

ANTONIO AUGUSTO NASCIMENTO MACHADO JÚNIOR

**POTENCIAL REPRODUTIVO DE CAPRINOS COM ESCROTO BIPARTIDO:
AVALIAÇÃO DO PROCESSO ESPERMATOGÊNICO EM ANIMAIS CRIADOS NO
ESTADO DO PIAUÍ, BRASIL**

Teresina
PiauÍ - Brasil
2009

ANTONIO AUGUSTO NASCIMENTO MACHADO JÚNIOR

**POTENCIAL REPRODUTIVO DE CAPRINOS COM ESCROTO BIPARTIDO:
AVALIAÇÃO DO PROCESSO ESPERMATOGÊNICO EM ANIMAIS CRIADOS NO
ESTADO DO PIAUÍ, BRASIL**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí,
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Sanidade e Reprodução
Animal.

Orientadora: **Profa. Dra. Maria Acelina Martins de Carvalho**

Co-orientador: **Prof. Dr. Antonio Chaves de Assis Neto**

Teresina
Piauí - Brasil
2009

**POTENCIAL REPRODUTIVO DE CAPRINOS COM ESCROTO BIPARTIDO:
AVALIAÇÃO DO PROCESSO ESPERMATOGÊNICO EM ANIMAIS CRIADOS NO
ESTADO DO PIAUÍ, BRASIL**

Tese defendida por:

ANTONIO AUGUSTO NASCIMENTO MACHADO JÚNIOR

Aprovado em: ___/___/___

BANCA EXMINADORA:

Profa. Dra. Alana Lislea de Sousa
Centro de Ciência Agrárias
Universidade Estadual do Maranhão

Profa. Dra. Maria Angélica Miglino
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Ney Rômulo de Oliveira Paula
Campus Profa Cinobelina Elvas
Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Antonio Chaves de Assis Neto
Faculdade de Zootecnia
Universidade Estadual Paulista

Profa. Dra. Maria Acelina Martins de Carvalho
Centro de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Piauí

Dedico,

Aos meus Pais, Antonio Augusto Nascimento Machado e Maria Clélia Falcão Machado e à minha avó Raimunda Nascimento Machado “Dona Didica”, pelo empenho em me fornecer o que eu precisei para executar minha caminhada, desde os primeiros passos até a finalização de mais essa construção.

Homenagem especial,

À minha esposa, Felicianna Clara Fonseca Machado pela coragem, companheirismo e, principalmente, amor ao longo dessa caminhada, não fraquejando em alicerçar nossa família na minha ausência, durante a execução do meu doutoramento.

Às minhas amadas e maravilhosas filhas Anna Calia Fonseca Machado e Maria Alice Fonseca Machado que, mesmo sem entenderem direito o motivo da minha constante ausência, deram-me muita alegria e amor nos momentos de descanso, combustíveis esses que me fizeram andar rapidamente para finalizar esse trabalho e voltar para casa.

AMO MUITO VOCÊS!

Agradecimento especial,

À minha orientadora, Dra Maria Acelina Martins de Carvalho, pela confiança depositada quando do meu ingresso na UFPI para realização do mestrado e oportunidade de desfrutar dos seus valiosos ensinamentos científicos, durante o doutorado, os quais foram fundamentais para que eu compreendesse o que era ciência e como eu poderia me fazer valer dignamente dela.

AGRADECIMENTOS,

A Deus e São José de Ribamar pelo apoio e conforto espiritual sempre que a caminhada se mostrava interminável e por me mostrarem que estavam sempre guiando meus passos.

A Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) pela minha graduação, alicerce para a construção da minha vida profissional.

A Universidade Federal do Piauí (UFPI) por ter me acolhido tão calorosamente permitindo que eu realizasse toda a minha pós-graduação e pudesse realizar meu sonho de ser professor.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado e auxílio financeiro para compra de materiais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro para aquisição dos materiais para a realização deste trabalho.

Ao Reitor da UFPI, Prof. Dr. Luiz de Sousa Santos Júnior, pelo apoio para que eu pudesse concluir minhas atividades experimentais.

Ao diretor do Campus Profa Cinobelina Elvas, Prof. Dr. José Lindenberg Rocha Sarmiento (UFPI), pela amizade e compreensão durante as atividades práticas desta tese.

À Profa. Dra. Alana Lislea de Sousa (UEMA) por ter me apresentado à pesquisa e ter me encorajado a me qualificar.

Ao Prof. Dr. Antonio Chaves de Assis Neto (Universidade Estadual Paulista), que tão gentilmente aceitou me co-orientar contribuindo, assim, para uma caminhada mais suave.

À Profa. Dra. Maria Angélica Miglino (Universidade de São Paulo), que generosamente permitiu a utilização das instalações do Programa de Pós-graduação em Animais Domésticos e Silvestres para preparação e análise do material para microscopia eletrônica.

À Profa. Dra. Ana Lúcia Abre Silva (UEMA), que foi importante no início dos trabalhos práticos desta tese, contribuindo para definição da técnica mais adequada para processamento do material para microscopia de luz.

Aos Profs. Drs. Deiler Sampaio Costa e Marcelo de Castro Leal (Universidade Federal Minas Gerais), pelas valiosas contribuições durante os meus estudos para compreender a espermatogênese.

Aos Profs. Drs. Rudolf Leiser (Giessen-Alemanha) e Paula de Carvalho Papa (USP) pelas sugestões feitas quando da elaboração do projeto de tese.

Ao Prof. Dr. Francisco Assis Lima Costa (UFPI), pelo brilhante trabalho realizado à frente do PPG em Ciência Animal.

À técnica do laboratório de microscopia eletrônica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP Sandra Freiburger, pelo auxílio no processamento e leitura do material para microscopia eletrônica.

Ao Prof. Dr. Flávio Ribeiro Alves (UFPI) pela amizade e força durante minha estadia em São Paulo.

Ao Prof. Dr. Guilherme José Bolzani de Campos Ferreira (UFPI), por ter colaborado nas minhas disciplinas, facilitando a conclusão desta tese.

Ao Prof. Edson Cavalcanti da Silva Filho (UFPI) pela amizade e ajuda sempre que foi necessário.

À Minha cunhada Claudete dos Santos de Sousa e minha sobrinha Anna Clara de Sousa Pereira, pelo suporte fornecido à minha esposa e filhas durante minha ausência para finalização deste trabalho.

Ao Prof. Danilo José Ayres de Menezes (Universidade Federal Campina Grande), colega de doutorado, e ao Médico Veterinário, Leonardo Sousa Oliveira, pela ajuda durante toda a fase de processamento do material para obtenção dos resultados.

Aos amigos Gustavo Wilson Melo e Bruno Leandro Maranhão Diniz, pela harmônica convivência durante o tempo que estive executando o experimento desta tese.

Aos colegas de pós-graduação, que ingressaram junto comigo na primeira turma de doutorado institucional da UFPI em março de 2006.

Aos colegas do grupo da morfologia, Danilo José Ayres de Menezes, Airton Mendes Conde Júnior, Eunice Anita de Moura Fortes, Máira Ferraz, Francisco da Chagas Araújo,

Hatawa Melo Almeida, “tropa de elite da Profa. Acelina”, pelo harmonioso convívio ao longo de todo o período de execução deste doutoramento.

Aos professores do Doutorado da UFPI, Maria Acelina Martins de Carvalho, Miguel Ferreira Cavalcanti Filho, João Batista Lopes, Luiz Evaldo, Daniele Maria Azevedo, Amilton Paulo Raposo Costa, Carlos Henrique Nery Costa, Ana Maria Quessada, Ivan Sampaio, pelos conhecimentos transmitidos ao longo das disciplinas ministradas.

Ao funcionário do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Luiz Lugosa, por sua presteza sempre que solicitado.

Aos funcionários da Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Silmar, Leandro, Paulo, Dino e demais colegas, pela ajuda sempre que solicitados.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esse trabalho pudesse ser concluído.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xiv
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT	xvii
INTRODUÇÃO	18
CAPÍTULO I	26
CAPÍTULO II.....	42
CAPÍTULO III	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I

Figura 1. Fotomicrografia dos testículos de caprinos do grupo I em corte transversal. Evidenciam-se os estádios 1 (A), 2 (B), 3 (C) e 4 (D) do ciclo do epitélio seminífero. Notam-se espermatogônias (E), espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno (PL), zigóteno (Z), paquíteno (P), e diplóteno (D), espermatócitos secundários (II), espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al), núcleos de células de Sertoli (CS) e figuras de divisão meiótica (M), em associações celulares características. Coloração HE, Bar. 50 µm 34

Figura 2. Fotomicrografia dos testículos de caprinos do grupo III em corte transversal. Verificam-se os estádios 5 (A), 6 (B), 7 (C) e 8 (D). Notam-se espermatogônias (E), espermatócitos primários em zigóteno (Z) e paquíteno (P), espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al), núcleos de células de Sertoli (CS) e corpos residuais (Cr), em associações celulares características. Coloração HE, Bar. 50 µm..... 35

CAPÍTULO II

Figura 1. Fotomicrografia de uma secção transversal de testículo de caprino do grupo II. Evidenciam-se as células constituintes do estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, espermatogônia (A), espermatócito primário em paquíteno (P); espermátides arredondadas (Ar) e células de Sertoli (CS). Bar. 50 µm..... 50

Figura 2. Eletromicrografia de varredura das células de Sertoli. Evidenciam-se os processos celulares em forma de folha (PF), com suas margens finas e simples, envolvendo as células germinativas. Bar. 2 µm 52

Figura 3. Eletromicrografia de varredura das células de Sertoli. Evidenciam-se os processos celulares em forma de finas cordas (FC), envolvendo uma espermatíde alongada (Al) madura em processo final de espermição. Bar. 10 μm 53

CAPÍTULO III

Figura 1. Fotomicrografia dos compartimentos tubular (A) e intersticial (B) dos testículos de caprinos do grupo III. (A) Secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 do ciclo com as células características: Espermatogônias (E), Espermatócitos primários em paquíteno (P), espermatídes arredondadas (Ar) e núcleos de células de Sertoli (S). (B) Compartimento intersticial com seus principais componentes: Células de Leydig (CL), tecido conectivo (TC) e vasos sanguíneos (VS). Coloração Hematoxilina-Eosina. Bar. 50 μm 71

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO I

Tabela 1. Média \pm desvio padrão da frequência relativa (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero de caprinos com escroto bipartido e não bipartido, Teresina – PI, 2009	36
---	----

CAPÍTULO II

Tabela 1. Número corrigido de células germinativas e de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 em caprinos com escroto bipartido e não bipartido, Teresina, 2009	50
---	----

Tabela 2. Rendimento da espermatogênese e eficiência de células de Sertoli em caprinos com escroto bipartido e não bipartido, Teresina, 2009	50
---	----

CAPÍTULO III

Tabela 1. Parâmetros histométricos dos testículos de caprinos com escroto bipartido não bipartido, Teresina - PI, 2009	72
---	----

Tabela 2. Histometria das células de Sertoli e Leydig e produção espermática diária em caprinos com escroto bipartido e não bipartido, Teresina – PI, 2009	73
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
A	Espermatogônias
Al	Espermátides alongadas
Ar	Espermátides arredondadas
Bar	Barra de aumento
CEM	Coeficiente de Eficiência Mitótica
CL	Células de Leydig
Cr	Corpos residuais
CTTS	Comprimento Total dos Túbulos Seminíferos
D	Espermatócito primário em diplóteno
DM	Diâmetro nuclear ou nucleolar médio
ECS	Eficiência das Células de Sertoli
FC	Processos em forma de finas cordas
HE	Hematoxilina-eosina
II	Espermatócito secundário
Kg	Kilograma
M	Molar
m	Figuras de meiose
mL	Mililitros
mm	Milímetro
NTCS	Número Total de Células de Sertoli
P	Espermatócito primário em paquíteno
p	Probabilidade de erro
PED	Produção Espermática Diária
PF	Processos em forma de folha
pH	Potencial hidrogeniônico
PL	Espermatócito primário em pré-leptóteno/leptóteno
R	Diâmetro tubular dividido por 2
R	Correlação estatística
RGE	Rendimento Geral da Espermatogênese

RM	Rendimento Meiótico
S	Células de Sertoli
SNK	Student-Newman-Keuls
TC	Tecido conectivo
VCt	Volume Citoplasmático
VN	Volume Nuclear
VS	Vaso sanguíneo
VTTS	Volume Total dos Túbulos Seminíferos
Z	Espermatócito primário em zigóteno
μm	Micrômetros
μm^3	Micrômetros cúbicos
π	Pi

RESUMO

O processo espermatogênico em caprinos com escroto bipartido foi avaliado por meio da análise morfológica, histométrica e ultraestrutural do testículo, comparando com aqueles caprinos de escroto não bipartido, a fim de caracterizar possível influência da bipartição escrotal sobre o potencial reprodutivo desses animais. Foram utilizados 18 caprinos com idade entre 1 e 1,5 anos, divididos em três grupos de seis animais segundo a configuração escrotal: Grupo I, caprinos com escroto não bipartido; Grupo II, caprinos com escroto bipartido em até 50 % do comprimento testicular; Grupo III, caprinos com bipartição escrotal superior a 50 % do comprimento testicular. Após a colheita, os testículos foram processados com técnica histológica para microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. No epitélio seminífero foram caracterizados os estádios do ciclo do epitélio seminífero, a frequência relativa desses estádios, a proporção volumétrica dos compartimentos tubular e intersticial, diâmetro dos túbulos seminíferos, altura do epitélio seminífero, número de células germinativas e de Sertoli por secção transversal de túbulos, número total de células de Sertoli e de Leydig e estimativa de produção espermática diária dos caprinos. Com a microscopia eletrônica de varredura foi realizado estudo comparativo dos processos das células de Sertoli nos diferentes grupos pesquisados. A estatística consistiu da análise de variância com teste Student-Newman-Keuls e do cálculo do coeficiente de correlação de Pearson, ambos a 5 % de significância. O número de células germinativas e de Sertoli foi superior nos caprinos com maior nível de bipartição escrotal e a razão entre essas células permitiu a determinação do rendimento geral da espermatogênese e do índice de células de Sertoli que foram maiores nesse grupo de animais. Os valores da densidade de volume e altura do epitélio seminífero, comprimento total dos túbulos seminíferos, número de células de Sertoli e Leydig, e produção espermática diária foram superiores nos caprinos do grupo III quando comparados com os animais dos grupos I e II. Os estádios do ciclo do epitélio seminífero não diferiram entre os grupos de caprinos pesquisados. Com relação à ultraestrutura das células de Sertoli, identificou-se que, independentemente do grupo de caprinos pesquisados, os processos emergentes dessas células são de dois tipos, em forma de camadas e em forma de finas cordas. Os caprinos com escroto bipartido apresentam maior potencial reprodutivo quando comparados àqueles que não possuem essa característica, pois aspectos ligados à histometria e morfometria dos elementos testiculares direcionam para maior capacidade de produção de células germinativas por parte desses animais.

Palavras-chave: caprino; espermatogênese; testículo; células de Sertoli; bipartição escrotal

ABSTRACT

REPRODUCTIVE POTENTIAL IN CAPRINES WITH BIPARTITE SCROTUM: EVALUATION OF THE SPERMATOGENIC PROCESS IN ANIMALS RAISED IN THE PIAUI STATE, BRAZIL

The spermatogenic process in caprine with bipartite scrotum was evaluated using the testicle morphometric, histometric and ultrastructural techniques, comparing with caprine without scrotal bipartition. Eighteen male age at mating were used to access the reproductive potential of caprines with bipartite scrotum. These animals were arranged into three groups (6 animals each) according to the scrotal configuration: caprines without scrotal bipartition (Group I), caprine with 50% of scrotal bipartition (Group II), and caprine with more than 50% of scrotal bipartition throughout its length (Group III). Fragments of testicles were embedded in paraffin; 4 μm sections were obtained and then submitted to routine protocol for light and scanning electron microscopy. Seminiferous epithelium was characterized by a stage of seminiferous epithelium cycle, relative frequencies of this stage, volumetric ratio of the tubular and intertubular compartments, tubular diameter, seminiferous epithelium height, total number of cells (germ cells, Sertoli cells and Leydig cells), and daily sperm production of caprines. In the scanning electron microscopy it was possible to identify and evaluate the Sertoli cell processes from testicles in the different groups of the caprines. Thus, analysis of variance was performed to determine whether group differences existed, followed by Student-Newman-Keuls test for average comparison, as well as, Pearson's correlation coefficient ($p < 0.05$). The number of germ cells and Sertoli cells were superior in the caprines of the group III and the reason among those cells allowed to determine that the general spermatogenesis yield and the Sertoli cell index was larger in testicles of animals with higher level of scrotal bipartition. This group of caprines presented morphometrical parameters (volume density and seminiferous epithelium height, the seminiferous tubule length, number of Sertoli and Leydig cells, daily sperm production) higher than observed for the animals composing the groups I and II. No differentiation in seminiferous epithelium was observed in the stages of seminiferous epithelium cycle among the groups of caprines evaluated. Independently of the group of caprines in this study, the ultrastructural aspect of the Sertoli cell processes was classified with two types: sheet-like processes and slender cord-like processes. It is possible to conclude that caprines with bipartite scrotum presenting higher reproductive potential, when compared with caprines without scrotum bipartition, probably because the larger histometry and morphometry of testicular elements, reflecting the larger capacity for production of germ cells.

Key-words: caprine, spermatogenesis, testicle; Sertoli cell; bipartite scrotum

INTRODUÇÃO

O Nordeste Brasileiro tem um efetivo de caprinos que corresponde a 93 % do rebanho nacional, aproximadamente dez milhões de animais, sendo o Estado do Piauí o segundo maior produtor em termos quantitativos (IBGE, 2004; SUASSUMA, 2009). A Região Nordeste tem se destacado por apresentar boas condições para a exploração de ruminantes domésticos, em especial caprinos e ovinos, em função de possuir uma vegetação natural capaz de manter a sobrevivência desses animais. No entanto, apenas o fato dos animais demonstrarem um potencial produtivo ao longo do ano, não garante uma produção que atenda as exigências de um mercado moderno e cada vez mais exigente. Sabe-se, que as intempéries climáticas são as principais ameaças ao desenvolvimento da caprinocultura e ovinocultura no Nordeste Brasileiro, necessitando-se, assim, de mais estudos para possibilitar um aumento da produção desses animais sob essas condições (LEITE; SIMPLÍCIO, 2009).

O mecanismo de evolução de uma espécie caracteriza-se basicamente por mudanças na frequência de ocorrência de determinados genes em resposta a uma mutação, seleção natural, isolamento geográfico ou reprodutivo, adversidades climáticas dentre outras. Diante dessas situações, determinados genes, até então quiescentes no organismo, podem ser ativados, desencadeando nos animais, o aparecimento de adaptações morfológicas (LINHARES; GEWANDSZAJDER, 1997). Em caprinos, essa expressão gênica se torna bem evidente quando é observada uma característica escrotal diferenciada, surgida a partir de provável ação do ambiente sobre esses animais. Segundo dados da literatura, essa característica denominada de bipartição escrotal ou escroto bipartido, foi constatada primeiramente, em caprinos do leste da África por Robertshaw (1982) e, posteriormente, em animais da região Nordeste do Brasil por Nunes et al. (1983).

A bipartição escrotal aumenta a superfície do escroto em contato com o meio ambiente. Este fato aumenta a dissipação de calor, o que pode ter contribuído para melhoria de alguns parâmetros reprodutivos tais como, biometria escroto-testicular (ALMEIDA, 2003; MACHADO JÚNIOR, 2006) e qualidade de sêmen (NUNES et al., 1983; SILVA et al., 1986; ALMEIDA, 2003) que se mostram superiores em caprinos com escroto bipartido quando comparados com aqueles que não apresentam essa característica.

Os testículos, órgãos com funções exócrinas e endócrinas, na maioria dos mamíferos se situam permanentemente no interior do escroto, envolvidos intimamente por uma cápsula, a

túnica albugínea (KONIG; LIEBICH, 2002), que envia septos, com quantidade variável de tecido conjuntivo, para o interior dos testículos dividindo-os em lóbulos testiculares (GARTNER; HIATT, 1993; DYCE et al., 2004).

Segundo Merchant-Larios; Moreno-Mendoza (1998) o parênquima testicular dos mamíferos encontra-se dividido em dois compartimentos, um extratubular ou intersticial e outro tubular. O compartimento intersticial é formado pelas células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, fibroblastos, macrófagos e mastócitos, distribuídos pelo tecido intersticial, enquanto o compartimento tubular é formado pelos túbulos seminíferos, constituídos por túnica própria, epitélio seminífero e lúmen tubular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). A túnica própria reveste o túbulo externamente, sendo composta por células mióides ou peritubulares e uma matriz extracelular; o lúmen tubular encontra-se preenchido pelos espermatozóides recém espermiados e por fluido, secretado pelas células de Sertoli; e o epitélio seminífero, formado por células germinativas e de Sertoli (KARL; CAPEL, 1998).

