

Universidade Estadual de São Paulo "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP
Instituto de Biociências - Campus Botucatu

Há associação entre desempenho sexual e vocalização em codornas japonesas (*Coturnix japonica*)?

Lívia Junko Bomura

**Botucatu
2010**

Lívia Junko Bomura

Há associação entre desempenho sexual e vocalização em codornas japonesas (*Coturnix japonica*)?

Monografia apresentada junto ao
Curso de Ciências Biológicas
na área de Comportamento Animal à
obtenção de título de Bacharel

Orientador: Profa. Dra. Sílvia M. Nishida

Botucatu - SP

2010

Lívia Junko Bomura

Há associação entre desempenho sexual e vocalização em codornas japonesas (*Coturnix japonica*)?

Monografia apresentada junto ao
Curso de Ciências Biológicas
na área de Comportamento Animal à
obtenção de título de Bacharel

Orientador: Profa. Dra. Sílvia M. Nishida

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Sílvia Mitiko Nishida

Depto de Fisiologia – Instituto de Biociências – IB – UNESP Botucatu

Prof. Dr. Helton Carlos Delicio

Depto de Fisiologia – Instituto de Biociências – IB – UNESP Botucatu

Botucatu, 9 de dezembro de 2010.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e a minha família: meus pais, Nair e Shinji que sempre me apoiaram em todos os sentidos a estudar: “A longo prazo, só os com conhecimento prévio podem ajudar ao próximo”. A meu irmão Hugo, meu grande amigo e exemplo de inteligência perspicaz que admiro.

À minha orientadora Profa. Dra. Silvia, por ter me proporcionado a oportunidade deste estudo enriquecedor e fascinante do comportamento animal, ter dividido um pouco de seu conhecimento e ter dado suporte a todas minhas dúvidas.

À D. Ângela, ao Felipe e ao Hélio pela paciência e assistência no início do estágio ao transmitirem as técnicas necessárias e ao Seu Júnior pela manutenção do biotério e amizade.

Aos membros e amigos de Empresa Júnior – IBB Jr., na qual exerci na Gestão 2010 na qualidade de presidente, e que me proporcionaram crescimento pessoal e profissional, além de momentos de muito trabalho, dedicação e orgulho. Agradeço a compreensão dos mesmos, principalmente de meus diretores que dividiram comigo a responsabilidade de dirigir esta realização conjunta e de minha orientadora Silvia por me ensinarem a balancear as responsabilidades nos momentos mais adequados.

À constante companhia de minha colega de casa e amiga de desabafos e conversas diárias, Karoleen. Aos amigos Márcio, Roberta, Aline, Cleice, Daniela, Tatiana e Carla que me apoiaram no processo e auxiliaram com opiniões e colaboração direta na redação deste.

Ao Prof. Dr. Helton pela disponibilidade na correção do presente trabalho e à secretária Luciana por elucidação de eventuais dúvidas burocráticas.

Ao Prof. Dr. Reinaldo do Depto de Parasitologia ao ceder o microscópio e o programa Leica para análise espermática, à Profa. Dra. Wilma do Depto de Morfologia, ambos do Instituto de Biociências, ao ceder a incubadora de ovos e ao técnico José Eduardo do mesmo depto.

A meus professores, os quais me transmitiram o conhecimento acadêmico e em quem me espelho como profissional nesta área tão impressionante e vasta; aos colegas, com os quais pude construir o conhecimento adquirido e meus futuros parceiros profissionais e aos amigos, com os quais dividi responsabilidades domésticas, dificuldades e rotina adquirida em residir fora do conforto familiar e os momentos de alegrias e descontração.

A todos muito obrigada por fazerem parte desses meus cinco anos de graduação.

"Reproduction dominates life because the world is filled with the winners of millions of rounds of a contest that has consistently rewarded reproduction".

"A reprodução domina a vida porque o mundo é preenchido com os vencedores de milhões de rodadas de uma competição que tem consistentemente recompensado a reprodução".

Gould & Gould

PREFÁCIO

O trabalho consiste em duas partes. A primeira apresenta um artigo propondo a relação do desempenho sexual de machos de codornas e vocalização. Descreve o comportamento masculino de cópula, comparação de vocalizações dos indivíduos e a possível relação entre eles. A segunda parte consiste em descrição de atividades técnicas aprendidas e desenvolvidas durante o estágio como: a coleta e análise espermática com auxílio de microscópio óptico com câmera acoplada e programa para análise de imagem, na qual foi possível a medição dos espermatozóides e a técnica de dissecação do trato reprodutivo masculino de codornas, possibilitando o conhecimento anatômico e medição das gônadas masculinas.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| Agradecimentos | 4 |
| Prefácio | 6 |
| | |
| PARTE I – Apresentação de artigo a ser submetido | |
| Resumo | 8 |
| Introdução | 9 |
| Objetivos | 12 |
| Materiais e métodos | |
| As codornas | 13 |
| Avaliação do comportamento sexual da codorna | 14 |
| Taxa de vocalização e descrição do canto | 15 |
| Resultados e discussão | |
| Comportamento Sexual das Codornas | 16 |
| Comportamento de vocalização | 17 |
| Conclusões | 17 |
| Bibliografia | 23 |
| | |
| Partell – Atividades técnicas realizadas durante o estágio | |
| A) Coleta e análise espermática | 26 |
| B) Dissecção do trato reprodutivo masculino | 29 |

PARTE I: Apresentação de artigo

O trabalho tem a intenção de ser submetido a Revista de Etologia.

Há associação entre desempenho sexual e vocalização em codornas japonesas (*Coturnix japonica*)?

Bomura, L.J. e Nishida, S.M.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivos relacionar o desempenho sexual das codornas japonesas com o canto, nos machos. Foi determinado o perfil de comportamento sexual das codornas e foi constatado que os machos apresentam diferenças individuais conspícuas entre os grupos de maus e bons copuladores. Foi descrito também a taxa de vocalização e determinados os parâmetros acústicos, entretanto mostraram-se semelhantes entre os grupos testados, apesar de apresentarem diferenças na estrutura sonográfica. Houve diferenças no índice gonadossomático entre os dois perfis, porém não se mostraram significativos. Não houve correlação entre o desempenho sexual de machos de codorna japonesa e a taxa de vocalização, apesar de uma tendência dos bons copuladores cantarem mais freqüentemente.

Palavras-chave: comportamento sexual, vocalização; codornas japonesas, *Coturnix japonica*

INTRODUÇÃO

Os organismos estão constantemente sofrendo pressões do meio onde vivem e, ao longo dos tempos, somente os indivíduos adaptados sobrevivem e deixam descendentes (Darwin, 1859). O conceito de adaptação leva em seu bojo a idéia de que não basta um organismo sobreviver às intempéries, é necessário reproduzir os seus genes direta ou indiretamente às futuras gerações (Dawkins, 1975).

Além do sucesso reprodutivo os caracteres que conferem vantagens à descendência, em longo prazo, através das gerações se acumulam em frequência na constituição corporal e funcional dos seres vivos. Qualquer atributo físico ou mudanças comportamentais que aumentem as chances de sucesso reprodutivo são favorecidos pela seleção sexual (Gould & Gould, 1996).

Machos e fêmeas produzem dois tipos diferentes de gametas. O macho produz pequenos espermatozóides em grande quantidade, munidos de apenas seu material genético e energia para alcançar o óvulo. A fêmea produz número restrito de ovos, quase imóveis, grandes e que requerem muita energia para serem formados e mantidos (Alcock, 2005; Trivers, 1972). Deste modo, machos e fêmeas usam diferentes estratégias de reprodução. A contribuição do macho para com a próxima geração depende diretamente em quantas parceiras conseguir fertilizar. Por outro lado, as fêmeas possuem número restrito de ovos, custosos metabolicamente; assim precisam de mais recursos, cuidados e tempo investidos para o sucesso da prole, tendendo serem mais cuidadosas na escolha de um parceiro. Assim, machos precisam competir com rivais pelas fêmeas receptivas (Alcock, 2005; Gould & Gould, 1996).

