



**Universidade Federal do Pará**  
**Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural**  
**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**

**DEISE DE LIMA CARDOSO**

**PUBERDADE EM CAITITUS (*Tayassu tajacu*): ESTUDO  
DA ESPERMATOGÊNESE EM DIFERENTES FAIXAS  
ETÁRIAS**

**Belém**  
**2009**

**DEISE DE LIMA CARDOSO**

**PUBERDADE EM CAITITUS (*Tayassu tajacu*): ESTUDO  
DA ESPERMATOGÊNESE EM DIFERENTES FAIXAS  
ETÁRIAS**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Área de concentração: Produção Animal.

Orientador (a):

Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Diva Anélie de Araújo Guimarães

Co-orientador (a):

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Auxiliadora Pantoja Ferreira

**Belém  
2009**

**DEISE DE LIMA CARDOSO**

**PUBERDADE EM CAITITUS (*Tayassu tajacu*): ESTUDO  
DA ESPERMATOGÊNESE EM DIFERENTES FAIXAS  
ETÁRIAS**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em  
Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência  
Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento  
Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de  
Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade  
Federal Rural da Amazônia. Área de concentração: Produção  
Animal.

Data da aprovação. Belém - PA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Banca Examinadora:

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Diva Anelie de Araújo Guimarães  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Simone do Socorro Damasceno  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

---

Prof. Dr. Moysés dos Santos Miranda  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

---

Prof. Dr. André Salim Khayat (suplente)  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Aos meus pais com toda  
minha gratidão e carinho

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por todas as bênçãos concedidas em minha vida.

À minha família, especialmente meu pai Edimilson Barros Cardoso e minha mãe Eurides de Lima Cardoso, pelo apoio incondicional aos meus estudos.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Diva Anélie de Araújo Guimarães, pela orientação, oportunidade concedida, compreensão e incentivos importantes para continuidade da minha pesquisa.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Auxiliadora Pantoja Ferreira, por todos os conhecimentos práticos e teóricos, compartilhados durante a realização deste trabalho.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Natália Inagaki Albuquerque, pela parceria e indicação dos caminhos a serem seguidos durante minha pesquisa.

Aos funcionários da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental, especialmente o funcionário Deoclécio, pelo cuidado e dedicação aos animais do criatório científico.

À funcionária Lia, do Laboratório de Técnicas Histológicas, pela ajuda necessária durante o processamento do material.

Aos estagiários do Laboratório de Reprodução Animal, pelas primeiras ensinamentos relacionados ao preparo de soluções e fixadores.

Aos estagiários do Laboratório de Técnicas Histológicas, pela ajuda prática na preparação de soluções e lâminas de material histológico.

Ao professor José Hernandez, por permitir a utilização do eficiente microscópio do Laboratório de Micologia, ICB-UFPA.

Aos meus amigos da graduação, que incentivaram nos momentos difíceis a continuar sempre em busca da minha realização nos estudos.

Aos professores Alex Santos e Andréa Corrêa, do Bioestatístico, pela ajuda e dedicação nas diversas análises estatísticas deste trabalho.

À bibliotecária Vera Fadul Lima, pelo auxílio imprescindível na pesquisa de bibliografias para este trabalho.

Ao Sr. Ronaldo Tavares pelo incentivo, companheirismo e promessas de vida e vitórias.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

“Há homens que lutam um dia e são bons.  
Há outros que lutam um ano e são melhores.  
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.  
Porém, há os que lutam toda a vida.  
Esses são os imprescindíveis”.