As células de Sertoli, segundo informações de Bacha Junior; Bacha (2003), formam a membrana basal que dá suporte estrutural para a própria célula de Sertoli e para as células germinativas localizadas no epitélio seminífero. As junções de oclusão que ocorrem entre as células de Sertoli dividem o epitélio seminífero em dois compartimentos, um basal onde se encontram as espermatogônias e os espermatócitos primários em fase inicial de desenvolvimento (pré-leptóteno e leptóteno) e o compartimento adluminal onde se localizam os espermatócitos primários a partir de zigóteno, espermatócitos secundários e espermátides (SHARPE, 1994).

Durante o ciclo do epitélio seminífero as células de Sertoli apresentam considerável variação na sua forma e estrutura, demonstrando um alto grau de plasticidade, notado por meio de alterações morfológicas e funcionais que ocorrem nas células germinativas (FRANÇA et al., 1993; YE et al., 1993).

Para Russell; Griswold (1993), as células de Sertoli, além de constituírem a barreira hematotesticular e fixar as células germinativas, desempenham outras funções como: progressão das células do epitélio seminífero em direção ao lúmen; liberação dos espermatozóides; fagocitose de células germinativas degeneradas e corpos residuais do citoplasma das espermátides maduras; e secreção de fluidos e proteínas para nutrir as células germinativas em desenvolvimento.

Vogl et al. (1985) citam que as células de Sertoli apresentam forma colunar, estendendo-se, centripetamente, desde a lâmina basal até o lúmen do túbulo seminífero. O contorno lateral dessas células apresenta numerosos processos celulares e recessos que fixam as células

germinativas, parcial ou inteiramente no seu interior, possibilitando seu desenvolvimento e diferenciação até a liberação dos espermatozóides (SAKAI et al., 1988).

Esses processos celulares foram descritos apresentando diferentes formas, como cunha, copo, dispostos em várias camadas, forma de bastão alongado ou finas cordas. Em caprinos Shiba esses processos apresentam aspecto delgado, ramificante ou de anel sendo que essas formas variam de acordo com a porção do túbulo seminífero na qual as células de Sertoli são encontradas (KUROHMARU; NISHIDA, 1987). Know et al. (2002) relatam que em caprinos nativos da Coreia os processos celulares apresentam forma de finas cordas ou encontram-se organizados em camadas, sendo que de acordo com a fase da espermatogênese, podem sofrer metamorfose adquirindo forma de folha, bastão ou anel.

As células de Leydig são importantes para a produção de esteróides que ocorre sob ação do hormônio luteinizante (LH) em receptores da membrana plasmática dessas células (BARDIN, 1996). Nos testículos os receptores para andrógenos são encontrados nas células de Sertoli, células mióides e células musculares lisas dos vasos (ZHOU et al., 2002).

O principal andrógeno sintetizado pelas células de Leydig é a testosterona, responsável pela diferenciação do sistema reprodutor masculino, pelo aparecimento dos caracteres sexuais secundários e pela manutenção quantitativa da espermatogênese a partir da puberdade (SHARPE, 1994; PELLINIEMI et al., 1996).

De acordo com França; Russell (1998), o principal constituinte do compartimento intersticial, nos mamíferos, é a célula de Leydig, porém não se sabe a razão pela qual é observada grande variação na população dessa célula nos diferentes animais. Essa variação é importante quando se busca quantificar os níveis de testosterona plasmática, pois estudos correlacionando a estrutura e função das células de Leydig mostram que a variação na quantidade de testosterona circulante resulta do volume total dessas células encontrado nos testículos dos animais (EWING et al., 1979).

Fawcett et al. (1973) distinguem três tipos de organização do tecido intersticial nos mamíferos. Tipo I: As células de Leydig e o tecido conjuntivo ocupam uma área muito pequena enquanto que os sinusóides linfáticos e espaços linfáticos preenchem grandes extensões do compartimento intersticial; Tipo II: Grupos de células de Leydig espalhadas no tecido conjuntivo frouxo, o qual é drenado por um vaso linfático localizado centralmente ou excentricamente no espaço intertubular; Tipo III: Abundantes grupamentos de células de Leydig ocupando praticamente todo o compartimento intersticial, apresentando pouco tecido conjuntivo e linfático.

No que se refere ao ciclo do epitélio seminífero, Costa; Paula (2003) afirmam que as células espermatogênicas encontram-se organizadas dentro dos túbulos seminíferos em associações celulares denominadas de estádios do ciclo do epitélio seminífero, os quais podem ser determinados pelo método da morfologia tubular ou pelo método do sistema acrossômico.

Pelo método da morfologia tubular é possível determinar oito estádios do ciclo do epitélio seminífero distribuídos conforme a seguinte cronologia: Estádio 1: estende-se do fim da liberação (espermição) das espermátides alongadas no lúmen do túbulo seminífero, até o início do alongamento dos núcleos das espermátides arredondas; Estádio 2: estende-se no início do processo de alongamento dos núcleos das espermátides arredondadas, até o início do agrupamento das espermátides alongadas em feixes; Estádio 3: caracteriza-se pelo início do agrupamento das espermátides alongadas em feixes até o início da primeira divisão meiótica; Estádio 4: estende-se do início ao fim da primeira e segunda divisões meióticas, envolvendo a presença de espermátócitos secundários; Estádio 5: caracteriza-se pela presença de espermátides arredondadas recém-formadas e pela localização mais profunda dos compactos feixes de espermátides alongadas no epitélio seminífero; Estádio 6: é caracterizado pelo deslocamento dos feixes de espermátides alongadas em direção ao lúmen tubular, apresentando-se menos compactos; Estádio 7: caracteriza-se pela dissociação dos feixes de espermátides alongadas e localização das mesmas próximos à borda luminal e o aparecimento dos primeiros corpos residuais; Estádio 8: é caracterizado pela localização das espermátides alongadas na borda luminal, em forma de barreira defensiva, e liberação (espermição) das mesmas no lúmen tubular, além da presença de corpos residuais bem evidentes (CURTIS, 1918; ORTAVANT et al., 1977).

O método do sistema acrossômico permite identificar até 14 estádios do ciclo do epitélio seminíferos assim distribuídos: Estádio 1: estende-se do aparecimento de espermátides arredondadas até a formação de grânulos pro-acrossomais uniformemente distribuídos nessas células; Estádio 2: estende-se do aparecimento dos grânulos pro-acrossomais nas espermátides arredondadas até sua completa fusão em uma única estrutura; Estádio 3: estende-se da formação de um único grânulo acrossômico arredondado, resultado da fusão dos vários grânulos pro-acrossomais, até seu achatamento; Estádio 4: estende-se do achatamento do grânulo acrossômico sobre o núcleo das espermátides arredondadas até o início da formação do capuz acrossômico; Estádio 5: estende-se da formação do capuz acrossômico até sua completa extensão sobre o núcleo da espermátide; Estádio 6: o capuz acrossômico recobre de 1/3 a 1/4 da cabeça das espermátides que se encontram agrupadas em feixes seguindo em direção ao lúmen tubular;

Estádio 7: o capuz acrossômico termina o seu desenvolvimento e recobre a metade da cabeça das espermatídes. Espermatogônias tipo B dividem-se formando espermatócitos primários em pré-leptóteno. As espermatídes alongadas encontram-se dissociadas e próximas ao lúmen tubular; Estádio 8: estende-se da orientação do sistema acrossômico das espermatídes arredondadas, em direção à membrana basal, até o início do achatamento do seu núcleo. Os espermatozóides são então liberados dentro do lúmen tubular; Estádio 9: estende-se do achatamento e leve assimetria do núcleo das espermatídes até seu alongamento. Observa-se a ocorrência de divisões das espermatogônias A₁; Estádio 10: estende-se do alongamento do núcleo das espermatídes até a protrusão do acrossomo na extremidade desse núcleo. O acrossomo chega até a parte inferior do núcleo das espermatídes; Estádio 11: a protrusão do acrossomo na extremidade do núcleo passa de uma forma arredondada para uma aparência triangular. O núcleo das espermatídes apresenta-se notadamente alongado e encurvado; Estádio 12: estende-se da aparência triangular da protrusão acrossômica até seu achatamento ao longo da extremidade dorsal do núcleo das espermatídes que agora apresentam uma forma menos encurvada, estreita e mais evidente. As espermatídes formam feixes presos às células de Sertoli; Estádio 13: estende-se do achatamento do acrossomo ao longo da extremidade dorsal do núcleo das espermatídes até sua contração longitudinal; Estádio 14: estende-se da contração longitudinal do núcleo das espermatídes para 2/3 do seu comprimento dando uma aparência de espermatídes arredondadas jovens. Os espermatócitos primários em diplóteno dividem-se para dar origem aos espermatócitos secundários e estes formam espermatídes arredondadas. A partir deste ponto, um novo ciclo do epitélio seminífero recomeça (LEBLOND; CLERMONT, 1952).

A distribuição dos estádios no ciclo do epitélio seminífero dos mamíferos é segmentar, existindo apenas um estágio por secção transversal do túbulo (RUSSELL et al., 1990a; COSTA ; PAULA, 2003), com exceção de alguns primatas como o *Callithrix jacchus* (MILLAR et al., 2000), nos quais podem ser encontrados mais de um estágio por secção transversal do túbulo seminífero.

À duração total do processo espermatogênico é um período aproximado para qualquer espécie, devido ao fato de ser difícil determinar quando uma espermatônia tipo A₁ se envolverá definitivamente no processo de formação dos espermatozóides ou permanecerá em quiescência, como célula-tronco, para manutenção da população inicial de espermatogônias (FRANÇA et al., 1998). De modo geral, atribui-se que a duração média da espermatogênese é de 4,5 ciclos, que dependendo da espécie pode variar de 30 a 75 dias, sendo, entretanto, o período de duração da

espermatogênese considerado fixo dentro de uma mesma espécie (SHARPE, 1994; FRANÇA; RUSSELL, 1998).

Durante o processo espermatogênico, as células germinativas sofrem apoptose que pode ocorrer ao longo de todas as fases desse processo. Essa apoptose apresenta um importante papel para a homeostase da espermatogênese e se reflete diretamente na produção espermática diária de cada espécie (SHARPE, 1994). Embora esse evento seja comumente observado em todas as fases de divisões meióticas, a regulação do número de células germinativas ocorre principalmente na fase mitótica, propiciando um número apropriado de células espermatogênicas por células de Sertoli (SELVA et al., 2000).

Segundo França; Russell (1998) o estudo quantitativo das células que compõem o epitélio seminífero é importante para o entendimento do processo espermatogênico e determinação do rendimento geral da espermatogênese, pois permite um conhecimento mais completo desse processo e de como a estrutura testicular se comporta frente a diferentes condições.

Estudos têm demonstrado que o número de células de Sertoli por testículo é o principal fator na determinação da produção espermática e do peso testicular. Esta informação baseia-se no fato de que as células de Sertoli têm uma capacidade fixa de suporte para as células germinativas, desta forma, o número de células germinativas, em especial as espermátides, suportadas por uma única célula de Sertoli é o melhor indicativo da eficiência funcional do testículo e, conseqüentemente, da produção espermática (FRANÇA; RUSSELL, 1998; ROCHA et al., 1999).

A produção espermática diária por grama de testículo é um parâmetro muito eficaz para se estimar a eficiência espermatogênica de um animal. Em algumas espécies uma maior eficiência pode decorrer de um alto número de células de Sertoli, alta capacidade de suporte por parte destas células, elevado percentual de túbulos seminíferos por testículo, maior número de gerações de espermatogônias, baixas perdas durante a espermatogênese e curta duração do ciclo do epitélio seminífero (JOHNSON et al., 2000).

Pesquisas vêm sendo desenvolvidas na Universidade Federal do Piauí com o propósito de caracterizar os aspectos morfológicos e fisiológicos responsáveis pelas melhorias reprodutivas observadas nos caprinos com escroto bipartido frente aos que não apresentam a bipartição do escroto. Assim, Almeida (2003) observou que nos animais com escroto bipartido existe uma alta correlação entre o comprimento testicular, perímetro escrotal e qualidade espermática, podendo essa característica ser utilizada como critério para seleção de reprodutores.

Nunes (2005) pesquisando aspectos morfológicos da pele escrotal e funículo espermático em caprinos identificou que os animais que apresentam escroto bipartido possuem maior quantidade de glândulas sudoríparas na pele escrotal quando comparados com aqueles sem bipartição escrotal. Tal fato permite uma maior produção de suor e, conseqüentemente, maior perda de calor por evaporação. O funículo espermático, nos caprinos com bipartição escrotal, apresenta maior comprimento e diâmetro, sendo que o segmento da artéria testicular contido nesse órgão mostra-se maior que o encontrado nos caprinos com escroto sem bipartição. Outra característica relatada por esse autor, que colabora para o processo de termorregulação testicular, foi a presença de menor quantidade de tecido adiposo circundando os vasos da região subcapsular do funículo espermático, permitindo maior facilidade de trocas térmicas entre esse órgão e o meio ambiente.

Machado Júnior (2006) pesquisando o efeito da bipartição escrotal e condições climáticas sobre a termorregulação e biometria escroto-testicular em caprinos, identificou que os animais com escroto bipartido apresentam as temperaturas dos testículos e escroto inferiores às observadas para aqueles sem bipartição e que a biometria desses órgãos mostrava-se maior, tanto no período seco quanto no chuvoso, nos animais que possuem essa característica.

Com isso vêm se identificando certas características morfológicas que contribuem para melhoria de alguns parâmetros seminais, percebendo-se que as informações relatadas direcionam para um melhor processo termorregulatório, fator primordial para que a espermatogênese se processe de modo mais eficiente nos caprinos com escroto bipartido.

Aliado a estes aspectos, soma-se o surgimento de novas tecnologias aplicadas à biologia reprodutiva, como transplante de espermatogônias e enxerto de fragmentos testiculares interespecífico (HONARAMOOZ et al., 2002; 2003a; 2003b), que tornam necessário o aprofundamento dos conhecimentos relacionados à organização e funcionamento testicular em caprinos, pois este apresenta um grande potencial para ser modelo experimental em pesquisas que buscam determinar protocolos para cultivo, criopreservação e transplante de células germinativas.

Assim, com o propósito de continuar os estudos morfofisiológicos necessários ao conhecimento da biologia reprodutiva dos caprinos com bipartição escrotal, desenvolveu-se esta pesquisa que buscou caracterizar a estrutura, a histometria e a ultraestrutura dos testículos e comparar a função testicular em caprinos com escroto bipartido e não bipartido, sob a hipótese

de que existem diferenças em relação a esses parâmetros influenciadas pela morfologia do escroto nesta espécie.

Estruturalmente, esta tese encontra-se organizada em, uma introdução geral, três capítulos, um item de considerações finais e as referências bibliográficas. Os capítulos foram elaborados na forma de artigos científicos, sendo, o primeiro, intitulado “Caracterização morfológica e frequência dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em caprinos segundo a configuração externa do escroto” escrito de acordo com as normas do periódico *Anatomy, Histology and Embryology* (ISSN: 1439-0264), o segundo, “Eficiência da espermatogênese e ultraestrutura das células de Sertoli em caprinos com escroto bipartido e não bipartido” obedecendo às normas da revista *Pesquisa Veterinária Brasileira* (ISSN: 1678-5150) e o terceiro “Produção espermática diária e morfometria testicular em caprinos segundo a conformação externa do escroto” conforme as normas do periódico *Animal Reproduction Science* (ISSN: 1873-2232).

CAPÍTULO I*

*Elaborado segundo as normas da Anatomy, Histology and Embryology

Caracterização morfológica e frequência dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em caprinos segundo a configuração externa do escroto¹

A.A.N. Machado Júnior¹, M.A.M. Carvalho², A.C. Assis Neto³

1. Doutorando em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí. 2. Professora Associada, Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do Piauí. 3. Professor Doutor, Universidade Estadual Paulista, Campus de Dracena.

Autor para correspondência:

Profa Dra Maria Acelina Martins de Carvalho

Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Morfofisiologia Veterinária, CEP 64049-550, Teresina-PI, Brasil. Email.: carvalhomam@uol.com.br

Resumo

Caracterizaram-se os estádios do ciclo do epitélio seminífero e suas respectivas frequências relativas nos testículos de caprinos, segundo a conformação escrotal. Foram utilizados 18 caprinos divididos em três grupos (n = 6), considerando-se a forma externa do escroto. O grupo I, constituído pelos animais que não apresentavam o escroto bipartido; o grupo II, caprinos com escroto bipartido em até 50 % do comprimento testicular, e o grupo III, formado pelos caprinos que apresentavam escroto bipartido em nível superior a 50 % do comprimento testicular. Os testículos foram fixados em Bouin por 24 horas e, após processamento histológico, as lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina. Os estádios do ciclo do epitélio seminífero foram determinados pelo método da morfologia tubular e a frequência relativa desses estádios foi obtida a partir da observação de 500 secções transversais de túbulos. No epitélio seminífero foi observado que as associações celulares formadoras dos estádios eram compostas por espermatogônias, espermátócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, zigóteno, paquíteno e

¹ Parte integrante da tese de doutorado do primeiro autor apresentada junto ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí.

diplóteno, espermatócitos secundários, espermatídes em formato arredondado e alongado, núcleos de células de Sertoli e figuras de divisão meiótica organizadas sob diferentes formas, não sendo verificada diferença dessas associações entre os grupos de caprinos pesquisados. A frequência relativa dos estádios do ciclo mostrou-se diferente entre todos os grupos de caprinos estudados, sendo o estágio 3, o que ocorreu com maior frequência (20,68 % para os caprinos do grupo I, 21,15 % para os do grupo II e 16,89 % para os animais do grupo III). Conclui-se que os estádios do ciclo do epitélio seminífero em caprinos não variam em função do grau de bipartição e a frequência relativa desses estádios não é constante entre os caprinos pesquisados.

Palavras-chave: testículo; espermatogênese; escroto bipartido; caprino

Introdução

A espermatogênese é um processo sincrônico e organizado no qual uma espermatogônia-tronco evolui para formar uma célula haplóide, o espermatozóide, por meio de divisões mitóticas e meióticas, passando por uma etapa final de diferenciação chamada espermiogênese (Russell et al., 1990; De Krester et al., 1998; França et al., 2005). O processo espermatogênico ocorre em ciclos denominados de ciclo de epitélio seminífero, caracterizado por associações celulares nominadas de estádios do ciclo do epitélio seminífero. Esse processo é marcado pela maturação progressiva de células germinativas do compartimento basal para o adluminal do epitélio seminífero (Russell et al., 1990; Costa; Paula, 2003).

O completo entendimento da cinética do ciclo do epitélio seminífero é importante para determinação de alterações durante esse processo, bem como, para observação de assincronia influenciadas por agentes citotóxicos (Russell et al., 1990).

A determinação dos estádios do ciclo do epitélio seminífero pode ser feita com base em dois métodos: o método da morfologia tubular, baseando-se na forma e localização do núcleo das espermatídes e ocorrência de divisões meióticas, obtendo-se 8 estádios do ciclo (Curtis, 1918; Ortavant et al., 1977) ou pelo método do sistema acrossômico utilizando-se como parâmetro o

desenvolvimento acrossomal das espermátides, permitindo encontrar um número de 14 estádios (Leblond; Clermont, 1952). Esses estádios podem estar distribuídos, no epitélio seminífero, de forma segmentar (Russell et. al., 1990; Costa; Paula, 2003; Almeida et al., 2006), existindo apenas um estádio por secção transversal ou de forma helicoidal, no qual é possível identificar mais de um estádio por secção transversal de túbulo seminífero (Millar et al., 2000; Leal; França, 2006).

As pesquisas sobre função testicular em caprinos limitam-se mais a descrever a composição e organização do compartimento intersticial (Fawcett et al., 1973; Oduor-Okelo, 1974) e a ultra-estrutura das células de Sertoli (Kurohmaru et al., 1989; Jurando et al., 1994; Kojima, 1994), sendo poucos os estudos que abordam as características do compartimento tubular nesses animais (Courtens; Loir, 1981; Oke et al., 1984; França et al., 1999; Onyango et al., 2000; Leal et al., 2004).

Considerando a pouca informação na literatura sobre o epitélio seminífero em caprinos e a relevância econômica desses animais, nos aspectos da carne, leite e seus subprodutos, aliado ao surgimento de novas tecnologias aplicadas à biologia reprodutiva, como transplante de espermatogônias e enxerto de fragmentos testiculares interespecífico (Honaramooz et al., 2002; 2003a; 2003b), que tornam necessários o aprofundamento dos conhecimentos relacionados à organização e funcionamento testicular em caprinos, realizou-se esta pesquisa com o objetivo de descrever as associações celulares e suas respectivas frequências relativas no ciclo do epitélio seminífero nos testículos de caprinos com escroto bipartido e não bipartido.