Todo o gasto de tempo e energia investido no cuidado da prole é denominado investimento parental e, quando o cuidado da prole recai em apenas um dos pais (geralmente a fêmea), essa tarefa acaba limitando a quantidade de filhotes (Trivers, 1972; Reynolds, 1996; Alcock, 2005).

A maioria das aves (cerca de 9 mil espécies) é socialmente monogâmica (92%), mas ocorrem paralelamente, outros sistemas sociais de reprodução como a poliginia, poliandria e promiscuidade (Reynolds, 1996; Lack, 1968). Nas aves, a monogamia se torna viável quando o macho permanece com a fêmea e o vínculo pode durar até algumas estações reprodutivas ou chegar a ser permanente, dependendo da espécie. Os evolucionistas acreditam que estas relações foram favorecidas pela possibilidade de assistência paterna no cuidado da prole, o que aumenta significativamente a sobrevivência dela e, associado ao comportamento de guardar a fêmea, aumentam a certeza da paternidade e sucesso reprodutivo, especialmente entre as aves cuja

proporção de machos sexualmente ativos é maior do que de fêmeas (Moller & Cuervo, 2000, Gould & Gould, 1996).

No entanto, com o advento das técnicas genéticas que testam a paternidade (Burke & Bruford, 1987), várias espécies de aves, consideradas tradicionalmente monogâmicas, apresentam proles com paternidade múltipla decorrentes de cópulas extra-par dentro do mesmo período fértil. (Birkhead, 1998; Jennions & Petrie, 2000; Birkhead & Pizzari, 2002; Westneat & Stewart, 2003).

A teoria do investimento parental prevê que o comportamento poligínico dos machos os conduz a acasalamentos adicionais, resultando em um maior número de descendentes. Entretanto, a poliginia apresenta riscos como: maior exposição às doenças infecta-contagiosas, redução no tempo de cuidado da prole e de defesa de território (Birkhead & Moller, 1992, Dunn, Whittingham & Pitcher, 2001; Alcock, 2005). Para as fêmeas, a aceitação de mais de um macho resultaria em benefícios diretos (maior garantia de fertilização dos ovos pela compatibilidade espermática e viabilidade genética) e indiretos (acesso a territórios com recursos vitais para a sobrevivência e assistência no cuidado da prole, defesa contra predadores) (Kirkpatrick et al., 1990; Birkhead & Moller, 1992; Alcock, 2005). Como a poliginia, a poliandria também tem o seu preço: a fêmea estaria sujeita às doenças infecto-contagiosas e a retaliações do parceiro sexual que poderá diminuir o cuidado da prole, a defesa anti-predatória ou, simplesmente, abandoná-la (Birkhead and Møller; 1992). Apesar disso, há aves verdadeiramente monogâmicas com vínculos estáveis e até permanentes, comprovados pelas técnicas de DNA *fingerprinter* como o caso dos abruzes-preto (*Coragyps atratus*) e mergulhões (*Aethia psittacula* e *Gavian immer*) (Decker et al., 1993; Mauck, Waite & Parker, 1995; Piper et al., 1997).

As fêmeas que investem diretamente no cuidado da prole e desconsideram os acasalamentos adicionais, tendem a ser mais criteriosas na escolha do parceiro sexual. Uma hipótese é que os indicadores masculinos estão associados às características sexuais secundárias morfológicas e comportamentais, revelando o estado de saúde do parceiro, o potencial de atratividade sexual e outros atributos que aumentariam as chances de sobrevivência e o sucesso reprodutivo da prole (Reynolds, 1996; Jennions & Petrie, 2000; Hamilton & Zuk, 1982; Moller, Dufva & Erritzoe, 1998; Uller, Eklof & Andersson, 2005). Vários trabalhos têm mostrado que características sexuais secundárias andrógeno-dependentes divulgam o potencial de atração sexual, de saúde física, de competitividade na inseminação e de fertilização dos óvulos, entre outros. (Hamilton & Zuk, 1982; Owens & Short, 1995; Moller, 1998). As fêmeas parecem levar em consideração estruturas ornamentais (cristas, barbelas e carúnculas), cor e forma da plumagem, padrões de canto, construção de ninhos e outras habilidades comportamentais (Leonard & Zquette, 1998; Moller & Hedenstrom, 1999; Garamszegi, 2005).

Segundo estudos, em diferentes espécies de aves, o sistema social de reprodução está relacionado intrinsecamente à variação dos níveis de testosterona: nos machos monogâmicos, os níveis hormonais têm pico agudo durante o período de disputas territoriais e de exibição do comportamento nupcial, ou seja, precedendo a fase de postura. Nas espécies cujos machos são poligínicos, os níveis de testosterona mantêm-se tonicamente elevados, possibilitando acasalamentos múltiplos (Wingfield 1984; Wingfield & Farner, 1993).

As codornas pertencem à ordem Galliformes que compreende 70 gêneros e mais de 250 espécies. Segundo Howard & Moore (2003), a ordem possui 5 famílias (Megapodiidae, Cracidae, Numididae, Odontophoridae e Phasianidae). Além de ser uma espécie de interesse comercial, a codorna é considerado um bom modelo para o estudo de seleção sexual (Price, 2002).

A subfamília *Perdicina*, que pertence à última família citada, é composta por 9 espécies do gênero *Coturnix* (como as codornas japonesas e as européias). Há controvérsias sobre sua classificação taxonômica da codorna japonesa: uns a consideram uma subespécie da codorna comum ou européia (*Coturnix coturnix*), denominando-a de *C. coturnix japonica* enquanto outros evidenciam serem duas espécies distintas, sendo classificada como *C. japonica* (Millis et al., 1997, Crawford, 1990).

Quanto ao sistema de acasalamento das codornas, os pesquisadores se dividem. Millis et al. (1997) discutem a questão explicando que em ambiente natural há trabalhos que indicam que sejam monogâmicas durante a estação reprodutiva e outras que sejam poligâmicas baseado no dimorfismo da glândula masculina – proporcionalmente maior do que a feminina (Adkins-Regan, 1995) – e evidências de oportunismo de cópulas extra-par da fêmea, preferindo a variedade de parceiros sexuais e descartando a ajuda masculina no cuidado da prole (Gomes 2005; Del Hoyo, 1994).

Há uma linha teórica que defende que o comportamento poliândrico da fêmea favoreceu a competição espermática (Snook, 2005; Westneat & Stewart, 2003) na qual o sistema reprodutivo feminino é capaz de armazenar espermatozoides viáveis de cópulas consecutivas de vários indivíduos por dias (Birkhead, 1998; Gomes, 2005; Adkins-Regan, 1995; Bask, 1993). Deste modo, a competição por parceiras deixa de ser apenas comportamental e passa a ter o fator morfo-fisiológico dos espermatozoides dentro do aparelho genital feminino (Birkhead, 1998; Gomes 2005, Birkhead & Fletcher 1994).

Como exposto anteriormente, características fenotípicas e comportamentais são um apelo à escolha da fêmea por parceiros, inclusive exibições de vocalização. Há muitos trabalhos evidenciando a importância do canto como um campo de estudo rico

para entender melhor o comportamento de aves (Slater, 2002). Esta área tem fascinado estudiosos desde a biologia molecular à ecologia para compreender melhor o papel desta atividade que tanto nos encanta aos ouvidos (Catchpole & Slater, 1995).

Este campo tem evoluído principalmente no uso de duas diferentes técnicas: Nottebohm et al. (1976) foram pioneiros aplicando técnicas de neurobiologia relacionando o canto às áreas de estímulo cerebral e, introduzida por Thorpe (1958), técnicas de sonografia possibilitaram a medição dos sons e posteriormente análises mais refinadas de estruturação do canto (Slater, 2003).

