1988), 1992, 1994; ORSI et al., (1994, 1998, 1999), bem como com os estudos, de enfoques similares, realizados também em aves (STEFANINI et al., 1999a,b,c; AIRE, 2000, 2002; BALDAN et al., 2003).

Durante a primavera, no citoplasma das células principais do epitélio vaso-deferencial de codorna, que foram caracterizadas como células não ciliadas, ou seja, desprovidas de cinetocílios na borda luminal, similarmente ao mesmo tipo celular (células P) descrito no epitélio vaso-deferencial de galo e pato domésticos por AIRE (2002), observou-se ultraestruturalmente a presença de organelas secretoras de proteínas. Assim, foram visualizados o grande desenvolvimento do RE granular e do complexo de Golgi, inter-relacionados, e, a ocorrência de muitas mitocôndrias e vesículas de diferentes formas e dimensões, predominando as vesículas revestidas e de superfície lisa.

As células P, morfologicamente preponderantes na população celular dos ductos excretores dos testículos, segundo revisão monográfica de HAMILTON (1975), foram identificadas como células secretoras de proteínas (secreção micro-merócrina)

por NICANDER & MALMQUIST (1979), no epidídimo de mamíferos domésticos. As células P estão presentes também como parte predominantemente ativa, em termos citofisiológicos, na população celular epitelial da via espermática de mamíferos, de acordo como os estudos e descrições de HAMILTON (1975), NICANDER & MALMQUIST (1979), FLICKINGER (1983, 1985), COOPER et al. (1987), HERMO & MELO (1987), HERMO et al. (1992, 1994), ORSI et al. (1994, 1998, 1999) e SCHIMMING et al. (2001), assim também se comportando na via espermática de aves (STEFANINI et al., 1996, 1999a,b,c AIRE, 2002 e BALDAN et al., 2003).

As células principais não ciliadas, secretoras de proteínas, presentes no ducto deferente de aves como o periquito australiano, segundo BALDAN et al. (2003), e a codorna doméstica aqui enfocada, guardam certas similaridades subcelulares com células epiteliais presentes no ácino do pâncreas exócrino (PALADE, 1966). No vaso deferente de aves, talvez este tipo celular secretor possa ser identificado com a célula colunar do tipo II de acordo com o trabalho de TINGARI (1972). Entretanto, este último tipo é mais usualmente encontrado no epitélio de túbulos da região epididimária, mas fora caracterizado por BALDAN et al. (2003) na estrutura vaso-deferencial de periquito australiano.

Na codorna doméstica, crê-se que, independentemente do tipo celular de classificações celulares anteriores propostas por TINGARI (1972); AIRE et al. (1979), ou atuais de AIRE (2002), a célula principal clara (eletronlucente), vaso-deferencial de codorna, tem características de ser secretora de proteínas. Este seria, talvez, um processo relevante para o enriquecimento do “*milieu*” intraluminal, ou talvez visaria acrescentar à membrana plasmática dos espermatozóides proteínas variadas, e metabolicamente ativas, como as proteínas de motilidade para frente; espermadesina, actina, dineína, etc. (ROBAIRE & HERMO, 1988; HERMO et al., 1994; HOSHIBA & SINOWATZ, 1998). Tais processos devem predominar nas etapas mais ativas do ciclo testicular, com reflexos na cinética das células de revestimento epitelial da via espermática, como bem se notou nas características subcelulares de células P vaso-deferenciais, neste trabalho.

Por outro lado, há características subcelulares das células colunares (P) vaso-deferenciais de codorna, especialmente notadas em células colunares com citoplasma mais eletronlucente, como a presença marcante de vesículas abundantes, com diferentes tamanhos e configurações; ocorrência de endosomas e corpos multivesiculares e presença de lisosomas, que permitem supor serem células envolvidas em processos de

endocitose ativa de fluido e solutos, com base comparativa na ultraestrutura de células epiteliais principais vaso-deferenciais de mamíferos (HERMO & MELO, 1987; HERMO et al., 1994; ORSI et al., 1999). Outro aspecto subcelular relevante nestas células é a inter-relação de endomembranas do RE lamelar e preponderantemente granular com a membrana nuclear e daquelas com a membrana plasmática lateral, ou apical das células P. Tais inter-relações sugerem a presença de “sítios” ou “rotas” privilegiados na intimidade citoplasmática atinentes à translocação núcleo-citoplasmática (e talvez vice-versa), de proteínas arquiteturais e citocinéticas (VILAR et al., 1970; FRANCHIMONT et al., 1977; CHEMES et al., 1978; NISTAL et al., 1980; ORSI et al., 1993).

Quanto às células basais presentes no epitélio vaso-deferencial da codorna, sendo bem características na primavera, mas também vistas nas demais estações do ano, são células cujo papel funcional não está ainda bem esclarecido. HOLSCHBACH & COOPER (2002), discutiram que as células B seriam: possíveis células progenitoras da linhagem epitelial de revestimento da via aérea, (e possivelmente também da via espermática segundo HERMO et al., 1994); células imunocompetentes (HOLSCHBACH & COOPER, 2002), ou ainda células estabilizadoras da estrutura do epitélio de revestimento dos túbulos (ductos), da via espermática de mamíferos (HAMILTON, 1975; HERMO et al., 1994). Estas células, igualmente presentes na papila vaso-deferencial do peru, segundo HESS et al. (1976), têm estrutura bem típica no ducto deferente de codorna, embora não tenham sido observadas no epitélio vaso-deferencial de periquito australiano (BALDAN et al., 2003).

Referente às variabilidades observadas nos diâmetros tubular e luminal, e na altura do epitélio de revestimento do vaso deferente de codorna, em nível do seu segmento médio, notaram-se as maiores variações tubulares no outono, as quais são inclusive estatisticamente significativas em relação às mesmas variáveis mensuradas nas outras três estações do ano. As observações outonais parecem decorrer do período quiescente na cinética da espermatogênese notado nos meses desta estação, especialmente de meados de março a meados de abril, concordantemente, em parte, com as observações sobre o ciclo testicular anual da variedade japônica desta ave doméstica (ARTONI, 1993; ARTONI et al., 1997).

Com a quiescência testicular outonal, em termos da espermatocitogênese que sofre uma “parada” nesta época do ano, os ductos excretórios do testículo, e dentre eles os ductos deferentes, tendem a mostrar modificações estruturais marcantes em sua

morfologia. Estas foram bem caracterizadas em microscopia eletrônica de transmissão (MET), conforme os resultados aqui apresentados. Observações similares às aqui feitas em MET não foram, aparentemente, descritas em aves. Todavia, de modo similar, foram comparativamente observadas, e descritas, nos ductulos eferentes do esquilo terrestre *Citellus lateralis*, segundo PUDNEY & FAWCETT (1984), obviamente resguardando-se algumas peculiaridades espécie-específicas,.

O esquilo terrestre norte-americano, citado, é um mamífero sazonal, quanto à sua biologia reprodutiva. Os animais desta espécie são sexualmente ativos nos meses de primavera (abril e maio), e sofrem regressão na atividade testicular nos meses do verão, em julho e agosto, respectivamente (PUDNEY & FAWCETT, 1984). Relataram os autores, que as células não ciliadas (principais) e ciliadas do epitélio de revestimento dos ductulos eferentes epididimários, sofrem profundas modificações, comparativamente com os mesmos tipos celulares observados na primavera. Outras modificações foram notadas na ultraestrutura tubular dos *eferentes*, como a presença de expansões citoplasmáticas e vacuolizações citoplasmáticas apicais, que invadem e restringem o lúmen tubular, e presença de *debris* celulares intraluminais (PUDNEY & FAWCETT, 1984).

De modo similar ao que caracterizaram na via espermática do esquilo, PUDNEY & FAWCETT (1984), na etapa regressiva testicular, observada no verão neste mamífero, verificou-se na histotopologia do ducto deferente de codorna, bem como nas células colunares epiteliais deste ducto, na etapa quiescente de outono, com ênfase ao período de final de março a meados de abril, configurações morfológicas similares às caracterizadas para as células colunares dos eferentes epididimários do esquilo. Assim sendo, dentre as observações notadas no ducto deferente de codorna, no outono, caracterizaram-se: (1) invasão da luz dos ductos deferentes por expansões citoplasmáticas eletrolucentes das células principais; (2) vacuolizações intraluminais, aparentando estar os vacúolos se destacando do citoplasma apical eletrolucente e vacuolizado, e, (3) presença de *debris* celulares eletrodensos, coexistindo com intensa vacuolização notada no interior da luz vaso-deferencial.

Estas modificações no padrão tubular-celular do ducto deferente de codorna, no outono, seriam dependentes da quiescência testicular, sendo que a reversão destes eventos se dá no inverno, a fase de recrudescência do ciclo testicular anual. Por outro lado, noutras células principais vaso-deferenciais de codorna, especialmente na segunda quinzena de março, verificou-se intensa restrição do diâmetro luminal médio, o qual, no

entanto, permaneceu patente. Houve aparente coalescência dos citoplasmas basais das células principais, que interdigitaram lateralmente as suas membranas plasmáticas, e, apicalmente se reforçaram os plasmalemas laterais por meio de complexos juncionais de membrana plasmática. Os núcleos se mostraram mais quadrangulares e os envelopes nucleares mais denteados. O número de mitocôndrias se mostrou relativamente elevado, em todo o outono, apesar de se mostrarem discretos outros orgânulos, como o RE, complexo de Golgi e lisosomas.

O conjunto das características celulares observadas nas células principais vaso-deferenciais de outono, na codorna, indicariam a sincronia de eventos entre os túbulos seminíferos e seu revestimento epitelial (epitélio seminífero), intensamente citogênico, havendo confirmada interação entre a espermatocitogênese e a espermição, bem como com a citofisiologia das células dos ductos excretórios do testículo (SIMÕES, et al., 2003). Isto, em termos de condução, metabolismo, maturação, emissão e estocagem dos espermatozoides (vide para revisões ROBAIRE & HERMO, 1988; HERMO et al., 1994, SETCHELL et al., 1994). Logo, se há uma parada na espermatocitogênese na fase recessiva do ciclo testicular anual de codorna, há também uma quiescência, ou presença de características regressivas nos ductos vetores da via espermática do mamífero sazonal (*Citellus lateralis*), como caracterizaram PUDNEY & FAWCETT (1984).

No inverno e no verão se observaram, respectivamente, as fases de relativas recrudescência e regressão testiculares. Estas fases são, respectivamente, os períodos intermediários àqueles de atividade testicular plena, ou seja, de proliferação primaveril, e de quiescência testicular total caracterizada por uma breve parada espermatocitogenética outonal, já anteriormente comentados. Logo, no inverno e no verão, as características ultraestruturais notadas no revestimento epitelial vaso-deferencial de codorna foram menos marcantes, dado o padrão cíclico circanual do ciclo testicular anual desta ave, já também caracterizado, e comparado a anatídeos sul-americanos (BREUCKER et al., 1989; SIMÕES et al., 2003). Portanto, características ultraestruturais verificadas na histopologia geral do ducto deferente e em nível do citoplasma de células colunares (P), nestas fases intermediárias, são discutidas em seqüência.

Relativamente, à presença de grande número de vesículas revestidas, com conteúdo interno heterogêneo, e aparentemente destacadas do citoplasma apical de células principais vaso-deferenciais de codorna, através da borda periluminal de microvilos, para o interior da luz tubular, talvez se caracterize um processo de exocitose

ativa, bem típico na fase invernal do ciclo testicular anual e da via espermática extratesticular. Embora não se fizesse, ainda, pesquisa de reatividades enzimáticas no epitélio vaso-deferencial de codorna, a presença destas vesículas, com diferentes configurações morfológicas, presentes no interior da luz do ducto deferente é sugestiva de que, de alguma forma, elas influenciariam o micro-ambiente intraluminal vaso-deferencial. Isto com base comparativa em estudos de FORNES et al. (1995a, b), discutidos em seqüência.

Logo, base comparativa em achados similares de vesículas intraluminais, com pelo menos dois tipos morfo-histoenzimáticos bem definidos no epidídimo de rato (FORNES et al., 1995a, b), permite-se pressupor que as vesículas, originando-se do citoplasma apical das células epiteliais da via espermática extratesticular carregam macromoléculas específicas, as enzimas β -galactosidase e N-acetil- β -D-glicosaminidase. As macromoléculas constituídas de enzimas, e talvez também de glicoproteínas, segundo HERMO et al. (1994), participam na composição do fluido epididimal, ou vaso-deferencial no caso da codorna. Assim, formariam um micro-ambiente intraluminal favorável para a manutenção e maturação dos espermatozóides (FORNES et al., 1995a, b).

A presença de grandes corpos multivesiculares, com conteúdo eletrilucido, no citoplasma das células colunares no inverno e no verão, guardam semelhança com formações similares observadas no citoplasma apical de células principais (claras) presentes no epitélio epididimário distal de camundongo isogênico, inclusive quanto às inter-relações entre os corpos multivesiculares e organelas como o RE e mitocôndrias (ORSI et al., 1994). Tais formações parecem estar relacionadas como a presença de endocitose adsorptiva e de fase fluida, conforme as observações dos AA. citados, em nível epididimal-eferencial, de acordo com ORSI et al. (1994; 1998), e também com observações e interpretações similares em células epiteliais vaso-deferenciais de gerbilo (ORSI et al., 1999).

Os aspectos ultraestruturais caracterizados no parágrafo anterior, em células P vaso-deferenciais de codorna, durante a retomada do processo espermatocitogenético, isto é, fase de recrudescência invernal, implicariam numa reativação natural da cinética dos ductos vetores do testículo, quanto ao metabolismo e à capacitação ulterior dos espermatozóides jovens, recém-gerados. Por outro lado, há uma relativa diminuição de atividade gonadal, e em decorrência da cinética da via extratesticular, com o ducto

deferente incluso, na etapa relativamente regressiva de verão, precedendo a quiescência outonal.

Logo, face ao que se comentou, parece haver uma relativa similaridade entre o que se notou no epitélio vaso-deferencial de codorna, no inverno e no verão, em nível organelar citoplasmático nas células principais, acarretando exacerbação de algumas funções celulares que implicariam mecanismos de transportes ativos de membranas, como a ocorrência de endocitose e digestão lisossômica, autofágica e heterofágica, principalmente no período regressivo de verão. Há também a manutenção ativa do “aparelho lisossômico” citoplasmático, conforme análise de ROBAIRE & HERMO (1988), associando-o aos processos de digestão celular na etapa recrudescente, e noutros períodos do ciclo, em função do papel digestivo lisosomal, vide ALBERTS et al. (2004) como referência geral, e como decorrência das interações lisosomais com o complexo de Golgi (HERMO et al., 1994).

Outrossim, se mantém ativo o “aparelho secretor de proteínas e glicoproteínas” no citoplasma das células P, com implicações, por exemplo, no transporte de glicosidases, sendo todas as moléculas exocitadas, associadas ao micro-ambiente luminal da via extratesticular de mamíferos, e ao metabolismo e capacitação intraluminal de espermatozóides ao longo da via (NICANDER & MALMQUIST, 1977; FLICKINGER, 1983, 1985; COOPER et al., 1987; ROBAIRE & HERMO, 1988; HERMO & MORALES, 1988; HERMO et al., 1988, 1992, 1994, ORSI et al., 1999; SCHIMMING et al., 2001; dentre outros autores).

5.3 Sobre a estrutura tridimensional do ducto deferente da codorna

A disposição ondulada, em zigue-zague, do ducto deferente de codorna observada na maioria das estações do ano, exceto no outono onde o ducto apareceu retilíneo, é similar a observação do comportamento morfológico deste mesmo ducto observado no pombo doméstico (STEFANINI et al., 1996). A retificação do trajeto do ducto deferente tem relação com a breve parada do processo espermatogenético na codorna italiana durante um curto período outonal (ORSI et al., 2004), sendo este aspecto de retificação tubular já sido discutido anteriormente nas observações de microscopias de luz e de transmissão.