Bertolt Brecht

## RESUMO

Esta pesquisa analisa o desenvolvimento da espermatogênese em caítilus (*Tayassu tajacu*) e determina a idade em que atingem a puberdade, considerando-se a biometria testicular e dos túbulos seminíferos, a quantificação das células espermatogênicas, a descrição morfológica dos estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES), a frequência relativa com a qual aparecem no interior dos túbulos seminíferos e o rendimento geral da espermatogênese. No experimento, os animais foram divididos de acordo com a faixa etária, em cinco grupos, com três animais em cada grupo, sendo G1 (7 a 8 meses), G2 (9 a 10 meses), G3 (11 a 12 meses), G4 (13 a 14 meses) e G5 (15 a 16 meses). Os animais foram submetidos à cirurgia de orquiectomia, para obtenção das amostras testiculares, as quais foram fixadas em solução de Alfac por 24 horas e processadas histologicamente, onde cortes de 5 µm foram corados em Hematoxilina-Eosina. Tendo como base, o método da morfologia tubular, foi feita a quantificação dos tipos celulares corrigidos para seus diâmetros nucleares médios de 10 secções transversais de túbulos seminíferos no estágio 1 do CES para animais com a espermatogênese estabelecida e 20 secções transversais para os animais mais jovens, nos quais não havia atividade espermatogênica estabelecida; e também a classificação dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, por meio da análise de 100 secções transversais de túbulos seminíferos. Os dados da biometria testicular, a saber, o peso, o comprimento e a largura, revelaram crescimento constante e gradual com diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) e alta correlação entre si. Os valores do diâmetro tubular apresentaram significância estatística do G1 ao G4, a partir deste, tiveram crescimento acelerado e contínuo, não havendo significância estatística ( $p > 0,05$ ). De acordo com as análises quantitativas e morfológicas das células espermatogênicas que compõem o epitélio germinativo, os grupos etários dos animais foram classificados nas fases seguintes: impúbere (G1), pré-púbere (G2), puberdade (G3), pós-puberdade 1 (G4) e pós-puberdade 2 (G5). A fase em que ocorreu o início da atividade reprodutiva, ou seja, a puberdade, foi determinada nos animais a partir de 11 meses de idade, onde ocorreu o maior crescimento no número de células espermatogênicas e uma correlação positiva com o peso testicular. Nessa fase, as células de Sertoli, apresentaram um decréscimo significativo ( $p < 0,05$ ). Na determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, foram observadas oito tipos de associações, segundo o método da morfologia tubular, onde o estágio com maior e menor frequências foram o 1

e o 3, respectivamente. A fase pós-meiótica, apresentou maior frequência e a fase meiótica, a menor, sendo estatisticamente significativa em relação às demais. A eficiência reprodutiva foi demonstrada por meio dos valores traduzidos pelas razões celulares entre as espermatogônias do tipo A e espermatídes arredondadas, não tendo sido observado aumento significativo das espermatídes arredondadas entre os grupos G3 ao G5 ( $p > 0,05$ ); e o índice das células de Sertoli apresentou diferença estatística significativa entre todas as possíveis comparações dos grupos etários do G3 ao G5 ( $p < 0,05$ ).