Materiais e Métodos

Para a realização desta pesquisa foram utilizados 18 caprinos sem raça definida, adultos, com idade entre 1 e 1,5 anos, divididos em três grupos ($n = 6$), considerando-se a forma do escroto. O grupo I, caprinos que não apresentavam o escroto bipartido; o grupo II, caprinos com

escroto bipartido em até 50 % do comprimento testicular, e o grupo III, caprinos com escroto bipartido em nível superior a 50 % do comprimento testicular.

Fragmentos dos testículos foram colocados em solução de Bouin sob refrigeração (8 °C) por 24 horas para processamento histológico e emblocagem em parafina.

Cortes de 4 µm foram corados com Hematoxilina-Eosina e analisados em microscópio de luz acoplado em sistema computacional de análise de imagens Qwin D-1000 versão 4.1 (Leica microsystems – Aotec Inst. Cient. Ltda. R. Afonso Celso, 1244, São Paulo, 04119-061, BR).

Para caracterização dos estádios do ciclo do epitélio seminífero foi utilizado o método da morfologia tubular, observando as modificações na forma e posição do núcleo das espermatídes e na ocorrência de figuras de divisão meiótica no epitélio seminífero, possibilitando, com isso, a obtenção de oito estádios (Curtis, 1918; Ortavant et al., 1977).

A frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero nos caprinos foi determinada analisando-se no mínimo 500 secções transversais de túbulos seminíferos, por animal, em aumento de 400x. Essas observações foram feitas por meio de varredura horizontal das lâminas histológicas adotando-se um espaço mínimo de 500 µm entre as secções (França et al., 1999).

Foram realizadas fotomicrografias digitais para ilustração dos achados e a frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero foi submetida à análise de variância para um delineamento inteiramente casualizado com teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de significância. Os dados encontram-se expressos sob a forma de média e desvio padrão. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI, nº 0540/06.

Resultados

Os estádios do ciclo do epitélio seminífero apresentaram as seguintes associações celulares, independente do grupo de caprinos pesquisados, seja com escroto bipartido ou não bipartido:

Estádio 1: as espermatídes arredondadas, com núcleos igualmente arredondados, encontravam-se dispostas em várias camadas dentro do epitélio seminífero. As células de Sertoli apresentavam no seu núcleo um nucléolo bem evidente. As espermatogônias encontravam-se localizadas próximas à lâmina própria. A única geração de espermatócitos primários mostrava-se na fase de paquíteno e situava-se entre as espermatídes arredondadas e as espermatogônias e núcleo das células de Sertoli (Figura 1A).

Estádio 2: espermatídes com um formato ovóide, iniciando o processo de alongamento do seu citoplasma e com as cabeças direcionadas no sentido do núcleo das células de Sertoli, localizadas na base do túbulo seminífero. Espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno foram observados bem próximos à lâmina própria e os espermatócitos em paquíteno distribuíam-se logo abaixo dessas primeiras células, no sentido do lúmen tubular. Núcleos e nucléolos de células de Sertoli, bem como espermatogônias foram observados, a exemplo do descrito no estágio anterior (Figura 1B).

Estádio 3: as espermatídes, em estágio mais adiantado de alongamento, começaram a formar os primeiros feixes de células com núcleos alongados. Duas populações de espermatócitos primários, em zigóteno e diplóteno, com grandes núcleos relativamente esféricos. Células de Sertoli e espermatogônias foram verificadas próximas à lâmina própria dos túbulos seminíferos (Figura 1C).

Estádio 4: os feixes de espermatídes alongadas tornaram-se mais evidentes. Uma característica marcante deste estágio foi à ocorrência de duas divisões meióticas, espermatócitos

em diplóteno evoluindo para espermatócitos secundários e estes se modificando para espermatídes arredondadas. Espermatogônias e espermatócito primário em zigóteno foram bem evidenciados nesse estágio. As células de Sertoli mostraram morfologia semelhante ao observado nos estádios anteriores. Nesse estágio foi evidenciada ainda a presença de figuras de divisão meiótica (Figura 1D).

Estádio 5: espermatídes arredondadas e espermatídes alongadas agrupadas em feixes celulares. A morfologia das espermatídes arredondadas mostrou-se semelhante a dos espermatócitos secundários do estágio 4, porém aquelas apresentaram diâmetro celular menor que o dos espermatócitos. Os feixes de espermatídes alongadas encontravam-se dentro das projeções das células de Sertoli formando colunas bem evidentes. Espermatócitos primários em zigóteno e paquíteno foram encontrados intercalados entre as espermatídes arredondadas e a lâmina própria (Figura 2A).

Estádio 6: feixes de espermatídes alongadas orientados em direção ao lúmen tubular e iniciando processo de dissociação. Várias camadas de espermatídes arredondadas foram evidenciadas. Os espermatócitos primários em paquíteno mostravam-se semelhantes aos observados no estágio 5. As células de Sertoli expressavam núcleos mais desenvolvidos e a maior parte destes apresentavam seu eixo maior perpendicular em relação à lâmina própria dos túbulos seminíferos (Figura 2 B).

Estádio 7: espermatídes alongadas próximas ao lúmen tubular e quase completamente dissociadas, não sendo freqüente a observação dos feixes celulares relatados entre os estádios 3 a 6. Os espermatócitos primários em paquíteno apresentavam núcleos com morfologia semelhante aos observados no estágio anterior. As demais células evidenciadas foram espermatogônias, células de Sertoli e espermatídes arredondadas (Figura 2C).

Estádio 8: espermatídes alongadas completamente diferenciadas em espermatozóides e em processo de liberação dos processos celulares das células de Sertoli. Os corpos residuais resultantes do processo de formação do espermatozóide foram mais frequentemente observados. Espermatogônia, células de Sertoli, espermatócitos primário em paquíteno e espermatídes arredondadas também foram verificadas neste estágio (Figura.2D).

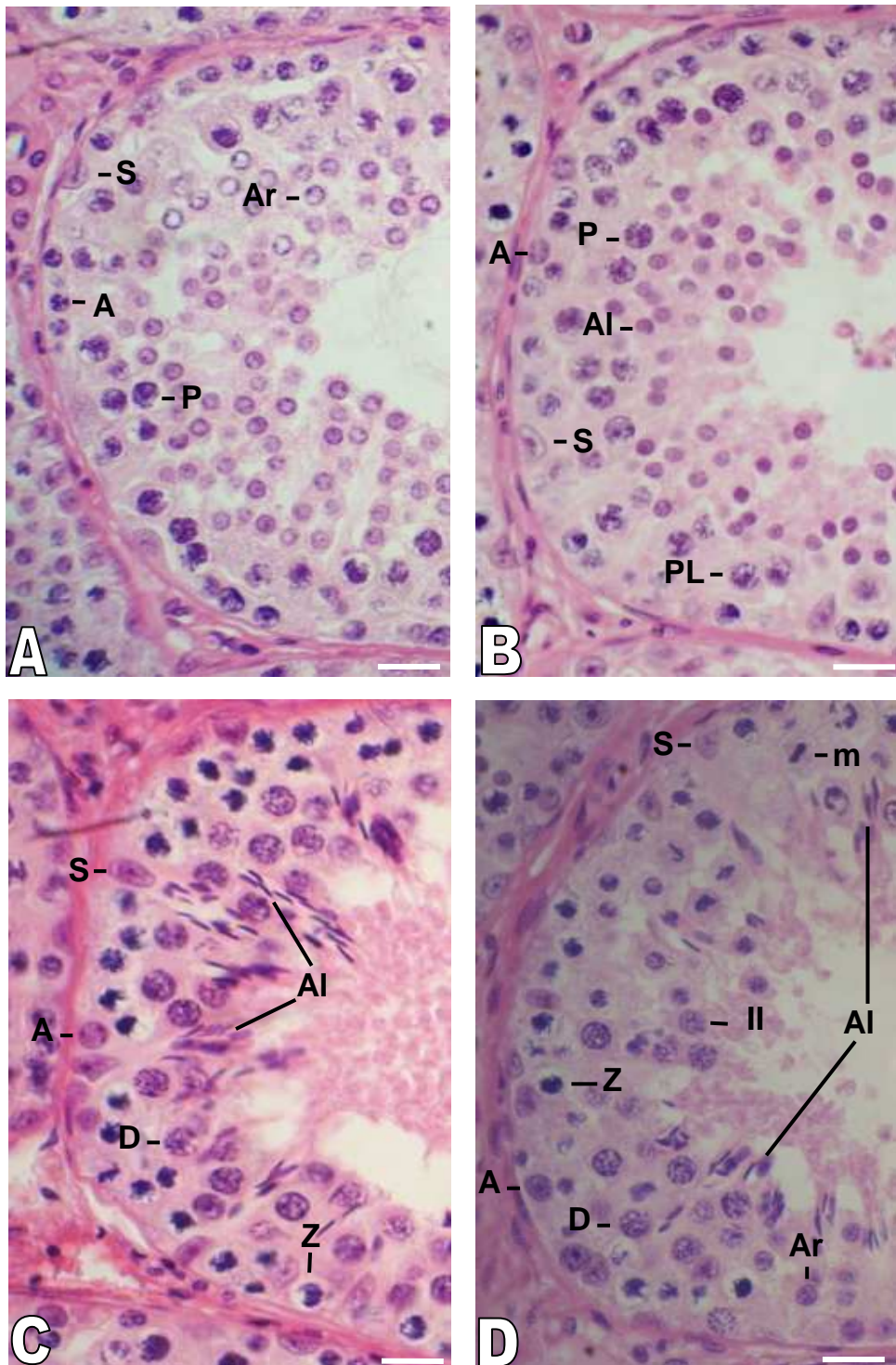


Figura 1. Fotomicrografia dos testículos de caprinos do grupo I em corte transversal. Evidenciam-se os estádios 1 (A), 2 (B), 3 (C) e 4 (D) do ciclo do epitélio seminífero. Notam-se espermatogônias (A), espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno (PL), zigóteno (Z), paquíteno (P), e diplóteno (D), espermatócitos secundários (II), espermatídes arredondadas (Ar) e alongadas (Al), núcleos de células de Sertoli (S) e figuras de divisão meiótica (m), em associações celulares. Coloração HE, Bar. 50 μ m.

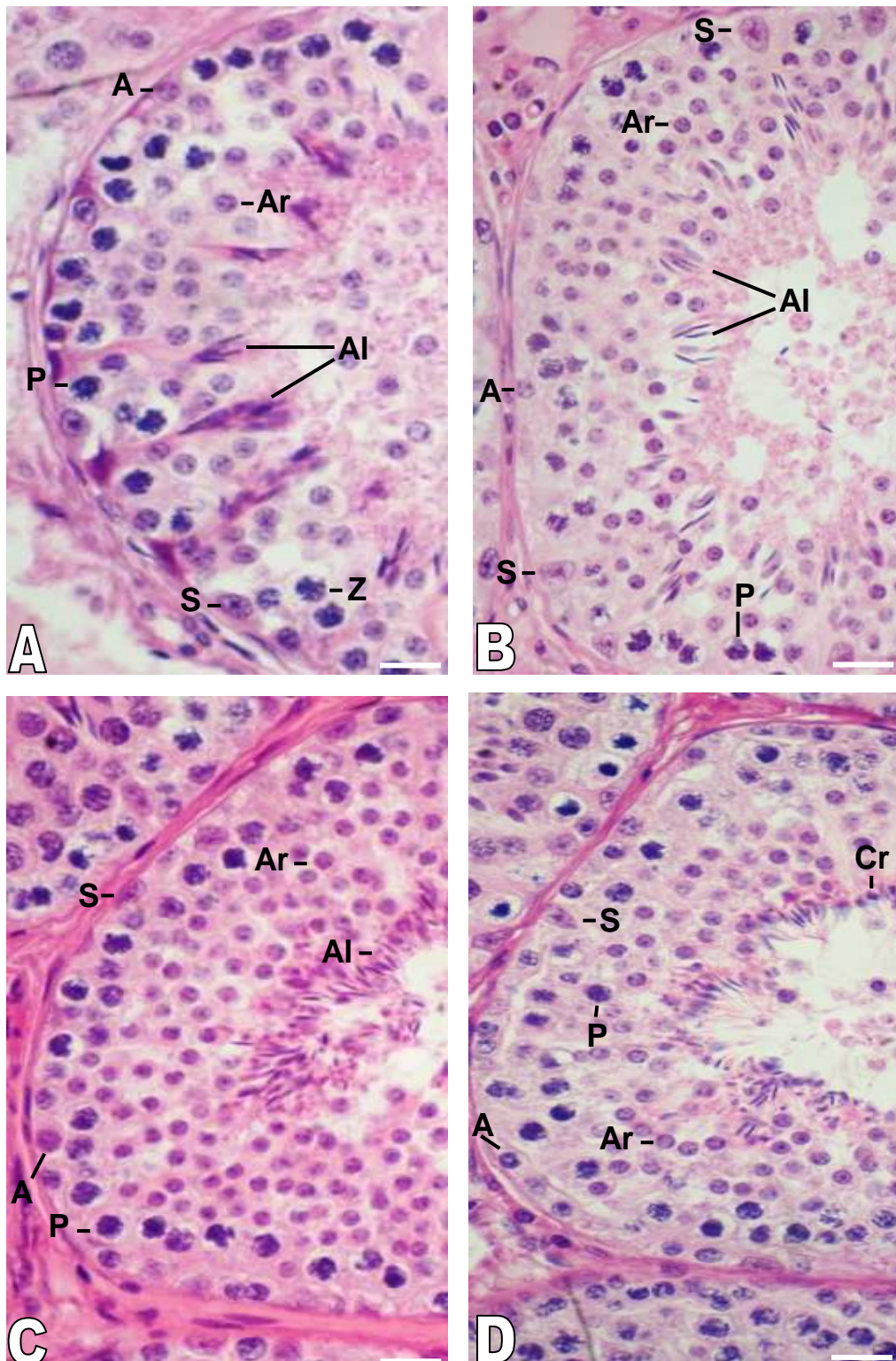


Figura 2. Fotomicrografia dos testículos de caprinos do grupo III em corte transversal. Verificam-se os estádios 5 (A), 6 (B), 7 (C) e 8 (D). Notam-se espermatogônias (A), espermatócitos primários em zigóteno (Z) e paquíteno (P), espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al), núcleos de células de Sertoli (S) e corpos residuais (Cr), em associações celulares. Coloração HE 50 μ m.

As frequências relativas dos estádios no epitélio seminífero nos caprinos deste estudo, calculadas após a determinação das associações celulares que caracterizaram os estádios do ciclo do epitélio seminífero, estão indicadas na tabela 1.

Tabela 1. Média \pm desvio padrão da frequência relativa (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero de caprinos com escroto bipartido e não bipartido, Teresina-PI, 2009

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Estádio 1	13,08 \pm 1,1 ^a	10,16 \pm 0,9 ^b	13,02 \pm 1,2 ^a
Estádio 2	8,53 \pm 0,8 ^{ab}	7,20 \pm 1,1 ^b	10,13 \pm 2,1 ^a
Estádio 3	20,68 \pm 1,3 ^a	21,15 \pm 1,5 ^a	16,89 \pm 0,8 ^b
Estádio 4	13,80 \pm 0,7 ^a	11,15 \pm 0,5 ^b	12,90 \pm 1,1 ^a
Estádio 5	10,43 \pm 1,2 ^a	11,84 \pm 1,0 ^a	13,75 \pm 2,1 ^a
Estádio 6	11,51 \pm 0,7 ^b	16,48 \pm 1,3 ^a	15,76 \pm 0,9 ^a
Estádio 7	9,18 \pm 0,6 ^a	9,49 \pm 0,4 ^a	9,15 \pm 0,7 ^a
Estádio 8	12,74 \pm 1,1 ^a	12,33 \pm 1,3 ^a	8,37 \pm 0,9 ^b

Médias seguidas de letras diferentes expressam $p < 0,05$ entre os grupos de caprinos.

O estágio 3 apresentou as maiores frequências (20,68 % para os caprinos do grupo I; 21,15 % para os do grupo II; e 16,89 % para os animais do grupo III); a menor frequência relativa foi verificada para o estágio 2, nos caprinos dos grupos I (8,53 %) e II (7,20 %), enquanto que nos animais do grupo III o estágio menos frequente foi o 8 (8,37 %).

As frequências das fases pré-meiótica (Estádios 1 a 3), meiótica (Estádio 4) e pós-meiótica (Estádios 5 a 8) do ciclo do epitélio seminífero compreenderam 42,29, 13,80 e 43,86 % nos animais do grupo I; 38,51, 11,15 e 50,14 % nos caprinos do grupo II; e 40,04, 12,90 e 47,03 % nos do grupo III, respectivamente.

Discussão

Na literatura consultada não foram encontradas pesquisas abordando os estádios do ciclo do epitélio seminífero em caprinos, considerando as diferentes conformações do escroto. Trabalhos como os de França et al. (1999) e Onyango et al., (2000) descreveram esses estádios em caprinos e apresentaram diferenças com relação à sua organização.

Os estádios observados nesta pesquisa assemelham-se aos observados por França et al. (1999), existindo diferença apenas em relação às gerações de espermatogônias. Acredita-se que tal fato pode ter ocorrido pela coloração adotada neste trabalho que não permitiu uma visualização adequada de espermatogônias tipo A, B e intermediária. As demais células relatadas por França et al., (1999) foram também observadas nos caprinos deste estudo.

Com relação ao estudo realizado por Onyango et al. (2000), os estádios 5, 6 e 7 foram descritos como um único estádio. Segundo esses autores, em função da curta duração dos estádios 6 e 7, estes, foram considerados uma extensão do estádio 5. Nesta pesquisa esses estádios foram descritos separadamente, pois as associações celulares existentes em cada um deles e sua disposição no epitélio seminífero foram diferentes nos caprinos pesquisados.

Existem dois métodos clássicos para determinação dos estádios do ciclo do epitélio seminífero. Um método baseado na mudança que ocorre na forma e localização do núcleo das espermátides e na presença de divisões meióticas, permitindo a obtenção de 8 estádios (Curtis, 1918; Ortavant et al., 1977) e o outro método que considera como parâmetro o desenvolvimento acrossomal das espermátides, permitindo encontrar até 14 estádios (Leblond; Clermont, 1952). Ambos os métodos são eficientes para demonstrar o evento cíclico da espermatogênese, sendo o método do desenvolvimento acrossômico mais utilizado para roedores (Leblond; Clermont, 1952; Russell et al., 1990; Onyango et al., 2000).

O método utilizado neste trabalho possibilitou a identificação de 8 estádios permitindo a comparação com outros animais domésticos tais como bovinos, ovinos e caprinos (Hochereau-

de-Reviers et al., 1964; França et al., 1999; Onyango et al., 2000; Horn et al., 2003), suínos (Swierstra, 1968; França; Cardoso, 1998; Almeida et al., 2006), nos quais os estádios do ciclo do epitélio seminífero já foram identificados.

Os resultados obtidos para frequência dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em caprinos com diferentes conformações do escroto mostraram-se semelhantes aos relatados por França et al. (1999) no que se refere ao estágio do ciclo do epitélio seminífero mais frequente, o estágio 3. No entanto, em se tratando do estágio que ocorreu com menor frequência, França et al. (1999) citaram o estágio 7, enquanto nesta pesquisa, o estágio 2 foi o que ocorreu menos frequentemente, entre os caprinos dos grupos I e II, e o estágio 8 foi o menos frequente para os animais do grupo III.

Onyango et al. (2000) descreveram o estágio 1 como sendo o mais frequentemente observado, diferindo do observado nesta pesquisa. No entanto, em um ponto, os resultados de Onyango et al. (2000) se assemelharam aos encontrados neste trabalho, o fato de o estágio 8 ter sido menos frequente no ciclo, verificado nos caprinos do grupo III.

Conclui-se que as associações celulares que compõem os estádios do ciclo do epitélio seminífero em caprinos não variam segundo a conformação do escroto, no entanto, a frequência relativa desses estádios varia entre os diferentes grupos de caprinos, o que pode refletir na produção espermática diária dos animais.

Agradecimento

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo apoio financeiro por meio do projeto “Produção, sanidade e biotecnologia em animais adaptados ao Meio Norte do Brasil” (Edital MCT/CT-INFRA/CT-ENERG/CNPq - 07/2006 - Processo: 620240/2006-7).