A descrição tridimensional de formação pelo ducto deferente de codorna de ilhas isoladas formadas por segmentos tubulares transversais que se superpõem, enrolando-se entre si, através da disposição fortemente ondulada deste conduto, exceto no outono, não foi encontrada, de modo similar, na literatura sobre os ductos extratesticulares de aves. Por outro lado, a disposição ondulante do ducto deferente de aves, nas etapas ativas do ciclo reprodutivo, aparentemente circanual nesta espécie (ORSI et al., 2004), poderia encontrar respaldo teórico em informações anteriores de TINGARI (1971; 1972).

Para TINGARI (1971; 1972), os ductos epididimário e deferente de aves poderiam ser considerados segmentos de uma mesma unidade morfofisiológica distinta, com indicação de atuar o ducto deferente como o corpo e cauda do epidídimo de mamíferos, quando comparado morfofuncionalmente com aquele dos mamíferos (vide ROBAIRE & HERMO, 1988). Esta tese de TINGARI (1971; 1972), foi esposada por STEFANINI et al. (1999b), quando procederam as interpretações morfofuncionais sobre o ducto deferente de pombo, aparentemente em período ativo da cinética testicular.

Em termos comparativos com a MEV de roedor (ORSI et al., 2000b), no ducto deferente outonal de codorna, possivelmente como decorrência do seu trajeto retilíneo, observaram-se pregas longitudinais no epitélio tubular, cujas elevações e reentrâncias possibilitam visualizar a luz tubular com forma estrelada. Pregas similares foram descritas no ducto deferente do gerbilo a partir do segmento médio deste conduto (ORSI et al., 2000b), com possível significado de reserva de capacitância em termos de expansão luminal quando o ducto estoca e conduz fluido seminal e espermatozóides. Esta é a situação que se observou no ducto deferente das outras estações do ano, especialmente na primavera conforme nossos achados em MEV (vide Figura 34).

Para apoiar a hipótese anterior há que se considerar que para o ducto deferente de mamíferos foram propostas, ao que se conhece, pelo menos três funções básicas quais sejam: emissão; estocagem e ejaculação dos espermatozóides. Estas funções são diretamente vinculadas com a estrutura morfológica do ducto em termos de construção mural, havendo participação ativa do epitélio de revestimento (túnica mucosa) e da túnica muscular lisa (VANWELKENHUYZEN, 1966).

A emissão compreende o transporte contínuo dos espermatozóides desde a cauda do epidídimo até a porção distal (ampular) do ducto deferente. Quanto à ejaculação do sêmen esta envolve um processo dinâmico de forte contração dos componentes musculares lisos do estroma periepididimário (cauda epididimal) e da túnica muscular vaso-deferencial desencadeando uma forte peristalse para esvaziamento da via espermática (VANWELKENHUYZEN, 1966; PABST, 1969; HIB et al., 1982; DI DIO & LEÃO, 2002). Talvez estas características morfofuncionais pudessem ocorrer também em aves, havendo breve suporte teórico nas publicações de STEFANINI et al. (1996; 1999a; 1999), porém necessitando comprovação por meio de novos estudos.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

- Anatomicamente o ducto deferente de codorna da variedade italiana é um órgão tubular, ondulado que forma alças estreitas do tipo em “zigue-zague”, exceto no outono, quando se apresenta retilíneo em todos os seus segmentos, ou seja, nos segmentos proximal, médio e distal.

- As secções histológicas transversais do ducto deferente de codorna mostram-no organizado como túbulos irregulares e paralelos entre si, em consequência das ondulações estreitas que o ducto faz sobre si mesmo, aparecendo grande quantidade de espermatozóides e fluido seminal estocado na luz tubular nas preparações de inverno, primavera e verão, exceto no outono.

- No outono, a fase quiescente do ciclo testicular anual de codorna, as secções histológicas transversais do ducto deferente aparecem não onduladas; arredondadas, sendo a parede tubular relativamente mais espessa e organizada, tendo luz estrelada em consequência da presença de pregas longitudinais na parede tubular, e ausência de material no interior da luz.

- Todos os segmentos tubulares vaso-deferenciais têm estrutura mural similar nas diferentes estações do ano, sendo formada por mucosa revestida por epitélio colunar pseudoestratificado, lâmina própria com elementos fibrosos do tecido conjuntivo, túnica muscular lisa e adventícia bem nítidas nas preparações de outono, sendo que às vezes estas últimas podem se imbricar entre si caracterizando uma camada mio-estromal.

- Observações qualitativas sobre as espessuras relativas do epitélio de revestimento e da camada muscular lisa vaso-deferencial variam com os segmentos do ducto considerados e com as estações do ano, aparecendo a muscular mais espessa no segmento distal que está relacionado com o processo de ejaculação do sêmen.

- Análises histomorfométricas realizadas no segmento médio vaso-deferencial da codorna sobre os parâmetros diâmetros tubular e luminal médios, mostram valores altos

com pequenas diferenças numéricas, não significativas entre si, nas estações de primavera, verão e inverno, indicando relativa constância do ritmo do ciclo testicular anual. No outono, ocorreu diminuição significativa nos valores numéricos dos diâmetros tubular e luminal médios do ducto deferente, em decorrência da quiescência do ciclo anual.

- Ultraestruturalmente, o epitélio de revestimento do ducto deferente da codorna da variedade italiana é formado por células principais (colunares) claras e escuras quanto a eletrondensidade núcleo-citoplasmática; células basais; e células delgadas escuras (ricas em mitocôndrias) sendo estas mais observadas no outono.

- O complexo organelar do citoplasma das células principais, aparentemente com maior destaque nas células claras, exceto no outono, mostram características de ocorrência de papéis funcionais ativos tais como: endocitose de fase fluida (pinocitose) e adsorptiva (fagocitose), exocitose, secreção protéica (micro-merócrina) e absorção a partir do lúmen tubular.

- As células principais do epitélio vaso-deferencial do outono mostram características degenerativas como a presença de extensas áreas pálidas apicais, perda marcante de microvilos, eletronluscência do citoplasma supranuclear, invasão da luz tubular pelo citoplasma apical vacuolizado e eletronluscência e presença de debridamentos celulares eletrondensos presentes na luz tubular, sendo todas estas características da fase de quiescência do ciclo anual.

- As características ultraestruturais do citoplasma das células principais observadas no verão, a fase regressiva do ciclo anual, de modo muito sutil, parecem preceder as marcantes modificações morfológicas degenerativas observadas no outono, sendo que aparentemente ocorre uma reorganização do complexo organelar citoplasmático destas células no inverno que constitui o período recrudescente do ciclo anual, precedendo a fase intensamente proliferativa da primavera.

- A interpretação citofisiológica sobre as células delgadas escuras é difícil de se fazer com base em suas características ultraestruturais, havendo propostas de corresponderem possivelmente às células ricas em mitocôndrias, ou poderiam ser

células de uma linhagem celular escura do epitélio vaso-deferencial ou seriam células em processo apoptótico e ainda poderiam, talvez, pertencer a um ciclo celular holócrino.

- As observações de MEV no ducto deferente de codorna na primavera e no outono corroboram com as verificações sobre a variabilidade morfológica deste conduto, nestas estações marcantes do ano, em termos das fases do ciclo testicular anual e de seus reflexos nos ductos excretores do testículo.

- Com base nas observações morfológicas feitas em todas as dimensões de análises, permite-se concluir ainda que o ciclo reprodutivo anual da codorna doméstica da variedade italiana obedece a um ritmo circanual.

Referências Bibliográficas

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, J.D. *Biologia molecular da célula*. Porto Alegre: Artes Médicas, 20004.

AIRE, T.A. The ductuli efferentes of the epididymal region of birds. *J. Anat.*, London, v.130, n.4, p.707-723, 1980.

AIRE, T.A. Aspects of the functional morphology of the ductus epididymidis in domestic anseriform and galliform birds. *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.29, p.179-191, 2000.

AIRE, T.A. Cyclical reproductive changes in the non-ciliated epithelia of the epididymis of birds. *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.31, p.113-118, 2002.

AIRE, T.A.; AYENI, J.S.; OLOWO-OKORUN, M.O. The structure of the excurrent ducts of the testis of the guinea-fowl (*Numida meleagris*). *J. Anat.*, London, v.129, p.633-643, 1979.

ARTONI, S.M.B. *Considerações sobre a morfologia e histofisiologia do testículo da codorna (Coturnix coturnix japonica)*. 1993. 73f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ARTONI, S.M.B.; ORSI, A.M.; CARVALHO, T.L.L.; LOPES, R.A. The annual testicular cycle of the domestic quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.26, p.337-339, 1997.

BALDAN, C.; ORSI, A.M.; VIOTTO, M.J.S.; ARTONI, S.M.B.; STEFANINI, M.A. Morphology of the vas deferens of the budgerigar (*Melopsitacus undulatus*). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, Siena, v.35, n.1, p.77-82, 2003.

BAUMGARTEN, H.G.; HOLSTEIN, A.F.; ROSENGREN, E. Arrangement, ultrastructure, and adrenergic innervation of smooth musculature of the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens of man. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, Berlin, v.120, p.37-79, 1971.

BENNETT, G.; LEBLOND, C.P.; HADDAD, A. Migration of glycoprotein from the Golgi apparatus to the surface of various cell types as shown by autoradiography after labelled fucose injection into rats. *J. Cell. Biol.*, New York, v.60, p.258-284, 1974.

BREUCKER, H. Seasonal spermatogenesis in the mut swan (*Cygnus olor*). *Anat. Embryol. Cell Biol.*, New York, v.72, p.1-91, 1982.

BREUCKER, H.; SCHAFER, E.; BUSTOS-OBREGON, E. Spermatogenesis of *Lophonetta specularioides* (Anatidae, Aves) in the high plateau of the southern Andes: a light and electron microscopic study. *Micr. Electr. Biol. Cel.*, Mendoza, v.13, n.2, p.167-182, 1989.

- BRIZ, M.; BONET, S.; FRADERA, A. A morphologic study of the ductus epididymis of *Sus scrofa*. *J. Morphol.*, Philadelphia, v.215, p.183-193, 1993.
- BUDRAS, K.D.; MEIER, U. The epididymis and its development in ratite birds (*Ostrich, Emu, Rhea*). *Anat. Embryol.*, Berlin, v.162, p.291-299, 1981.
- CHEMES, H.E.; FAWCETT, D.W.; DYM, M. Unusual features of the nuclear envelope in human spermatogenetic cells. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.192, p.493-512, 1978.
- CLERMONT, Y.; FLANNERY, J. Mitotic activity in the epithelium of the epididymis in young and adult rats. *Biol. Reprod.*, New York, v.3, p.283-292, 1970.
- CLULOW, J.; JONES, R.C. Studies of fluid and spermatozoa transport in the extratesticular genital ducts of the Japanese quail. *J. Anat.*, London, v.157, p.1-11, 1988.
- COOPER, T.G. ; HAMILTON, D.W. Phagocytosis of spermatozoa in the terminal region and gland of the vas deferens of the rat. *Am. J. Anat.*, Philadelphia, v.150, p.247-268, 1977.
- COOPER, T.G.; YOUNG, C.H.; BERGMANN, M. Protein transport to the epididymal lumen. *Cell Tiss. Res.*, Berlin, v.248, p.527-530, 1987.
- DE REVIERS, M. Sperm transport and survival in male birds. In: *The biology of spermatozoa*. Basel: Karger, 1975.
- DI DIO, L.J.A.; LEÃO, P.P. Sistema genital masculino In: DI DIO, L.J.A. *Tratado de anatomia sistêmica e aplicada*. Atheneu, São Paulo, 2002, v. 2, p. 621-652.
- EVANS, M.J.; WINKLE, L.S.V.; FANUCCHI, M.V.; PLOPPER, C.G. Cellular and molecular characteristics of basal cells in airway epithelium. *Exp. Lung Res.*, London, v.27, p.401-415, 2001.
- FARNER, D.S.; FOLLET, B.K. Reproductive periodicity in birds. In: BARRINGTON, E.J.W. (ed.). *Hormones and Evolution*, Academic Press, New York, 1979, p. 829-872.
- FARNER, D.S.; GWINNER, E. Photoperiodicity, circannual and reproductive cycles. In: EPPLE, A.; STETSON, M. H. (eds.). *Avian Endocrinology*, Academic Press, New York, 1980, p. 331-366.
- FLICKINGER, C.J. Synthesis and secretion of glycoprotein by the epididymal epithelium. *J. Androl.*, Philadelphia, v.4, p.57-161, 1983.
- FLICKINGER, C.J. Autoradiographic analysis of the secretory pathway for glycoprotein in principal cells of the mouse epididymis exposed to H³ fucose. *Biol. Reprod.*, New York, v.32, p.377-389, 1985.
- FOLLET, B.K.; SHARP, P.J. Circadian rhythmicity in photoperiodically induced gonadotrophin release and gonadal growth in the quail. *Nature*, London, v.223, p.968-971, 1969.

FOLLET, B.K. Birds. In: LAMMING, G.E. (ed.), *Marshall's Physiology and Reproduction*. Churchill Livingstone, London, 1984, v.1, p.283-350.

FORNES, M.W.; BARBIERI, M.A.; CAVICCHIA, J.C. Morphological and enzymatic study of membrane-bound vesicles from the lumen of the rat epididymis. *Andrologia*, Berlin, v.26, p.1-5, 1995a.

FORNES, M.W.; SOSA, M.A.; BERTINI, F.; BURGOS, M.H. Vesicles in rat epididymal fluid: existence of two populations differing in ultrastructure and enzymatic composition. *Andrologia*, Berlin, v.27, p.233-237, 1995b.

FRAISSINET, M.; VARRIALE, R.; PIERANTONI, R. *et al.* Annual testicular activity in the grey partridge (*Perdix perdix* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.68, p.28-32, 1987.

FRANCHIMONT, P.; CHARI, D.; HAZEE-HAGELSTEIN, M.T.; DEBRUCHE, M.L.; DURAISWAMI, S. Evidence for the existence of inhibin. In: *The testis in normal and infertile men*. New York: Raven Press, 1977, p.253-259.

FRITH, H.J.; CARPENTER, S.M.; BRAITHWAITE, L.W. Sexual cycles of pigeons in arid and semiarid Australia. *Aust. J. Zool.*, East Melbourne, v.24, p.331-351, 1976.

FUENZALIDA, H.; LEYTON, V.; VALENCIA, J. *et al.* Morfología del testículo de *Pygoscelis papua* (Foster) durante el periodo de actividad sexual. *Arch. Anat. Embriol.*, Madrid, v.20, p.79-91, 1989.

GLAUERT, A.M. *Practical methods in electron microscopy: fixation, dehydration and embedding of biological specimens*. Amsterdam: North-Holland, 1991, 207p.

GRAY, J.C. The anatomy of the male genital ducts in the fowl. *J. Morphol.*, Philadelphia, v.60, p.393-405, 1937.

GUYOMARC'H, C.; GUYOMARC'H, J.C. Sexual development and free-running period in quail kept in constant darkness. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.86, p.103-110, 1992.

HAMILTON, D.W. Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferentes, ductus epididymidis, and ductus deferens in the rat. In: HAMILTON, D.W.; GREEP, R.O. (eds.). *Handbook of Physiology*, American Physiological Society, Washington, D.C., 1975, v.5, p.259-301.

HAMILTON, D.W.; COOPER, T.G. Gross histological variations along the length of the rat vas deferens. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.190, p.795-810, 1978.

HAMNER, W.M. Photoperiod control of the annual testicular cycle in the house finch, *Carpodacus mexicanus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.7, p.224-233, 1966.

HERMO, L.; MORALES, C. Endocytosis in nonciliated epithelial cells of the ductuli efferentes of the rat. *Am. J. Anat.*, Philadelphia, v.171, p.59-74, 1984.

HERMO, L.; MELO, V.R. Endocytotic apparatus and transcytosis in epithelial cells of the vas deferens in the rat. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.217, p.153-163, 1987.

HERMO, L.; SPIER, N.; NADLER, N.J. Role of the apical tubules in endocytosis in non ciliated cells of the ductuli efferentes in the rat. *Am. J. Anat.*, Philadelphia, v.182, p.107-119, 1988.