**Palavras-chave:** Caititus. Testículos. Espermatogênese. Ciclo do epitélio seminífero. Puberdade.



## ABSTRACT

This study analyzes the development of spermatogenesis in peccaries (*Tayassu tajacu*) and establishes the age they reach puberty, considering testicular biometry and seminiferous tubules, the amount of spermatogenic cells, the morphological description of the stages of the seminiferous epithelium cycle (SEC), the relative frequency on which they surge inside the seminiferous tubules and general spermatogenesis yield. In the experiment, the animals were divided according to age bracket, into five groups, with three animals in each group, G1 (7 to 8 months), G2 (9 to 10 months), G3 (11 to 12 months), G4 (13 to 14 months) and G5 (15 to 16 months). The animals were subjected to orchietomy surgery, to obtain the testicle samples, which were fixed in Alfac solution for 24 hours and histologically processed, where 5  $\mu\text{m}$  cuts were stained in hematoxylin eosin. Based on the tubular morphology method, it was done the quantification of the cell types corrected to its average nucleus diameters of 10 transversal sections at SEC stage 1 for animals with established spermatogenesis and 20 transversal sections for the younger animals without any established spermatogenic activity; and also the classification of the stages of the seminiferous epithelium cycle, by analyzing 100 transversal sections of seminiferous tubules. The data from the testicular biometry, such as, weight, length and width, showed gradual and constant growth with significant statistical differences ( $p < 0,05$ ) and high correlation among themselves. The tubular diameter values presented statistical significance from G1 to G4, and from G4 an accelerated and continuous growth, with no statistical significance ( $p > 0,05$ ). According to the quantitative and morphological analysis of the spermatogenic cells which form the germinative epithelium, the animal age brackets were classified in the following phases impuberal (G1), prepuberal (G2), puberty (G3), pos puberty 1 (G4), and pos puberty 2 (G5). The phase the productive activity started, or, puberty, was determined in the animals when they turned 11 months, when the the greatest growth in the number of spermatogenic cells and a positive correlation with testicular weight occurred. At this stage, the Sertoli cells, presented a significant decrease ( $p < 0,05$ ). During determination of relative frequency of the stages of seminiferous epithelium cycle, eight types of association were observed, according to the tubular morphology method, where the stages with greater and less frequency were 1 and 3 respectively. The pos meiotic phase showed more frequency and the meiotic phase, the lower one, being statistically significant in relation to the other ones. The

reproductive efficiency was demonstrated through translated values by the cell ratios between type A spermatogonic cells and round spermatids, being that no significant increase between G3, G4 and G5 was observed ( $p > 0,05$ ); and the rate of Sertoli cells showed a significant statistical difference between all possible comparisons of age brackets from G3 to G5 ( $p < 0,05$ ).

**Keywords:** Peccaries. Testicles. Spermatogenesis. Seminiferous epithelium cycle. Puberty.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Fotografia 1-</b> Caititus ( <i>Tayassu tajacu</i> ) no criatório científico da EMBRAPA Amazônia Oriental .....	19
<b>Fotografia 2-</b> Posição dos testículos em caititus, localizados dentro do escroto (*).....	22
<b>Fotografia 3-</b> Momento da incisão cirúrgica para a orquiectomia bilateral em caititu. Te-Testículo.....	31
<b>Gráfico 1-</b> Regressão polinomial do segundo grau do diâmetro tubular de caititus em função da idade (meses). Os quadrados destacado indicam as idades em que ocorreu maior crescimento.....	37
<b>Gráfico 2-</b> Evolução do diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ) e das células de Sertoli em relação à idade.....	40
<b>Gráfico 3-</b> Evolução das células espermatogênicas e do peso testicular em relação à idade.....	40
<b>Fotomicrografias: 1-</b> Túbulos seminíferos (T) de caititu com 8 meses de idade, 400x. <b>2-</b> Lúmen do Túbulo seminífero (L) de caititu com 10 meses de idade, 400x. <b>3-</b> Presença de espermatozóides (spz) na luz do túbulo seminífero de caititu com 11 meses de idade, 400x. <b>4-</b> Túbulos seminíferos de caititu com 13 meses de idade, 400x. <b>5-</b> Túbulos seminíferos (T) de caititu com 15 meses de idade, 400x.....	43
<b>Fotomicrografia 6- Estádio 1- a:</b> Aspecto geral do túbulo seminífero (T) e seu epitélio germinativo; Tecido intersticial (i), 400x. <b>b:</b> Presença de espermatogônias do tipoA (A); Espermatócitos nas subfases pré-leptóteno/leptóteno (Pl/L) e paquíteno (Q); Espermátides arredondadas (Ar) e células de Sertoli (S), 1000x.....	44