Referências

- Almeida, F.F.L., M.C. Leal, and L.R. França, 2006: Testes morphometry, duration of spermatogenesis and spermatogenic efficiency in wild boar (*Sus scrofa scrofa*). *Biol. Reprod.* 75, 792-799.
- Costa, D.S., and T.A.R. PAULA, 2003: Espermatogênese em mamíferos. *Scientia*, 4, 53-72.
- Courtens, J.L., M.A. LOIR, 1981: A cytochemical study of nuclear changes in boar, bull, goat, mouse, rat and stallion spermatids . *J. Ultrastruc. Res.* 74, 327–340.
- Curtis, G.M., 1918: The morphology of the mammalian seminiferous tubule. *Am. J. Anat.* 24, 339-394.
- De Krester, D.M., K.L. Loveland, A. Meinhardt, D. Simorangkir, and N. Wreford, 1998: Spermatogenesis. *Hum. Reprod*, 13, 1-8.
- Fawcett, D.W., W.B. Neaves, and M.N. Flores, 1973: Comparative observations on intertubular lymphatics and organisation of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biol. Reprod.* 9, 500- 532.
- França, L.R., F.A. Gleide, and F.F.L. Almeida, 2005: Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology*, 63, 300–318.
- França, L.R., S.C. Becker-Silva, and H. Chiarini-Garcia, 1999: The length of the cycle of seminiferous epithelium in goats (*Capra hircus*). *Tissue Cell*, 31, 274-280.
- França, LR., and F.M. Cardoso, 1998: Duration of spermatogenesis and sperm transit time through the epididymis in the piau boar. *Tissue Cell*, 30, 573-582.
- Hochereau-de-Reviere, M.T., M. Courot, and R. Ortavant, 1964: Marquage des cellules germinales du bélier et du taureau par injection de thymidine tritiée dans l'artère spermatique. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 2, 157-161.

- Honaramooz, A., E. Behboodi, S. Blash, S.O. Megee and I. Dobrinski. 2003a: Germ cell transplantation in goats. *Mol. Reprod. Develop.* 64, 422-428.
- Honaramooz, A., E. Behboodi, S.O. Megee, S.A. Overton, H. Galantino-Homer, Y. Echelard and I. Dobrinski. 2003b: Fertility and germline transmission of donor haplotype following germ cell transplantation in immunocompetent goats. *Biol. Reprod.* 69, 1260-1264.
- Honaramooz, A., E. Behboodi, S.O. Megee and I. Dobrinski. 2002: Germ cell transplantation in pigs. *Biol. Reprod.* 66, 21-28.
- Horn, M.M., J.C.F. Moraes, and M.I.A. Edelweiss, 2003: Quantificação dos estádios do ciclo espermatogênico em touros de raças sintéticas com e sem alteração na qualidade seminal. *Ciência Rural*, 33, 1111-1115.
- Jurando, S.B., M. Kurohmaru, and Y. Hayashi, 1994: An ultrastructural study of the Sertoli cell in the Shiba goat. *J. Vet. Med. Sci.* 56, 33-38.
- Kojima, Y., 1994: Ultrastructure of goat testis: crystalloid in the microbody of Sertoli cells. *J. Vet. Med. Sci.* 56, 517-522.
- Kurohmaru, M., T. Nishida, Y. Hayashi, and S. Yamashiro, 1989: Threedimensional structure of some Sertoli cell organelles in the cotton rat and Shiba goat. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 21, 653-658.
- Leal, M.C. and L.R. França, 2006. The seminiferous epithelium cycle length in the Black Tufted-Ear Marmoset (*Callithrix penicillata*) is similar to humans. *Biol. Reprod.* 74, 616-624.
- Leal, M.C., S.C. Becker-Silva, H. Chiarini-Garcia, and L.R. França, 2004: Sertoli cell efficiency and daily sperm production in goats (*Capra hircus*). *Anim. Reprod.* 1, 122-128.
- Leblond, C.P., and Y. Clermont, 1952: Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pigs as revealed by the "periodic acidfuchsin sulfurous acid technique". *Am. J. Anat.* 90, 167-214.

- Millar, M.R., R.M. Sharpe, G.F. Weinbauer, H.M. Fraser, and P.T. Saunders, 2000: Marmoset spermatogenesis: organizational similarities to the human. *Int. J. Androl.* 23, 266-277.
- Oduor-Okelo, D., 1974: The Leydig cells and the vascular system in the goat (*Capra hircus*). *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* 88, 1036-1044.
- Oke, B.O., S.O., Ogwuegbu, and M.O. Akusu, 1984: Morphometric study of the testis of the west African Dwarf goat. *Bull. Anim. Hlth. Prod. S. Afr.* 32, 57-60.
- Onyango, D.W., E.O. Wango, G.E. Otiang'A-Owiti, D. Oduor-Okelo, and G. Werner, 2000: Morphological characterization of the seminiferous cycle in the goat (*Capra hircus*): a histological and ultrastructural study. *Anat. Anz.* 182, 235-241.
- Ortavant, R., M. Courot, and M.T. Hochereau-de-Reviers, 1977: Spermatogenesis in domestic mammals. In: COLE, H.H.; CUPPS, P.T. *Reproduction in domestic mammals*. 3 ed. New York: Academic Press, 203-227.
- Russell, L.D., R.A. Ettlin, A.P. Sinha-Hikin, and E.D. Clegg, 1990: Histological and histopathological evaluation of the testis. Clearwater, Florida: Cache River Press, 286p.
- Swierstra, E.E., 1968: Cytology and duration of the cycle of seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit through the epididymis. *Anat. Rec.* 161, 171-186.

CAPÍTULO II*

*Elaborado segundo as normas da revista Pesquisa Veterinária Brasileira

Eficiência da espermatogênese e ultraestrutura das células de Sertoli em caprinos com escroto bipartido e não bipartido*

Antonio A.N. Machado Júnior¹, Maria A.M. Carvalho², Antonio C. Assis Neto³

Resumo

O objetivo desta pesquisa foi quantificar as células do epitélio seminífero e o rendimento da espermatogênese e caracterizar a ultraestrutura das células de Sertoli em caprinos. Foram utilizados 18 caprinos divididos em três grupos: Grupo I – caprinos sem o escroto bipartido; Grupo II – animais com escroto bipartido em até 50% do comprimento testicular; Grupo III – caprinos com bipartição escrotal em nível superior a 50 % do comprimento testicular. Os testículos foram fixados em Bouin por 24 horas e glutaraldeído a 3 % e processados para microscopia de luz e eletrônica de varredura, respectivamente. A quantificação dos diferentes tipos celulares foi realizada em 20 secções de túbulos seminíferos e o rendimento da espermatogênese determinado pela razão entre as células encontradas no estágio 1. Para caracterização da ultraestrutura, as células de Sertoli foram divididas em tipo A e tipo B. Os testículos dos caprinos do grupo III apresentaram número de espermátócitos primários ($25,37 \pm 4,55$), espermátides ($112 \pm 15,12$) e células de Sertoli ($9,46 \pm 1,74$) maior que os animais dos grupos I e II. Os rendimentos mitótico, meiótico e geral da espermatogênese foram maiores nos animais do grupo III ($1,25 \pm 0,28$; $5,12 \pm 1,63$; $6,44 \pm 1,96$) quando comparados com os dos grupos I e II. Os processos celulares em forma de folhas se originaram do corpo das células de Sertoli como estruturas simples e lisas que envolviam praticamente toda a superfície das células

* Parte integrante da tese de doutorado do primeiro autor apresentada junto ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí.

¹. Doutorando em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí

². Professora Associada, Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do Piauí

³. Professor Doutor, Universidade Estadual Paulista, Campus de Dracena.

Endereço para correspondência: Maria Acelina Martins de Carvalho, Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Morfofisiologia Veterinária, CEP 64049-550, Teresina –PI, Brasil. Email: carvalhomam@uol.com.br

germinativas. Os processos em forma de finas cordas originaram-se diretamente das células de Sertoli e dos processos em forma de folhas. Conclui-se que os caprinos com bipartição escrotal possuem um maior número de células germinativas e de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero, indicando, assim, uma maior produção de espermatozóides quando comparados aos demais grupos, e a ultraestrutura dos processos das células de Sertoli não apresenta relação com a bipartição do escroto.

Palavras-chave: espermatogênese; células germinativas; escroto bipartido; caprinos; células de Sertoli

Introdução

A quantificação celular permite conhecer o padrão normal de divisão e renovação das células germinativas, possibilitando, determinar o coeficiente de eficiência da espermatogênese (Castro et al. 1997). A eficiência da espermatogênese, na prática, se reflete nas razões encontradas entre os diferentes tipos celulares formadores do epitélio seminífero em uma secção transversal de túbulo, como foi descrito para ruminantes, suínos, bubalinos, macaco, capivara, cateto e queixada (Cardoso & Godinho 1985, Queiroz & Cardoso 1989, Paula 1999, Silva 2000, Leal 2004, Costa et al. 2004 , Costa et al. 2007).

A cinética da espermatogênese compreende processos citológicos como multiplicação, diferenciação e metamorfose celular, e processos histológicos como evolução das células dentro dos túbulos seminíferos. Nesse tipo de estudo deve incluir, além da classificação dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, a quantificação dos tipos celulares presentes nos túbulos seminíferos, permitindo avaliar a evolução dessas células no decorrer do ciclo (Almeida et al. 2000, Assis Neto et al. 2003).

Segundo Costa & Paula (2003), a eficiência da espermatogênese não é de 100%, pois ocorrem apoptoses das células germinativas necessárias à manutenção de uma homeostase intratubular. Normalmente as perdas celulares variam de 5 a 30 % e são observadas principalmente

durante a meiose, possibilitando que, cerca de três espermátides arredondadas, sejam formadas a partir de um espermatócito primário (Sharpe 1994, França & Russell 1998).

Conhecer as associações celulares do epitélio seminífero é de grande importância para identificar os efeitos de alguma substância tóxica sobre a fertilidade de machos (Russell et al, 1990). Assim, a quantificação histológica do testículo se constitui em um instrumento eficiente para se determinar a capacidade espermatogênica de um animal frente a condições fisiológicas ou patológicas (Castro et al. 1997, França & Russell 1998, Leal 2004). Associado a isto, tem-se o advento de novas biotecnologias ligadas à reprodução como transplante de espermatogônias e enxerto de fragmentos testiculares interespecífico (Honaramooz et al. 2002, 2003a, 2003b) que torna necessário o máximo entendimento da função testicular em caprinos, pois estes expressam um grande potencial para modelo reprodutivo e podem ser utilizados em pesquisas que visem determinar protocolos para cultivo celular, criopreservação e transplantes de células germinativas.

As células de Sertoli são responsáveis pela formação da membrana basal que fornece suporte estrutural para as células germinativas, localizadas no epitélio seminífero, e para a própria célula de Sertoli (Russell & Griswold 1993). Durante o ciclo do epitélio seminífero as células de Sertoli apresentam considerável variação na sua forma e estrutura, demonstrando um alto grau de plasticidade, em função das alterações morfológicas e funcionais que ocorrem nas células germinativas (França et al., 1993; Ye et al. 1993).

O objetivo desta pesquisa foi quantificar as células germinativas existentes no epitélio seminífero, determinar o rendimento da espermatogênese e analisar a ultraestrutura das células de Sertoli de forma comparativa entre caprinos que apresentam o escroto bipartido e os que não apresentam a bipartição escrotal.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 18 caprinos sem raça definida, com idade entre 1 e 1,5 anos, divididos em três grupos de seis animais, segundo a morfologia externa do escroto: Grupo I – caprinos que não apresentam o escroto bipartido; Grupo II – caprinos com bipartição escrotal em até 50 % do comprimento testicular; Grupo III – animais com o escroto bipartido em um nível superior a 50 % do comprimento testicular.

Foram coletados fragmentos testiculares das regiões captata, média e caudata do testículo para fixação em solução de Bouin sob refrigeração (8°C) por 24 horas e em solução de glutaraldeído a 3 % em tampão fosfato 0,1M com pH de 7.4 para processamento destinado à microscopia de luz e eletrônica de varredura, respectivamente.

Cortes histológicos foram analisados em microscópio de luz acoplado em sistema computacional de análise de imagens Qwin D-1000 versão 4.1 (Leica microsystems – Aotec Instrumentos Científicos Ltda. Rua Afonso Celso, 1244, São Paulo, 04119-061, Brasil) e em microscópio eletrônico de varredura LEO 435 VP (Technical Sales, LLC, NW Cameron Blvd. Portland, Oregon 97230, USA).

A quantificação dos diferentes tipos celulares (espermatogônias, espermátocito primário em paquíteno, espermátides arredondas e células de Sertoli) foi realizada a partir da observação de 20 secções transversais de túbulos seminíferos com contorno o mais arredondado possível, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, em aumento de 400x (Figura 1). Essa contagem foi corrigida para o diâmetro nuclear ou nucleolar e espessura do corte histológico, segundo fórmula de Abercrombie (1946), modificada por Amann & Almquist (1962):

$$\text{Número corrigido} = \text{contagem obtida} \times \frac{\text{Espessura do corte}}{\text{Espessura do corte} + \sqrt{\left(\frac{\text{DM}}{2}\right)^2 - \left(\frac{\text{DM}}{4}\right)^2}}$$

Para determinação do diâmetro nuclear ou nucleolar médio (DM) foram mensurados 10 núcleos das células germinativas e 10 nucléolos das células de Sertoli em cada secção analisada, em aumento de 1000x.

O rendimento da espermatogênese foi determinado com base na obtenção das seguintes razões: Rendimento ou coeficiente de eficiência de mitoses: razão entre espermatócitos primários em paquíteno e espermatogônia no estágio 1; Rendimento meiótico: razão entre espermátide arredondada e espermatócito primário em paquíteno no estágio 1; Rendimento geral da espermatogênese: razão entre espermátides arredondada e espermatogônia no estágio 1; Eficiência das células de Sertoli: razão entre o número total de espermátides arredondadas no estágio 1 e o número total de células de Sertoli.

As células de Sertoli foram classificadas em dois tipos, A e B segundo metodologia proposta por Park et al. (1993). As células de Sertoli tipo A encontravam-se associadas à espermátides alongadas e tipo B, associadas à espermátides arredondadas e imaturas. A definição dos processos celulares levou em consideração à morfologia apresentada por esses processos e a nomenclatura utilizada foi a preconizada por Kurohmaru & Nishida (1987); Know et al. (2002).

Todos os resultados apresentados estão sob a forma de média e desvio padrão e foram obtidos após análise de variância para um delineamento inteiramente casualizado com teste Student-Newman-Keuls (SNK) para comparação das médias a 5 % de significância. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI, nº 0540/06.

Resultados

Resultados

Os números totais corrigidos de células germinativas e células de Sertoli, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em caprinos com diferentes configurações do escroto estão apresentados na tabela 1.

As espermatogônias não apresentaram diferenças estatísticas entre os caprinos dos três grupos pesquisados sendo observado valores de $18,10 \pm 5,62$ para os animais do grupo I, $19,36 \pm 5,07$ para os do grupo II e $20,18 \pm 6,06$ para os caprinos do grupo III.

O número de espermátócitos primários em paquíteno por secção transversal mostrou-se diferente ($p < 0,05$) entre caprinos estudados. Os animais do grupo III apresentaram maior número dessas células ($25,37 \pm 4,55$) quando comparado com os caprinos dos grupos I ($20,01 \pm 6,60$) e II ($21,64 \pm 4,67$).

Com relação ao número de espermátides arredondadas encontradas no estágio 1 do ciclo, houve uma diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos estudados, semelhante ao descrito para os espermátócitos primários em paquíteno. Os caprinos do grupo III revelaram um valor de $130 \pm 15,12$ células, enquanto que os animais do grupo I expressaram valor de $89,20 \pm 22,40$ e os do grupo II, $96,71 \pm 19,82$ espermátides arredondadas por secção transversal de túbulo.

A quantidade de células de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 expressaram diferenças estatísticas entre os três grupos de caprinos pesquisados. Os animais do grupo I mostraram valor de $7,86 \pm 1,90$ células por secção transversal, contra $8,67 \pm 2,20$ células observadas nos caprinos do grupo II e $9,46 \pm 1,74$ nos do grupo III, mostrando que o grupo de caprinos com maior nível de bipartição escrotal apresenta maior número de células de Sertoli.

O rendimento da espermatogênese (Tabela 2) foi obtido com base na razão entre as diferentes células formadoras do estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero (Tabela 1).

Esse rendimento foi dividido em rendimento mitótico, rendimento meiótico e rendimento geral da espermatogênese. O rendimento mitótico ou coeficiente de eficiência mitótica dos animais do grupo III ($1,25 \pm 0,28$ espermátócitos primários em paquíteno por espermatogônia) mostrou-se significativamente diferente do encontrado para os caprinos dos grupos I ($1,10 \pm 0,27$) e II ($1,11 \pm 0,28$).

O rendimento meiótico expressou diferença dos caprinos do grupo III em relação aos dos grupos I e II, sendo que estes últimos não diferiram entre si. Nos animais do grupo III o valor encontrado foi de $5,12 \pm 1,63$ espermátides arredondadas para cada espermatócito primário em paquíteno, enquanto que nos caprinos dos grupos I e II os valores observados foram de $4,45 \pm 1,08$ e $4,46 \pm 0,82$ espermátides arredondadas por espermatócito primário em paquíteno, respectivamente.

No rendimento geral da espermatogênese, semelhantemente ao observado para o rendimento mitótico e meiótico, foi evidenciada diferença estatística entre os caprinos estudados. Os animais do grupo III apresentaram valor de $6,44 \pm 1,96$, enquanto que os caprinos dos grupos I e II expressaram valores de $4,92 \pm 1,50$ e $4,99 \pm 1,47$ espermátides arredondadas para cada espermatogônia, respectivamente.

A razão entre o número de espermátides arredondadas suportada por uma célula de Sertoli reflete à eficiência ou índice de células de Sertoli (Tabela 2). Nesse aspecto, observou-se que os caprinos dos grupos com bipartição escrotal apresentaram valores superiores ao grupo de animais que não apresentavam àquela característica morfológica. Os animais dos grupos II e III expressaram valores de $12,72 \pm 3,97$ e $13,64 \pm 2,64$ espermátides arredondadas por células de Sertoli, enquanto o valor encontrado para os caprinos do grupo I foi de $10,57 \pm 4,61$ ($p < 0,05$).

Na busca de informações na literatura, não foi encontrada descrição sobre a ultraestrutura dos processos das células de Sertoli em caprinos criados no Brasil.

Observou-se que tanto no tipo A quanto no tipo B de células de Sertoli, os processos celulares apresentaram forma de folhas (sheet-like processes) e forma de finas cordas (slender cord-like processes).

Os processos em forma de folhas se originaram do corpo das células de Sertoli como estruturas simples e lisas que envolviam praticamente toda a superfície das células germinativas.

Os processos que envolviam as espermatídes foram observados nas porções média e apical dos túbulos seminíferos e apresentavam um aspecto mais plano (Figura 2).

Os processos em forma de finas cordas foram verificados em diferentes áreas. Os processos encontrados na porção média e apical dos túbulos seminíferos projetavam-se tanto do corpo das células de Sertoli, como dos processos em forma de folhas e encontravam-se ligados às espermatídes arredondadas adquirindo um formato elíptico (Figura 3).