HERMO, L.; BARIN, K.; ROBAIRE, B. Structural differentiation of the epithelial cells of the testicular excurrent ducts system of rats, during the post-natal development. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.233, p.205-228, 1992.

HERMO, L.; OKO, R.; MORALES, C. Secretion and endocytosis in the male reproductive tract: a role in sperm maturation. *Int. Rev. Cytol.*, New York, v.154, p.105-189, 1994.

HESS, R.A. ; THURSTON, R.J.; BIELLIER, H.V. Morphology of the epididymal region and ductus deferens of the turkey (*Meleagris gallopavo*). *J. Anat.*, London, v.122, p.241-252, 1976.

HIB, J.; PONZIO, R.; VILAR, O. Contractility of the rat cauda epididymidis and vas deferens during seminal emission. *J. Reprod. Fert.*, Cambridge, v.66, n.1, p.47-50, 1982.

HOLSHBACH, C.; COOPER, T.G. A possible extratubular origin of epididymal basal cells in mice. *Reproduction*, Cambridge, v. 123, p. 517-525, 2002.

HOSHIBA H.; SINOWATZ, F. Immunohistochemical localization of spermadhesin AWN-1 in the equine male genital tract. *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.27, p.351-353, 1998.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, New York, v.27, p.137-138, 1965.

KEMP, A.C. Environmental factors affecting the onset of breeding in some Southern African hombills. *Fertil. Steril.* (suppl.), Birmingham, v.19, p.319-331, 1973.

KIM, S.I.; YANG, H.H. Seasonal changes of testicular weight, sperm production, serum testosterone, and *in vitro* testosterone release in Korean ring-necked pheasants (*Phasianus colchicus karpowi*). *J. Vet. Med. Sci.*, Tokyo, v.63, n.2, p.151-156, 2001.

KING, A.S. Sistema urogenital das aves. In: Getty, R. (ed) *Sisson e Grossman – Anatomia dos animais domésticos*. 5 ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981, v.2.

KRUEGER, K.K.; OWEN, J.A.; KRUEGER, C.E.; FERGUSON, T.M. Effect of feed or light restriction during the growing and breeding cycles in the reproductive performances of broad breasted white turkey males. *Poultry Sci.*, College Station, v.56, p.1566-1574, 1977.

LAKE, P.E. The male reproductive tract of the fowl. *J. Anat.*, London, v.91, p.116-129, 1957.

- LAKE, P.E. Male genital organs. In: KING, A.S. e MCLELLAND, J. *Form and function in birds*. London: Academic Press, v.2, 1981.
- MANOEL, H.L.; ARTONI, S.M.B.; ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; ARAUJO, M.L. Aspectos morfométricos do ducto deferente da codorna, *Coturnix coturnix japonica*, no decorrer do ano. *Biotemas*, Florianópolis, v.11, n.2, p.97-104, 1998.
- MARTAN, J.; RISLEY, P. Holocrine secretory cells of the rat epididymis. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.146, p.173-189, 1963.
- MARTAN, J.; RISLEY, P.; HRUBAN, Z. Holocrine secretory cells of the human epididymis. *Fertil. Steril.*, Birmingham, v.15, p.180-187, 1964.
- MARTINEZ-GARCIA, F.; REGADERA, J.; COBO, P. *et al.* The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia*, Berlin, v.27, p.195-206, 1995.
- MORRISON, D.F. *Multivariate statistical methods*. Tokio: Kogakusha, 1976.
- NAKAI, M.; HASHIMOTO, Y.; KITAGAWA, H. *et al.* Histological study on seminal plasma absorption and spermiophagy in the epididymal region of domestic fowl. *Poultry Sci.*, College Station, v.68, p.582-589, 1989.
- NICANDER, L; MALMQVIST, M. Ultrastructural observations suggesting merocrine secretion in the initial segment of the mammalian epididymis. *Cell Tiss. Res.*, Berlin, v.184, p.487-490, 1977.
- NISTAL, M.; PANIAGUA, R.; ESPONDA, P. Development of the endoplasmic reticulum during human spermtogenesis. *Acta Anat.*, Basel, v.108, p.238-249, 1980.
- ORSI, A.M.; VIOTTO, M.J.S.; MARTINS, M.R.F.B. Considerações sobre a angioarquitetura da junção esofagogastrica da cobaia (*Cavia porcellus*, L.). *Ciência e Cultura*, São Paulo, v.42, p.721-724, 1990.
- ORSI, A.M.; VICENTINI, C.A.; VIOTTO, M.J.S. Características ultraestruturais de espermatogônias e espermatócitos primários do morcego hematófago (*Desmodus rotundus*, G.). *Naturalia*, São Paulo, v.18, p.15-26, 1993.
- ORSI, A.M.; VICENTINI, C.A.; VICENTINI, I.B.F.; STEFANINI, M.A.; ORSI, A.C. Ultrastructure of epididymal epithelium of the black isogenic mouse. *Rev. Chil. Anat.*, Santiago, v.14, p.189-196, 1994.
- ORSI, A.M.; MATHEUS, S.M.M.; GREGÓRIO, E.A.; BEU, C.C.L. Morphological investigations of the surface epithelium of ductuli efferentes of black isogenic mice (*Mus musculus*). *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.27, p.215-218, 1998.
- ORSI, A.M.; MATHEUS, S.M.M.; VICENTINI, C.A.; RIBEIRO, A.A.C.M.; MIGLINO, M.A. Fine structure of the lining epithelium of the ductus deferens in gerbil: a segmental study. *Braz. J. Morphol. Sci.*, São Paulo, v.16, p.189-195, 1999.

ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; BEU, C.C.L.; DUARTE, H.E.. Algumas observações histoquímicas no ducto deferente do gerbilo (*Meriones unguiculatus*). *Biotemas*, Florianópolis, v. 13, p. 89-101, 2000a.

ORSI, A.M.; MATHEUS, S.M.M.; FRANCIA-FARJE, L.A.D.; ORSI, D.C.; ARTONI, S.M.B. Estudio por microscopia electronica de barrido de la estructura del conduto deferente del gerbo (*Meriones unguiculatus*). *Acta Biol. Venez.*, Caracas, v.20, n.4, p.29-33, 2000b.

ORSI, A.M.; CRUZ, C.; VIEGAS, K.A.S.; MACHADO, M.R.F.; DOMENICONI, R.F.; SIMÕES, K.; ARTONI, S.M.B. O ducto deferente de codorna: estrutura e possíveis variações morfológicas sazonais. *Anais: XX Congresso Brasileiro de Anatomia*. Maceió, AL, 06 a 11-10-2002, v.1, p.159.

ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; VIEGAS, K.A.S.; SIMÕES, K.; ARTONI, S.M.B. Aspectos morfológicos do ciclo testicular anual de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana. *Braz. J. Med. Vet. Anim. Sci.*, São Paulo, In press, 2004.

PABST, R. Untersuchungen über bau und funktion des menschlichen Samenleiters. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.*, v.129, p.154-176, 1969.

PALADE, G.E. Structure and function at the cell level. *J. Am. Med. Assoc.*, Chicago, v.198, p.815-825, 1966.

PUDNEY, J.; FAWCETT, D.W. Seasonal changes in fine structure of the ductuli efferentes of the ground squirrel, *Clitellus lateralis* (Say). *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.208, p.383-389, 1984.

REYNOLDS, E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, New York, v.17, p.208-212, 1963.

ROBAIRE, B.; HERMO, L. Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. In: KONOBIL, E. Y.; J.D. NEILL (eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, v.1, p.999-1080, 1988.

SAMOUR, J.H.; MOORE, H.D.M.; BAILEY, I.T.; WATSON, P.F. Annual testicular cycle in captive budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *J. Zool. Lond.*, London, v.212, p.465-473, 1987.

SCHIMMING, B.; VICENTINI, C.A.; ORSI, A.M. Scanning electron microscopic study of the epididymis in the dog (*Canis familiaris*, L.). *Rev. Chil. Anat.*, Santiago, v.19, p.155-160, 2001.

SHARP, P.J.; STERLING, R.J. Photoperiodic requirement for the dissipation of scotorefractoriness in Japanese quail. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.58, p.169-173, 1985.

SILVERIN, B. Reproductive organs and breeding behaviour of the male Pied Flycatcher *Ficedulla hypoleuca* (Pallas). *Ornis Scand.*, v.6, p.15-26, 1976.

SIMÕES, K.; ORSI, A.M.; ARTONI, S.M.B.; CRUZ, C. *Características morfológicas da estrutura testicular, variabilidade dos níveis plasmáticos de testosterona e ciclo espermatogênético no pato doméstico, Anas platyrrinchos*. Monografia apresentada à Universidade Federal de São Paulo (Sociedade Brasileira de Anatomia). Prêmio Renato Locchi de Ciências Morfológicas, Maceió, In: XX Congresso Brasileiro de Anatomia, Outubro de 2003, 20f.

SETCHELL, B.P.; MADDOCKS, S.; BROOKS, D.E., Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. In: KONOBIL, E. Y., J.D. NEILL (eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, 2. ed., v.1, p.1063-1175, 1994.

STEFANINI, M.A.; VICENTINI, C.A.; ORSI, A.M.; VICENTINI, I.B.F.; ARTONI, S.M.B. Características morfológicas do ducto deferente do pombo (*Columba livia*). *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v.56, p.605-612, 1996.

STEFANINI, M.A. *Estrutura da via espermática extratesticular do pombo doméstico (Columba livia)*. 1997. 66f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; ARTONI, S.M.B.; VICENTINI, C.A.; VICENTINI, I.B.F. Morphological study of the rete testis of the pigeon. *Braz. J. Morphol. Sci.*, São Paulo, v.16, n.2, jul-dez, 1999.

STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; GREGÓRIO, E.A.; VIOTTO, M.J.S.; ARTONI, S.M.B. Morphologic study of the efferent ductules of the pigeon (*Columba livia*). *J. Morphol.*, Philadelphia, v.242, p.247-255, 1999a.

STEFANINI, M.A.; MIGLINO, M.A.; DIDIO, L.J.A.; ORSI, A.M. Morphological study of the vas deferens of the pigeon (*Columba livia*). *Ital. J. Anat. Embryol.*, Firenze, v.104, p.33-139, 1999b.

STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; BEU, C.C.L.; VICENTINI, I.B.F.; MICHELIM, S.C. Estudo histoquímico da região epididimária do pombo (*Columba livia*). *Acta Biol. Leopold.*, São Leopoldo, v.21, p.119-126, 1999c.

TINGARI, M.D. On the structure of the epididymal region and ductus deferens of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *J. Anat.*, London, v.109, p.423-435, 1971.

TINGARI, M.D. The fine structure of the epithelial lining of the excurrent duct system of the testis of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Qt. J. Exp. Physiol.*, Cambridge, v.57, p.271-295, 1972.

VANWELKENHUYZEN, P. Le motilité du canal deferent. *Acta Urol. Belg.*, Bruxelles, v.34, p.385-466, 1966.

VILAR, P.; PAULSEN, C.A.; MOORE, D.J. Electron microscopy of the seminiferous tubules. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York: Raven Press, 1970, v.1, p. 63-74.

VIOTTO, M.J.S.; ORSI, A.M.; GREGORIO, E.A. Ultrastructural characteristics of the epididymal epithelium of the cat (*Felis domestica*, L.). *Braz. J. Morphol. Sci.*, São Paulo, v.13, p.51-58, 1996.

VON MÖLLENDORFF, W. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Berlin: Springer, 1930, Bd. 7, Teil I-II.

WINGFIELD, J.C. Control of testicular cycles in the song sparrow, *Melospiza melodia melodia*: interaction of photoperiod and an endogenous program?. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.92, p.388-401, 1993.

WINGFIELD, J.C.; WHALING, C.S.; MARLER, P. Communication in vertebrate aggression and reproduction: The role of hormones: male-male interactions in birds. In: KONOBIL, E. Y.; NEILL, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, 2. ed., v.1, p.310-312, 1994.

Figuras 8 a 11: Secções transversais do segmento médio do ducto deferente (DD) de codorna italiana no outono (8: 400x, barra: 1,25 μ m, PAS/H), inverno (9: 1000x, barra: 0,5 μ m, HE), primavera (10: 400x, barra: 1,25 μ m, tricrômico de Masson-Goldner), e verão (11: 400x, barra: 1,25 μ m, HE), sendo indicados os componentes da parede do DD: epitélio (E) da mucosa com células basais (b), principais (p) e delgadas (e = basófilas, “escuras”), glicocálice (setas menores), microvilos (seta); lâmina própria (LP em 8, 9; L em 10, 11) e eixo conjuntivo de prega longitudinal da mucosa (estrela em 8), muscular lisa (M) e espermatozóides (z) na luz tubular em 11.

4.2 Ultraestrutura do ducto deferente de codorna

No epitélio de revestimento do ducto deferente de codorna da variedade italiana, ultraestruturalmente, se confirma a presença predominante de células colunares, ou principais, dotadas de pequenos microvilos apicais; de células basais; de células escuras (Figura 12), e de células delgadas escuras, ricas em mitocôndrias, que são mais observadas no epitélio vaso-deferencial de outono (Figura 13). A ultraestrutura das células colunares é bem típica na primavera (Figura 14), durante a fase intensamente proliferativa do ciclo testicular anual. Porém, as células colunares mostram características subcelulares marcadamente diferentes no outono, a etapa quiescente do processo espermatogénico (ORSI et al., 2004), bem como se observaram pequenas variações morfológicas, com peculiaridades similares nas estações mais extremadas do ano, ou seja, no inverno e no verão.

As células delgadas escuras têm a maior eletrondensidade núcleo-citoplasmática, dentre os outros tipos celulares descritos. O núcleo de cada célula delgada aparece irregularmente alongado; com cromatina escura, mas granular, e, com grandes aglomerados de heterocromatina aderentes às membrana nuclear, ou difusos no nucleoplasma. O citoplasma apresenta vesículas de diferentes dimensões e grande número de mitocôndrias, localizadas principalmente no citoplasma apical, em cuja borda luminal se visualizam cinetocílios (Figura 13). Esta célula escura é um tipo celular pouco observado nas estações do ano, especialmente no período ativo de primavera. Contudo, com grande frequência estas células aparecem na estrutura do epitélio vaso-deferencial de codorna durante o outono.

As células principais do epitélio vaso-deferencial de codorna são sempre observadas em maior número, relativamente aos demais tipos celulares do epitélio tubular deferente, nos três segmentos do ducto deferente e nas quatro estações do ano. A descrição de suas características ultraestruturais, a seguir, é feita como elas predominantemente aparecem durante a fase mais ativa do ciclo testicular anual, isto é, na primavera. O citoplasma das células principais aparece mais eletronalucente, ou mais eletrondenso, e ambos os tipos se mostram alternados entre si e entre os outros tipos celulares do epitélio pseudoestratificado, como as células escuras e ricas em mitocôndrias (Figuras 12 e 13). Células basais se posicionam adbasalmente junto ao citoplasma infranuclear de uma ou de duas células principais adjacentes (Figura 12).

Ambos os tipos de células principais do ducto deferente apresentam, de modo geral, as organelas citoplasmáticas usuais, notando-se grande número de mitocôndrias distribuídas em todos os níveis do citoplasma (Figuras 14 e 15). No citoplasma de células principais são vistas longas cisternas lamelares e cisternas vesiculares do retículo endoplasmático (RE), predominantemente granular, estando em íntima relação com mitocôndrias arredondadas e alongadas (Figuras 15 e 16). As cisternas lamelares do RE são predominantemente observadas no citoplasma basal (Figuras 12, 14 e 15). As lamelas e vesículas do RE granular se estendem ao longo do citoplasma lateral ou perinuclear (Figuras 15 a 17); atingem o citoplasma apical (Figuras 12 e 17); se inter-relacionam intimamente, via pontos de adesão, com o envoltório nuclear (Figura 16), e têm também relações de proximidade com as membranas plasmáticas laterais, delimitantes das células epiteliais adjacentes (Figuras 12 e 15). Neste último contato, via membranas plasmáticas laterais de células adjacentes, são observadas: cavéolas e vesículas, ocorrendo em níveis plasmalemal ou justaplasmalemal (Figura 15).