- Fotomicrografia 7- Estádio 2:** a- Túbulo seminíferos com luz delimitada e pouco tecido intersticial (T), Lúmen tubular (L) 400x. b- Espermatogônias do tipo A (A); Espermatócitos primários em zigóteno (Z); Espermatócitos em paquíteno (Q); Espermátides alongadas (Al); e células de Sertoli (S), 1000x..... 45
- Fotomicrografia 8- Estádio 3:** a- Túbulo seminífero, 400x. b- Espermatogônias do tipo A (A); Espermatócitos nas subfases zigóteno (Z) e diplóteno (D); Espermátides alongadas (Al) e células de Sertoli (S), 1000x..... 46
- Fotomicrografia 9- Estádio 4:** a- Túbulo seminífero (T), 400x. b- Espermatogônias A (A), Intermediárias (In); Espermatócitos em paquíteno (Q) e diplóteno (D); Espermátides alongadas (Al) e células de Sertoli (S), 1000x..... 46
- Fotomicrografia 10- Estádio 5:** a- Túbulo seminífero (T) com diferentes populações celulares e luz pouco visível, 400x. b- Espermatogônias Intermediárias (In); Espermatócitos em paquíteno(Q); Espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al), células de Sertoli (S), 1000x..... 47
- Fotomicrografia 11- Estádio 6:** a- Túbulo seminífero (T) com epitélio germinativo organizado, 400x. b- Detalhe das espermatogônias A (A), Intermediárias (In) e B (B); Espermatócitos primários em paquíteno (Q); Espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al) e células de Sertoli (S), 1000x..... 47
- Fotomicrografia 12- Estádio 7:** a- Túbulo seminífero bem definido (T), 400x. b- Detalhe das espermatogônias dos tipos (A ;B); Espermatócitos primários em paquíteno (Q); Espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al); célula de Sertoli (S), 1000x..... 48

<b>Fotomicrografia 13- Estádio 8: a-</b> Túbulo seminífero com espermatozóides na luz (T), 400x. <b>b-</b> Espermatogônias dos tipos (A; B); Espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno (Pl/L); Espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al), e células de Sertoli (S), 1000x.....	49
<b>Gráfico 4-</b> Frequência relativa média (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em caimitus nas diferentes idades.....	50
<b>Gráfico 5-</b> Frequência conjunta dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em caimitus.....	50

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1-Peso (g), comprimento (mm) e largura (mm) testicular nas diferentes fases de crescimento do caítitu .....	34
Tabela 2-Correlação entre o peso, largura e comprimento testicular em caítitus de 7 a 16 meses de idade.....	35
Tabela 3-Diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ) de caítitus nos diferentes grupos.....	35
Tabela 4-Tipos celulares e células de Sertoli de caítitus nos diferentes grupos etários, com valores corrigidos segundo Amann (1962), (média, $\pm$ desvio padrão).....	38
Tabela 5-Frequência relativa (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em caítitus segundo a faixa etária.....	49
Tabela 6- Razão celulares espermatogênicas de caítitus, de 11 a 16 meses de idade (média, $\pm$ desvio padrão).....	51

## SUMÁRIO

<b>1.INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2.REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>19</b>
2.1.ASPECTOS BIOLÓGICOS DO <i>Tayassu tajacu</i> .....	19
2.2.MORFOFISIOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR	
MASCULINO	20
<b>2.2.1.Morfologia dos Testículos em Mamíferos .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.2.Espermatogênese .....</b>	<b>23</b>
2.2.2.1.Ciclo do Epitélio Seminífero.....	25
2.3.PUBERDADE .....	28
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
3.1.OBJETIVOS GERAIS.....	30
3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	30
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
4.1.ANIMAIS .....	31
4.2.COLHEITA E PROCESSAMENTO DE MATERIAL	
HISTOLÓGICO .....	31
4.3.DIÂMETRO DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS .....	32
4.4.QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS .....	33
4.5.FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESTÁDIOS DO CICLO DO	
EPITÉLIO SEMINÍFERO .....	33
4.6.RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E	
CAPACIDADE DE SUPORTE DAS CÉLULAS DE SERTOLI .....	34
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	34
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
5.1.BIOMETRIA TESTICULAR .....	35
5.2.DIÂMETRO DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS .....	36
5.3.QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS .....	37
<b>5.3.1.Descrição Morfológica do Túbulo Seminífero .....</b>	<b>41</b>
5.4.MORFOLOGIA DOS ESTÁDIOS DO CICLO DO EPITÉLIO	
SEMNÍFERO DE CAITITUS .....	44
<b>5.4.1.Frequência Relativa dos Estádios do Ciclo do Epitélio</b>	
<b>Seminífero .....</b>	<b>49</b>