Aparentemente não há grande gasto de energia para este fim (Slater, 2003; Oberweger & Goller 2001, Chappell et al, 1994), mas há tempo gasto e riscos de predação. Entretanto, alguns modelos evolutivos sugerem que nenhum sinal pode conter informações úteis a menos que implique algum custo ao agente emissor (Chappel et al, 1994), deste modo há hipóteses de que o canto pode repelir rivais e atrair fêmeas nas estações reprodutivas (Slater, 2003; Pincemy & Guyomac'h, 2004, Eriksson & Wallis, 1986). Segundo Yasaki et al. (1998), o canto em codornas está diretamente ligado ao nível de testosterona, portanto podendo ter uma relação com o comportamento sexual masculino de corte à fêmea.

Objetivos

Na tentativa de responder a essas perguntas os objetivos desse trabalho foram os de:

- 1) determinar o desempenho sexual das codornas e estabelecer um perfil de desempenho;
- 2) descrever e determinar a taxa de vocalização dos machos e investigar uma possível associação deste parâmetro com o desempenho sexual.
- 3) se forem constatadas diferenças individuais conspícuas no desempenho sexual, verificar se há correlação com o índice gonadossomático.

MATERIAIS E MÉTODOS

As codornas

Foram utilizadas codornas japonesas adultas *Coturnix japonica* (em torno de 40 dias de idade) obtidas de uma granja comercial (Granja Suzuki, São Paulo/ SP) os quais foram adaptados ao ambiente de biotério do Departamento de Fisiologia em gaiolas individuais de manutenção (16 x 24 x 18cm) por 30 dias.

Foram alimentadas com ração comercial para postura (Avespecial Reprodutina) com maior teor de cálcio (3,5 a 4,0%) e menor de proteína bruta (20 a 22 %). O ambiente de criação teve a temperatura regulada entre 20° e 25°C, com fotoperíodo de 14 horas de luz (acendendo das 6:00h às 20:00h) e o ar sendo renovado a cada 30 minutos por meio de um exaustor controlado automaticamente.

Delineamento experimental (Figura 01)

Durante o período de aclimatização, o conjunto de fêmeas que não apresentaram postura regular, ou a postura de um ovo por dia foi descartado, assim como os machos que não apresentaram glândulas cloacais funcionantes. Em seguida, os animais triados foram pareados ao acaso por 15 minutos e tiveram a primeira experiência de interação sexual. Todos os testes de comportamento sexual foram realizados no período da manhã (9 às 11h).

Os animais que não se acasalaram na primeira tentativa também foram descartados. Após mais 15 dias, os casais remanescentes foram submetidos a uma segunda seção de acasalamento para a identificação de dois perfis de desempenhos sexuais: bons e maus copuladores, descartando os de desempenho intermediário. Os maus copuladores (MC) efetivaram de 0 a 1 cópula/sessão e de bons copuladores (BC), os que atingiram desempenhos acima de 3 cópulas/sessão.

Como em qualquer interação a ação de um influencia reciprocamente a do outro, utilizamos apenas fêmeas com postura regular e que também apresentasse alta receptividade sexual, descartando as que apresentavam resistência às investidas sexuais masculinas (Ikegami, 2002).

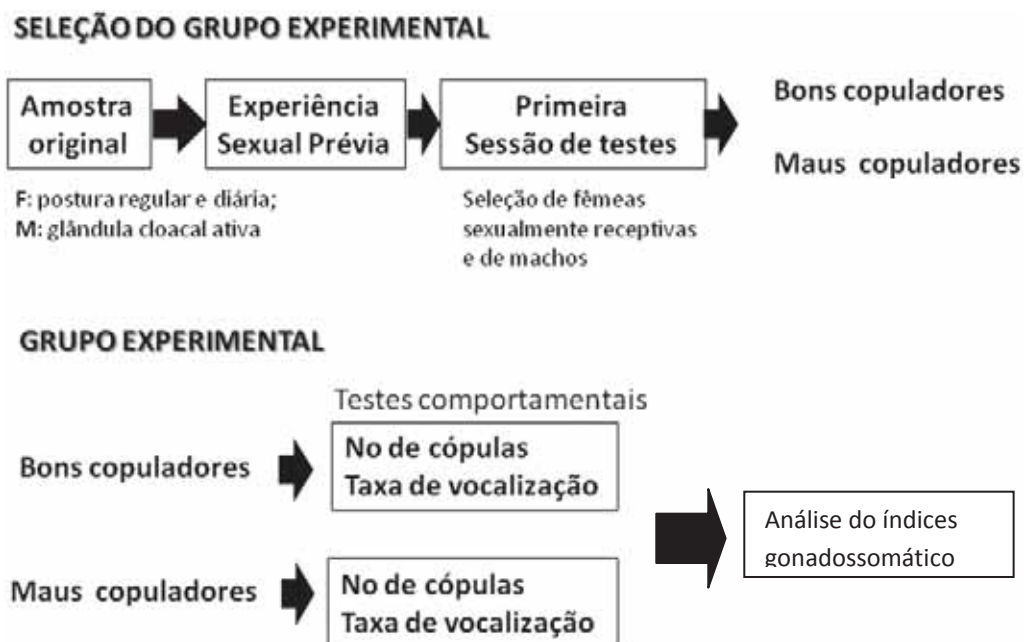


Figura 01. Esquema geral do delineamento experimental

Avaliação do comportamento sexual da codorna

Utilizou-se uma caixa de amianto (dimensões 16 x 24 x 18 cm) com a parede anterior de vidro para a visualização do comportamento sexual. A caixa possuía uma tampa de tela removível e uma divisória de vidro separando duas metades.

Na fase de pré-teste (1 minuto) macho e fêmea eram colocados separadamente nas duas metades da gaiola de observação, separada pela parede de vidro. Nesta etapa avaliava-se o comportamento masculino pré-copulatório de: orientação visual para a fêmea, ocorrência de batimento cloacal e tentativa de aproximação em direção à fêmea. O teste era iniciado no momento em que a parede de vidro era retirada, durando 5 minutos cada sessão. Neste período anotava-se o número de cópulas efetivadas (contato cloacal) que era confirmada se o macho rufasse as penas após a monta (Gomes 2005; Figura 2). Cada macho realizou 4 sessões de testes para a avaliação do desempenho sexual com intervalo de uma semana e o seu perfil foi determinado em termos do número de cópulas acumuladas ao longo das sessões.

As fêmeas estando sexualmente receptivas, o comportamento sexual da codorna é um evento muito rápido que dura em torno de 10 a 15 segundos, cuja seqüência de eventos é mostrada na Figura 02.

O teste comportamental de toda a amostra foi filmado com o auxílio de uma máquina digital (Sony Cibershot W55) e os arquivos armazenados para posterior análise quantitativa do desempenho sexual.



A) Segurar a fêmea

B) Montar

C) Tombar o corpo

D) contato cloacal (cópula)

Figura 02 Seqüência do comportamento sexual da codorna: a) o macho se aproxima, segura o pescoço da fêmea com o bico; B) monta a fêmea e C) tomba o seu corpo para D) ajustar a sua cloaca à da fêmea estabelecendo o contato cloacal.

Gomes (2005)

Taxa de vocalização e descrição do canto

Os dados de vocalização foram obtidos no intervalo entre os testes de comportamento sexual, totalizado 4 sessões de registro. Utilizou-se um gravador digital (Marantz PMD660) e o próprio microfone interno do aparelho.

No período de atividade vocal foi determinada a taxa de vocalização do grupo de codornas (10 minutos) das 7 até às 8:30h, bem como, a amostragem individual de vozes dos bons e maus copuladores. Os arquivos digitais(.wav) foram descarregados no computador por meio de entrada USB, devidamente catalogados e armazenados. Em seguida, foram processadas em dois programas: Audacity para uma edição inicial e depois, usando o programa Raven Lite 1.0, procedeu-se as análises de freqüência, duração e intensidade dos cantos de atração sexual.

Finalmente, a partir do programa Raven foi possível gerar as imagens dos oscilogramas e sonogramas de cada canto, a partir dos quais foi possível descrever a arquitetura vocal dos machos e, obter informações sobre a duração, a freqüência média e a amplitude do espectro sonoro.

Convencionou-se seguirmos as definições conceituais de bioacústica conforme descrito abaixo:

Sonograma: refere-se à representação gráfica de como se distribui no tempo (segundos) o conjunto de freqüência (Hz) de uma determinada amostra sonora.