No citoplasma perinuclear das células principais, especialmente nas eletrólucidas, marcadamente no material vaso-deferencial de primavera, a disposição do abundante RE, predominantemente rugoso, e suas inter-relações submicroscópicas são notoriamente complexas (Figuras 16 e 17). Algumas cisternas lamelares longas do RE correm paralelamente e muito próximas do envoltório nuclear, ao qual contatam via pontos de adesão intermembranas. Outras cisternas vesiculares do RE misto, ou seja, granular-liso segundo (NISTAL et al., 1980), são observadas e, se avizinham de formações vesiculares, ou seja, o citoplasma inter-reticular contém abundante quantidade de vesículas, ribossomos livres e polisomas. As formações vesiculares observadas são vesículas de superfície plana; vesículas revestidas menores, densas e livres, ou agregadas em corpos multivesiculares, e vesículas muito eletrondensas, maiores, livres ou envoltas por endomembrana (Figura 16).

O complexo de Golgi, nas células principais, tem forma circunferencial e apresenta os dictiosomas superpostos mostrando vesículas claras (talvez pré-lisosômicas), em suas extremidades lamelares e vesículas pequenas, mais eletrondensas e revestidas, localizadas principalmente na face cis-Golgi (Figura 17). Nos espaços entre os dictiosomas se notam algumas pequenas vesículas revestidas e densas. Nas adjacências do Golgi aparecem alguns corpos multivesiculares, mitocôndrias e formações lamelares e vesiculares do RE, predominantemente granular, e polisomas.

Formações vesiculares com formato e conteúdo variados e corpos eletrondensos, com características de lisosomas, também são vistos (Figura 17).

As células principais claras, algumas vezes não alcançam o ápice luminal do epitélio vaso-deferencial, mostrando-se restritas entre células ciliadas escuras, ou então atingem o ápice luminal. Os seus núcleos apresentam formas entre esferoidal e ovalada; predomínio de eucromatina com flocos pequenos e dispersos de heterocromatina no nucleoplasma ou aderentes ao envelope nuclear e um nucléolo excêntrico bem evidente. Nas células C, claras e escuras, quando seus citoplasmas alcançam o lúmen tubular, a borda celular luminal mostra relativa escassez de microvilos que aparecem, geralmente, delgados e curtos (Figura 18). A forma das células principais escuras tende a ser triangular de base superior, sendo esta forma acompanhada pelo núcleo que pode exibir um recorte profundo no envelope nuclear. O citoplasma mostra-se eletrondenso, tendo predomínio de mitocôndrias, com diferentes formas, e lamelas do RE. Há concentração apical de vesículas pequenas, revestidas e escuras, e de vesículas maiores de superfície lisa e conteúdo eletrondenso, e alguns lisosomas podem ser vistos (Figura 19).

As células basais, no epitélio vaso-deferencial de codorna, têm formas entre ovalada e triangular, possuindo núcleos alongados; irregulares e dispostos paralelamente à lâmina basal ductular, sobre a qual se assentam (Figuras 12 e 20). Cada célula basal aproxima-se, através de estreita faixa de seu citoplasma apical, do citoplasma basal de células principais (Figura 20). A distribuição da cromatina nuclear, na célula basal, é similar à da maioria das células principais, mostrando as células basais recortes não muito grandes, ou profundos, no envelope nuclear, os quais contribuem para a irregularidade da forma nuclear (Figuras 12 e 20). O citoplasma destas células, de regra, é escasso, desprovido de superfície luminal (Figura 12), e dotado de pouca quantidade de organelas subcelulares. No citoplasma de algumas células basais, destaca-se um reduzido complexo de Golgi, em cujas adjacências se vêem vesículas de superfície plana, ou vesículas revestidas (Figura 20).

No decorrer do verão que caracteriza o período regressivo do ciclo testicular anual, os mesmos tipos celulares anteriormente descritos na primavera são visualizados, predominando as células principais claras, entremeadas por células delgadas escuras e ricas em mitocôndrias (Figura 21) e por células principais escuras (Figura 22), em função da diferente eletrondensidade citoplasmática. Junto ao citoplasma basal das células principais podem ser vistas células basais com forma triangular, presença de

poucas organelas citoplasmáticas e núcleo alongado, denteado e preenchido por nucleoplasma predominantemente eucromatínico (Figura 21).

No citoplasma das células principais escuras, em todos os níveis, se observa absoluto predomínio de cisternas lamelares longas do RE predominantemente granular. Entre as lamelas longas que se estendem desde o citoplasma basal (Figura 23) até o citoplasma apical (Figura 22), se observam cisternas lamelares menores, vesículas com diferentes formas, dimensões e conteúdos; mitocôndrias preponderantemente alongadas, polisomas e ribosomas livres e alguns corpos eletrondensos (Figuras 22 e 23). Interdigitações complexas das membranas plasmáticas de células principais adjacentes se fazem nítidas (Figura 23) ocorrendo reforços apicais através de junções íntimas (Figura 22).

No citoplasma das células principais claras, em níveis basal (Figura 24) e apical (Figura 25) ocorre também um predomínio de formações do RE, porém não se observando formações lamelares tão longas quanto aquelas do RE granular das células escuras. Assim sendo, nas células P claras se observam cisternas lamelares curtas coexistindo com cisternas vesiculares do RE, aparentemente misto, ou seja, granular-liso (NISTAL et al., 1980); mitocôndrias e vesículas variadas quanto à forma e dimensões. Formações vesiculares com dupla membrana e conteúdo eletronalucente e também formações vesiculares com características de endosomas são observadas, assim como são notadas também vesículas menores revestidas e de conteúdo eletrondenso (Figura 24). Complexos de Golgi bem definidos não foram visualizados nas células escuras e também nas células claras (Figuras 24 e 22, respectivamente).

As células delgadas escuras caracterizam-se pela elevada eletrondensidade citoplasmática apresentando uma extensa faixa de citoplasma apical preenchida por numerosas mitocôndrias, alguns corpos eletrondensos e grande reticulação-vesiculação citoplasmática, a qual aparentemente decorre do grande desenvolvimento do retículo endoplasmático que aparenta ser predominantemente liso (Figura 26). A borda apical destas células, bem como as bordas apicais das células principais claras e escuras, antes descritas, mostram microvilos apicais. Estes aparentam ser mais abundantes nas células ricas em mitocôndrias (Figuras 21 e 26) do que nas células principais escuras (Figura 22) e claras (Figura 25).

Durante o outono quando se caracteriza o período quiescente do ciclo testicular anual de codorna, se observam modificações marcantes na ultraestrutura do ducto deferente e das células do revestimento do epitélio vaso-deferencial (Figuras 27 a

29). O diâmetro tubular vaso-deferencial sofre forte regressão e com ele também regride o diâmetro luminal (Figura 7 e Figura 27). Assim, no final de março e abril, quando a quiescência testicular é mais acentuada, o lúmen tubular vaso-deferencial de outono fica muito restrito embora sempre patente. Nota-se posição centralizada dos núcleos das células P, que mostram forma irregular, tendendo a quadrangular, e com recortes no envelope nuclear. As membranas plasmáticas laterais se justapõem, interdigitando-se entre si e reforços apicais por junções de membrana são evidentes. Os citoplasmas infranucleares das células P parecem coalescer, neles se notando mitocôndrias; formações do RE e vesículas associadas, tendo características subcelulares mal definidas (Figura 27).

Ainda no decorrer do outono, as modificações morfológicas do epitélio vaso-deferencial, se acentuam. Assim sendo, partes expressivas do citoplasma apical das células P se expandem na luz tubular, mostrando-se como áreas pálidas e desprovidas de organelas citoplasmáticas. Imediatamente subjacente às áreas pálidas apicais, notam-se alguns poucos microvilos remanescentes e alguns vacúolos apicais. O citoplasma supranuclear, marcadamente eletrólucido, mostra formações discretas do RE, poucas mitocôndrias e corpos eletrodensos (Figura 28). Em outras secções do vaso deferente de outono, observam-se características degenerativas do citoplasma apical das células P, claras e escuras. O citoplasma apical das células invade a luz tubular ocluindo-a, através de formações vacuolizadas eletrólucidas, e também foram notados debridamentos celulares eletrondensos (Figura 29).

No inverno, que constitui o período recrudescente na cinética do ciclo testicular anual da codorna (ORSI et al., 2004), dispondo-se entre a fase proliferativa de primavera e a fase quiescente de outono, se observaram algumas alterações típicas na ultraestrutura das células principais. Dentre elas se destacam, especialmente nas células principais, a ocorrência de grandes vacúolos citoplasmáticos. Esses vacúolos eletrólucidos são adjacentes ao envelope nuclear, ocupando posição predominantemente látero-basal ao núcleo e sendo delimitados por membranas. Estes corpos vacuolares podem conter vesículas lisas, com conteúdo lucente (Figura 30) ou contém um material finamente granular (Figura 31). Adjacentes aos grandes vacúolos se notam principalmente mitocôndrias; cisternas lamelares longas do RE granular e ribossomos livres. Raros corpos eletrondensos apicais (talvez lisossomos) bem como vesículas pequenas e claras foram notados (Figuras 30 e 31).

Outra característica ultraestrutural bem típica no epitélio vaso-deferencial de inverno é a marcante presença de grande quantidade de vesículas revestidas por membrana, de tamanhos e formatos variados e com conteúdo claro, ou ligeiramente granular, em seus interiores. Aparentemente tais vesículas se destacam (extruem-se), a partir do citoplasma apical, de algumas células P, para o lúmen tubular do ducto deferente (Figura 32). Além das vesículas apicais e intraluminais, observadas em algumas secções transversais do ducto deferente de inverno, se observaram, intraluminalmente e de permeio a estruturas subcelulares de espermatozóides seccionados, a presença de formações grandes e esferoidais soltas na luz tubular (Figura 33).

Cada formação esferoidal, observada livremente no lúmen vaso-deferencial, durante o inverno, talvez caracterize uma célula ou fragmentos de células isoladas e desgarradas, mostrando em seus interiores numerosas vesículas, geralmente delimitadas por membranas, de conteúdo claro ou eletrondenso; e núcleo excêntrico e com nucléolo também excêntrico (Figura 33). Aparentemente, seriam células esfoliadas de segmentos precedentes da via espermática, segundo interpretações decorrentes de observações subcelulares feitas na via extratesticular de rato albino (HERMO et al., 1988, 1992).

Figura 12: Microscopia Eletr3nica de Transmiss3o (MET) do ducto deferente (DD) de codorna dom3stica, mostrando: c3lulas principais ou colunares claras (P); c3lula colunar escura (**ros3cea menor**); c3lula basal (B); c3lula delgada escura (E); l3mina pr3pria (**ros3cea maior**); ret3culo endoplasm3tico rugoso (**seta**); e microvilos (**cab3ças de seta**). 5.750x

Figura 13: MET do DD de codorna dom3stica, observado no *outono*, onde se visualiza: c3lula delgada escura (D) rica em mit3c3ndria (m); microvilos (**asterisco**); e c3lula principal (P). 23.000x

Figura 14: MET do DD de codorna doméstica, analisado na *primavera*, onde se vê a estrutura típica das células colunares ou principais (**P**) escura (**rosácea**) e clara (**asterisco**); microvilos apicais (**cabeça de seta**) e retículo endoplasmático rugoso (**seta**). 9.750x

Figura 15: MET do DD de codorna doméstica, visto na *primavera*, notando-se um célula principal com grande número de mitocôndrias (**m**); retículo endoplasmático rugoso com cisternas lamelares (**setas maiores**) e cisternas vesiculares (**setas menores**), lisossomo (**seta branca**) e núcleo (**n**). 17.000x

Figura 16: MET do DD de codorna doméstica, observado na *primavera*, onde se vê a íntima relação do retículo endoplasmático (**asterisco**) com o núcleo (**n**) via pontos de adesão (**seta espessa**); vesículas de superfície lisa (**cabeças de seta**); vesículas revestidas (**setas menores**); corpos multivesiculares (**seta longa**); endossomo (**seta curta**). 67.500x

Figura 17: MET do DD de codorna doméstica, observado na *primavera*, mostrando uma célula principal contendo: complexo de Golgi (**G**); cisternas lamelares (**asteriscos**) e vesiculares (**estrelas**) do retículo endoplasmático; mitocôndrias (**m**); lisossomos (**asteriscos brancos**); corpos multivesiculares (**seta longa**); núcleo (**n**). 23.000x

Figura 18: MET do DD de codorna doméstica, analisado na *primavera*, sendo indicados: células principais (P) e seu núcleo (asterisco); célula delgada escura (rosácea) e microvilos (cabeças de seta). 5.750x

Figura 19: MET do DD de codorna doméstica, visto na *primavera*, na qual se observa uma célula escura (E); mitocôndrias (m); lisossomos (cabeças de seta); concentração apical de vesículas pequenas (estrela) e vesículas maiores de superfície lisa (seta espessa). 23.000x

Figura 20: MET do DD de codorna doméstica, observado no *inverno*. São indicados: célula basal (**B**); complexo de Golgi (**seta**); vesículas de forma e conteúdo variado (**cabeças de seta**); e lâmina própria (**LP**). 17.000x

Figura 21: MET do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, sendo indicados: células principais claras (**P**); célula delgada escura (**E**); célula basal (**B**) e seu núcleo denteado (**n**); microvilos (**cabeças de seta**). 5.750x

Figura 22: MET do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, onde se pode ver: célula principal escura (**rosácea**); cisternas lamelares (**seta**) e vesiculares (**quadrado**) do retículo endoplasmático rugoso; mitocôndria (**m**); núcleo (**n**) e junções íntimas (**círculos**). 17.000x

Figura 23: MET da célula principal escura do DD de *verão*, mostrando: cisternas lamelares (**asteriscos**) do retículo endoplasmático granular; mitocôndrias (**m**); vesículas densas (**setas**); interdigitações (**quadrado**). 23.000x

Figura 24: MET do citoplasma basal (infranuclear) de uma célula principal clara do DD de codorna doméstica, observado no *verão*. São indicados: cisternas vesiculares (*estrelas*) do retículo endoplasmático misto; mitocôndrias (*asteriscos brancos*) e núcleo (*n*). 23.000x

Figura 25: MET do citoplasma apical (supranuclear) de uma célula principal clara do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, onde se visualiza: cisternas lamelares (*estrelas*) e vesiculares (*asteriscos*) do retículo endoplasmático misto; mitocôndrias (*rosácea branca*); microvilos (*cabeças de seta*); e núcleo (*n*). 23.000x

Figura 26: MET do citoplasma apical (supranuclear) de uma célula delgada escura do DD de codorna doméstica, observado no *verão*, mostrando: cisternas lamelares (**estrelas**) e vesiculares (**asteriscos**) do retículo endoplasmático misto; mitocôndrias (**rosácea branca**); microvilos (**cabeças de seta**); e núcleo (**n**). 23.000x

Figura 27: MET do DD de codorna doméstica, observado no *outono*, na qual se observa: células principais (**P**); lúmen tubular (**rosácea**); membrana plasmática lateral (**setas**) com interdigitações (**quadrado**); junções oclusivas (**cabeças de seta**). 13.250x

Figura 28: MET do DD de codorna doméstica, observado no *outono* mostrando o citoplasma apical (supranuclear) das células principais (**P**); mitocôndria (**m**); lisossomos (**cabeças de seta**); microvilos (**setas**); vacúolos apicais (**estrelas**); expansão citoplasmática (**rosácea**). 23.000x

Figura 29: MET do DD de codorna doméstica, visto no *outono*, sendo indicados: células principais (**P**); formações vacuolizadas citoplasmáticas (**asteriscos pretos**); e debris celulares (**asteriscos brancos**). 7.750x

Figura 30: MET do DD de codorna doméstica, observado no *inverno*, mostrando: células principais (**P**); corpos vacuolares – vacúolos (**estrelas**); cisterna lamelares do retículo endoplasmático rugoso (**asteriscos**). 9.750x

Figura 31: MET do citoplasma basal de uma célula principal do DD de codorna doméstica, visto no *inverno*, na qual estão indicados: corpos vacuolares – vacúolos (**estrelas**); mitocôndrias (**cabeças de seta**); retículo endoplasmático rugoso (**asteriscos**) e núcleo (**n**). 17.000x

Figura 32: MET de uma célula principal do DD de codorna doméstica, observada no *inverno*, onde se visualiza: mitocôndrias (m); lisossomos (**cabeças de seta**); extrusões citoplasmáticas (**rosáceas**). 17.000x

Figura 33: MET do lúmen do DD de codorna doméstica, observado no *inverno*, mostrando: formações esferoidais com fragmentos celulares (**estrelas**) e espermatozoides seccionados (**cabeças de seta**). 4.350x

4.3 Estrutura tridimensional do ducto deferente de codorna

As investigações em microscopia eletrônica de varredura (MEV) do ducto deferente da codorna doméstica da variedade italiana mostram a disposição ondulada, em “zigue-zague” do ducto durante a primavera e outras estações do ano exceto no outono. Esta ondulação permitiu visualizar os segmentos transversais do ducto que aparecem como ilhas isoladas, estando envolvidos os segmentos tubulares por tecido conjuntivo frouxo com alguma infiltração de gordura. Os agregados tubulares por sua vez são envolvidos por tecido adensado, e aparentemente por tecido muscular liso, disposto como um estroma delimitante (Figura 34). Cada secção transversal do ducto deferente na primavera é formada por um epitélio conspícuo o qual delimita o lúmen tubular preenchido por um aglomerado de espermatozóides e fluido seminal. O tecido estromal disposto entre as secções do ducto deferente, nas ilhas citadas anteriormente, aparece principalmente como arranjos de fibras densas dispostas com diferentes orientações espaciais recordando em alguns casos uma disposição em “favos de mel” (Figura 35). Nas estações de verão e inverno as observações em MEV do deferente de codorna são similares às descritas na primavera.