Tabela 1. Número corrigido de células germinativas e de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 em caprinos com escroto bipartido e não bipartido, Teresina, 2009

Grupos	A	P	Ar	CS
I	18.10 ± 5.62 ^a	20.01 ± 6.6 ^b	89.20 ± 22.40 ^b	7.86 ± 1.9 ^c
II	19.36 ± 5.07 ^a	21.64 ± 4.67 ^b	96.71 ± 19.82 ^b	8.67 ± 2.2 ^b
III	20.18 ± 6.06 ^a	25.37 ± 4.55 ^a	130 ± 15.12 ^a	9.46 ± 1.74 ^a

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna $p < 0.05$

A – espermatogônia; P – espermátocito primário em paquíteno; Ar – espermatíde arredondada; CS – células de Sertoli

Tabela 2. Rendimento da espermatogênese e eficiência de células de Sertoli em caprinos com escroto bipartido e não bipartido, Teresina, 2009

Grupos	CEM	RM	RGE	ECS
I	1.1 ± 0.27 ^b	4.45 ± 1.08 ^b	4.92 ± 1.5 ^b	10.57 ± 4.61 ^b
II	1.11 ± 0.28 ^b	4.46 ± 0.82 ^b	4.99 ± 1.47 ^b	12.72 ± 3.97 ^a
III	1.25 ± 0.28 ^a	5.12 ± 1.63 ^a	6.44 ± 1.96 ^a	13.64 ± 2.64 ^a

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna $p < 0.05$

CEM – coeficiente de eficiência mitótica; RM – rendimento mitótico; RGE – rendimento geral da espermatogênese; ECS – eficiência de células de Sertoli

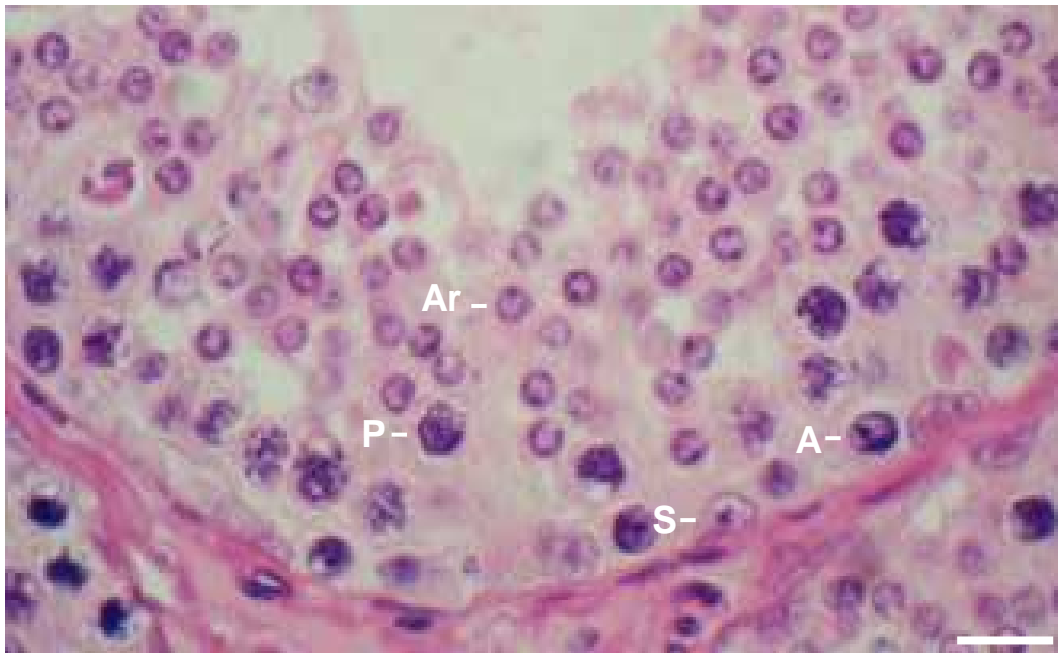


Figura 1. Fotomicrografia de uma secção transversal de testículo de caprino do grupo II. Evidenciam-se as células constituintes do estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, espermatogônia (A), espermatócito primário em paquíteno (P); espermátides arredondadas (Ar) e células de Sertoli (S). Bar. 50 μ m

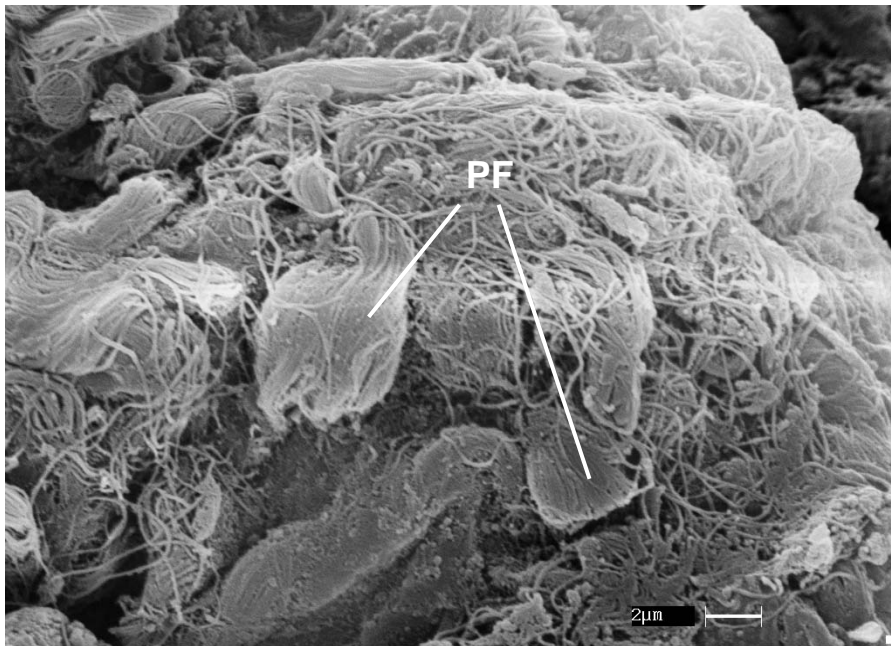


Figura 2. Eletromicrografia de varredura de células de Sertoli. Evidenciam-se os processos celulares em forma de folhas (PF), com suas margens finas e simples, envolvendo as células germinativas. Barra de 2 μm .

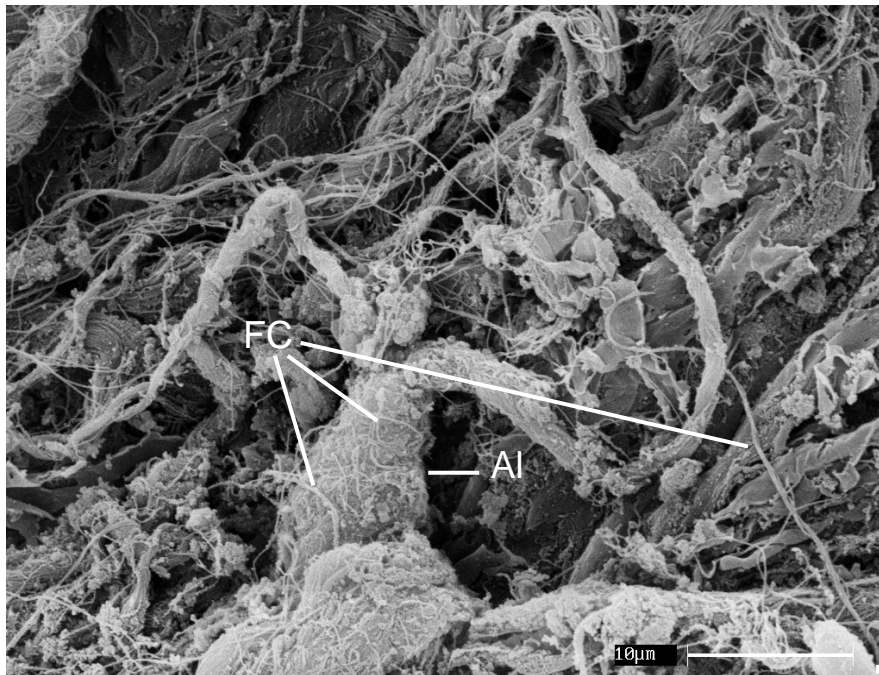


Figura 3. Eletromicrografia de varredura de células de Sertoli de caprinos. Evidenciam-se os processos celulares em forma de finas cordas (FC), envolvendo uma espermátide alongada (AI) madura em processo final de espermiacão. Barra de 10 μm .

Discussão

Segundo informações disponíveis na literatura (Castro et al. 1997, França & Russell 1998, Leal 2004), as populações de células germinativas e de Sertoli aumentam durante o desenvolvimento do animal e, a partir da puberdade, tendem a se estabilizarem. Este fato permite utilizar a quantidade dessas células existentes no epitélio seminífero para se estimar a capacidade reprodutiva de um animal, bem como, identificar a quantidade e o padrão de distribuição dessas células nos testículos, permitindo avaliações comparativas dos animais expostos a situações experimentais ou patológicas.

No estudo quantitativo das células espermatogênicas torna-se necessário realizar uma correção da quantificação absoluta obtida nas secções dos túbulos seminíferos, pois existe uma grande variabilidade entre as espécies animais e entre indivíduos de uma mesma espécie. Assim, corrigindo o valor absoluto pelo diâmetro nuclear e pela espessura do corte histológico, o valor

relativo encontrado reflete a diferença existente entre os animais no que se refere à população de células, excluindo-se quaisquer outras fontes de variação (Amann & Almquist 1962, Cardoso & Godinho 1985).

O número de espermatogônias, apesar de não variar entre os grupos de caprinos estudados, foi bem superior ao citado por outros autores em diversas espécies (França et al. 1988, Silva 1996, Paula 1999, Assis-Neto et al. 2003, Costa et al. 2004, Leal 2004, Costa et al. 2007).

O número de espermatócitos primários em paquíteno foi maior nos caprinos com acentuado grau de bipartição escrotal (Grupo III) quando comparados com os animais dos grupos I e II. Esse número assemelha-se ao relatado por Silva (2000) para caprinos Saanen e difere do encontrado por Queiroz & Cardoso (1989) para ovinos deslanados.

No estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em caprinos ser encontrada apenas uma geração de espermatócitos primário faz com a quantidade dessas células nessa espécie seja bem diferente da observada em outros animais tais como, capivara (Paula 1999), cutia (Assis-Neto et al. 2003), sagüi (Leal 2004), cateto (Costa et al. 2004), queixada (Costa et al. 2007), onde são detectadas duas gerações de espermatócitos primários. Já em alguns animais como o Gerbil (Segatelli et al. 2004), que apresentam no estágio 1 apenas uma geração de espermatócitos primários, o número dessas células assemelha-se ao encontrado para os caprinos com diferentes conformações do escroto.

O número de espermátides arredondadas por secção transversal de túbulo seminífero encontrado nos caprinos desta pesquisa foi maior que o observado na literatura para a cutia, suíno, macaco, queixada, cateto, capivara e caprinos (França et al. 1988, Silva 1996, Paula 1999, Silva 2000, Assis-Neto et al. 2003, Costa et al. 2004, Leal 2004, Costa et al. 2007). Esse número também foi diferente entre os grupos de caprinos pesquisados.

Assim, os animais do grupo III apresentaram número de espermátides e espermatócitos primários, muito maior que os caprinos dos grupos I e II. Este achado mostra que os animais com maior nível de divisão escrotal tendem a apresentar maior quantidade de células germinativas por secção transversal quando comparados aos que não apresentam esta característica ou mesmo aqueles em que a bipartição escrotal é menos acentuada. Essas diferenças quantitativas podem ocorrer em função de um processo espermatogênico diferenciado nesses animais, onde as perdas celulares (apoptose) podem ser menores nos caprinos com maior nível de bipartição escrotal do que no grupo de animais com escroto parcialmente bipartido e naqueles sem bipartição do escroto.

Outro fator importante que pode ter contribuído para essa diferença numérica das células germinativas entre os grupos de caprinos foi o número de células de Sertoli por secção transversal de túbulos. Segundo Rocha et al. (1999), o número dessas células por testículo é o principal fator na determinação da produção espermática e tamanho testicular. Esta informação baseia-se no fato de que as células de Sertoli têm uma capacidade de suporte relativamente fixa para as células germinativas, assim, quanto mais células de Sertoli existirem no testículo de um animal maior será o número de células germinativas existente no testículo (Orth et al. 1988, França & Russell 1998).

Os caprinos do grupo III apresentaram maior número de células de Sertoli que os animais dos grupos I e II. No entanto, assemelharam-se ao número encontrado em vários outros animais (França et al. 1988, Silva 1996, Paula 1999, Assis-Neto et al. 2003, Costa et al. 2004, Leal 2004, Costa et al. 2007).

Com relação ao rendimento da espermatogênese e índice de células de Sertoli, verificaram-se que os animais do grupo III apresentaram os maiores valores quando comparados com os animais dos demais grupos. O rendimento mitótico mostrou-se baixo em relação ao observado por Silva (2000) em caprinos Saanen, Costa et al. (2004) em cateto, Leal (2004) em

sagüi, Costa et al. (2007) em queixada e bem próximo ao relatado por Assis-Neto et al. (2003) em cutias. Tal evento ocorreu em função do alto número de espermatogônias encontradas nos caprinos com diferentes conformações do escroto.

Por outro lado, o rendimento meiótico mostrou-se maior que o observado no queixada, cateto e capivara (Paula 1999, Costa et al. 2004, Costa et al. 2007), bem próximo ao valor verificado para o sagüi e caprinos Saanen (Silva 2000, Leal 2004) e menor que o relatado por Assis-Neto et al. (2003) para a cutia.

O índice ou eficiência das células de Sertoli nos caprinos deste estudo, apresentou-se semelhante ao identificado na literatura para caprinos, sagüis, cateto e queixada (Silva 2000, Leal 2004, Costa et al. 2004, Costa et al. 2007) e menor que o encontrado por Silva (1996) para suínos, Paula (1999) para capivaras e Assis-Neto et al. (2003) para cutias.

Nos caprinos desta pesquisa, foram observados nas células de Sertoli, os processos em forma de folhas e finas cordas, cuja morfologia não variou em função da conformação do escroto. Resultados semelhantes foram relatados por Know et al. (2002) para caprinos nativos da Korea, sendo que nestes caprinos foram verificadas diferentes formas para os processos em forma de finas cordas que foram nominados segundo sua relação com as células germinativas. No entanto, estas diferentes formas, são mais notadas antes do processo de espermiacão quando o corpo residual está se desprendendo da cabeça da espermátide (Park et al., 1993).

Hamasaki & Murakami (1986) relataram a ocorrência de quatro tipos de processos nas células de Sertoli de camundongos com as formas de ramo, folha, capa e envoltório. Nos caprinos Shiba os processos celulares das células de Sertoli apresentaram um aspecto delgado, ramificado e em forma de anel (Kurohmaru & Nishida, 1987). Segundo estes autores, a forma dos processos celulares das células de Sertoli variam de acordo com a porção do túbulo seminífero e a evolução do processo espermatogênico.

Tanto nos caprinos Shiba (Kurohmaru & Nishida, 1987) quanto nos nativos da Korea (Know et al., 2002) o contorno dos processos em forma de folhas apresentou-se simples e liso semelhante ao observado para os caprinos com diferentes conformações do escroto utilizados neste estudo. Já no hamster da Síria (Gravis, 1975), macaco (Russell et al., 1986) e camundongo (Hamasaki & Murakami, 1986) o contorno desses processos apresentou-se irregular e mais complexo que o encontrado nos caprinos deste estudo.

Conclui-se que os caprinos que apresentam um elevado nível de bipartição escrotal possuem um maior número de células germinativas e de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero, indicando, assim, uma melhor eficiência espermatogênica quando comparados com os caprinos que apresentam um nível intermediário de bipartição escrotal e com aqueles que não apresentam escroto bipartido. Os processos das células de Sertoli em caprinos, que se mostram com formato de folha e de finas cordas, não apresentam relação com a bipartição do escroto nesses animais.

Referências

- Abercrombie, M. Estimation of nuclear population from microtome sections. **Anat. Rec.**, v. 92, p. 239-247, 1946.
- Almeida, L.M., Weiss, R.R., Castro, C.S. & Büchele, J. Quantificação histológica da espermatogênese em ratos Wistar tratados com dimetil sulfóxido. **Arch. Vet. Sci.**, v. 5, p. 129-135, 2000.
- Amann, R.P.A. & Almquist, J.O. Reproductive capacity of dairy bull. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. **J. Dairy Sci.**, v. 45, p. 774-781, 1962.
- Assis-Neto, A.C., Melo, M.I.V., Carvalho, M.A.M., Miglino, M.A., Oliveira, M.F., Ambrósio, C.E., Silva, S.M.M.S., Blasquez, F.X.H., Papa, P.C. & Kfoury Júnior, J.R. Quantificação de

- células dos tubules seminíferos e rendimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiro. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 40, p. 175-179, 2003.
- Cardoso, F. M. & Godinho, H.P. Daily sperm production of zebus (*Bos indicus*) estimated by quantitative histology of the testis. **Theriogenology**, v. 23, p. 841-849, 1985.
- Castro, A.C.S., Bernedson, W.E. & Cardoso, F.M. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em estudos da reprodução de mamíferos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 21, p. 25-34, 1997.
- Costa, D.S., Menezes, C.M.C. & Paula, T.A.R. Spermatogenesis in white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*). **Anim. Reprod. Sci.**, v. 98, p. 322-334, 2007.
- Costa, D.S., Henry, M. & Paula, T.A.R. Espermatogênese de cateto (*Tayassu tajacu*). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 56, p. 46-51, 2004.
- Costa, D.S. & Paula, T.A.R. Espermatogênese em mamíferos. **Scientia**, v.4, n. 1/2, p. 53-72, 2003.
- França, L.R.; Gosh, S.; Ye, S.J. & Russell, L.D. Surface and surface-to-volume relationships of the Sertoli cell during the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Biol. Reprod.**, v. 49, n. 6, p. 1215-1228, 1993.
- França, L.R.; Cardoso, F.M. & Castro, A.C.S. Desenvolvimento testicular de suíno Piau. IV. População celular dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.40, p. 339-354, 1988.
- França, L.R., Russell, L.D. The testis of domestic animals. In: Regadera, J., Martinez-Garcia (Ed.). **Male Reproduction**. Madrid: Churchill Livingstonr, 1998. p. 197-219.
- Gravis, C.J. Scanning electron microscopic study of the Sertoli cell and spermiation in the Syrian hamster. **Am. J. Anat.**, v. 151, p. 21-38, 1975.

Hamasaki, M & Murakami, M. Three-dimensional profiles of Sertoli cells processes and the associated appendices as viewed by SEM. **J. Elect. Microsc.**, v. 35, p. 132-143, 1986.

Honaramooz, A.; Behboodi, E.; Blash, S.; Megee S.O. & Dobrinski, I. Germ cell transplantation in goats. **Mol. Reprod. Develop.**, v. 64, p. 422-428, 2003a.

Honaramooz, A.; Behboodi, E.; Megee, S.O.; Overton, S.A.; Galantino-Homer, H.; Echelard Y. & Dobrinski, I. Fertility and germline transmission of donor haplotype following germ cell transplantation in immunocompetent goats. **Biol. Reprod.**, v. 69, p. 1260-1264, 2003b.

Honaramooz, A.; Behboodi, E.; Megee, S.O. & Dobrinski, I. Germ cell transplantation in pigs. **Biol. Reprod.**, v. 66, p. 21-28, 2002.

Know, G.O; Park, Y.S; Lee, S.H; Yamamoto, E. Hosaka, Y.; Ueda, H. & Takehana, K. Ultrastructure and function of Sertoli cell processes in the Korean Native Goat. **Okaj. Fol. Anat. Jap.**, v. 79, n. 4, p. 121-128, 2002.

Kurohmaru, M. & Nishida, T. Three-dimensional structure of the Sertoli cell in the Shiba goat. **Arch. Histol. Jap.** v.50, p. 515-523, 1987.

Leal, M.C. Análise morfológica e funcional do testículo e eficiência espermatogênica em *Saguís Callithrix penicillata* (Primates: Callitrichidae). Belo Horizonte, 2004: 88p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

Orth, J.M., Gunsalus, G.L., Lamperti, A.A. Evidence from Sertoli cell depleted rats indicates that spermatid in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. **Endocrinology**, v.122, p. 787-794, 1988.

Paula, T.A.R. Análise histométrica e funcional do testículo de capivaras (*Hidrochoerus hydrochaeris*) adultas. Belo Horizonte, 1999: 84p. Tese (Doutorado em Biologia Celular) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

- Park, Y. S.; Abe, M.; Takehana, K. & Iwasa, K. Three-dimensional structure of dog Sertoli cells: A computeraided reconstruction from serial semi-thin sections. **Arch. Histol. Cytol.**, v. 56, p. 65-73, 1993.
- Queiroz, G.G. & Cardoso, F.M. Avaliação histológica do rendimento da espermatogênese de carneiros deslanados adultos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 13, p. 99-108, 1989.
- Rocha, D.C.M., Debeljuk, L. & França, L.R. Exposure to Constant light during testis development increase daily sperm production in adult Wistar rats. **Tissue Cell**, v. 31, p. 372-379, 1999.
- Russell, L.D. & Griswold, M.D. **The Sertoli Cell**. (Ed.). Clearwater: Cache River Press, 1993. 800 p.
- Russell, L.D., Ettlín, R.A., Sinha-Hikin, A.P. & Clegg, E.D. **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Clearwater, Florida: Cache River Press, 1990. 286p.
- Russell, L.D.; Gardner, R.T. & Weber, J.E. Reconstruction of a type B configuration monkey Sertoli Cell: Size, shape and configurational and specialized cell-to-cell relationship. **Am. J. Anat.**, v. 175, p. 73-90, 1986.
- Segatelli, T.M., França, L.R., Pinheiro, P.F.F., Almeida, C.C.D., Martinez, M. & Matinez, F.E. Spermatogenic cycle length and spermatogenic efficiency in the Gerbil (*Meriones unguiculatus*). **J. Androl.**, v. 25, p. 872-880, 2004.
- Sharpe, R.M. Regulation of spermatogenesis. In: Knobil, E. & Neil, J.D. (Ed.). **The physiology of reproduction**. 2 ed. New York: Raven Press, 1994. p. 1363-1434.
- Silva, S.C.B. **Caracterização histológica e seminal do desenvolvimento sexual de caprinos saanem, criados em sistema intensivo**. Belo Horizonte, 2000. 117p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais.

Silva, S.M.M.S. **Desenvolvimento testicular de suínos das raças Large White e Landrace com diferentes taxas de ganho de peso diário.** Belo Horizonte, 1996. 106p. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais.

Ye, S.J.; Ghosh, S.; França, L.R. & Russell, L.D. Sertoli cell cycle: re-examination of the structural changes during the cycle of the seminiferous epithelium of the rat. **Anat. Rec.**, v. 237, n. 2, p. 187-198, 1993.