Nota: unidade contínua de som que pode ser individualizada no sonograma.

Frase: seqüência geralmente fixa de notas que representa a unidade de repetição do canto.

Trinado: repetição de uma nota de curta duração com curto intervalo de tempo constante entre elas, geralmente no final do canto.

Índice gonadossomático

Ao finalizar a fase de coleta de dados comportamentais os machos foram pesados e sacrificados com uso de gás carbônico e posterior decapitação. Em seguida a cavidade abdominal era exposta para a remoção de ambos os testículos os quais após cuidadosa dissecação, foram pesados e calculados o índice gonadossomático (IGS), ou seja, a relação entre o peso testicular (g) e a massa corporal(g). O IGS foi expresso em porcentagem (%).

RESULTADOS & DISCUSSÃO

Comportamento Sexual das Codornas

A **Figura 03** mostra a distribuição de machos entre os intervalos correspondentes ao número de cópulas efetivas e acumuladas nas 4 sessões de testes. Nesta amostra, selecionamos arbitrariamente, 10 bons copuladores (com mais de 8 cópulas, em verde) e 6 maus copuladores (menos de 4 cópulas, em vermelho), tendo sido descartado o grupo intermediário (salmão).

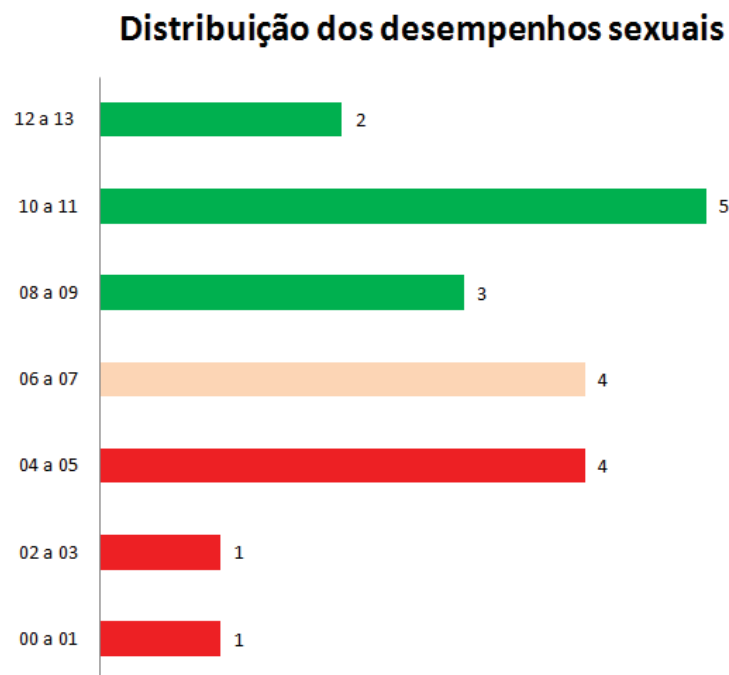


Figura 03. Os números indicam a freqüência de machos nos respectivos intervalos correspondentes ao número acumulado de cópulas.

O teste ANOVA para medidas repetidas revelou que não houve variação no número de cópulas ao longo das 4 sessões de testes ($p = 0.6920$; $F = 0.4886$), indicando que a performance sexual de cada indivíduo foi estável no tempo. Como mostrado na Figura 5A, a comparação do número total de cópulas acumuladas nas 4 sessões entre os bons ($10,2 \pm 1,2$) e maus ($4,5 \pm 2,8$) copuladores encontramos diferenças muito significativas (Teste t não-pareado; $p < 0,001$; $F = 3,162$). Os bons copuladores foram 2,2 vezes melhores que os maus copuladores. Mas quando o número de cópulas foi associado à respectiva taxa de vocalização (Figura 04), não se observou nenhuma correlação (Rank Spearman Correlation, $r = -0.3560$). Ao comparar o desempenho de vocalização, observou-se uma tendência dos bons copuladores vocalizarem mais (Figura 5B) e a apresentar índices gonadossomáticos maiores (Figura 5C).

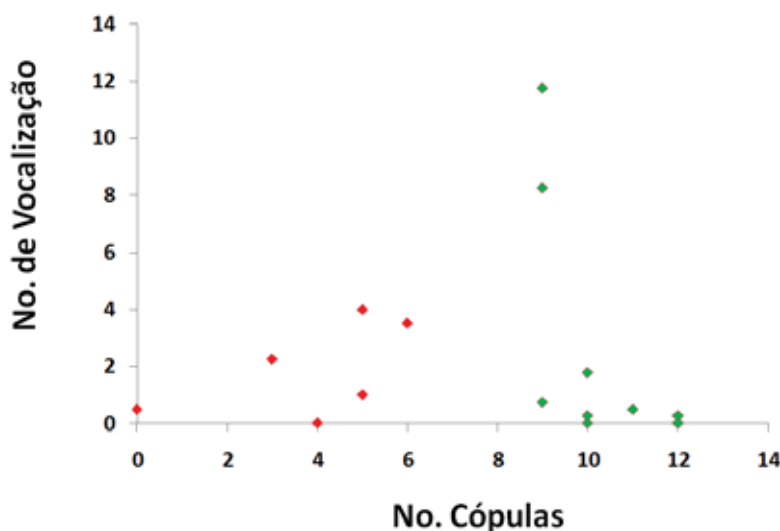


Figura 04. Análise de correlação entre número de vocalização e o de cópulas (Spearman rank correlation; $RS = -0.3560$). Legenda: losangos verdes: bons copuladores e losangos vermelhos: maus copuladores.

Comportamento de vocalização

Em um ciclo de 24 horas, a vocalização típica dos machos concentra-se no período que antecede o acender da luz e se estende pela manhã (9h) e depois, antecede o período de apagar, no final da tarde. (Guyomarc'h & Thibout 1969).

No período de atividade vocal, os machos cantam em coro: um sucedendo o outro distintamente ou com a concomitância de três a quatro indivíduos, com sobreposição de vozes. Numa amostra de 16, três machos (18%) não vocalizaram nas 4 sessões de observação, sendo que dois haviam sido classificados como bons copuladores (M11 e M12).