No outono, corroborando as observações anteriormente descritas em microscopias de luz e eletrônica de transmissão, o ducto deferente é visto na varredura com disposição retilínea, adotando um padrão morfológico mais discreto do que aquele observado nas outras estações onde descreve trajeto em “zigue-zague” (ondulado). Assim sendo o ducto mostra um epitélio de revestimento alto disposto ao redor do lúmen vazio de conteúdo e com aspecto estrelado, conseqüente às pregas longitudinais observadas na estrutura mural do ducto deferente (Figura 36). Estas pregas formam elevações e reentrâncias no epitélio tubular conforme se observa também nos preparados de microscopia de luz (vide Figuras 3a, 4a e 8a). O tecido “estromal” (ou mioestromal) circundante do ducto deferente outonal, relativamente àquele observado nas outras estações, mostra uma distribuição mais regular de fibras arranjadas de forma concêntrica e recordando lamelas com disposição preponderantemente circular ao redor do ducto (Figura 36).

Figura 34: Microscopia eletrônica de varredura do ducto deferente de codorna doméstica observado na primavera, mostrando a disposição em “ilhas”. 18x.

Figura 35: Microscopia eletrônica de varredura de fragmento do ducto deferente de codorna doméstica observado na primavera, onde pode ser visto o lúmen preenchido por um “plug” de espermatozóides. 36x.

Figura 36: Microscopia eletrônica de varredura do ducto deferente de codorna doméstica observado no outono, mostrando o lúmen estrelado vazio. 69x.

Discussão

5 DISCUSSÃO

5.1 Sobre a morfologia; histomorfometria e histofisiologia sazonal do ducto deferente de codorna

As características anatômicas gerais do ducto deferente de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*), da variedade italiana, uma ave destinada para corte e ovoposição, quanto aos aspectos de sintopia; trajeto e comportamento ondulado, serpeante, ou em “zigue-zague”, descritas em nossos resultados, são similares às caracterizadas em aves domésticas, como o galo (KING, 1975), peru (HESS et al., 1976), e pombo (STEFANINI et al., 1996).

O aspecto de retificação do formato no trajeto crânio-caudal do vaso deferente de codorna, no outono, durante o período quiescente do ciclo testicular anual, não foi relatado, ao menos na literatura ao alcance. Em contrapartida, a disposição em “zigue-zague” no trajeto celomático do ducto deferente, e a sua sintopia com o lobo médio do rim e ureter, *ipsilaterais*, observadas em codorna, foram de modo similar descritas em outras aves domésticas (LAKE, 1957, 1981; TINGARI, 1971, 1972; AIRE et al., 1979; AIRE 1980; STEFANINI et al., 1996).

A disposição muito ondulada do ducto deferente de codorna, observada na primavera, verão e inverno, exceto no outono, relacionar-se-ia com a maior capacidade de reserva funcional e condução de sêmen vaso-deferencial. Isto, consoante a tese de que os ductos excretores dos testículos em aves, principalmente os ductos deferentes, apresentam mecanismos histofisiológicos e fisiológicos para estocagem e condução de sêmen, incluindo peristalse tubular ativa (DE REVIERS, 1975). A capacidade de reserva funcional de sêmen, e consequentemente de espermatozóides, certamente diminui no período quiescente de outono, quando o vaso deferente se torna retilíneo. Ademais, a peristalse ativa deve também diminuir nesta etapa, em face da parada estacional do ciclo testicular anual. Todavia, a espessura mural vaso-deferencial é marcante no outono, sendo dada, talvez, pela relativa diminuição da luz tubular, que aparece vazia de conteúdo seminal nesta estação.

Como apoio a estas considerações anteriormente GRAY (1937) e TINGARI (1971; 1972), haviam caracterizado na estrutura do ducto deferente do galo doméstico uma camada fibro-muscular, que se caracterizou no vaso deferente de codorna como uma “camada mio-estromal”. Esta seria, muito possivelmente, a formação mural mais

ativa na emissão e ejaculação dos espermatozóides. Tal afirmação encontra apoio em observações similares, feitas em mamíferos, concernentes à histologia e histofisiologia do DD (VANWELKENHUYZEN, 1966; PABST, 1969; BAUMGARTEN et al., 1971; HIB et al., 1982; ORSI et al., 2000a, DI DIO & LEÃO, 2002).

Em codorna, se observou ainda a parte reta do ducto deferente, que precede a papila vaso-deferencial intra-urodeal, sendo ambas as estruturas também caracterizadas no galo doméstico (KING, 1975). O alargamento relativo do ducto deferente na *pars recta* decorreria do incremento relativo de tecido conjuntivo e músculo liso murais, relativamente maior nesta região tubular (LAKE, 1957). Esta observação fora evidenciada também na parte pélvica distal do ducto deferente de codorna.

Quanto à organização histológica geral do vaso deferente de codorna, a observação em sua estrutura mural de túnicas superpostas e seqüentes, caracterizando-se: mucosa, lâmina própria, muscular e adventícia, é bem típica, como se caracterizara, talvez em um dos primeiros relatos em aves, no ducto deferente de galo (GRAY, 1937). A mucosa vaso-deferencial, em codorna, é revestida por epitélio pseudoestratificado, predominantemente colunar e não ciliado, no que tange à ausência de cinetocílios, como caracterizou AIRE (2002) em outras aves, mas tendo borda apical formada por microvilos, ou estereocílios. No epitélio vaso-deferencial, como fora caracterizado também no ducto deferente de outras aves por LAKE (1981), se viu a presença predominante de células principais (P), e também a ocorrência de células delgadas escuras, e basais.

Células delgadas escuras (E), dotadas de cinetocílios apicais, foram observadas no epitélio vaso-deferencial de codorna, assim como se observou no epitélio vaso-deferencial do periquito australiano (BALDAN et al., 2003). Corresponderiam, possivelmente, com base em suas características estruturais, às células ricas em mitocôndrias descritas no epidídimo de mamíferos (MARTINEZ-GARCIA et al., 1995). Por outro lado, talvez se aparentariam a uma linhagem celular escura do epitélio epididimal segundo VIOTTO et al. (1996), e também do epitélio vaso-deferencial (ORSI et al., 1999).

As células E poderiam, eventualmente, ser consideradas como células senescentes, em processo apoptótico, ou pertencerem a um ciclo celular holócrino, assinalado no epitélio epididimal de porco doméstico (BRIZ et al. 1993). Porém a presença de um ciclo “secretor” holócrino no epitélio epididimal fora, anteriormente a BRIZ et al. e posteriormente a MARTAN & RISLEY (1963) e MARTAN et al. (1964),

denegada (CLERMONT & FLANNERY, 1972). Isto, com base na baixa capacidade de renovação epitelial epididimária, devida à relativamente baixa capacidade de divisões mitóticas das células do epitélio epididimal.

Acrescenta-se que às hipóteses antes consideradas, foram elaboradas outras interpretações sobre a citofisiologia de células delgadas, vide MARTINEZ-GARCIA et al. (1995) como referência especial sobre o assunto, tendo base em suportes anteriores na literatura de VON MÖLLENDORFF (1930). Assim se considerou que as células delgadas e escuras corresponderiam a um tipo celular apartado da população epitelial epididimária mais comum. Essa teria por base uma linhagem progenitora de células basais, seguindo-se → células colunares (principais) e → células apicais claras que mostram citoplasmas menos eletrondensos do que as células escuras, e são mais freqüentes na estrutura de epitélios pseudoestratificados como os da via aérea, segundo EVANS et al. (2001), e da via espermática (ROBAIRE & HERMO, 1988; HOLSCHBACH & COOPER, 2002).

Referente ainda à estrutura histológica geral do ducto deferente de codorna, a lâmina própria mural deste conduto é um estrato delgado, formado por tecido conjuntivo frouxo e vascular. A túnica muscular lisa é geralmente delgada, talvez em função da expansão tubular e luminal e da intensa concentração de espermatozóides, estocados na luz do ducto, durante todas as etapas mais representativas do ciclo testicular anual. Este, em verdade, obedece a um padrão cíclico circanual nesta espécie, à semelhança do que se observou em anatídeos sul-americanos (BREUCKER et al., 1989; SIMÕES et al., 2003).

O padrão espermatogenético semicíclico, extensivo à estrutura e histofisiologia dos ductos excretores dos testículos, na codorna, é decorrente da fluutuabilidade e duração das fases do ciclo testicular anual nas diferentes estações do ano, bem como da variabilidade na cinética da espermatogênese, conforme SIMÕES et al. (2003), caracterizaram no pato doméstico de criação extensiva. Estes aspectos têm reflexos na morfologia e na histofisiologia da via espermática, compreendendo a região epididimária e seus túbulos e o ducto deferente, de aves, conforme as observações aqui relatadas em codorna.

Segundo ARTONI et al. (1997), a codorna doméstica apresenta espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos durante todo o ano, o que pressupõe uma atividade gonadal constante. Essa, seria regida principalmente por fatores endógenos, ou seja, por influência hormonal e como decorrência natural dos ritmos

biológicos, caracterizados em aves por WINGFIELD (1993) e por WINGFIELD et al. (1994), do que em decorrência direta da influência de fatores parácrinos, ou ambientais, também influentes (SIMÕES et al., 2003).

Para ARTONI et al. (1997), com base na cinética testicular da codorna, estabeleceram-se quatro fases de desenvolvimento gonadal, sendo predominantemente: a quiescência outonal (em março); uma recrudescência moderada no outono-inverno (de abril a agosto); a proliferação ativa primaveril (com pico máximo em outubro), e, uma regressão moderada no verão (de dezembro a fevereiro).

Em contrapartida, as observações morfológicas aqui feitas, no ducto deferente de codorna, mostraram, mediante também a análise da histologia testicular, a ocorrência de um padrão cíclico circanual, talvez, de atividade testicular. Este padrão tem reflexos na morfologia e histofisiologia dos túbulos da via espermática, conquanto as atividades de quiescência testicular e tubular espermáticas, propriamente ditas, de ocorrência outonal, e de proliferação ativa primaveril, observadas nos túbulos seminíferos e nos ductos excretores dos testículos, ocorreram de modo alternado. Isto, em função das peculiaridades marcantes de histotopologia e histomorfometria do ducto deferente, e de ultraestrutura do epitélio vaso-deferencial (ver adiante), verificadas nestas etapas do ciclo testicular anual, bem como das observações, antes relatadas, sobre a morfologia dos ductos da região epididimária de codorna.

Quanto à influência de fatores parácrinos e de aspectos de sazonalidade reprodutiva em aves sabe-se, por outro lado, que a duração da luz diurna, inclusive em codorna, é um dos fatores mais marcantes da ciclagem testicular, influenciando os períodos de atividade e quiescência gonadal (FARNER & FOLLET, 1979; FARNER & GWINNER, 1980; FOLLET, 1984; WINGFIELD, 1993).

Outros fatores, igualmente exógenos, como a disponibilidade de alimento; luminosidade, pluviosidade, duração do fotoperíodo e temperatura (correlacionados geralmente com as características climáticas das estações do ano), têm desempenhado papéis relevantes nos ritmos reprodutivos de aves (KEMP, 1973; SILVERIN, 1975). Isso, principalmente, em passeriformes e em algumas espécies domésticas de clima temperado (HAMNER, 1966; KRUEGER et al., 1977; FARNER & FOLLET, 1979; FARNER & GWINNER, 1980; BREUCKER, 1982; FOLLET, 1984; SHARP & STERLING, 1985; FRAISSINET et al., 1987; SAMOUR et al., 1987; FUENZALIDA et al., 1989; WINGFIELD et al., 1994).

Mediante outros enfoques, há estudos que questionam a ocorrência de ciclagens testiculares anuais convencionais, ou seja, com quatro fases bem definidas, inclusive em *Coturnix coturnix*, a espécie aqui estudada, e em algumas outras espécies de aves passeriformes,. Assim sendo, o desenvolvimento gonadal eventualmente ocorreria também em dias curtos, durante o outono e inverno, ou seja, em dias de fotoperíodo curto; em constante ausência de luz (SHARP & STERLING, 1985; GUYOMARC'H & GUYOMARC'H, 1992). Aqui nas observações sobre a morfologia do ducto deferente, e com base também na estrutura testicular, verificou-se um padrão cíclico circanual, algo diferente daquele de alguns anseriformes sul-americanos (BREUCKER et al., 1989; SIMÕES et al., 2003).

No pato doméstico, contudo, cujo ciclo testicular anual vem sendo estudado, tendo em vista que procedeu de criatório extensivo e livre (na natureza), verificaram-se melhores definições tanto para o período proliferativo quanto para o período de regressão testicular, segundo SIMÕES et al. (2003), sendo geralmente mais longos e bem definidos os períodos do ciclo testicular anual relativamente aos de codorna doméstica aqui enfocada. Ressaltam-se as condições de criatório e manejo da variedade de codorna aqui estudada, feitos em condições de confinamento. Os machos estavam apartados das fêmeas, mas com elas mantinham contatos visuais; vocais e possivelmente de “segregação de feromônios”, que se sabe são estimulatórios à libido e talvez ao prolongamento da não quiescência testicular. Para tanto, há suporte monográfico comparativo em descrições de WINGFIELD et al. (1994), bem como há descrição de aspectos similares, de criação e respostas sexual e reprodutiva, no periquito australiano (SAMOUR et al., 1987).

Em codorna, puderam ser definidos dois períodos marcantes: a quiescência outonal com forte expressão em março, e, a intensa proliferação primaveril, expressada entre outubro e novembro, em parte concordando com as observações de ARTONI et al. (1997), no que tange à quiescência testicular marcante em março, observada na variedade japonesa de codorna estudada pelos autores. Todavia, se ressalva que, aparentemente fora do período outonal (segunda quinzena de março à aproximadamente meados de abril), a espermatocitogênese nunca cessou. Assim sendo, se flagrou abundância de espermatozóides intraluminais, ao longo dos túbulos da via espermática, havendo ademais grande estocagem de gametas no ducto deferente, como é usual nos períodos de proliferação (atividade) testicular em aves (LAKE, 1981).