CAPÍTULO III*

*Elaborado segundo as normas da Animal Reproduction Science

Produção espermática diária e morfometria testicular em caprinos segundo a conformação externa do escroto*

A.A.N. Machado Júnior¹, M.A.M. Carvalho², A.C. Assis Neto³

1. Doutorando em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí. 2. Professora Associada, Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do Piauí. 3. Professor Doutor, Universidade Estadual Paulista, Campus de Dracena

Autor para correspondência:

Profa Dra Maria Acelina Martins de Carvalho

Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Morfofisiologia Veterinária, CEP 64049-550, Teresina-PI, Brasil. Email.: carvalhomam@uol.com.br

Resumo

Este estudo objetivou avaliar a histometria testicular e a população celular do testículo, além da eficiência espermatogênica em caprinos com diferentes conformações do escroto. Foram utilizados 18 caprinos divididos em três grupos: Grupo I – caprinos que não apresentavam o escroto bipartido; Grupo II – animais com escroto bipartido em até 50 % do comprimento testicular; Grupo III – caprinos com bipartição escrotal em nível superior a 50 % do comprimento testicular. Os testículos foram fixados em Bouin por 24 horas, e confeccionadas lâminas coradas com Hematoxilina-Eosina e analisadas em microscópio de luz. Foram realizadas mensurações do diâmetro dos túbulos seminíferos, altura do epitélio seminífero, proporção volumétrica dos compartimentos tubular e intersticial, quantificação das células de Sertoli e de Leydig e estimativa de produção espermática diária em caprinos com diferentes conformações do escroto. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com teste Student-Newman-Keuls para comparação das médias e foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson, ambos a 5 % de significância. Nos caprinos do grupo III, o valor encontrado para a

* Parte integrante da tese de doutorado do primeiro autor apresentada junto ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí.

densidade de volume do epitélio seminífero foi de $68,94 \pm 0,58 \%$, a altura do epitélio seminífero foi $60,23 \pm 4,93 \mu\text{m}$, o comprimento total dos túbulos seminíferos encontrado foi $2.091,92 \pm 26,99$ metros, o número de células de Sertoli e Leydig foi $1,81 \pm 0,44 \times 10^9$ e $1,36 \pm 0,14 \times 10^9$ e produção espermática diária observada foi de $2,15 \pm 0,34 \times 10^9$, sendo esses valores estatisticamente maiores que os observados para os demais grupos de caprinos. Conclui-se que os caprinos com maior grau de bipartição escrotal apresentam maior capacidade de produzir células reprodutivas, o que se reflete em um maior potencial reprodutivo.

Palavras-chave: escroto bipartido; histometria; produção espermática; caprino

Introdução

O mecanismo de evolução de uma espécie caracteriza-se basicamente por mudanças na frequência de ocorrência de determinados genes, em uma dada população, influenciadas por fatores que levam ao aparecimento de adaptações morfológicas nos animais, necessárias à sua reprodução e sobrevivência (Linhares; Gewandszajder, 1997). Na espécie caprina essa expressão gênica se torna bem evidente quando é observada uma configuração diferenciada do escroto, a bipartição escrotal, surgida a partir de uma provável ação do ambiente sobre esses animais.

Segundo achados na literatura, a bipartição escrotal foi evidenciada primeiramente em caprinos no leste da África por Robertshaw (1982) e, posteriormente, em animais da região Nordeste do Brasil por Nunes et al. (1983). Essa característica amplia a superfície do escroto em contato com o meio ambiente, aumentando a dissipação de calor, o que pode ter contribuído para melhoria de alguns parâmetros reprodutivos tais como, biometria escroto-testicular (Almeida, 2003; Machado Júnior, 2006) e qualidade do sêmen (Nunes et al., 1983; Silva et al., 1986; Almeida, 2003) de caprinos com escroto bipartido quando comparados com aqueles que não apresentam essa característica.

Alguns estudos foram desenvolvidos com o objetivo de avaliar a estrutura testicular e a espermatogênese em caprinos (Courtens; Loir, 1981; Oke et al., 1984; França et al., 1999;

Onyango et al., 2000; Leal et al., 2004). França et al. (1999) determinaram que a duração do ciclo do epitélio seminífero em caprinos é de 10,6 dias. Este conhecimento está envolvido diretamente na estimativa da produção espermática diária por grama de testículo, bem como na comparação da eficiência espermatogênica entre as espécies animais (Leal et al., 2004).

O número de células germinativas sustentadas pelas células de Sertoli é considerado o melhor indicativo da eficiência espermatogênica, pois está altamente correlacionada com produção espermática diária de um animal (Russell; Peterson, 1984; França; Russell, 1998).

Para se avaliar a produção espermática por unidade de área do túbulo seminífero, a relação mais significativa é entre o número de espermátides e as células de Sertoli (Russell; Peterson, 1984; França; Russell, 1998; França; Godinho, 2003). Dados da literatura mostram que a eficiência espermatogênica está também correlacionada com o volume dos túbulos seminíferos, número de células de Sertoli por grama de testículo e duração do ciclo do epitélio seminífero (Russell et al., 1990, Sharpe, 1994, Neves et al., 2005; Leal; França, 2006).

O objetivo desta pesquisa foi analisar a influência do nível da bipartição escrotal sobre a estrutura testicular, a população celular e a produção espermática diária em caprinos.

Materiais e Métodos

Experimentação animal e processamento do material

Este trabalho foi realizado utilizando-se 18 caprinos sem raça definida, com idade entre 1 e 1,5 anos, divididos em três grupos de seis animais, segundo a configuração externa do escroto: Grupo I – caprinos que não apresentavam o escroto bipartido; Grupo II – caprinos com bipartição escrotal em até 50 % do comprimento testicular; Grupo III – animais com escroto bipartido em nível superior a 50 % do comprimento testicular (Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI, nº 0540/06).

Os animais foram pesados e os testículos, após separados do epidídimo, foram igualmente pesados para determinação do índice gonadossomático. Fragmentos testiculares com

aproximadamente 3 mm de espessura, 5 mm de largura e 10 mm de comprimento, foram obtidos das regiões captata, média e caudata do testículo e colocados em solução de Bouin sob refrigeração (8 °C) por 24 horas para posterior processamento histológico e emblocagem em parafina.

Cortes de 4 µm foram corados com Hematoxilina-Eosina e analisados em microscópio de luz acoplado em sistema computacional de análise de imagens Qwin D-1000 versão 4.1 (Leica microsystems – Aotec Instrumentos Científicos Ltda. Rua Afonso Celso, 1244, São Paulo, 04119-061, Brasil).

Histometria testicular

A microscopia de luz permitiu realizar a histometria testicular (diâmetro dos túbulos seminíferos, altura do epitélio seminífero, proporção volumétrica dos compartimentos tubular e intersticial), a quantificação das células de Sertoli e de Leydig por testículo e estimativa de produção espermática diária nesses animais.

Para obtenção do diâmetro tubular e da altura do epitélio seminífero foram analisadas 30 secções histológicas transversais de túbulos seminíferos no estágio 1, com contorno o mais circular possível, randomicamente selecionadas em aumento de 400x, por animal.

A densidade de volume dos componentes testiculares foi determinada utilizando-se uma grade de contagem contendo 441 pontos de intersecção (Elias et al., 1971), onde para cada animal foram analisados 20 campos, em aumento de 400x, perfazendo um total de 8820 pontos.

Na obtenção do volume dos componentes testicular (Epitélio seminífero, lúmen, lâmina própria, células de Leydig, vasos testiculares e tecido conectivo) foi utilizado o percentual ocupado por cada elemento no parênquima testicular e o volume total do testículo. Como a densidade testicular é muito próxima de 1 (1,03 a 1,04), o peso do testículo foi considerado igual ao seu volume (França, 1991).

O cálculo do comprimento total dos túbulos seminíferos (CTTS) foi realizado com base no volume total dos túbulos seminíferos (VTTS) segundo a fórmula proposta por Attal; Courrot (1963); Dorst; Sajonski (1974): $CTTS = VTTS/\pi R^2$ (R = diâmetro tubular/2).

Quantificação celular e produção espermática diária

Em 20 secções transversais de túbulos seminíferos foi quantificado o número de nucléolos de células de Sertoli no estágio 1 (Figura 1A). Com os valores do CTTS e do número de nucléolos de células de Sertoli (S) por secção transversal de túbulo seminífero, foi possível calcular o número total de células de Sertoli por testículo utilizando a fórmula descrita por Hochereau-de-Reviere; Lincoln (1978): $NTCS = (CTTS \times n^{\circ} \text{ corrigido de S por secção transversal}) / \text{espessura do corte}$. Para se encontrar o NTCS por grama de testículo dividiu-se o valor encontrado pelo peso do testículo.

A estimativa da produção espermática diária (PED), a partir da histologia quantitativa, foi realizada com base na fórmula: $PED = (NTCS \times n^{\circ} \text{ de espermátides arredondadas por CS no estágio 1} \times \text{frequência do estágio 1}) / \text{Duração do estágio 1 em dias}$ (França, 1991), sendo que o número de espermátides arredondadas no estágio 1 (Figura 1A) foi determinado após análise de 20 secções transversais de túbulos seminíferos e a duração do estágio 1 utilizada foi de 1,61 dias segundo relatos de França et al. (1999). Para se obter a PED por grama de testículo dividiu-se o valor encontrado pelo peso do testículo.

Para quantificar o número total de células de Leydig no testículo foi obtida a proporção entre seu núcleo e citoplasma, o volume do núcleo, o volume do citoplasma e o volume celular segundo metodologia proposta por Paula (1999). A proporção núcleo-citoplasma foi estimada contando-se 1000 pontos sobre as células de Leydig, com auxílio da grade de contagem, em aumento de 400x. O volume nuclear (VN) foi obtido utilizando-se a fórmula da esfera: $VN = 4/3\pi R^3$, (R = raio nuclear obtido pela mensuração de 30 diâmetros de núcleo de células de Leydig em aumento de 1000x). O volume do citoplasma (VCt) foi determinado com base na

fórmula: $V_{Ct} = (\% \text{ citoplasma} \times \text{volume nuclear}) / \% \text{ núcleo}$. Por conseguinte, o volume celular foi o resultado da soma entre o volume do núcleo e do citoplasma. De posse do volume de uma célula de Leydig e do volume total dessas células no testículo, foi possível obter seu o número total por testículo e por grama de testículo.

Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à análise de variância para um delineamento inteiramente casualizado com teste Student-Newman-Keuls (SNK) para comparação das médias com 5 % de significância. O coeficiente de correlação de Pearson foi calculado ao nível de 5 % de significância para se observar a intensidade de correlação entre as variáveis.

Resultados

Os dados do peso corporal e peso dos testículos dos caprinos com escroto bipartido e não bipartido foram expressos na tabela 1. Identificou-se que o índice gonadossomático (peso testículo dividido pelo peso corporal) foi de aproximadamente 0,25; 0,25 e 0,26 % para os animais dos grupos I, II e III, respectivamente.

A densidade de volume dos compartimentos tubular e intersticial foi de $85,57 \pm 1,05$ e $13,60 \pm 1,05$ % para os caprinos do grupo I, $86,69 \pm 0,49$ e $12,38 \pm 0,96$ % para os animais do grupo II e $88,54 \pm 4,27$ e $12,08 \pm 4,24$ % para os do grupo III ($p > 0,05$). Dentre os parâmetros avaliados em ambos os compartimentos testiculares, apenas o epitélio seminífero e a lâmina própria mostraram diferenças entre os grupos de caprinos pesquisados (Tabela 1). No compartimento intersticial, as células de Leydig mostraram-se distribuídas de maneira dispersas (Figura 1B) e ocupavam cerca de 0,83, 1,17 e 1,23 %, do volume total desse compartimento, nos caprinos dos grupos I, II e III, respectivamente ($p > 0,05$). A densidade de volume dos vasos testiculares apresentou correlação significativa e positiva ($r = 95$, $p < 0,05$) com o volume ocupado pelo compartimento intersticial.

A média encontrada para a altura do epitélio seminífero foi maior no grupo que apresentava acentuada divisão do escroto (Grupo III), entretanto, o diâmetro tubular não variou ($p > 0,05$) entre os grupos de animais pesquisados. Nos caprinos do grupo I esses valores foram de $220,49 \pm 16,04$ e $60,23 \pm 4,93 \mu\text{m}$, nos do grupo II foram $217,34 \pm 16,59$; $60,98 \pm 5,05 \mu\text{m}$ e nos animais do grupo III foram $215,32 \pm 15,03$ e $73,12 \pm 6,62 \mu\text{m}$ ($p < 0,05$) (Tabela 1).

O comprimento total dos túbulos seminíferos, por testículo e por grama de testículo, apresentou-se estatisticamente diferente entre os grupos de caprinos (Tabela 1). Nos animais do grupo I esses valores foram 2.091,92 e 24,73 metros, nos do grupo II, 2.172,47 e 25,40 metros e nos caprinos do grupo III foram de 2.340,10 e 26,16 metros ($p < 0,05$). Esses dados mostraram correlação positiva e significativa ($r = 0,91$, $p < 0,05$) com a densidade de volume do compartimento tubular.

Os valores dos volumes das células de Leydig e dos seus núcleos foram de $439,63 \pm 2,51$ e $125,99 \pm 1,08 \mu\text{m}^3$ para os animais do grupo I, $535,39 \pm 13,28$ e $129,71 \pm 3,98 \mu\text{m}^3$ para os do grupo II, $569,67 \pm 32,12$ e $130,93 \pm 2,31 \mu\text{m}^3$ para os caprinos do grupo III (Tabela 2). O número total dessas células, por testículo e por grama de testículo, foi de 1,36 bilhões e 15,59 milhões nos caprinos do grupo I, 2,22 bilhões e 21,79 milhões nos animais do grupo II, e 2,27 bilhões e 26,73 milhões nos do grupo III ($p < 0,05$). O coeficiente de correlação entre a população de células de Leydig e o compartimento intersticial foi de 90 % ($p < 0,05$) e em relação ao volume dos vasos intersticiais de 93 % ($p < 0,05$).

O número total das células de Sertoli encontrado nos testículos dos animais com escroto bipartido e não bipartido mostrou-se estatisticamente diferente ($p < 0,05$) sendo de 1,81 bilhões por testículo e 21,40 milhões por grama de testículo nos caprinos do grupo I, 2,16 bilhões por testículo e 25,25 milhões por grama de testículo nos do grupo II e 2,52 bilhões por testículo e 28,18 milhões por grama de testículo nos caprinos do grupo III (Tabela 2). A correlação

observada entre esses valores e o comprimento dos túbulos seminíferos foi de 92 % ($p < 0,05$) e com o volume dos vasos intersticiais foi de 97 % ($p < 0,05$).

A estimativa de produção espermática diária, por testículo e por grama de testículo, nos caprinos foi de 2,15 bilhões e 25,42 milhões nos animais do grupo I, 2,75 bilhões e 32,15 milhões nos animais do grupo II e 3,05 bilhões e 34,10 milhões nos do grupo III ($p < 0,05$) (Tabela 2). Esses dados apresentaram correlação positiva e significativa com a densidade de volume das células de Leydig ($r = 0,93$, $p < 0,05$), o volume dos vasos intersticiais ($r = 0,95$, $p < 0,05$), o número de células de Sertoli ($r = 0,94$, $p < 0,05$) e o volume do epitélio seminífero ($r = 0,96$, $p < 0,05$).

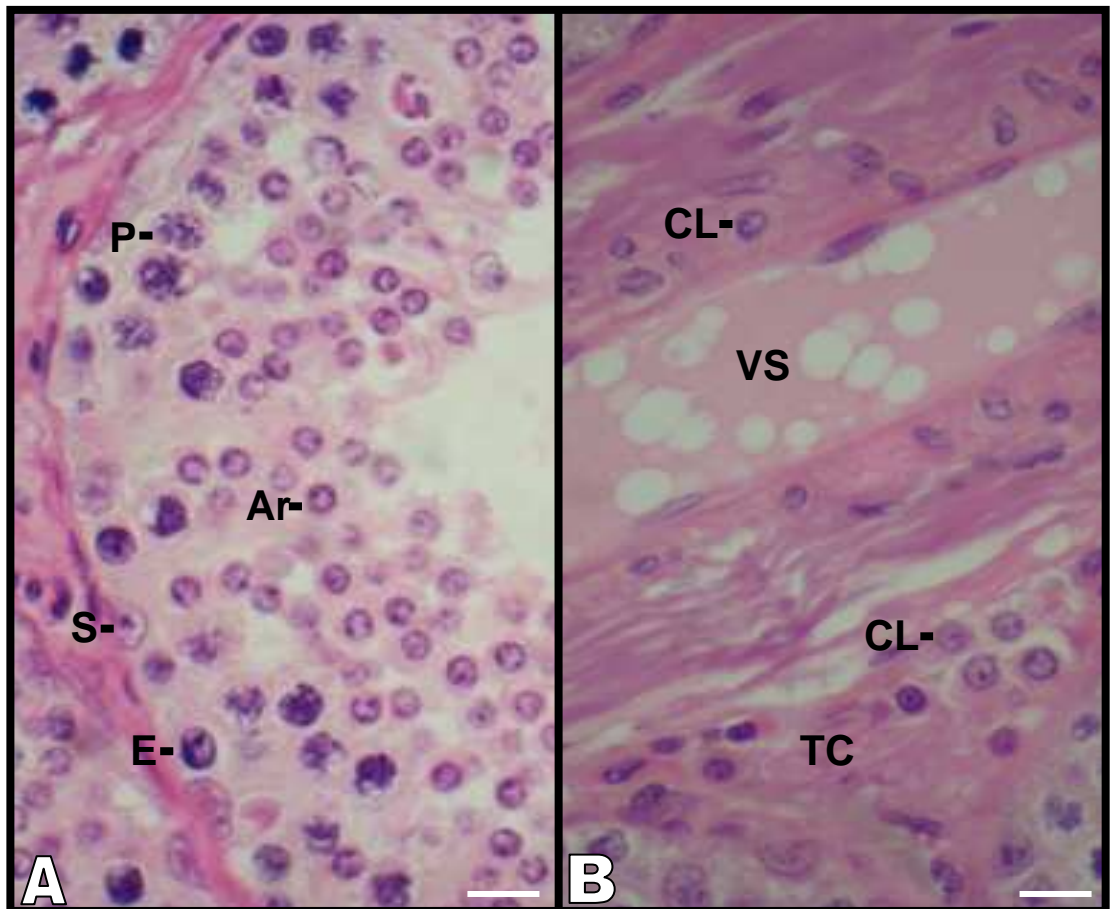


Figura 1. Fotomicrografia dos compartimentos tubular (A) e intersticial (B) dos testículos de caprinos do grupo III. (A) Secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 do ciclo com as células características: Espermatogônias (E), Espermatócitos primários em paquíteno (P), espermátides arredondadas (Ar) e núcleos de células de Sertoli (S). (B) Compartimento intersticial com seus principais componentes: Células de Leydig (CL), tecido conectivo (TC) e vasos sanguíneos (VS). Coloração Hematoxilina-Eosina. Bar. 50µm.

Tabela 1. Parâmetros histométricos dos testículos de caprinos com escroto bipartido e não bipartido, Teresina – PI, 2009

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Peso corporal (Kg)	33,20 ± 2,96 ^a	33,25 ± 4,14 ^a	33,40 ± 6,90 ^a
Peso do testículo	84,57 ± 27,79 ^a	85,52 ± 18,42 ^a	89,42 ± 9,74 ^a
Índice gonadossomático (%)	0,25 ± 0,05 ^a	0,25 ± 0,03 ^a	0,26 ± 0,05 ^a
Volume dos compartimentos testiculares (%):			
Tubular	85,57 ± 1,05 ^a	86,69 ± 0,49 ^a	88,54 ± 4,27 ^a
Lâmina própria	6,18 ± 1,54 ^a	4,75 ± 0,22 ^b	3,71 ± 0,32 ^c
Epitélio seminífero	68,94 ± 0,58 ^b	71,52 ± 2,79 ^{ab}	73,44 ± 4,70 ^a
Lúmen	12,45 ± 1,37 ^a	10,42 ± 3,17 ^a	10,39 ± 0,27 ^a
Intersticial	15,60 ± 1,05 ^a	12,38 ± 0,96 ^a	11,08 ± 4,24 ^a
Células de Leydig	0,83 ± 0,42 ^a	1,17 ± 0,11 ^a	1,23 ± 0,30 ^a
Tecido conectivo	14,27 ± 1,50 ^a	10,39 ± 0,92 ^a	9,04 ± 3,44 ^a
Vasos	0,50 ± 0,39 ^a	0,82 ± 0,03 ^a	0,81 ± 0,57 ^a
Diâmetro tubular (µm)	220,49 ± 16,04 ^a	217,34 ± 16,59 ^a	215,32 ± 15,03 ^a
Altura do epitélio seminífero (µm)	60,23 ± 4,93 ^b	60,98 ± 5,05 ^b	73,12 ± 6,62 ^a
Comprimento total dos túbulos seminíferos por testículo (metros)	2.091,92 ± 26,99 ^b	2.172,47 ± 24,15 ^b	2.340,10 ± 14,04 ^a
Comprimento total dos túbulos seminíferos por grama de testículo (metros)	24,73 ^b	25,40 ^b	26,16 ^a

Médias seguidas de letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ao nível de 5 % de significância

Tabela 2. Histometria das células de Sertoli e Leydig e produção espermática diária em caprinos com escroto bipartido e não bipartido, Teresina – PI, 2009

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Células de Leydig			
Diâmetro nuclear (μm)	$6,22 \pm 0,01^a$	$6,28 \pm 0,06^a$	$6,3 \pm 0,03^a$
Volume celular (μm^3)	$439,63 \pm 2,51^c$	$535,39 \pm 13,28^b$	$569,67 \pm 32,12^a$
Volume nuclear (μm^3)	$125,99 \pm 1,08^a$	$129,71 \pm 3,98^a$	$130,93 \pm 2,31^a$
Volume citoplasmático (μm^3)	$313,63 \pm 2,83^c$	$405,68 \pm 9,84^b$	$438,74 \pm 31,92^a$
Total por testículo ($\times 10^9$)	$1,36 \pm 0,14^b$	$2,22 \pm 0,74^a$	$2,27 \pm 0,54^a$
Total por grama de testículo ($\times 10^6$)	$15,59 \pm 1,60^b$	$21,79 \pm 5,21^{ab}$	$26,73 \pm 8,87^a$
Células de Sertoli			
Total por testículo ($\times 10^9$)	$1,81 \pm 0,44^c$	$2,16 \pm 0,39^b$	$2,52 \pm 0,09^a$
Total por grama de testículo ($\times 10^6$)	$21,40 \pm 0,61^c$	$25,25 \pm 1,61^b$	$28,18 \pm 0,12^a$
Produção espermática diária por testículo ($\times 10^9$)	$2,15 \pm 0,34^b$	$2,75 \pm 0,44^a$	$3,05 \pm 0,68^a$
Produção espermática diária por grama de testículo ($\times 10^6$)	$25,42 \pm 1,01^b$	$32,15 \pm 2,14^a$	$34,10 \pm 0,82^a$

Médias seguidas de letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ao nível de 5 % de significância

Discussão

Este trabalho se apresenta como o primeiro estudo sobre a estrutura e função testicular, de caráter comparativo entre caprinos com diferentes configurações externa do escroto, abordando aspectos dos compartimentos testiculares e uma estimativa da produção espermática diária.