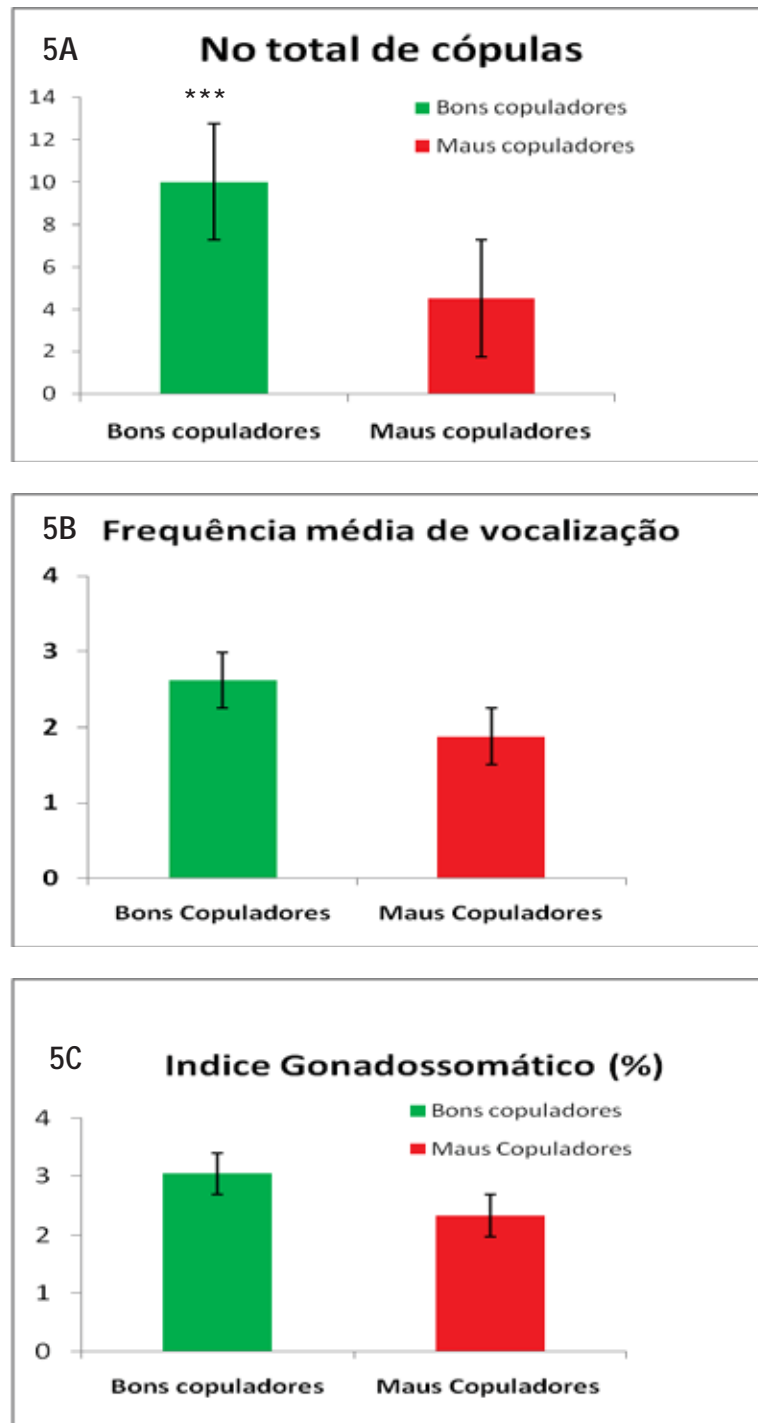


Figura 05. Análise comparativa (Teste t) do número de cópulas, vocalização e índice gonadossômático entre os machos bons e maus copuladores.
 *** ($p < 0,001$; $F = 3,162$)

O coro (Figura 6; A-B) ocorre em períodos que podem variar de 8 a 12 minutos intercalados por períodos de silêncio (Figura 6; C-D). A duração do silêncio varia de 5 a 10 minutos.

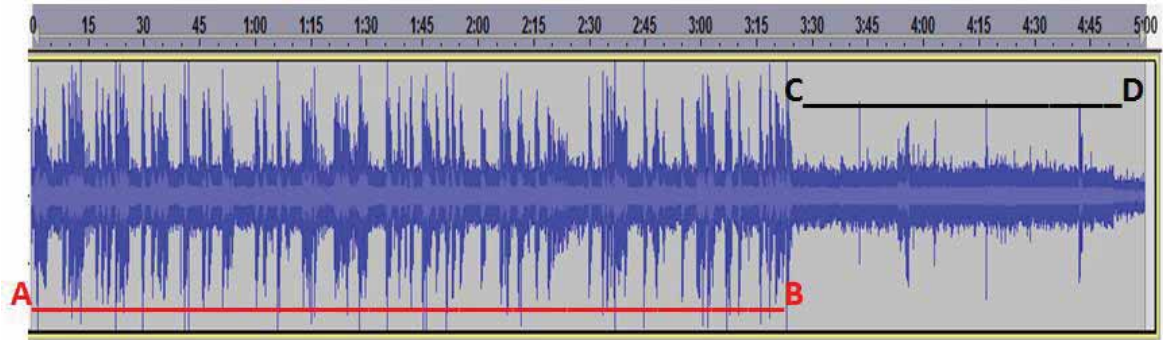


Figura 06. Tela de visualização de uma amostragem de 5 minutos o canto das codornas usando o programa Audacity. A-B: coro de codornas; C-D: intervalo de silêncio.

Um canto individual de atração sexual tem, em média, uma duração de 8 a 10 segundos, sendo composto de duas notas rápidas seguida de uma nota mais longa (Figura 7; M25). O terceiro componente do canto é mais intenso, podendo atingir de 80 a 116 dB.

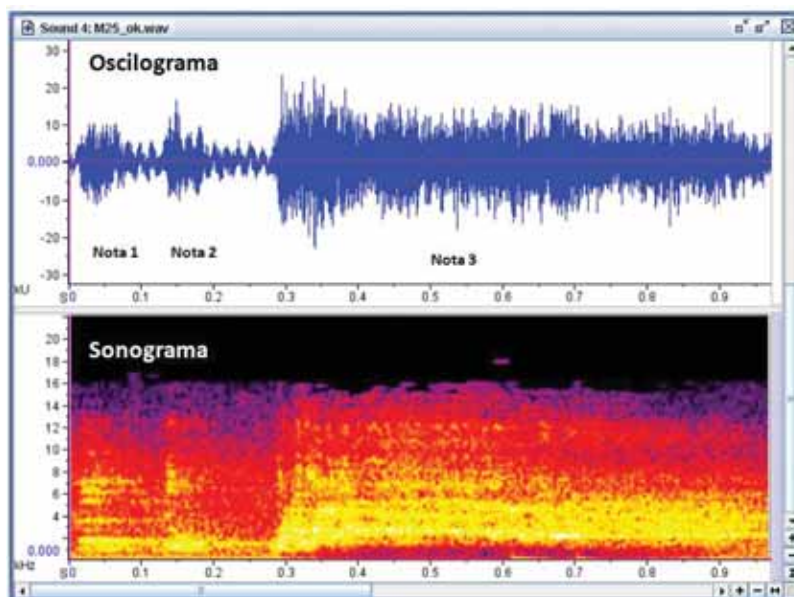


Figura 07. Oscilograma e Sonograma do canto de atração sexual do macho M25 constituído de duas notas curtas uma longa e de grande intensidade.

A emissão vocal é precedida de um movimento ascendente e lento do pescoço que culmina com a abertura do bico e a realização de três movimentos que coincidem com a emissão de cada nota. Quando a vocalização termina, a cabeça alcança o ponto mais alto.

A análise sonográfica dos cantos sobre a duração do canto (segundos), a faixa de frequência (KHz) e a variação da intensidade (dB) resultou na Tabela 01.

Tabela 01: Dados acústicos sobre o canto de atração da codorna

| Parâmetros acústicos | |
|------------------------|-----------------|
| Intensidade | 86 a 117 dB |
| Variação de frequência | 2,5 a 16 KHz |
| Duração | 8 a 12 segundos |

Ao ouvido humano, à primeira vista, os cantos são muito semelhantes, mas com o treino foi possível identificar timbres e ritmos individualizados. Ao longo das sessões não houve variação na estrutura vocal em um mesmo macho, mas como mostra a Figura 08, o sonograma e o oscilograma variam significativamente entre machos bons e maus copuladores. Isso mostra que as codornas machos apresentam assinaturas vocais individualizadas. Ainda que houvesse conspícuas variações nos timbres vocais dos machos bons e maus copuladores, não houve diferenças significativas entre os machos bons e maus copuladores, muito menos eventual correlação entre o número de cópulas e o desempenho na vocalização (Figura 04).

Esses fatos apontam para a necessidade de novos delineamentos experimentais onde fosse previsto a possibilidade de escolha do canto pela própria fêmea, por meio de testes de playback.