O ducto deferente de codorna, seguindo aproximadamente o padrão de variabilidade estrutural testicular, nos mesmos animais e nos mesmos períodos do ano, mostrou diferenças morfológicas e histomorfométricas bem marcantes durante o outono e primavera. A histotopologia do ducto deferente, bem como a sua histologia geral e histomorfometria não variaram muito nos períodos intermediários de recrudescência (no inverno), e de aparente regressão (no verão), comparativamente às observações de primavera. Estas interpretações representariam, talvez, um certo “ineditismo” em termos das observações aqui feitas. Uma possível explicação para estas observações, aparentemente, correlacionar-se-ia com aspectos fisiológicos do comportamento reprodutivo cíclico circanual de codorna, ao menos aquele aqui observado nas condições criatório intensivo, em cativeiro, com plantéis de aves de ambos os sexos confinados e separados, temporariamente entre si, na maior parte do tempo.

Ao longo do ano, notaram-se poucas variabilidades estruturais na morfologia do ducto deferente de codorna, exceto no outono quando modificações estruturais vaso-deferenciais foram muito expressivas, especialmente no período decorrente entre meados de março e meados de abril. No outono, coincidindo com uma queda na frequência de ovoposição das fêmeas, o testículo assiste a uma certa “parada” na cinética espermatogenética, refletida por alterações estruturais do próprio epitélio seminífero (ORSI et al., 2004). Estes dados, entretanto, diferem das descrições de ARTONI et al. (1997), que consideraram a morfologia testicular, em linhas gerais, constante ao longo do ano. Porém, no relato anterior de ARTONI (1993), alterações no número de figuras de meiose e noutros parâmetros histológicos e citológicos foram notadas, o que levou a autora a propor um padrão cíclico de atividade gonadal nesta espécie. Pelas observações aqui feitas, volta-se a enfatizar, este padrão parece ser cíclico circanual, e dependente de fatores exógenos (parácrinos) e endógenos, influências estas descritas para a ciclagem gonadal rítmica de outras aves (WINGFIELD, 1993; WINGFIELD et al., 1994).

Concernente ainda à estruturação morfológica do vaso deferente de codorna, na dimensão específica de microscopia de luz, a túnica adventícia é conjuntiva, preponderantemente frouxa, porém mostra algumas fibras do tecido conjuntivo e vasos sangüíneos e nervos. A presença desta disposição estratigráfica na estrutura vaso-deferencial de codorna fora, em linhas gerais, também descrita no galo doméstico por GRAY (1937); TINGARI (1971, 1972); LAKE (1957, 1981); no peru por HESS et al. (1976) e no pombo doméstico (STEFANINI et al., 1996). A ocorrência de vasos

sangüíneos na lâmina própria e também na adventícia do ducto deferente de codorna, com base comparativa na estrutura vaso-deferencial de mamífero, segundo ORSI et al. (2000b), permitiria caracterizá-las como espaços “vaso-condutores”. Através deles se recebe; se distribui e se drena a vascularização sangüínea, referente a todos os estratos murais vaso-deferenciais, conforme fora descrita também em estrutura de transição segmentar, observada entre órgãos ocos do canal alimentar de cobaio (ORSI et al., 1990).

5.2 Sobre a ultraestrutura e citofisiologia do ducto deferente de codorna

Concernente às características subcelulares das células do epitélio vaso-deferencial de codorna, com especial ênfase nas observações sobre a ultraestrutura do ducto deferente na primavera, notaram-se peculiaridades bem marcantes na distribuição e interação organelar das células principais (P). Assim, merecem destaques os orgânulos subcelulares da maquinaria de síntese e secreção celulares, tais como: o RE preponderantemente granular, o complexo de Golgi e as vesículas secretoras associadas, bem caracterizadas e correlacionadas entre si por FLICKINGER (1983, 1985), quanto aos aspectos de síntese e secreção protéica, no epidídimo de camundongo. Outras organelas também associadas com processos citofisiológicos de endocitose; digestão heterofágica; excreção e secreção, segundo descrições de ROBAIRE & HERMO (1988); HERMO et al. (1994) e ORSI et al. (1999) no vaso deferente de mamíferos, de forma comparativa, foram vistas se inter-relacionando nas células P “ativas” (primaveris), de codorna da variedade italiana, aqui estudada.

Os aspectos antes enfatizados foram aqui revisitados com embasamento comparativo, estando apoiados em conceitos emitidos a partir de estudos realizados sobre a morfologia da via espermática de roedores laboratoriais feitos por FLICKINGER (1983, 1985), ROBAIRE & HERMO (1988); HERMO et al. (1988), 1992, 1994; ORSI et al., (1994, 1998, 1999), bem como com os estudos, de enfoques similares, realizados também em aves (STEFANINI et al., 1999a,b,c; AIRE, 2000, 2002; BALDAN et al., 2003).

Durante a primavera, no citoplasma das células principais do epitélio vaso-deferencial de codorna, que foram caracterizadas como células não ciliadas, ou seja, desprovidas de cinetocílios na borda luminal, similarmente ao mesmo tipo celular (células P) descrito no epitélio vaso-deferencial de galo e pato domésticos por AIRE (2002), observou-se ultraestruturalmente a presença de organelas secretoras de proteínas. Assim, foram visualizados o grande desenvolvimento do RE granular e do complexo de Golgi, inter-relacionados, e, a ocorrência de muitas mitocôndrias e vesículas de diferentes formas e dimensões, predominando as vesículas revestidas e de superfície lisa.

As células P, morfologicamente preponderantes na população celular dos ductos excretores dos testículos, segundo revisão monográfica de HAMILTON (1975), foram identificadas como células secretoras de proteínas (secreção micro-merócrina)

por NICANDER & MALMQUIST (1979), no epidídimo de mamíferos domésticos. As células P estão presentes também como parte predominantemente ativa, em termos citofisiológicos, na população celular epitelial da via espermática de mamíferos, de acordo como os estudos e descrições de HAMILTON (1975), NICANDER & MALMQUIST (1979), FLICKINGER (1983, 1985), COOPER et al. (1987), HERMO & MELO (1987), HERMO et al. (1992, 1994), ORSI et al. (1994, 1998, 1999) e SCHIMMING et al. (2001), assim também se comportando na via espermática de aves (STEFANINI et al., 1996, 1999a,b,c AIRE, 2002 e BALDAN et al., 2003).

As células principais não ciliadas, secretoras de proteínas, presentes no ducto deferente de aves como o periquito australiano, segundo BALDAN et al. (2003), e a codorna doméstica aqui enfocada, guardam certas similaridades subcelulares com células epiteliais presentes no ácino do pâncreas exócrino (PALADE, 1966). No vaso deferente de aves, talvez este tipo celular secretor possa ser identificado com a célula colunar do tipo II de acordo com o trabalho de TINGARI (1972). Entretanto, este último tipo é mais usualmente encontrado no epitélio de túbulos da região epididimária, mas fora caracterizado por BALDAN et al. (2003) na estrutura vaso-deferencial de periquito australiano.

Na codorna doméstica, crê-se que, independentemente do tipo celular de classificações celulares anteriores propostas por TINGARI (1972); AIRE et al. (1979), ou atuais de AIRE (2002), a célula principal clara (eletronlucente), vaso-deferencial de codorna, tem características de ser secretora de proteínas. Este seria, talvez, um processo relevante para o enriquecimento do “*milieu*” intraluminal, ou talvez visaria acrescentar à membrana plasmática dos espermatozóides proteínas variadas, e metabolicamente ativas, como as proteínas de motilidade para frente; espermadesina, actina, dineína, etc. (ROBAIRE & HERMO, 1988; HERMO et al., 1994; HOSHIBA & SINOWATZ, 1998). Tais processos devem predominar nas etapas mais ativas do ciclo testicular, com reflexos na cinética das células de revestimento epitelial da via espermática, como bem se notou nas características subcelulares de células P vaso-deferenciais, neste trabalho.

Por outro lado, há características subcelulares das células colunares (P) vaso-deferenciais de codorna, especialmente notadas em células colunares com citoplasma mais eletronlucente, como a presença marcante de vesículas abundantes, com diferentes tamanhos e configurações; ocorrência de endosomas e corpos multivesiculares e presença de lisosomas, que permitem supor serem células envolvidas em processos de

endocitose ativa de fluido e solutos, com base comparativa na ultraestrutura de células epiteliais principais vaso-deferenciais de mamíferos (HERMO & MELO, 1987; HERMO et al., 1994; ORSI et al., 1999). Outro aspecto subcelular relevante nestas células é a inter-relação de endomembranas do RE lamelar e preponderantemente granular com a membrana nuclear e daquelas com a membrana plasmática lateral, ou apical das células P. Tais inter-relações sugerem a presença de “sítios” ou “rotas” privilegiados na intimidade citoplasmática atinentes à translocação núcleo-citoplasmática (e talvez vice-versa), de proteínas arquiteturais e citocinéticas (VILAR et al., 1970; FRANCHIMONT et al., 1977; CHEMES et al., 1978; NISTAL et al., 1980; ORSI et al., 1993).

Quanto às células basais presentes no epitélio vaso-deferencial da codorna, sendo bem características na primavera, mas também vistas nas demais estações do ano, são células cujo papel funcional não está ainda bem esclarecido. HOLSCHBACH & COOPER (2002), discutiram que as células B seriam: possíveis células progenitoras da linhagem epitelial de revestimento da via aérea, (e possivelmente também da via espermática segundo HERMO et al., 1994); células imunocompetentes (HOLSCHBACH & COOPER, 2002), ou ainda células estabilizadoras da estrutura do epitélio de revestimento dos túbulos (ductos), da via espermática de mamíferos (HAMILTON, 1975; HERMO et al., 1994). Estas células, igualmente presentes na papila vaso-deferencial do peru, segundo HESS et al. (1976), têm estrutura bem típica no ducto deferente de codorna, embora não tenham sido observadas no epitélio vaso-deferencial de periquito australiano (BALDAN et al., 2003).

Referente às variabilidades observadas nos diâmetros tubular e luminal, e na altura do epitélio de revestimento do vaso deferente de codorna, em nível do seu segmento médio, notaram-se as maiores variações tubulares no outono, as quais são inclusive estatisticamente significativas em relação às mesmas variáveis mensuradas nas outras três estações do ano. As observações outonais parecem decorrer do período quiescente na cinética da espermatogênese notado nos meses desta estação, especialmente de meados de março a meados de abril, concordantemente, em parte, com as observações sobre o ciclo testicular anual da variedade japônica desta ave doméstica (ARTONI, 1993; ARTONI et al., 1997).

Com a quiescência testicular outonal, em termos da espermatocitogênese que sofre uma “parada” nesta época do ano, os ductos excretórios do testículo, e dentre eles os ductos deferentes, tendem a mostrar modificações estruturais marcantes em sua

morfologia. Estas foram bem caracterizadas em microscopia eletrônica de transmissão (MET), conforme os resultados aqui apresentados. Observações similares às aqui feitas em MET não foram, aparentemente, descritas em aves. Todavia, de modo similar, foram comparativamente observadas, e descritas, nos ductulos eferentes do esquilo terrestre *Citellus lateralis*, segundo PUDNEY & FAWCETT (1984), obviamente resguardando-se algumas peculiaridades espécie-específicas,.

O esquilo terrestre norte-americano, citado, é um mamífero sazonal, quanto à sua biologia reprodutiva. Os animais desta espécie são sexualmente ativos nos meses de primavera (abril e maio), e sofrem regressão na atividade testicular nos meses do verão, em julho e agosto, respectivamente (PUDNEY & FAWCETT, 1984). Relataram os autores, que as células não ciliadas (principais) e ciliadas do epitélio de revestimento dos ductulos eferentes epididimários, sofrem profundas modificações, comparativamente com os mesmos tipos celulares observados na primavera. Outras modificações foram notadas na ultraestrutura tubular dos *eferentes*, como a presença de expansões citoplasmáticas e vacuolizações citoplasmáticas apicais, que invadem e restringem o lúmen tubular, e presença de *debris* celulares intraluminais (PUDNEY & FAWCETT, 1984).

De modo similar ao que caracterizaram na via espermática do esquilo, PUDNEY & FAWCETT (1984), na etapa regressiva testicular, observada no verão neste mamífero, verificou-se na histotopologia do ducto deferente de codorna, bem como nas células colunares epiteliais deste ducto, na etapa quiescente de outono, com ênfase ao período de final de março a meados de abril, configurações morfológicas similares às caracterizadas para as células colunares dos eferentes epididimários do esquilo. Assim sendo, dentre as observações notadas no ducto deferente de codorna, no outono, caracterizaram-se: (1) invasão da luz dos ductos deferentes por expansões citoplasmáticas eletrolucentes das células principais; (2) vacuolizações intraluminais, aparentando estar os vacúolos se destacando do citoplasma apical eletrolucente e vacuolizado, e, (3) presença de *debris* celulares eletrodensos, coexistindo com intensa vacuolização notada no interior da luz vaso-deferencial.

Estas modificações no padrão tubular-celular do ducto deferente de codorna, no outono, seriam dependentes da quiescência testicular, sendo que a reversão destes eventos se dá no inverno, a fase de recrudescência do ciclo testicular anual. Por outro lado, noutras células principais vaso-deferenciais de codorna, especialmente na segunda quinzena de março, verificou-se intensa restrição do diâmetro luminal médio, o qual, no

entanto, permaneceu patente. Houve aparente coalescência dos citoplasmas basais das células principais, que interdigitaram lateralmente as suas membranas plasmáticas, e, apicalmente se reforçaram os plasmalemas laterais por meio de complexos juncionais de membrana plasmática. Os núcleos se mostraram mais quadrangulares e os envelopes nucleares mais denteados. O número de mitocôndrias se mostrou relativamente elevado, em todo o outono, apesar de se mostrarem discretos outros orgânulos, como o RE, complexo de Golgi e lisosomas.

O conjunto das características celulares observadas nas células principais vaso-deferenciais de outono, na codorna, indicariam a sincronia de eventos entre os túbulos seminíferos e seu revestimento epitelial (epitélio seminífero), intensamente citogênico, havendo confirmada interação entre a espermatocitogênese e a espermição, bem como com a citofisiologia das células dos ductos excretórios do testículo (SIMÕES, et al., 2003). Isto, em termos de condução, metabolismo, maturação, emissão e estocagem dos espermatozoides (vide para revisões ROBAIRE & HERMO, 1988; HERMO et al., 1994, SETCHELL et al., 1994). Logo, se há uma parada na espermatocitogênese na fase recessiva do ciclo testicular anual de codorna, há também uma quiescência, ou presença de características regressivas nos ductos vetores da via espermática do mamífero sazonal (*Citellus lateralis*), como caracterizaram PUDNEY & FAWCETT (1984).

No inverno e no verão se observaram, respectivamente, as fases de relativas recrudescência e regressão testiculares. Estas fases são, respectivamente, os períodos intermediários àqueles de atividade testicular plena, ou seja, de proliferação primaveril, e de quiescência testicular total caracterizada por uma breve parada espermatocitogenética outonal, já anteriormente comentados. Logo, no inverno e no verão, as características ultraestruturais notadas no revestimento epitelial vaso-deferencial de codorna foram menos marcantes, dado o padrão cíclico circanual do ciclo testicular anual desta ave, já também caracterizado, e comparado a anatídeos sul-americanos (BREUCKER et al., 1989; SIMÕES et al., 2003). Portanto, características ultraestruturais verificadas na histopologia geral do ducto deferente e em nível do citoplasma de células colunares (P), nestas fases intermediárias, são discutidas em seqüência.

Relativamente, à presença de grande número de vesículas revestidas, com conteúdo interno heterogêneo, e aparentemente destacadas do citoplasma apical de células principais vaso-deferenciais de codorna, através da borda periluminal de microvilos, para o interior da luz tubular, talvez se caracterize um processo de exocitose

ativa, bem típico na fase invernal do ciclo testicular anual e da via espermática extratesticular. Embora não se fizesse, ainda, pesquisa de reatividades enzimáticas no epitélio vaso-deferencial de codorna, a presença destas vesículas, com diferentes configurações morfológicas, presentes no interior da luz do ducto deferente é sugestiva de que, de alguma forma, elas influenciariam o micro-ambiente intraluminal vaso-deferencial. Isto com base comparativa em estudos de FORNES et al. (1995a, b), discutidos em seqüência.