Os valores encontrados para o índice gonadossomático nos caprinos utilizados nesta pesquisa foram menores que o observado para caprinos Pardo-Alpina (0,35 %) e javali (0,31 %) (Leal et al., 2004; Almeida et al., 2006), no entanto, foram maiores que o verificado para bovinos (0,1 %), búfalos (0,04 %), capivaras (0,12 %), queixada (0,19 %) (Kenagy; Trombulack, 1986; França; Russell, 1998; Paula et al., 2002; Costa et al., 2007).

Em muitos mamíferos, os túbulos seminíferos ocupam entre 70 a 90 % do parênquima testicular (Oke et al., 1984; Russell et al., 1990; França; Russell, 1998; Leal et al., 2004). Foi

percebido, neste estudo, que os valores encontrados foram semelhantes aos observados por França; Godinho (2003) para gatos (88,2 %), por Leal et al. (2004) para caprinos da raça Pardo-Alpina (87,7 %), por Almeida et al. (2006) para suínos (86,9 %) e por Costa et al. (2007) para o queixada. A densidade de volume e altura do epitélio seminífero no testículo dos caprinos desta pesquisa foram maiores naqueles com maior nível de bipartição escrotal.

O valor do diâmetro tubular não diferiu entre os caprinos com escroto bipartido e os não bipartido, e está próximo ao observado em caprinos (aproximadamente 218 μm) por Oke et al. (1984); França; Russell (1998); Nishimura et al. (2000) e cerca 15 % menor ao relatado por Leal et al. (2004) também em caprinos.

O comprimento dos túbulos seminíferos por grama de parênquima testicular varia de 10 a 30 metros (Setchell et al., 1994; França; Russell et al., 1998; França; Godinho, 2003; Almeida et al., 2006; Costa et al., 2007). Para Leal et al. (2004) em caprinos da raça Pardo-Alpina foi de 20 metros, sendo este valor menor que o observado nos caprinos deste estudo.

A densidade de volume das células de Leydig foi bem próxima da citada por Leal et al. (2004) para caprinos, porém menor que a observada no porco, capivara, javali e queixada (França et al., 2000; Paula et al., 2002; Almeida et al., 2006; Costa et al., 2007). Entretanto, a organização dessas células no compartimento intersticial dos caprinos utilizados nesta pesquisa, não diferiu do relatado por Leal et al., (2004) e obedeceu a distribuição tipo II (Grupos células de Leydig espalhadas no tecido conjuntivo frouxo, o qual é drenado por um vaso linfático localizado centralmente ou excêntrica no espaço intertubular) citada por Fawcett et al. (1973).

Além de produzir testosterona, as células de Leydig secretam vários outros hormônios importantes para manutenção das características reprodutivas secundárias como comportamento sexual e atividade das glândulas acessórias (Sharpe, 1994; Pelliniemi et al., 1996; Leal et al., 2004), por isso, determinar a quantidade de células de Leydig de uma espécie é importante para

se conhecer aspectos relacionados à espermatogênese e atividade sexual. Os resultados desta pesquisa indicaram que os caprinos com escroto bipartido apresentam maior número de células de Leydig no testículo. Deste modo, entende-se os mais elevados níveis séricos de testosterona encontrado por Silva (2006) em caprinos que possuem a bipartição do escroto quando comparados com aqueles não apresentam essa característica, pois tais níveis relacionam-se com a quantidade e volume das células de Leydig encontradas no interstício testicular.

O volume dessas células, segundo a literatura, está correlacionado com quantidade de retículo endoplasmático liso e com a taxa de produção de testosterona (Ewing et al., 1979; Zirkin et al., 1980). No entanto, ainda não está bem elucidado o motivo de tão grande variação na organização das células de Leydig no testículo dos mamíferos (Fawcett et al., 1973; Russell, 1996). Do mesmo modo, existe pouca informação sobre a grande amplitude nos valores observados para densidade de volume das células de Leydig (1,4 % em caprinos até 35 % em capivaras), volume individual destas células ($400 \mu\text{m}^3$ em carneiros até $5000 \mu\text{m}^3$ em cavalos) e número de células de Leydig por grama de testículo nos animais (6 milhões em porquinho-da-Índia até 160 milhões em javali) (Johnson; Neaves, 1981; Lunstra; Schabaner, 1988; Russell, 1996; França; Russell, 1998; Leal et al., 2004; Almeida et al., 2006).

Às células de Sertoli aumentam durante o desenvolvimento do animal e tendem a se estabilizarem quando este atinge a maturidade sexual (Hess et al., 1993; França et al., 2000). A literatura relata que a capacidade de suporte por parte dessas células é limitada e varia segundo cada espécie. Com base nisso, acredita-se que o número das células de Sertoli é diretamente ligado à taxa de produção espermática de um animal, pois, relatos apontam que a eficiência da espermatogênese correlaciona-se positivamente com o número de células germinativas suportadas por cada célula de Sertoli (Sharpe, 1994; França; Russell, 1998).

Associado a isto, a densidade de volume dos túbulos seminíferos, a duração do ciclo do epitélio seminífero, o número de gerações espermatogoniais e a taxa de degeneração das células

germinativas durante a espermatogênese são também importantes parâmetros para determinação da eficiência espermatogênica de um animal (Johnson et al., 2000; França et al., 2002).

O número de células de Sertoli por grama de testículo para os caprinos pesquisados, situou-se em uma faixa intermediária à observada para alguns animais como gatos, caprinos, sagüis, suínos e queixada (França; Godinho, 2003; Leal et al., 2004; Leal; França, 2006; Almeida et al., 2006; Costa et al., 2007), apresentando, os caprinos com escroto bipartido, valores maiores aos encontrados para aqueles com escroto sem bipartição.

No entanto, a eficiência das células de Sertoli nos caprinos associada à alta densidade de volume dos túbulos seminíferos e a curta duração do ciclo do epitélio seminífero (10,6 dias segundo França et al., 1999), faz com que a eficiência espermatogênica ou produção de espermatozóides nessa espécie seja uma das mais altas já observadas (Russell et al., 1990; França; Russell, 1998; França; Godinho, 2003; Almeida et al., 2006). Somando-se a essa observação, agrega-se ainda, que os caprinos com maior grau de bipartição escrotal apresentaram maior taxa de produção espermática diária por testículo e por grama de testículo.

Conclui-se que a bipartição do escroto em caprinos interfere na histometria testicular desses animais fazendo com que aqueles que detêm essa característica morfológica apresentem maior produção espermática diária e maior população celular.

Agradecimento

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo apoio financeiro por meio do projeto “Produção, sanidade e biotecnologia em animais adaptados ao Meio Norte do Brasil” (Edital MCT/CT-INFRA/CT-ENERG/CNPq - 07/2006 - Processo: 620240/2006-7).

Referências

- Almeida, F.F.L.; Leal, M.C.; França, L.R. 2006. Testes morphometry, duration of spermatogenesis and spermatogenic efficiency in wild boar (*Sus scrofa scrofa*). **Biol. Reprod.** 75: 792-799.
- Almeida, M.M. 2003. **Vascularização arterial testicular e escrotal de caprinos nativos do Estado do Piauí, segundo grau de divisão do escroto, e a relação com parâmetros reprodutivos.** Teresina, 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí.
- Attal, J.; Courot, M. 1963. Development testiculaire et etablissement de la spermatogenese chez le taureau. **Ann. Biol. Ani. Bioch. Biophys.**, 3: 219-241.
- Costa, D.S.; Menezes, C.M.C.; Paula, T.A.R. 2007. Spermatogenesis in white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*). **Anim. Reprod. Sci.**, 98: 322-334.
- Courtens, J.L., Loir, M. A. 1981. Cytochemical study of nuclear changes in boar, bull, goat, mouse, rat and stallion spermatids . **J. Ultrastruc. Res.**, 74: 327-340.
- Dorst, V.J.; Sajonski, H. 1974. Morphometrische untersuchunhen am tubulussystem des schweinehodens wahrend der postnatalen entwicklug. **Monoths. Vet. Med.**, 29, 650-652.
- Elias, H.; Hennig, A.; Schwartz, D.E. 1971. Stereology applications to biomedical research. **Physiol. Rev.**, 51: 158-200.
- Ewing, L.L.; Zirkin, B.R.; Cochran, R.C; Kromann, N.; Peters, C.; Ruiz-Bravo, N. 1979. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea, pig, dog and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell mass. **Endocrinology**, 105: 1135-1142.
- Fawcett, D.W.; Neaves, W.B.; Flores, M.N. 1973. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. **Biol. Reprod.**, 9: 500-532.

- França, L.R.; Godinho, C.L. 2003. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*). **Biol. Reprod.**, 68: 1554-1561.
- França, L.R.; Russell, L.D.; Cummins, J.M. 2002. Is human spermatogenesis uniquely poor? **Ann. Rev. Biomed. Sci.**, 4: 19-40.
- França, L.R.; Silva Junior, V.V.; Chirini-Gracia, H.; Gracia, S.K.; Debeljuk, L. 2000. Cell proliferation and hormonal changes during posnatal development of the testis in the pig. **Biol. Reprod.**, 63: 1629-1636.
- França, L.R.; Becker-Silva, S.C.; Chiarini-Garcia, H. 1999. The length of the cycle of seminiferous epithelium in goats (*Capra hircus*). **Tissue Cell**, 31: 274-280.
- França, L.R.; Russell, L.D. 1998. The testis of domestic animals. In: MARTINEZ, F.; Regadera, J. (Eds.). **Male Reproduction**. Madrid: Churchill Livingstonr, 197-219.
- França, L.R. 1991. **Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau**. Belo Horizonte, 185p. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biológica, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Hess, R.A.; Cooke, P.S.; Bunick, D.; Kirby, J.D. 1993. Adult testicular enlargement induced by neonatal hypothyroidism is accompanied by increased Sertoli cell and germ cell number. **Endocrinology**, 132: 2607-2613.
- Houchereau-de-Reviere, M.T.; Lincoln, G.A. 1978. Seasonal-variation in histology of testis of red deer, *Cervus elaphus*. **J. Reprod. Fertil.**, 52: 209-213.
- Johnson, L.; Neaves, W.B. 1981. Age-related changes in the Leydig cell population, seminiferous tubules and sperm production in stallions. **Biol. Reprod.**, 24: 703-712
- Johnson, L.; Varner, D.D.; Roberts, M.E.; Smith, T.L.; Keillor, G.E.; Scrutchfield, W.L. 2000. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Anim. Reprod. Sci.** 60-61: p. 471-480.
- Kenagy, G.J.; Trombulak, S.C.1986. Size and function of mammalian testes in relation to body size. **J. Mamm.**, 67: 1-22.

- Leal, M.C.; França, L.R. 2006. The seminiferous epithelium cycle length in the black tuffed-ear marmoset (*Callithrix penicillata*) is similar to humans. **Biol. Reprod.**, 74: 616-624.
- Leal, M.C.; Becker-Silva, S.C.; Chiarini-Garcia, H.; França, L.R. 2004. Sertoli cell efficiency and daily sperm production in goats (*Capra hircus*). **Anim. Reprod.**, 1: 122-128.
- Linhares, S.; Gewandsznajder, F. 1997. **Biologia hoje**. v. 3, São Paulo: Ática, 424.
- Lunstra, D.D.; Schanbacher, B.D. 1988. Testicular function and Leydig cell ultrastructure in long-term bilaterally cryptorchid rams. **Biol. Reprod.**, 38: 145-158.
- Machado Júnior, A.A.N. 2006. **Influência da morfologia escrotal sobre a termorregulação, a biometria escroto-testicular e o comportamento sexual de caprinos nos períodos seco e chuvoso do Estado do Piauí**. Teresina, 84p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí).
- Neves, E.S.; Chiarini-Gracia, H.; França, L.R. 2005. Ultrastructural observation of the mule testis indicates normal function of somatic cells. **Anim. Reprod.**, 2: 263-271.
- Nishimura, S.; Okano, K.; Yasukouchi, K.; Gotoh, T.; Tabata S.; Iwamoto, H. 2000. Testis developments and puberty in the male Tokara (Japanese native) goat. **Anim. Reprod. Sci.**, 64: 127-131.
- Nunes, J. F.; Riera, G. S.; Silva, A. E. F. D.; Ponce de Leon, F. A.; Lima, F. A. M. 1983. **Características espermáticas de caprinos Moxotó de acordo com a morfologia escrotal**. Sobral: EMBRAPA/CNPCaprinos, 11p. (Circular técnica, 6).
- Oke, B.O. Ogwuegbu, S.O.; Akusu, M.O. 1984. Morphometric study of the testis of the west African Dwarf goat. **Bull. Anim. Hlth. Prod. S. Afr.**, 32: 57-60.
- Onyango, D.W.; Wango, E.O.; Otiang´A-Owiti, G.E.; Oduor-Okelo, D.; Werner, G. 2000. Morphological characterization of the seminiferous cycle in the goat (*Capra hircus*): a histological and ultrastructural study. **Anat. Anz.**, 182: 235-241.

- Paula, T.A.R.; Costa, D.S.; Matta, S.L.P. 2002. Avaliação histológica quantitativa do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. **Biosci J**, v.18, n.1, p. 121-136.
- Paula, T.A.R. 1999. **Análise histométrica e funcional do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas**. Belo Horizonte, 84p. Tese (Doutorado em Biologia Celular) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Pelliniemi, L.J.; Kuopio, T.; Frojzman, K. 1996. The cell biology and function of the fetal Leydig cell. In: Payne, A.H.; Hardy, M.P.; Russell, L.D. (Ed.). **The Leydig Cell**. Viena: Cache River Press, 143-157.
- Robertshaw, D. 1982. Concepts in animal adaptation: thermoregulation of the goat. In: International Conference on Goat Production and Disease, 3, Tucson. **Proceedings...** Seoltsdale: Dairy goat journal, 395-97.
- Russell, L.D. 1996. Mammalian Leydig cell structure. In: Payne AH, Hardy MP, Russell LD (Eds.). **The Leydig cell**. Vienna, IL: Cache River Press. 43-96.
- Russell, L.D.; Peterson, R.N. 1984. Determination of the elongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals. **J. Reprod. Fertil.**, 70: 635-64.
- Russell, L.D.; Ren, H.P.; Sinha-Hikim, I.; Schulze, W.; Sinha-Hikim, A.P. 1990. A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes, and numerical densities of selected testis components emphasizing those related the Sertoli cell. **Am. J. Anat.**, 188: 21-30.
- Setchell, B.P.; Maddocks, S.; Brooks, D.E. 1994. Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. In: Knobil E, Neill JD (Eds.). **The physiology of reproduction**. 2nd ed, New York, NY: Raven Press. 1063-1175.
- Sharpe, R.M. 1994. Regulation of spermatogenesis. In: Knobil E, Neill JD (Eds.). **The physiology of reproduction**. 2nd ed, New York, NY: Raven Press. 1363-1434.

Silva, A. E. D. F.; Nunes, J. F.; Melo, F. A. 1986. Influência da morfologia escrotal nas características do sêmen e seus efeitos na fertilidade de caprinos. **A Hora Veterinária**, 29: 66-69.

Silva, J.M. 2006. **Proporção de espermatozoides portadores de cromossomos X ou Y e concentrações séricas de testosterona em caprinos segundo a conformação escrotal**. Teresina, 60p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí.

Zirkin, B.R.; Ewing, L.L.; Kromann, N.; Cochran, R.C. 1980. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea, pig, dog and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell ultrastructure. **Endocrinology**, 107: 1867-1874.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nesse estudo, que teve o objetivo de avaliar o processo espermatogênico frente ao potencial reprodutivo de caprinos, de forma comparativa, entre os animais que apresentam divisão externa no escroto e os que não possuem essa característica, pode-se afirmar que aqueles demonstram maior eficiência da espermatogênese refletindo, melhor potencial reprodutivo. Essa afirmação é respaldada nos resultados obtidos nesta pesquisa, relativos ao número de células germinativas e de Sertoli, rendimento da espermatogênese, além de aspectos relacionados à histometria dos testículos tais como densidade de volume e altura do epitélio seminífero, comprimento total dos túbulos seminíferos, população de células de Leydig e produção espermática diária que foram, significativamente, superiores no grupo de caprinos com maior grau de bipartição escrotal.

Considerando os estudos, anteriormente, realizados nessa linha de pesquisa junto ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, advindos de dissertações já concluídas, chama-se atenção aos trabalhos sobre, a quantificação das glândulas sudoríparas (NUNES, 2005) e a termorregulação escroto-testicular (MACHADO JÚNIOR, 2006). Estes aspectos mostraram-se intrinsecamente relacionados com a manutenção da temperatura testicular em um nível adequado ao processamento da espermatogênese e demonstraram que os caprinos com escroto bipartido têm uma melhor capacidade de perder calor para garantir uma homeostase testicular.

Com o estudo estrutural desenvolvido nesta pesquisa, pode-se inferir que, dentre os caprinos adaptados às condições climáticas do Nordeste do Brasil, aqueles que possuem a característica de bipartição escrotal tendem a se sobressair reprodutivamente quando comparados com os caprinos que não apresentam o escroto bipartido.

Adicionalmente, tornam-se necessárias pesquisas que busquem avaliar *in vivo* como esses caprinos se comportam produtiva e reprodutivamente, a fim de verificar se o potencial reprodutivo observado *in vitro* se repete a campo, pois os estudos já realizados, visando o comportamento sexual desses animais (ALMEIDA, 2003; MACHADO JÚNIOR, 2006), limitaram-se a observar o interesse do macho pela fêmea sem, entretanto, avaliar outros aspectos ligados à reprodução.

Por fim, de posse de todos os dados referentes ao comportamento produtivo e reprodutivo desses animais, se comece um trabalho de orientação aos criadores de caprinos no sentido de apresentar os possíveis benefícios de manter animais com essa característica no plantel de reprodutores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear population from microtome sections. **Anatomical Record**, v. 92, n. 2, p. 239-247, 1946.

ALMEIDA, F.F.L.; LEAL, M.C.; FRANÇA, L.R. Testes morphometry, duration of spermatogenesis and spermatogenic efficiency in wild boar (*Sus scrofa scrofa*). **Biol. Reprod.** v. 75, p. 792-799, 2006.

ALMEIDA, M.M. **Vascularização arterial testicular e escrotal de caprinos nativos do Estado do Piauí, segundo grau de divisão do escroto, e a relação com parâmetros reprodutivos.** Teresina, 2003. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Centro do Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí.

ALMEIDA, L.M.; WEISS, R.R.; CASTRO, C.S.; BÜCHELE, J. Quantificação histológica da espermatogênese em ratos Wistar tratados com dimetil sulfóxido. **Arch. Vet. Sci.**, v. 5, p. 129-135, 2000.

AMANN, R.P.A.; ALMQUIST, J.O. Reproductive capacity of dairy bull. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. **Journal Dairy Science**, v. 45, n. 1, p. 774-781, 1962.