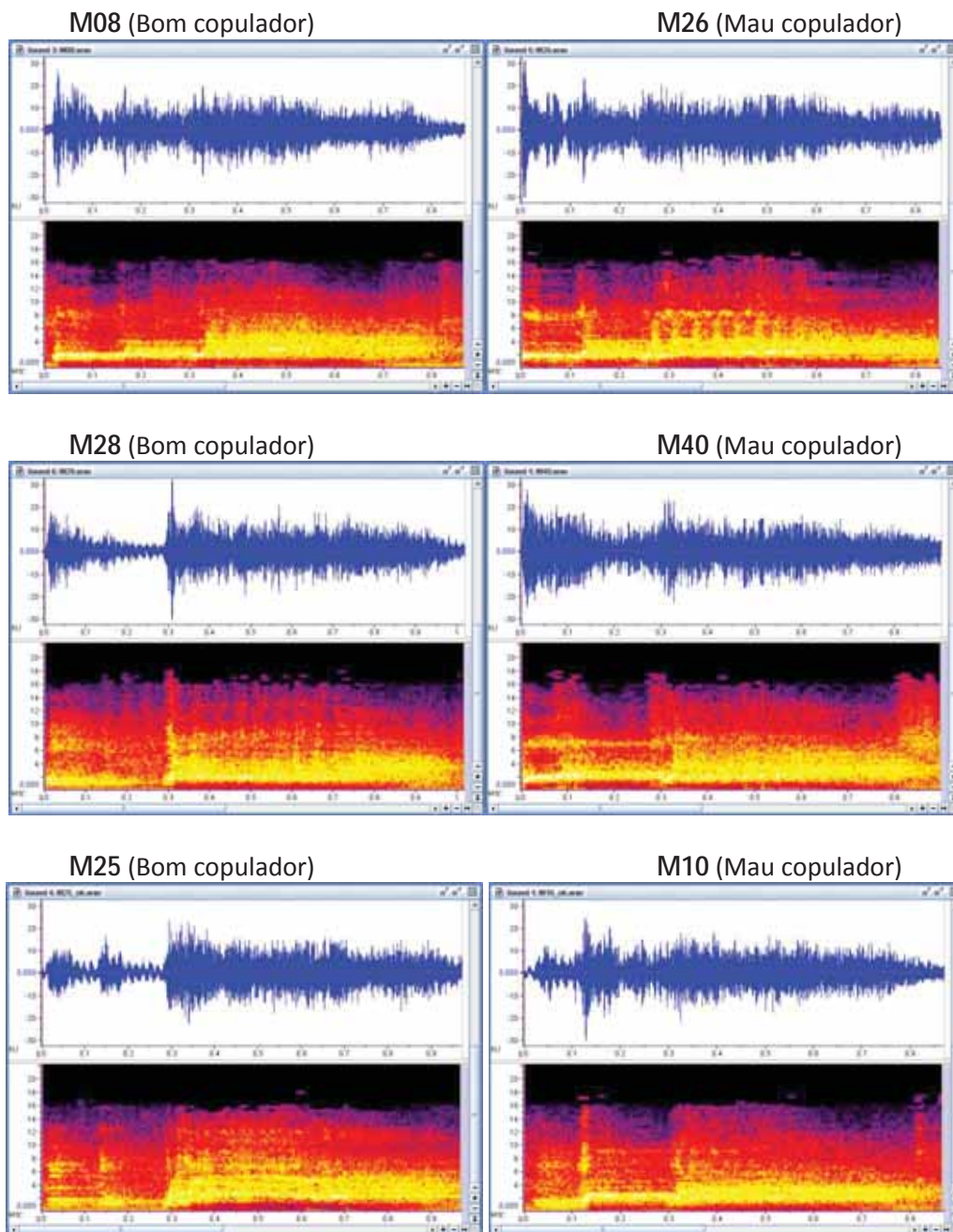


Figura 08. Diferenças individuais na arquitetura do canto das codornas japonesas, reveladas pelos oscilogramas e sonogramas.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos até o presente possibilitam as seguintes conclusões:

- 1) Machos de codornas apresentam conspícuas diferenças individuais no desempenho sexual sendo que é possível encontrar diferenças significativas entre maus e bons copuladores
- 2) Os parâmetros acústicos (duração, freqüência e intensidade) dos cantos são quantitativamente muito semelhantes entre os machos, ainda que seja possível identificar evidentes diferenças de arquitetura dos oscilogramas e sonogramas.
- 3) Não houve correlação entre o desempenho sexual e a taxa de vocalização, ainda que houvesse uma tendência dos bons copuladores cantarem mais freqüentemente. Um teste de preferência por vocalizações masculinas poderá esclarecer se essas diferenças qualitativas afetam a seleção de parceiros sexuais.

BIBLIOGRAFIA

- ADKINS-REGAN, E. Predictors of fertilization in the Japanese quail, *Coturnix japonica*, Animal Behavior, v.50, 1995. p.1405-1415.
- ALCOCK, J., *The Evolution of Reproductive Behavior*, In: Animal Behavior Sinauer Associates, v.8, 2005. p.319-324.
- BAKST, M.R. Oviducal Sperm Storage in Poultry: a Review, Reprod. Fertil. Dev., v.5, 1993. p.595-599.
- BIRKHEAD, T.R. & FLETCHER, F. Sperm storage and the release of sperm from the sperm storage tubules in Japanese Quail *Coturnix japonica*, Ibis, v.136 (1), 1994. p.101-105.
- BIRKHEAD, T.R. Sperm competition in birds. Review of Reproduction, v.3, 1998. p.123-129.
- BIRKHEAD, T.R.; MOLLER, A.P. *Sperm competition in birds: Evolutionary causes and consequences*. London: Academic Press, 1992. 272p.
- BIRKHEAD, T.R.; PIZZARI, T. Evolution of sex: Postcopulatory sexual selection. Nature, v.3, 2002. p.262-273.
- BURCKE, T.; BRUFORD, M.W. DNA fingerprinting in birds. Nature, v.327, 1987. p.149-152.
- CATCHPOLE C.K.; SLATER, P.J.B. *Introduction*. In: Birds Songs: Biological and themes and variations, v.1, 1995. p.1-10.
- CHAPPELL, M.A.; ZUK, M.; KWAN, T.H.; JONHSEN ,T.S. Energy cost of an avian vocal display: crowing in red junglefowl, Animal Behavior, v.49, 1995. p.255-251.
- DARWIN, C.R. *Struggle for the Existence* In: The origin of the species: by means of Natural Selection , London, John Murray, Albermaley Street. 1859. p.86-109.
- DAWKINS, R. *The sex war*. In: The selfish gene. Oxford University Press, v.30, 1975. p.252-290.
- DECKER, M.D.; PARKER, P.G.; MINCHELLA, D.J.; RABENOLD, K.N. *Monogamy in black vultures: genetic evidence from DNA fingerprinting*. Behavioral Ecology, v.4 (1), 1993. p.29-35.
- DEL HOYO, J. *Handbook of the birds of the world*, v.2, Ed. Barcelona, Lynux, 1994. 638p.
- DUNN, P.O.; WHITTINGHAM, L.A.; PITCHER, T.E. *Mating systems, sperm competition, and the evolution of sexual dimorphism in birds*. Evolution, v.55 (1), 2001. p.161-175.

- ERIKSSON, D.; WALLIN, L. **Male bird song attracts females- a field experiment.** Behavioral Ecology Sociobiology, v.19,1986. p.297-299.
- GARAMSZEGI, L.Z. **Bird song and parasites.** Behav. Ecol. Sociobiol., v.59, 2005. p.167-180
- GOMES, M.L., **Comportamento poliândrico de codornas japonesas (*Coturnix japonica*).** Monografia de conclusão de curso, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.
- GOULD, J.L.; GOULD, C.G., **The Paradox of Sex.** In: Sexual Selection – Mate choice and Courtship in nature. Scientific American Library, 1989. p.1-15.
- GOULD, J.L.; GOULD, C.G., **Territory and Hierarchies** In: Sexual Selection – Mate choice and Courtship in nature. Scientific American Library, 1989. p.138-169.
- GUYOMAC'H, J.C.; THIBOUT, E. **Rythmes et cycles dans l'émission du chant chez la Caille japonaise (*Coturnix c. japonica*).** Rev. Comp. Anim. v.3, 1969. p.37–49.
- HAMILTON, W.D.; ZUK, M. **Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites?** Science, v.218 (570), 1982. p.384–387.
- IKEGAMI, R. **A fase final do jejum de curto prazo reduz o desempenho reprodutivo de codornas machos (*Coturnix coturnix japonica*).** Monografia de conclusão de curso, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.
- JENNIONS, M.D.; PETRIE, M. **Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits.** United Kingdom, Biol. Rev., v.75, 2000. p.21-64.
- KIRKPATRICK, M.; PRINCE, T.; ARNOLD, S.J. **The Darwin-Fisher theory of sexual selection in monogamous birds.** Evolution, v.44 (1), 1990. p.180-193.
- LACK, D.L. **Ecological adaptations for breeding in birds,** Chapman and Hall, 1968. p.422.
- LEONARD, M.L.; ZANETTE, L. **Female mate choice and male behaviour in domestic fowl.** Animal Behaviour, v.56, 1998. p.1099-1105.
- MAUCK, R.A.; WAITE, T.A.; PARKER, P.G. **Monogamy in leach's storm-petrel: DNA-fingerprinting evidence.** The Auk, v.112 (2), 1995. p.473-482.
- MOLLER, A.P.; DUFVA, R.; ERRITZOE, J. **Host immune function and sexual selection in birds.** J. Evol. Biol., v.11, 1998. p.703-719.
- MOLLER, A.P.; HEDENSTRÖM, A. **Comparative evidence for costs of secondary characters: adaptive vaned emargination of ornamented feathers in birds.** Journal of Evolutionary Biology, v.12 (2), 1999. p.296-305.
- MOLLER, A.P.; CUERVO, J. J. **The evolution of paternity and paternal care in birds.** Behavioral Ecology., v.11 (5), 2000. p.472-485.