Logo, base comparativa em achados similares de vesículas intraluminais, com pelo menos dois tipos morfo-histoenzimáticos bem definidos no epidídimo de rato (FORNES et al., 1995a, b), permite-se pressupor que as vesículas, originando-se do citoplasma apical das células epiteliais da via espermática extratesticular carregam macromoléculas específicas, as enzimas β -galactosidase e N-acetil- β -D-glicosaminidase. As macromoléculas constituídas de enzimas, e talvez também de glicoproteínas, segundo HERMO et al. (1994), participam na composição do fluido epididimal, ou vaso-deferencial no caso da codorna. Assim, formariam um micro-ambiente intraluminal favorável para a manutenção e maturação dos espermatozóides (FORNES et al., 1995a, b).

A presença de grandes corpos multivesiculares, com conteúdo eletrólucido, no citoplasma das células colunares no inverno e no verão, guardam semelhança com formações similares observadas no citoplasma apical de células principais (claras) presentes no epitélio epididimário distal de camundongo isogênico, inclusive quanto às inter-relações entre os corpos multivesiculares e organelas como o RE e mitocôndrias (ORSI et al., 1994). Tais formações parecem estar relacionadas como a presença de endocitose adsorptiva e de fase fluida, conforme as observações dos AA. citados, em nível epididimal-eferencial, de acordo com ORSI et al. (1994; 1998), e também com observações e interpretações similares em células epiteliais vaso-deferenciais de gerbilo (ORSI et al., 1999).

Os aspectos ultraestruturais caracterizados no parágrafo anterior, em células P vaso-deferenciais de codorna, durante a retomada do processo espermatocitogenético, isto é, fase de recrudescência invernal, implicariam numa reativação natural da cinética dos ductos vetores do testículo, quanto ao metabolismo e à capacitação ulterior dos espermatozóides jovens, recém-gerados. Por outro lado, há uma relativa diminuição de atividade gonadal, e em decorrência da cinética da via extratesticular, com o ducto

deferente incluso, na etapa relativamente regressiva de verão, precedendo a quiescência outonal.

Logo, face ao que se comentou, parece haver uma relativa similaridade entre o que se notou no epitélio vaso-deferencial de codorna, no inverno e no verão, em nível organelar citoplasmático nas células principais, acarretando exacerbação de algumas funções celulares que implicariam mecanismos de transportes ativos de membranas, como a ocorrência de endocitose e digestão lisossômica, autofágica e heterofágica, principalmente no período regressivo de verão. Há também a manutenção ativa do “aparelho lisossômico” citoplasmático, conforme análise de ROBAIRE & HERMO (1988), associando-o aos processos de digestão celular na etapa recrudescente, e noutros períodos do ciclo, em função do papel digestivo lisosomal, vide ALBERTS et al. (2004) como referência geral, e como decorrência das interações lisosomais com o complexo de Golgi (HERMO et al., 1994).

Outrossim, se mantém ativo o “aparelho secretor de proteínas e glicoproteínas” no citoplasma das células P, com implicações, por exemplo, no transporte de glicosidases, sendo todas as moléculas exocitadas, associadas ao micro-ambiente luminal da via extratesticular de mamíferos, e ao metabolismo e capacitação intraluminal de espermatozóides ao longo da via (NICANDER & MALMQUIST, 1977; FLICKINGER, 1983, 1985; COOPER et al., 1987; ROBAIRE & HERMO, 1988; HERMO & MORALES, 1988; HERMO et al., 1988, 1992, 1994, ORSI et al., 1999; SCHIMMING et al., 2001; dentre outros autores).

5.3 Sobre a estrutura tridimensional do ducto deferente da codorna

A disposição ondulada, em zigue-zague, do ducto deferente de codorna observada na maioria das estações do ano, exceto no outono onde o ducto apareceu retilíneo, é similar a observação do comportamento morfológico deste mesmo ducto observado no pombo doméstico (STEFANINI et al., 1996). A retificação do trajeto do ducto deferente tem relação com a breve parada do processo espermatogênético na codorna italiana durante um curto período outonal (ORSI et al., 2004), sendo este aspecto de retificação tubular já sido discutido anteriormente nas observações de microscopias de luz e de transmissão.

A descrição tridimensional de formação pelo ducto deferente de codorna de ilhas isoladas formadas por segmentos tubulares transversais que se superpõem, enrolando-se entre si, através da disposição fortemente ondulada deste conduto, exceto no outono, não foi encontrada, de modo similar, na literatura sobre os ductos extratesticulares de aves. Por outro lado, a disposição ondulante do ducto deferente de aves, nas etapas ativas do ciclo reprodutivo, aparentemente circanual nesta espécie (ORSI et al., 2004), poderia encontrar respaldo teórico em informações anteriores de TINGARI (1971; 1972).

Para TINGARI (1971; 1972), os ductos epididimário e deferente de aves poderiam ser considerados segmentos de uma mesma unidade morfofisiológica distinta, com indicação de atuar o ducto deferente como o corpo e cauda do epidídimo de mamíferos, quando comparado morfofuncionalmente com aquele dos mamíferos (vide ROBAIRE & HERMO, 1988). Esta tese de TINGARI (1971; 1972), foi esposada por STEFANINI et al. (1999b), quando procederam as interpretações morfofuncionais sobre o ducto deferente de pombo, aparentemente em período ativo da cinética testicular.

Em termos comparativos com a MEV de roedor (ORSI et al., 2000b), no ducto deferente outonal de codorna, possivelmente como decorrência do seu trajeto retilíneo, observaram-se pregas longitudinais no epitélio tubular, cujas elevações e reentrâncias possibilitam visualizar a luz tubular com forma estrelada. Pregas similares foram descritas no ducto deferente do gerbilo a partir do segmento médio deste conduto (ORSI et al., 2000b), com possível significado de reserva de capacitância em termos de expansão luminal quando o ducto estoca e conduz fluido seminal e espermatozóides. Esta é a situação que se observou no ducto deferente das outras estações do ano, especialmente na primavera conforme nossos achados em MEV (vide Figura 34).

Para apoiar a hipótese anterior há que se considerar que para o ducto deferente de mamíferos foram propostas, ao que se conhece, pelo menos três funções básicas quais sejam: emissão; estocagem e ejaculação dos espermatozóides. Estas funções são diretamente vinculadas com a estrutura morfológica do ducto em termos de construção mural, havendo participação ativa do epitélio de revestimento (túnica mucosa) e da túnica muscular lisa (VANWELKENHUYZEN, 1966).

A emissão compreende o transporte contínuo dos espermatozóides desde a cauda do epidídimo até a porção distal (ampular) do ducto deferente. Quanto à ejaculação do sêmen esta envolve um processo dinâmico de forte contração dos componentes musculares lisos do estroma periepididimário (cauda epididimal) e da túnica muscular vaso-deferencial desencadeando uma forte peristalse para esvaziamento da via espermática (VANWELKENHUYZEN, 1966; PABST, 1969; HIB et al., 1982; DI DIO & LEÃO, 2002). Talvez estas características morfofuncionais pudessem ocorrer também em aves, havendo breve suporte teórico nas publicações de STEFANINI et al. (1996; 1999a; 1999), porém necessitando comprovação por meio de novos estudos.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

- Anatomicamente o ducto deferente de codorna da variedade italiana é um órgão tubular, ondulado que forma alças estreitas do tipo em “zigue-zague”, exceto no outono, quando se apresenta retilíneo em todos os seus segmentos, ou seja, nos segmentos proximal, médio e distal.

- As secções histológicas transversais do ducto deferente de codorna mostram-no organizado como túbulos irregulares e paralelos entre si, em consequência das ondulações estreitas que o ducto faz sobre si mesmo, aparecendo grande quantidade de espermatozóides e fluido seminal estocado na luz tubular nas preparações de inverno, primavera e verão, exceto no outono.

- No outono, a fase quiescente do ciclo testicular anual de codorna, as secções histológicas transversais do ducto deferente aparecem não onduladas; arredondadas, sendo a parede tubular relativamente mais espessa e organizada, tendo luz estrelada em consequência da presença de pregas longitudinais na parede tubular, e ausência de material no interior da luz.

- Todos os segmentos tubulares vaso-deferenciais têm estrutura mural similar nas diferentes estações do ano, sendo formada por mucosa revestida por epitélio colunar pseudoestratificado, lâmina própria com elementos fibrosos do tecido conjuntivo, túnica muscular lisa e adventícia bem nítidas nas preparações de outono, sendo que às vezes estas últimas podem se imbricar entre si caracterizando uma camada mio-estromal.

- Observações qualitativas sobre as espessuras relativas do epitélio de revestimento e da camada muscular lisa vaso-deferencial variam com os segmentos do ducto considerados e com as estações do ano, aparecendo a muscular mais espessa no segmento distal que está relacionado com o processo de ejaculação do sêmen.

- Análises histomorfométricas realizadas no segmento médio vaso-deferencial da codorna sobre os parâmetros diâmetros tubular e luminal médios, mostram valores altos

com pequenas diferenças numéricas, não significativas entre si, nas estações de primavera, verão e inverno, indicando relativa constância do ritmo do ciclo testicular anual. No outono, ocorreu diminuição significativa nos valores numéricos dos diâmetros tubular e luminal médios do ducto deferente, em decorrência da quiescência do ciclo anual.

- Ultraestruturalmente, o epitélio de revestimento do ducto deferente da codorna da variedade italiana é formado por células principais (colunares) claras e escuras quanto a eletrondensidade núcleo-citoplasmática; células basais; e células delgadas escuras (ricas em mitocôndrias) sendo estas mais observadas no outono.

- O complexo organelar do citoplasma das células principais, aparentemente com maior destaque nas células claras, exceto no outono, mostram características de ocorrência de papéis funcionais ativos tais como: endocitose de fase fluida (pinocitose) e adsorptiva (fagocitose), exocitose, secreção protéica (micro-merócrina) e absorção a partir do lúmen tubular.

- As células principais do epitélio vaso-deferencial do outono mostram características degenerativas como a presença de extensas áreas pálidas apicais, perda marcante de microvilos, eletronluscência do citoplasma supranuclear, invasão da luz tubular pelo citoplasma apical vacuolizado e eletronluscência e presença de debridamentos celulares eletrondensos presentes na luz tubular, sendo todas estas características da fase de quiescência do ciclo anual.

- As características ultraestruturais do citoplasma das células principais observadas no verão, a fase regressiva do ciclo anual, de modo muito sutil, parecem preceder as marcantes modificações morfológicas degenerativas observadas no outono, sendo que aparentemente ocorre uma reorganização do complexo organelar citoplasmático destas células no inverno que constitui o período recrudescente do ciclo anual, precedendo a fase intensamente proliferativa da primavera.

- A interpretação citofisiológica sobre as células delgadas escuras é difícil de se fazer com base em suas características ultraestruturais, havendo propostas de corresponderem possivelmente às células ricas em mitocôndrias, ou poderiam ser

células de uma linhagem celular escura do epitélio vaso-deferencial ou seriam células em processo apoptótico e ainda poderiam, talvez, pertencer a um ciclo celular holócrino.

- As observações de MEV no ducto deferente de codorna na primavera e no outono corroboram com as verificações sobre a variabilidade morfológica deste conduto, nestas estações marcantes do ano, em termos das fases do ciclo testicular anual e de seus reflexos nos ductos excretores do testículo.

- Com base nas observações morfológicas feitas em todas as dimensões de análises, permite-se concluir ainda que o ciclo reprodutivo anual da codorna doméstica da variedade italiana obedece a um ritmo circanual.

Referências Bibliográficas

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, J.D. *Biologia molecular da célula*. Porto Alegre: Artes Médicas, 20004.

AIRE, T.A. The ductuli efferentes of the epididymal region of birds. *J. Anat.*, London, v.130, n.4, p.707-723, 1980.

AIRE, T.A. Aspects of the functional morphology of the ductus epididymidis in domestic anseriform and galliform birds. *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.29, p.179-191, 2000.

AIRE, T.A. Cyclical reproductive changes in the non-ciliated epithelia of the epididymis of birds. *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.31, p.113-118, 2002.

AIRE, T.A.; AYENI, J.S.; OLOWO-OKORUN, M.O. The structure of the excurrent ducts of the testis of the guinea-fowl (*Numida meleagris*). *J. Anat.*, London, v.129, p.633-643, 1979.

ARTONI, S.M.B. *Considerações sobre a morfologia e histofisiologia do testículo da codorna (Coturnix coturnix japonica)*. 1993. 73f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ARTONI, S.M.B.; ORSI, A.M.; CARVALHO, T.L.L.; LOPES, R.A. The annual testicular cycle of the domestic quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.26, p.337-339, 1997.

BALDAN, C.; ORSI, A.M.; VIOTTO, M.J.S.; ARTONI, S.M.B.; STEFANINI, M.A. Morphology of the vas deferens of the budgerigar (*Melopsitacus undulatus*). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, Siena, v.35, n.1, p.77-82, 2003.

BAUMGARTEN, H.G.; HOLSTEIN, A.F.; ROSENGREN, E. Arrangement, ultrastructure, and adrenergic innervation of smooth musculature of the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens of man. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, Berlin, v.120, p.37-79, 1971.

BENNETT, G.; LEBLOND, C.P.; HADDAD, A. Migration of glycoprotein from the Golgi apparatus to the surface of various cell types as shown by autoradiography after labelled fucose injection into rats. *J. Cell. Biol.*, New York, v.60, p.258-284, 1974.

BREUCKER, H. Seasonal spermatogenesis in the mut swan (*Cygnus olor*). *Anat. Embryol. Cell Biol.*, New York, v.72, p.1-91, 1982.

BREUCKER, H.; SCHAFER, E.; BUSTOS-OBREGON, E. Spermatogenesis of *Lophonetta specularioides* (Anatidae, Aves) in the high plateau of the southern Andes: a light and electron microscopic study. *Micr. Electr. Biol. Cel.*, Mendoza, v.13, n.2, p.167-182, 1989.

- BRIZ, M.; BONET, S.; FRADERA, A. A morphologic study of the ductus epididymis of *Sus scrofa*. *J. Morphol.*, Philadelphia, v.215, p.183-193, 1993.
- BUDRAS, K.D.; MEIER, U. The epididymis and its development in ratite birds (*Ostrich, Emu, Rhea*). *Anat. Embryol.*, Berlin, v.162, p.291-299, 1981.
- CHEMES, H.E.; FAWCETT, D.W.; DYM, M. Unusual features of the nuclear envelope in human spermatogenic cells. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.192, p.493-512, 1978.
- CLERMONT, Y.; FLANNERY, J. Mitotic activity in the epithelium of the epididymis in young and adult rats. *Biol. Reprod.*, New York, v.3, p.283-292, 1970.
- CLULOW, J.; JONES, R.C. Studies of fluid and spermatozoa transport in the extratesticular genital ducts of the Japanese quail. *J. Anat.*, London, v.157, p.1-11, 1988.
- COOPER, T.G. ; HAMILTON, D.W. Phagocytosis of spermatozoa in the terminal region and gland of the vas deferens of the rat. *Am. J. Anat.*, Philadelphia, v.150, p.247-268, 1977.
- COOPER, T.G.; YOUNG, C.H.; BERGMANN, M. Protein transport to the epididymal lumen. *Cell Tiss. Res.*, Berlin, v.248, p.527-530, 1987.
- DE REVIERS, M. Sperm transport and survival in male birds. In: *The biology of spermatozoa*. Basel: Karger, 1975.
- DI DIO, L.J.A.; LEÃO, P.P. Sistema genital masculino In: DI DIO, L.J.A. *Tratado de anatomia sistêmica e aplicada*. Atheneu, São Paulo, 2002, v. 2, p. 621-652.
- EVANS, M.J.; WINKLE, L.S.V.; FANUCCHI, M.V.; PLOPPER, C.G. Cellular and molecular characteristics of basal cells in airway epithelium. *Exp. Lung Res.*, London, v.27, p.401-415, 2001.
- FARNER, D.S.; FOLLET, B.K. Reproductive periodicity in birds. In: BARRINGTON, E.J.W. (ed.). *Hormones and Evolution*, Academic Press, New York, 1979, p. 829-872.
- FARNER, D.S.; GWINNER, E. Photoperiodicity, circannual and reproductive cycles. In: EPPLE, A.; STETSON, M. H. (eds.). *Avian Endocrinology*, Academic Press, New York, 1980, p. 331-366.
- FLICKINGER, C.J. Synthesis and secretion of glycoprotein by the epididymal epithelium. *J. Androl.*, Philadelphia, v.4, p.57-161, 1983.
- FLICKINGER, C.J. Autoradiographic analysis of the secretory pathway for glycoprotein in principal cells of the mouse epididymis exposed to H³ fucose. *Biol. Reprod.*, New York, v.32, p.377-389, 1985.
- FOLLET, B.K.; SHARP, P.J. Circadian rhythmicity in photoperiodically induced gonadotrophin release and gonadal growth in the quail. *Nature*, London, v.223, p.968-971, 1969.