ASSIS-NETO, A.C.; MELO, M.I.V.; CARVALHO, M.A.M.; MIGLINO, M.A.; OLIVEIRA, M.F.; AMBRÓSIO, C.E.; SILVA, S.M.M.S.; BLASQUEZ, F.X.H.; PAPA, P.C.; KFOURY JÚNIOR, J.R. Quantificação de células dos tubules seminíferos e rendimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiro. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 40, p. 175-179, 2003.

ATTAL, J.; COUROT, M. Development testiculaire et etablissement de la spermatogenese chez le taureau. **Annals Biology Biochemistry and Biophysical.**, v. 8, n. 3, p. 219-241, 1963.

BACHA JÚNIOR, W.J.; BACHA, L.M. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca. 2003, p. 335-354.

BARDIN, C.W. androgens: early attempts to evaluate Leydig cell function in man. In: PAYNE, A.H.; HARDY, M.P.; RUSSELL, L.D. (Eds.). **The Leydig Cell**. Viena: Cache River Press, 1996, p. 31-42.

CARDOSO, F. M.; GODINHO, H.P. Daily sperm production of zebus (*Bos indicus*) estimated by quantitative histology of the testis. **Theriogenology**, v. 23, p. 841-849, 1985.

CASTRO, A.C.S.; BERNEDSON, W.E.; CARDOSO, F.M. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em estudos da reprodução de mamíferos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 21, p. 25-34, 1997.

COSTA, D.S.; MENEZES, C.M.C.; PAULA, T.A.R. Spermatogenesis in white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*). **Anim. Reprod. Sci.**, v. 98, p. 322-334, 2007.

COSTA, D.S.; HENRY, M.; PAULA, T.A.R. Espermatogênese de cateto (*Tayassu tajacu*). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 56, p. 46-51, 2004.

COSTA, D.S.; PAULA, T.A.R. Espermatogênese em mamíferos. **Scientia**, v.4, n. 1/2, p. 53-72, 2003.

COURTENS, J.L.; LOIR, M.A. A cytochemical study of nuclear changes in boar, bull, goat, mouse, rat and stallion spermatids. **J. Ultrastruc. Res.** v. 74, p. 327-340, 1981.

CURTIS, G.M. The morphology of the mammalian seminiferous tubule. **America Journal of Anatomy**, v.24, p. 339-394, 1918.

DE KRESTER, D.M.; LOVELAND, K.L.; MEINHARDT, A.; SIMORANGKIR, D.; WREFORD, N. Spermatogenesis. **Hum. Reprod.**, v. 13, p. 1-8, 1998.

DORST, V.J.; SAJONSKI, H. Morphometrische untersuchunhen am tubulussystem des schweinehodens wahrend der postnatalen entwicklug. **Monaths Veterinary Medicine**, v.29, n. 17, p. 650-652, 1974.

DYCE, K.M., SACK, W.O., WENSING, C.J.G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 663p

ELIAS, H.; HENNIG, A.; SCHWARTZ, D.E. Stereology applications to biomedical research. **Physiol. Rev.**, v. 51, p. 158-200, 1971.

EWING, L.L.; ZIRKIN, B.R.; COCHRAN, R.C ; KROMANN, N.; PETERS, C.; RUIZ-BRAVO, N.. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea, pig, dog and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell mass. **Endocrinology**, v. 105, p. 1135-1142, 1979.

FAWCETT, D.W.; NEAVES, W.B.; FLORES, M.N. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. **Biology of Reproduction**, v. 9, p. 500-532, 1973.

FRANCA, L.R.; GLEIDE, F.A.; ALMEIDA, F.F.L. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. **Theriogenology**, v. 63, p. 300–318, 2005.

FRANÇA, L.R.; GODINHO, C.L. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*). **Biol. Reprod.**, v. 68, p. 1554-1561, 2003.

FRANÇA, L.R.; RUSSELL, L.D.; CUMMINS, J.M. Is human spermatogenesis uniquely poor? **Ann. Rev. Biomed. Sci.**, v. 4, p. 19-40, 2002.

FRANÇA, L.R.; SILVA JUNIOR, V.V.; CHIRINI-GRACIA, H.; GRACIA, S.K.; DEBELJUK, L. Cell proliferation and hormonal changes during postnatal development of the testis in the pig. **Biol. Reprod.**, v. 63, p. 1629-1636, 2000.

FRANÇA, L.R.; BECKER-SILVA, S.C.; CHIARINI-GARCIA, H. The length of the cycle of seminiferous epithelium in goats (*Capra hircus*). **Tissue Cell**, v. 31, p. 274-280, 1999.

FRANÇA, L.R.; CARDOSO, F.M. Duration of spermatogenesis and sperm transit time through the epididymis in the piau boar. **Tissue Cell**, v. 30, n. 5, p. 573-582, 1998

FRANÇA, L.R.; RUSSELL, L.D. The testis of domestic animals. In: REGADERA, J.; MARTINEZ-GARCIA (Ed.). **Male Reproduction**. Madrid: Churchill Livingstone, 1998. p. 197-219.

FRANÇA, L.R.; OGAWA, T.; AVARBOCK, M.R.; BRINSTER, R.L.; RUSSELL, L.D. Germ cells genotype control cells cycle during spermatogenesis in the rat. **Biology of Reproduction**, v.59, n. 6, p. 1371-1377, 1998.

FRANÇA, L.R.; GOSH, S.; YE, S.J.; RUSSELL, L.D. Surface and surface-to-volume relationships of the Sertoli cell during the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Biology of Reproduction**, v. 49, n. 6, p. 1215-1228, 1993.

FRANÇA, L.R. **Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau**. Belo Horizonte, 1991. 185p. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

FRANÇA, L.R.; CARDOSO, F.M. Desenvolvimento testicular em suínos. II. Análise histométrica. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 40, n. 3, p. 181-192, 1988.

FRANÇA, L.R.; CARDOSO, F.M.; CASTRO, A.C.S. Desenvolvimento testicular de suíno Piau. IV. População celular dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.40, p. 339-354, 1988.

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. **Atlas de histologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 322 p.

HESS, R.A.; COOKE, P.S.; BUNICK, D.; KIRBY, J.D. Adult testicular enlargement induced by neonatal hypothyroidism is accompanied by increased Sertoli cell and germ cell number. **Endocrinology**, v. 132, p. 2607-2613, 1993.

HONARAMOOZ, A.; BEHBOODI, E.; BLASH, S.; MEGEE, S.O.; DOBRINSKI, I. Germ cell transplantation in goats. **Molecular Reproduction and Development**, v. 64, p. 422-428, 2003a.

HONARAMOOZ, A.; BEHBOODI, E.; MEGEE, S.O.; OVERTON S. A.; GALANTINO-HOMER, H.; ECHELARD, Y.; DOBRINSKI, I. Fertility and germline transmission of donor haplotype following germ cell transplantation in immunocompetent goats. **Biology of Reproduction**, v. 69, p. 1260-1264, 2003b.

HONARAMOOZ, A.; MEGEE, S.O.; DOBRINSKI, I. Germ cell transplantation in pigs. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 21-28, 2002.

HOUCHEREAU-DE-REVIERS, M.T.; LINCOLN, G.A. Seasonal-variation in histology of testis of red deer, *Cervus elaphus*. **Journal Reproduction Fertility**, v. 52, n. 2, p. 209-213, 1978.

HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T.; COUROT, M.; ORTAVANT, R. Marquage des cellules germinales du bélier et du taureau par injection de thymidine tritiée dans l'artère spermatique. **Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.** v. 2, p. 157-161, 1964.

HORN, M.M.; MORAES, J.C.F.; EDELWEISS, M.I.A. Quantificação dos estádios do ciclo espermatogênico em touros de raças sintéticas com e sem alteração na qualidade seminal. **Ciência Rural**, v. 33, p. 1111-1115, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção da pecuária municipal – 2004.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impresao.php?id_noticia=499>. Acesso em: 10 mar. 2009.

JOHNSON, L. VARNER, D.D.; ROBERTS, M.E.; SMITH, T.L.; KEILLOR, G.E.; SCRUTCHFIELD, W.L. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 471-480, 2000.

JOHNSON, L.; NEAVES, W.B. Age-related changes in the Leydig cell population, seminiferous tubules and sperm production in stallions. **Biol. Reprod.**, v. 24, p. 703-712, 1981.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica.** 10 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 540 p.

JURANDO, S.B.; KUROHMARU, M.; HAYASHI, Y. An ultrastructural study of the Sertoli cell in the Shiba goat. **J. Vet. Med. Sci.** v. 56, p. 33-38, 1994.

KARL, J.; CAPEL, B. Sertoli cells of mouse testis originate from the coelomic epithelium. **Developmental Biology**, v. 203, n. 2, p. 323-333, 1998

KENAGY, G.J.; TROMBULAK, S.C. Size and function of mammalian testes in relation to body size. **J. Mamm.**, v. 67, p. 1-22, 1986.

KOJIMA, Y. Ultrastructure of goat testis: crystalloid in the microbody of Sertoli cells. **J. Vet. Med. Sci.** v. 56, p. 517-522, 1994.

KONIG, H.E; LIEBICH, H.G. **Anatomia dos animais domésticos**. 1ed., v.1, São Paulo: Artmed, 2002. 292 p.

KNOW, G.O; PARK, Y.S; LEE, S.H; YAMAMOTO, E. HOSAKA, Y.; UEDA, H.; TAKEHANA, K. Ultrastructure and function of Sertoli cell processes in the Korean Native Goat. **Okajima Folia Anatomica Japonica**, v. 79, n. 4, p. 121-128, 2002.

KUROHMARU, M.; NISHIDA, T.; HAYASHI, Y. YAMASHIRO, S. Threedimensional structure of some Sertoli cell organelles in the cotton rat and Shiba goat. **J. Submicrosc. Cytol. Pathol.** v. 21, p. 653-658, 1989.

KUROHMARU, M.; NISHIDA, T. Three-dimensional structure of the Sertoli cell in the Shiba goat. **Archivum Histologium Japonicum**, v.50, p. 515-523, 1987.

LEAL, M.C.; FRANÇA, L.R. The seminiferous epithelium cycle length in the Black Tufted-Ear Marmoset (*Callithrix penicillata*) is similar to humans. **Biol. Reprod.** v. 74, p. 616-624, 2006.

LEAL, M.C.; BECKER-SILVA, S.C.; CHIARINI-GARCIA, H. FRANÇA, L.R. Sertoli cell efficiency and daily sperm production in goats (*Capra hircus*). **Anim. Reprod.** v. 1, p. 122-128, 2004.

LEAL, M.C. **Análise morfométrica e funcional do testículo e eficiência espermatogênica em Saguís *Callithrix penicillata* (Primates: Callitrichidae)**. Belo Horizonte, 2004: 88p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

LEBLOND, C.P.; CLERMONT, Y. Definition of the stage of the seminiferous epithelium in the rat. **Annals of the New York Academic Science**, v.55, n. 4, p. 548-573, 1952.

LEITE, E.R.; SIMPLÍCIO, A.A. **Importância econômica da produção de caprinos e ovinos no Nordeste Brasileiro**. Disponível em: < <http://www.cnpc.embrapa.br/importancia.htm>>. Acesso em: 09.mar.2009.

LINHARES, S.; GEWANDSZNAJDER, F. **Biologia hoje**. v. 3, São Paulo: Ática, 1997. 424p.

LUNSTRA, D.D.; SCHANBACHER, B.D. Testicular function and Leydig cell ultrastructure in long-term bilaterally cryptorchid rams. **Biol. Reprod.**, v. 38, p. 145-158, 1988.

MACHADO JÚNIOR, A.A.N. **Influência da morfologia escrotal sobre a termorregulação, a biometria escroto-testicular e o comportamento sexual de caprinos nos períodos seco e chuvoso do Estado do Piauí**. Teresina, 2006. 84p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí).

MANDARIM-DE-LACERDA, A.C. Stereologica tools in biomedical research. **An Acad Bras Cienc**, v. 75, n. 4, p. 469-486, 2003.

MERCHANT-LÁRIOS, H. MORENO-MENDONZA, N. Mesonephric stroma differentiate into Leydig cell in the mouse fetal testis. **Experimental Cell Research**, v. 244, n. 1, p. 230-238, 1998.

MILLAR, M.R.; SHARPE, R.M.; WEINBAUER, G.F.; FRASER, H.M.; SAUNDERS, P.T. Marmoset spermatogenesis: organizational similarities to the human. **International Journal of Andrology**, v. 23, n. 5, p. 266-277, 2000.

MOREIRA, J.R.; CLARCKE, J.R.; MACDONALD, D.W. The testis of capybara (*Hydrochoeris hydrochaeris*). **Journal of Mammalian**, v. 78, n. 4, p. 1096-1100, 1997.

NEVES, E.S.; CHIARINI-GRACIA, H.; FRANÇA, L.R. Ultrastructural observation of the mule testis indicates normal function of somatic cells. **Anim. Reprod.**, v. 2, p. 263-271, 2005.

NISHIMURA, S.; OKANO, K.; YASUKOUCHI, K.; GOTOH, T.; TABATA S.; IWAMOTO, H. Testis developments and puberty in the male Tokara (Japanese native) goat. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 64, p. 127-131, 2000.

NUNES, A. S. **Morfologia do funículo espermático e dos escrotos em caprinos nativos do Estado do Piauí, com diferentes configurações escrotais**. Teresina, 2005. 57p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí.

NUNES, J. F.; RIERA, G. S.; SILVA, A. E. F. D.; PONCE DE LEON, F. A.; LIMA, F. A. M. **Características espermáticas de caprinos Moxotó de acordo com a morfologia escrotal**. Sobral: EMBRAPA/CNPCaprinos, 1983. 11p. (Circular técnica, 6).

ODUOR-OKELO, D. The Leydig cells and the vascular system in the goat (*Capra hircus*). **Z. Mikrosk. Anat. Forsch.** v. 88, p. 1036-1044, 1974.

OKE, B.O.; OGWUEGBU, S.O.; AKUSU, M.O. Morphometric study of the testis of the west African Dwarf goat. **Bull. Anim. Hlth. Prod. S. Afr.** v. 32, p. 57-60, 1984.

ONYANGO, D.W.; WANGO, E.O.; OTIANG´A-OWITI, G.E.; ODUOR-OKELO, D. WERNER, G. Morphological characterization of the seminiferous cycle in the goat (*Capra hircus*): a histological and ultrastructural study. **Anat. Anz.** v. 182, p. 235-241, 2000.

ORTAVANT, R; COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T. Spermatogenesis in domestic mammals. In: COLE, H.H.; CUPPS, P.T. **Reproduction in domestic mammals**. 3 ed. New York: Academic Press, 1977. p. 203-227.

PARK, Y. S.; ABE, M.; TAKEHANA, K. IWASA, K. Three-dimensional structure of dog Sertoli cells: A computer-aided reconstruction from serial semi-thin sections. **Arch Histol Cytol**, v. 56, p. 65-73, 1993.

PAULA, T.A.R.; COSTA, D.S.; MATTA, R.L.P. Avaliação histológica quantitativa do testículo de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adulta. **Bioscience Journal**, v. 18, n. 1, p. 121-136, 2002.

PAULA, T.A.R.; NAVARRO, R.D. Componentes testiculares de queixada (*Tayassu pecari*) e cateto (*Tayassu tajacu*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, n. 2, p. 206-207, 2001.

PAULA, T.A.R.; CHIARINI-GARCIA, H.; FRANÇA, L.R. Seminiferous epithelium cycle and its duration in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Tissue Cell**, v. 31, p. 327-334, 1999.

PAULA, T.A.R. **Análise histométrica e funcional do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas**. Belo Horizonte, 1999: 84p. Tese (Doutorado em Biologia Celular) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

PELLINIEMI, L.J.; KUOPIO, T.; FROJDMAN, K. The cell biology and function of the fetal Leydig cell. In: PAYNE, A.H.; HARDY, M.P.; RUSSEL, L.D. (Ed.). **The Leydig Cell**. Viena: Cache River Press, 1996, p. 143-157.

QUEIROZ, G.G.; CARDOSO, F.M. Avaliação histológica do rendimento da espermatogênese de carneiros deslanados adultos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 13, p. 99-108, 1989.

ROBERTSHAW, D. Concepts in animal adaptation: thermoregulation of the goat. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOAT PRODUCTION AND DISEASE, 3, Tucson. 1982. **Proceedings...** Seoltsdale: Dairy goat journal, p. 395-97, 1982.

ROCHA, D.C.M.; DEBELJUK, L.; FRANÇA, L.R. Exposure to Constant light during testis development increase daily sperm production in adult Wistar rats. **Tissue Cell**, v. 31, n. 3, p. 372-379, 1999.

RUSSELL, L.D. Mammalian Leydig cell structure. In: Payne AH, Hardy MP, Russell LD (Eds.). **The Leydig cell**. Vienna, IL: Cache River Press. 1996, p. 43-96.

RUSSELL, L.D.; GRISWOLD, M.D. **The Sertoli Cell**. (Ed.). Clearwater: Cache River Press, 1993, 800p.

RUSSELL, L.D.; ETTLIN, R.A.; SINHA-HIKIN, A.P.; CLEGG, E.D. **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Clearwater, Florida: Cache River Press, 1990a. 286p.

RUSSELL, L.D.; PETERSON, R.N. Determination of the elongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals. **J. Reprod. Fertil.**, v. 70, p. 635-664, 1984.

RUSSELL, L.D.; REN, H.P.; SINHA-HIKIN, I.; SCHULZE, W.; SINHA-HIKIN, A.P. A comparative study twelve mammalian species of volume densities, volumes and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. **American Journal of Anatomy**, v. 188, n. 1, p. 21-30, 1990b.

SAKAI, Y.; NAKAMOTO, T.; YAMASHINA, S. Dynamic changes in the Sertoli cell processes invading spermatid cytoplasm during mouse spermiogenesis. **Anatomical Record**, v. 220, p. 51-57, 1988.

SEGATELLI, T.M.; FRANÇA, L.R.; PINHEIRO, P.F.F.; ALMEIDA, C.C.D.; MARTINEZ, M.; MARTINEZ, F.E. Spermatogenic cycle length and spermatogenic efficiency in the Gerbil (*Meriones unguiculatus*). **J. Androl.**, v. 25, p. 872-880, 2004.

SETCHELL, B.P.; MADDOCKS, S.; BROOKS, D.E. Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the reproductive. In: KNOBIL, E.; NEIL, J.D. (Ed.). **The physiology of reproduction**. 2 ed. New York: Raven Press, 1994. p. 1063-1175.

SELVA, D.M.; TIRADO, O.M.; TORAN, N.; SUAREZ-QUIAN, C.A.; REVENTOS, J.; MUNELL, F. Meiotic arrest and germ cell apoptosis in androgen-binding protein transgenic mice. **Endocrinology**, v.141, n. 3, p. 7-13, 2000.

SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In: KNOBIL, E.; NEIL, J.D. (Ed.). **The physiology of reproduction**. 2 ed. New York: Raven Press, 1994. p. 1363-1434.

SILVA, A. E. D. F.; NUNES, J. F.; MELO, F. A. Influência da morfologia escrotal nas características do sêmen e seus efeitos na fertilidade de caprinos. **A Hora Veterinária**. Ano 5, n. 29, p. 66-9, 1986.

SILVA, S.C.B. **Caracterização histológica e seminal do desenvolvimento sexual de caprinos saanem, criados em sistema intensivo**. Belo Horizonte, 2000. 117p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais.

SILVA, S.M.M.S. **Desenvolvimento testicular de suínos das raças Large White e Landrace com diferentes taxas de ganho de peso diário**. Belo Horizonte, 1996. 106p. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais.

SUASSUNA, J. **A caprinocultura nos estados do Piauí e Ceará**. Disponível em: <<http://www.fundaj.gov.br/geral/textos%20online/estudos%20avancados/capri.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2009.

SWIERSTRA, E.E. Cytology and duration of the cycle of seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit through the epididymis. **Anat. Rec.** v. 161, p. 171-186, 1968.

VOGL, A.W.; SOUNCY, L.J.; FOO, V. Ultrastructure of Sertoli cell penetrating processes found germ cells of the golden-mantled ground squirrel (*Spermophilus lateralis*). **American Journal of Anatomy**, v. 172, p. 75-86, 1985.

YE, S.J.; GHOSH, S.; FRANÇA, L.R.; RUSSELL, L.D. Sertoli cell cycle: re-examination of the structural changes during the cycle of the seminiferous epithelium of the rat. **Anatomical Record**, v. 237, n. 2, p. 187-198, 1993.

ZHOU, Q.; NIE, R.; PRINS, G.S.; SAUNDERS, P.T.; KATZENELLENBOGEN, B.S.; HESS, R.A. Localization of androgen and estrogen receptors in adult male mouse reproductive tract. **Journal of Andrology**, v. 23, n. 6, p. 870-881, 2002.

ZIRKIN, B.R.; EWING, L.L.; KROMANN, N.; COCHRAN, R.C. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea, pig, dog and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell ultrastructure. **Endocrinology**, v. 107, p. 1867-1874, 1980.