- MILLIS, A.D., CRAWFORD, L.L., DOMJAN, M.; FAURE, J.M. **The Behavior of the Japanese or Domestic Quail *Coturnix japonica***. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v.21 (3), 1997. p.261-281.
- OBERWEGER, K.; GOLLER, F. **The metabolic cost of birdsong production**. *Journal of Experimental Biology*, v.204, 2001. p.3379–3385.
- OWENS, I.P.F.; SHORT, R.V. **Hormonal basis of sexual dimorphism in birds: implications for new theories of sexual selection**. *Trends in Ecology & Evolution*. v.10 (1), 1995. p.44-47.
- PIPER, W.H.; EVERS, D.C.; MEYER, M.W.; TISCHLER, K.B.; KAPLAN, J.D.; FLEISCHER, R. C. **Genetic monogamy in the common loon (*Gavia immer*)**. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, v.41, 1997. p.25-31.
- PINCEMY, G.; GUYOMAC'H, C. **Inter-individual variability during morning choruses in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*)**. *CR Biology*, v.328, 2005. p.97-104.
- PRINCE, T.D. **Domesticated birds as model for the genetics of speciation by sexual selection**. *Genetics*, v.116, 2002. p.311-327.
- REYNOLDS, J. D. **Animal breeding systems**. *TREE*, 1996. p.68-72.
- SLATER, P.J.B. **Fifty years of bird song research: A case study in animal behaviour**. *Animal Behaviour*, v.65, 2003. p.633–639.
- SNOOK, R.R. **Sperm in competition: not playing by the numbers**. *Trends in Ecology and Evolution* v.20 (1), 2005. p.46-53.
- TRIVERS, RL. **Parental investment and sexual selection**. *Sexual selection and the descent of man*, Chicago: Ed. B. Campbell, Adline, 1972. p.136-207.
- ULLER, T.; EKLÖF, J.; ANDERSSON, S. **Female egg investment in relation to male sexual traits and the potential for transgenerational effects in sexual selection**. *Behav. Ecol. Sociobiol*, v.57, 2005. p.584-590.
- WESTNEAT, D. F.; STEWART, I.R.K. **Extra-pair paternity in Birds: causes, correlates, and conflict**. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, v.34, 2003. p.365-396.
- WINGFIELD, J. **Androgens and mating systems: Testosterone-induces polygin in normally monogamous birds**. *The Alk* v.101(4), 1984. p.665-671.
- WINGFIELD, J.; FARNER, D. **Reproductive endocrinology of wild species**. *Avian biology*,. New York: Academic Press, v.9, 1993. p.163-327.
- YAZAKI, Y; MATSUSHIMA, T.; AOKI, K. **Testosterone modulates stimulation-induced calling behavior in Japanese quails**. *J. Comp. Physiol. A.*, v.194, 1999. p.13-19.

PARTE II – Atividades técnicas aprendidas e desenvolvidas durante o estágio.

A) COLETA E ANÁLISE ESPERMÁTICA

Correlacionar o desempenho sexual do macho (número de cópulas e sucesso de fecundação) com a qualidade espermática é um desafio que encontramos neste estudo.

Yamato et al. (2007)¹ foi o primeiro a padronizar uma técnica de coleta de sêmen a necessidade de sacrificar o macho e sem provocar o estresse físico da massagem abdominal. A amostra de sêmen era obtida permitindo-se a fêmea copular com o macho e em seguida, recolher o sêmen da cloaca feminina como mostra a seqüência de fotos abaixo.

Por meio de uma leve compressão da cloaca feminina recém-inseminada (Figura 01), o material expelido foi transferido em um tubo previamente aquecido a 40°C e contendo meio de cultura (solução isotônica e isosmótica ao sêmen). O material coletado foi armazenado em estufa até o momento da preparação do esfregaço.



Figura 01 Coleta de amostra de sêmen após a cópula, diretamente da cloaca feminina.

Para fazer o esfregaço, uma gota de 5 uL foi depositada com pipeta automática sobre uma lâmina limpa. Com outra lâmina, realizava o esfregaço e o material era deixado para secar ao ar livre. Em seguida, cada lâmina foi fixada, com uma solução de

¹ YAMATO, F. RUBIO, EM; GOMES, MAB, GOMES, MR, WASKO, A. & NISHIDA, SM. Estudos sobre o sêmen de codornas japonesas. // II Congresso Brasileiro de Coturnicultura, Lavras, MG.

formalina a 5% e depois catalogada e armazenada para posterior análise em microscópio. Para a análise morfológica dos espermatozoides fixados nas lâminas permanentes foi utilizado um microscópio DMLB (Leica) com câmera acoplada de forma que possibilitou os registros fotográficos no Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências do Laboratório do Prof. Dr. Reinaldo José da Silva.

Com software Leica Qwin Lite 3.1 foi possível examinar a lâmina sem a necessidade de visualização pela objetivas, podendo ter o conforto de fazê-las pelo computador integrado, escolher a imagem mais interessante e obter o registro permanente (Figura 02).

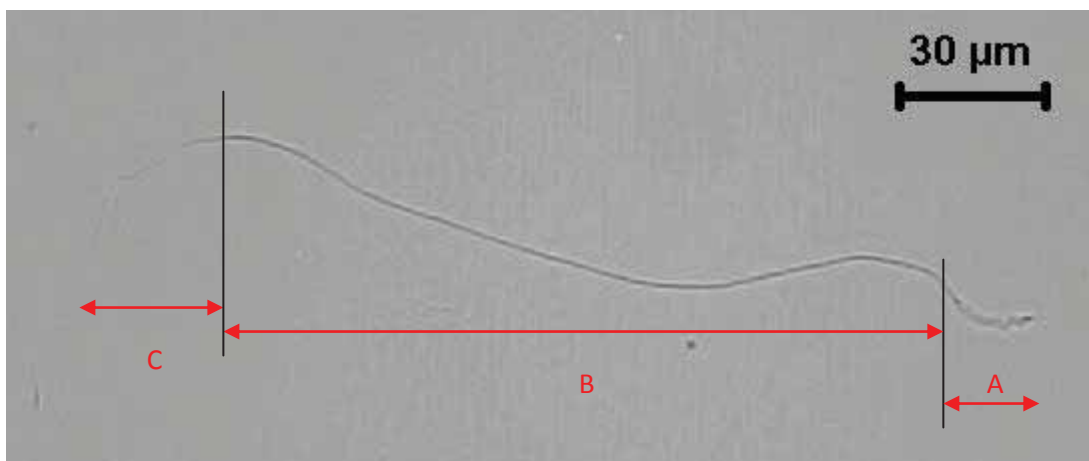


Figura 02. Registro fotográfico de um espermatozoide de um macho. A: comprimento da cabeça, B: comprimento da peça intermediária e C: comprimento da cauda em micrômetros (μm).