FOLLET, B.K. Birds. In: LAMMING, G.E. (ed.), *Marshall's Physiology and Reproduction*. Churchill Livingstone, London, 1984, v.1, p.283-350.

FORNES, M.W.; BARBIERI, M.A.; CAVICCHIA, J.C. Morphological and enzymatic study of membrane-bound vesicles from the lumen of the rat epididymis. *Andrologia*, Berlin, v.26, p.1-5, 1995a.

FORNES, M.W.; SOSA, M.A.; BERTINI, F.; BURGOS, M.H. Vesicles in rat epididymal fluid: existence of two populations differing in ultrastructure and enzymatic composition. *Andrologia*, Berlin, v.27, p.233-237, 1995b.

FRAISSINET, M.; VARRIALE, R.; PIERANTONI, R. *et al.* Annual testicular activity in the grey partridge (*Perdix perdix* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.68, p.28-32, 1987.

FRANCHIMONT, P.; CHARI, D.; HAZEE-HAGELSTEIN, M.T.; DEBRUCHE, M.L.; DURAISWAMI, S. Evidence for the existence of inhibin. In: *The testis in normal and infertile men*. New York: Raven Press, 1977, p.253-259.

FRITH, H.J.; CARPENTER, S.M.; BRAITHWAITE, L.W. Sexual cycles of pigeons in arid and semiarid Australia. *Aust. J. Zool.*, East Melbourne, v.24, p.331-351, 1976.

FUENZALIDA, H.; LEYTON, V.; VALENCIA, J. *et al.* Morfología del testículo de *Pygoscelis papua* (Foster) durante el periodo de actividad sexual. *Arch. Anat. Embriol.*, Madrid, v.20, p.79-91, 1989.

GLAUERT, A.M. *Practical methods in electron microscopy: fixation, dehydration and embedding of biological specimens*. Amsterdam: North-Holland, 1991, 207p.

GRAY, J.C. The anatomy of the male genital ducts in the fowl. *J. Morphol.*, Philadelphia, v.60, p.393-405, 1937.

GUYOMARC'H, C.; GUYOMARC'H, J.C. Sexual development and free-running period in quail kept in constant darkness. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.86, p.103-110, 1992.

HAMILTON, D.W. Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferentes, ductus epididymidis, and ductus deferens in the rat. In: HAMILTON, D.W.; GREEP, R.O. (eds.). *Handbook of Physiology*, American Physiological Society, Washington, D.C., 1975, v.5, p.259-301.

HAMILTON, D.W.; COOPER, T.G. Gross histological variations along the length of the rat vas deferens. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.190, p.795-810, 1978.

HAMNER, W.M. Photoperiod control of the annual testicular cycle in the house finch, *Carpodacus mexicanus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.7, p.224-233, 1966.

HERMO, L.; MORALES, C. Endocytosis in nonciliated epithelial cells of the ductuli efferentes of the rat. *Am. J. Anat.*, Philadelphia, v.171, p.59-74, 1984.

HERMO, L.; MELO, V.R. Endocytotic apparatus and transcytosis in epithelial cells of the vas deferens in the rat. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.217, p.153-163, 1987.

HERMO, L.; SPIER, N.; NADLER, N.J. Role of the apical tubules in endocytosis in non ciliated cells of the ductuli efferentes in the rat. *Am. J. Anat.*, Philadelphia, v.182, p.107-119, 1988.

HERMO, L.; BARIN, K.; ROBAIRE, B. Structural differentiation of the epithelial cells of the testicular excurrent ducts system of rats, during the post-natal development. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.233, p.205-228, 1992.

HERMO, L.; OKO, R.; MORALES, C. Secretion and endocytosis in the male reproductive tract: a role in sperm maturation. *Int. Rev. Cytol.*, New York, v.154, p.105-189, 1994.

HESS, R.A. ; THURSTON, R.J.; BIELLIER, H.V. Morphology of the epididymal region and ductus deferens of the turkey (*Meleagris gallopavo*). *J. Anat.*, London, v.122, p.241-252, 1976.

HIB, J.; PONZIO, R.; VILAR, O. Contractility of the rat cauda epididymidis and vas deferens during seminal emission. *J. Reprod. Fert.*, Cambridge, v.66, n.1, p.47-50, 1982.

HOLSHBACH, C.; COOPER, T.G. A possible extratubular origin of epididymal basal cells in mice. *Reproduction*, Cambridge, v. 123, p. 517-525, 2002.

HOSHIBA H.; SINOWATZ, F. Immunohistochemical localization of spermadhesin AWN-1 in the equine male genital tract. *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.27, p.351-353, 1998.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, New York, v.27, p.137-138, 1965.

KEMP, A.C. Environmental factors affecting the onset of breeding in some Southern African hombills. *Fertil. Steril.* (suppl.), Birmingham, v.19, p.319-331, 1973.

KIM, S.I.; YANG, H.H. Seasonal changes of testicular weight, sperm production, serum testosterone, and *in vitro* testosterone release in Korean ring-necked pheasants (*Phasianus colchicus karpowi*). *J. Vet. Med. Sci.*, Tokyo, v.63, n.2, p.151-156, 2001.

KING, A.S. Sistema urogenital das aves. In: Getty, R. (ed) *Sisson e Grossman – Anatomia dos animais domésticos*. 5 ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981, v.2.

KRUEGER, K.K.; OWEN, J.A.; KRUEGER, C.E.; FERGUSON, T.M. Effect of feed or light restriction during the growing and breeding cycles in the reproductive performances of broad breasted white turkey males. *Poultry Sci.*, College Station, v.56, p.1566-1574, 1977.

LAKE, P.E. The male reproductive tract of the fowl. *J. Anat.*, London, v.91, p.116-129, 1957.

- LAKE, P.E. Male genital organs. In: KING, A.S. e MCLELLAND, J. *Form and function in birds*. London: Academic Press, v.2, 1981.
- MANOEL, H.L.; ARTONI, S.M.B.; ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; ARAUJO, M.L. Aspectos morfométricos do ducto deferente da codorna, *Coturnix coturnix japonica*, no decorrer do ano. *Biotemas*, Florianópolis, v.11, n.2, p.97-104, 1998.
- MARTAN, J.; RISLEY, P. Holocrine secretory cells of the rat epididymis. *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.146, p.173-189, 1963.
- MARTAN, J.; RISLEY, P.; HRUBAN, Z. Holocrine secretory cells of the human epididymis. *Fertil. Steril.*, Birmingham, v.15, p.180-187, 1964.
- MARTINEZ-GARCIA, F.; REGADERA, J.; COBO, P. *et al.* The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia*, Berlin, v.27, p.195-206, 1995.
- MORRISON, D.F. *Multivariate statistical methods*. Tokio: Kogakusha, 1976.
- NAKAI, M.; HASHIMOTO, Y.; KITAGAWA, H. *et al.* Histological study on seminal plasma absorption and spermiophagy in the epididymal region of domestic fowl. *Poultry Sci.*, College Station, v.68, p.582-589, 1989.
- NICANDER, L; MALMQVIST, M. Ultrastructural observations suggesting merocrine secretion in the initial segment of the mammalian epididymis. *Cell Tiss. Res.*, Berlin, v.184, p.487-490, 1977.
- NISTAL, M.; PANIAGUA, R.; ESPONDA, P. Development of the endoplasmic reticulum during human spermatogenesis. *Acta Anat.*, Basel, v.108, p.238-249, 1980.
- ORSI, A.M.; VIOTTO, M.J.S.; MARTINS, M.R.F.B. Considerações sobre a angioarquitetura da junção esofagogástrica da cobaia (*Cavia porcellus*, L.). *Ciência e Cultura*, São Paulo, v.42, p.721-724, 1990.
- ORSI, A.M.; VICENTINI, C.A.; VIOTTO, M.J.S. Características ultraestruturais de espermatogônias e espermatócitos primários do morcego hematófago (*Desmodus rotundus*, G.). *Naturalia*, São Paulo, v.18, p.15-26, 1993.
- ORSI, A.M.; VICENTINI, C.A.; VICENTINI, I.B.F.; STEFANINI, M.A.; ORSI, A.C. Ultrastructure of epididymal epithelium of the black isogenic mouse. *Rev. Chil. Anat.*, Santiago, v.14, p.189-196, 1994.
- ORSI, A.M.; MATHEUS, S.M.M.; GREGÓRIO, E.A.; BEU, C.C.L. Morphological investigations of the surface epithelium of ductuli efferentes of black isogenic mice (*Mus musculus*). *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v.27, p.215-218, 1998.
- ORSI, A.M.; MATHEUS, S.M.M.; VICENTINI, C.A.; RIBEIRO, A.A.C.M.; MIGLINO, M.A. Fine structure of the lining epithelium of the ductus deferens in gerbil: a segmental study. *Braz. J. Morphol. Sci.*, São Paulo, v.16, p.189-195, 1999.

ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; BEU, C.C.L.; DUARTE, H.E.. Algumas observações histoquímicas no ducto deferente do gerbilo (*Meriones unguiculatus*). *Biotemas*, Florianópolis, v. 13, p. 89-101, 2000a.

ORSI, A.M.; MATHEUS, S.M.M.; FRANCIA-FARJE, L.A.D.; ORSI, D.C.; ARTONI, S.M.B. Estudio por microscopia electronica de barrido de la estructura del conduto deferente del gerbo (*Meriones unguiculatus*). *Acta Biol. Venez.*, Caracas, v.20, n.4, p.29-33, 2000b.

ORSI, A.M.; CRUZ, C.; VIEGAS, K.A.S.; MACHADO, M.R.F.; DOMENICONI, R.F.; SIMÕES, K.; ARTONI, S.M.B. O ducto deferente de codorna: estrutura e possíveis variações morfológicas sazonais. *Anais: XX Congresso Brasileiro de Anatomia*. Maceió, AL, 06 a 11-10-2002, v.1, p.159.

ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; VIEGAS, K.A.S.; SIMÕES, K.; ARTONI, S.M.B. Aspectos morfológicos do ciclo testicular anual de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana. *Braz. J. Med. Vet. Anim. Sci.*, São Paulo, In press, 2004.

PABST, R. Untersuchungen über bau und funktion des menschlichen Samenleiters. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.*, v.129, p.154-176, 1969.

PALADE, G.E. Structure and function at the cell level. *J. Am. Med. Assoc.*, Chicago, v.198, p.815-825, 1966.

PUDNEY, J.; FAWCETT, D.W. Seasonal changes in fine structure of the ductuli efferentes of the ground squirrel, *Clitellus lateralis* (Say). *Anat. Rec.*, Philadelphia, v.208, p.383-389, 1984.

REYNOLDS, E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, New York, v.17, p.208-212, 1963.

ROBAIRE, B.; HERMO, L. Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. In: KONOBIL, E. Y.; J.D. NEILL (eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, v.1, p.999-1080, 1988.

SAMOUR, J.H.; MOORE, H.D.M.; BAILEY, I.T.; WATSON, P.F. Annual testicular cycle in captive budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *J. Zool. Lond.*, London, v.212, p.465-473, 1987.

SCHIMMING, B.; VICENTINI, C.A.; ORSI, A.M. Scanning electron microscopic study of the epididymis in the dog (*Canis familiaris*, L.). *Rev. Chil. Anat.*, Santiago, v.19, p.155-160, 2001.

SHARP, P.J.; STERLING, R.J. Photoperiodic requirement for the dissipation of scotorefractoriness in Japanese quail. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.58, p.169-173, 1985.

SILVERIN, B. Reproductive organs and breeding behaviour of the male Pied Flycatcher *Ficedula hypoleuca* (Pallas). *Ornis Scand.*, v.6, p.15-26, 1976.

SIMÕES, K.; ORSI, A.M.; ARTONI, S.M.B.; CRUZ, C. *Características morfológicas da estrutura testicular, variabilidade dos níveis plasmáticos de testosterona e ciclo espermatogênético no pato doméstico, Anas platyrrinchos*. Monografia apresentada à Universidade Federal de São Paulo (Sociedade Brasileira de Anatomia). Prêmio Renato Locchi de Ciências Morfológicas, Maceió, In: XX Congresso Brasileiro de Anatomia, Outubro de 2003, 20f.

SETCHELL, B.P.; MADDOCKS, S.; BROOKS, D.E., Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. In: KONOBIL, E. Y., J.D. NEILL (eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, 2. ed., v.1, p.1063-1175, 1994.

STEFANINI, M.A.; VICENTINI, C.A.; ORSI, A.M.; VICENTINI, I.B.F.; ARTONI, S.M.B. Características morfológicas do ducto deferente do pombo (*Columba livia*). *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v.56, p.605-612, 1996.

STEFANINI, M.A. *Estrutura da via espermática extratesticular do pombo doméstico (Columba livia)*. 1997. 66f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; ARTONI, S.M.B.; VICENTINI, C.A.; VICENTINI, I.B.F. Morphological study of the rete testis of the pigeon. *Braz. J. Morphol. Sci.*, São Paulo, v.16, n.2, jul-dez, 1999.

STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; GREGÓRIO, E.A.; VIOTTO, M.J.S.; ARTONI, S.M.B. Morphologic study of the efferent ductules of the pigeon (*Columba livia*). *J. Morphol.*, Philadelphia, v.242, p.247-255, 1999a.

STEFANINI, M.A.; MIGLINO, M.A.; DIDIO, L.J.A.; ORSI, A.M. Morphological study of the vas deferens of the pigeon (*Columba livia*). *Ital. J. Anat. Embryol.*, Firenze, v.104, p.33-139, 1999b.

STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; BEU, C.C.L.; VICENTINI, I.B.F.; MICHELIM, S.C. Estudo histoquímico da região epididimária do pombo (*Columba livia*). *Acta Biol. Leopold.*, São Leopoldo, v.21, p.119-126, 1999c.

TINGARI, M.D. On the structure of the epididymal region and ductus deferens of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *J. Anat.*, London, v.109, p.423-435, 1971.

TINGARI, M.D. The fine structure of the epithelial lining of the excurrent duct system of the testis of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Qt. J. Exp. Physiol.*, Cambridge, v.57, p.271-295, 1972.

VANWELKENHUYZEN, P. Le motilité du canal deferent. *Acta Urol. Belg.*, Bruxelles, v.34, p.385-466, 1966.

VILAR, P.; PAULSEN, C.A.; MOORE, D.J. Electron microscopy of the seminiferous tubules. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York: Raven Press, 1970, v.1, p. 63-74.

VIOTTO, M.J.S.; ORSI, A.M.; GREGORIO, E.A. Ultrastructural characteristics of the epididymal epithelium of the cat (*Felis domestica*, L.). *Braz. J. Morphol. Sci.*, São Paulo, v.13, p.51-58, 1996.

VON MÖLLENDORFF, W. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Berlin: Springer, 1930, Bd. 7, Teil I-II.

WINGFIELD, J.C. Control of testicular cycles in the song sparrow, *Melospiza melodia melodia*: interaction of photoperiod and an endogenous program?. *Gen. Comp. Endocrinol.*, New York, v.92, p.388-401, 1993.

WINGFIELD, J.C.; WHALING, C.S.; MARLER, P. Communication in vertebrate aggression and reproduction: The role of hormones: male-male interactions in birds. In: KONOBIL, E. Y.; NEILL, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, 2. ed., v.1, p.310-312, 1994.