Para cada macho, padronizou-se uma amostra de 20 espermatozoides para caracterizar o perfil espermático contendo as três partes (cabeça, peça intermediária e cauda) claramente definidas. O programa dispõe de ferramentas que pondera o aumento da objetiva utilizada quando a foto digital foi produzida. Com o arquivo visualizado no monitor, é possível marcar um ponto de partida, percorrer o contorno do objeto, finalizá-lo e obter o comprimento total do segmento em micrometros. A Figura 3 mostra o momento da marcação da peça intermediária.

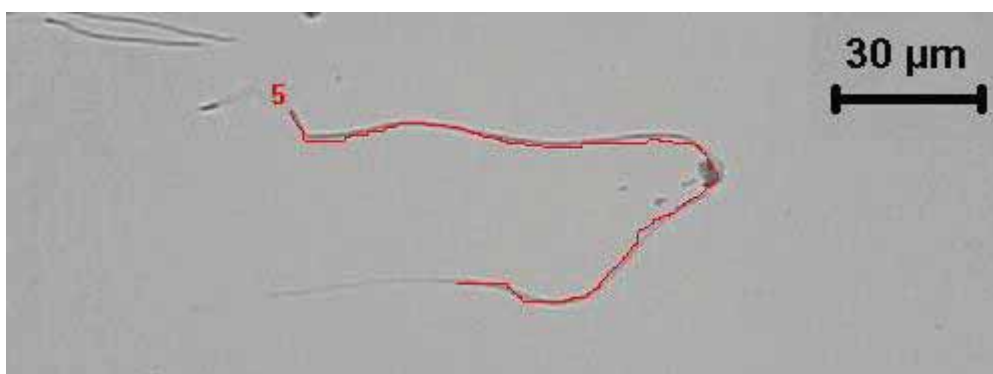


Figura 03. Exemplo de medição da peça intermediária (5). Todo seu comprimento era traçado de modo que pudesse ser registrado a medida mais fiel do seu real comprimento (μm).

A tabela 01 mostra os dados morfométricos dos espermatozoides coletados de 32 animais que estão de fase análise final.

Tabela 01. Média da dimensão de vinte espermatozoides de cada macho em micrômetros (μm).

| | Valores médios de 20 espermatozoides (μm) | | | |
|---------------|--|--------------------|-------------|-------------------|
| | Cabeça | Peça intermediária | Cauda | Comprimento Total |
| M1 | 26,8 | 182,1 | 30,6 | 239,5 |
| M2 | 26,1 | 177,4 | 42,0 | 245,5 |
| M3 | 27,0 | 161,7 | 50,6 | 239,3 |
| M4 | 27,9 | 173,3 | 46,8 | 248,0 |
| M5 | 26,6 | 170,6 | 13,2 | 210,4 |
| M6 | 27,0 | 165,4 | 48,2 | 240,5 |
| M7 | 27,6 | 162,3 | 42,4 | 232,4 |
| M8 | 28,6 | 153,4 | 44,3 | 226,3 |
| M9 | 29,6 | 170,6 | 39,8 | 240,0 |
| M10 | 25,6 | 151,8 | 39,5 | 217,0 |
| M11 | 25,0 | 169,0 | 52,6 | 246,6 |
| M12 | 28,7 | 179,6 | 38,0 | 246,2 |
| M13 | 27,6 | 181,7 | 41,1 | 250,4 |
| M14 | 25,7 | 174,7 | 39,1 | 239,6 |
| M15 | 24,4 | 172,8 | 45,9 | 243,1 |
| M16 | 24,6 | 171,6 | 42,2 | 238,5 |
| M17 | 26,2 | 183,9 | 36,6 | 246,8 |
| M18 | 29,4 | 171,9 | 32,0 | 233,3 |
| M19 | 25,8 | 177,6 | 37,4 | 240,8 |
| M20 | 28,4 | 170,0 | 40,1 | 238,5 |
| M21 | 27,4 | 180,0 | 39,6 | 247,0 |
| M22 | 25,4 | 166,6 | 29,1 | 221,1 |
| M23 | 40,8 | 168,1 | 47,2 | 256,1 |
| M24 | 32,4 | 175,6 | 54,3 | 262,4 |
| M25 | 29,6 | 168,8 | 44,9 | 243,4 |
| M26 | 25,8 | 170,4 | 44,5 | 240,7 |
| M27 | 24,4 | 154,8 | 36,1 | 215,3 |
| M28 | 26,6 | 161,3 | 40,7 | 228,6 |
| M29X | 32,2 | 172,6 | 41,3 | 246,2 |
| M34 | 27,5 | 175,5 | 44,0 | 246,9 |
| M35 | 30,1 | 161,5 | 41,4 | 232,9 |
| M36 | 27,2 | 161,9 | 41,8 | 230,8 |
| Média | 27,8 | 169,9 | 40,9 | 238,6 |
| Desvio | 3,1 | 8,3 | 7,6 | 11,5 |

B) DISSECAÇÃO DO TRATO REPRODUTIVO MASCULINO

Outro treinamento técnico foi a obtenção do índice gonadossomático (IGS), ou seja, calcular o peso gonadal corrigido pela massa corporal. $(IGS = (\text{peso da gônada}/\text{peso corporal}) * 100$.

Como as gônadas das aves ficam situadas dentro da cavidade abdominal há necessidade de eutanasiar os animais. Para isso, foi utilizada a câmara de dióxido de carbono, seguido de decapitação. Os indivíduos foram posicionados em "camas" de madeira, em decúbito dorsal. As asas foram encaixadas em aparatos com elástico para que ficassem bem fixadas para o manuseio. Com uma tesoura reta, a cavidade abdominal foi aberta bilateralmente, partindo-se do esterno. Um gancho mantinha a parede torácica anterior tracionada para trás e assim expondo melhor os órgãos internos abdominais. Após a remoção do deslocamento do trato gastro-intestinal era fácil identificar as duas gônadas masculinas (Figura 04) e retirou-as, alocando-as em papel filtro absorvente. Imediatamente, as gônadas eram delicadamente dissecadas, retirando-se o tecido conjuntivo adjacente sem perfurar a gônada e evitando-se que não se ressecassem. Os órgãos foram transportados a uma folha de alumínio para pesagem em uma balança de precisão do Laboratório do Prof. Dr. Fernando Ribeiro Gomes do Depto de Fisiologia.

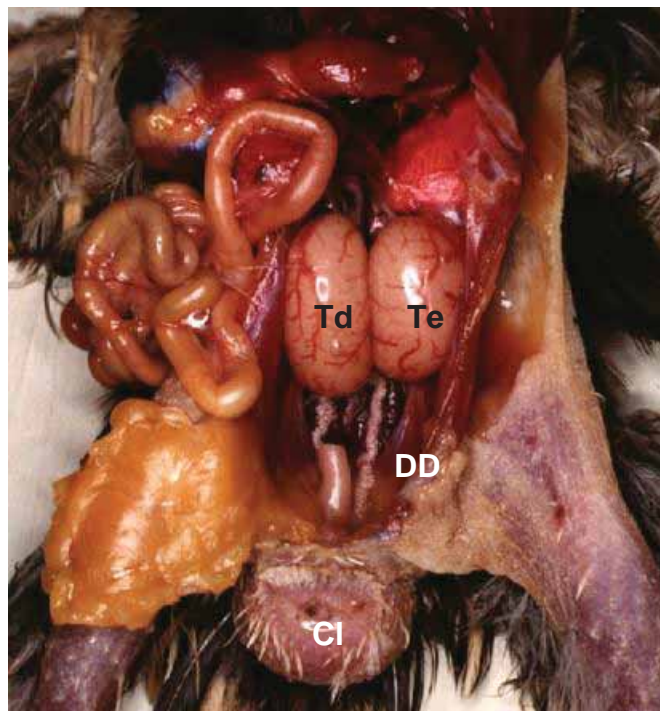


Figura 03. Anatomia reprodutiva masculina. Td e Te: testículos direito e esquerdo, respectivamente. DD: ductos deferentes e C: cloaca; Cl: glândula cloacal.