5.5. RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DE CÉLULA DE SERTOLI POR TOTAL DE CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS .....	51
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	52
6.1. BIOMETRIA TESTICULAR .....	52
6.2. DIÂMETRO TUBULAR .....	53
6.3. QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS .....	54
6.5. DETERMINAÇÃO DOS ESTÁDIOS DO CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO DE CAITITUS .....	57
6.4. RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DAS CÉLULAS DE SERTOLI .....	58
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	60
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	61
<b>ANEXOS</b> .....	70



## 1.INTRODUÇÃO

Um dos problemas ecológicos mais graves na Amazônia é o desmatamento e as suas principais causas são a conversão de florestas em pastagens, o corte e a queima para o cultivo anual na agricultura familiar e a plantação de soja na agroindústria (ALENCAR *et al.*, 2004). Esta situação tem efeito direto sobre a fragmentação florestal o que reduz o habitat das espécies da fauna silvestre, causando o seu desaparecimento.

Além disso, o uso comercial e de subsistência intenso da fauna silvestre na região também contribui para a extinção de espécies. Por outro lado, o consumo de carne de animais silvestres faz parte dos hábitos culturais de muitas comunidades da Amazônia e o seu comércio também contribui substancialmente para a economia local (BAIA JÚNIOR, 2006). Estima-se que 113.000 mamíferos sejam caçados na região rural de Loreto (Amazônia Peruana) e o valor anual no comércio da carne ultrapasse um milhão de dólares (BODMER *et al.*, 2004).

Entre as espécies mais caçadas na região da Transamazônia (Pará, Brasil) encontram-se a paca (*Agouti paca*); o tatu (*Dasybus novemcinctus e D. septemcinctus*) e caititu (*Tayassu tajacu*) (BONAUDO *et al.*, 2005). Animais como o caititu, o queixada (*Tayassu pecari*) e a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) apresentam importância não só pela carne mas também pelo couro, o qual possui grande demanda no mercado internacional. Os principais importadores do couro de caititu e queixada são: Itália, Alemanha e França. Nestes países, ele é industrializado na forma de acessórios como calçados, luvas, casacos, carteiras e cintos, que por sua vez, são exportados para os Estados Unidos da América e o Japão (BODMER *et al.*, 2004; NOGUEIRA FILHO e NOGUEIRA, 2004).

Neste contexto, a criação *ex situ* de animais silvestres contribui para o desenvolvimento econômico de comunidades rurais, no aproveitamento de áreas improdutivas, assim como na conservação de espécies da fauna que possuem potencial zootécnico (OJASTI, 2000; HOSKEN, 2001; NOGUEIRA FILHO e NOGUEIRA, 2004). O caititu é uma das espécies que apresenta interesse comercial, todavia o seu manejo produtivo em cativeiro não está totalmente estabelecido, apesar de já existirem pesquisas básicas em reprodução, sanidade, comportamento e nutrição (ALBUQUERQUE *et al.*, 2005; BARBELLA, 1993; MAUGET *et al.*, 1997; MAYOR *et al.*, 2006; VENTURIERI e LE PENDU, 2006)

A função reprodutiva de uma espécie é um fator que deve ser bem compreendido, pois se torna fundamental na implementação de sistemas apropriados de manejo. A fisiologia reprodutiva dos machos dos caititus é pouco estudada, mas destacam-se os trabalhos de Hellgren *et al.* (1989), Carvalhal *et al.* (2000) e Sonner *et al.* (2004) que observaram alguns aspectos andrológicos como os níveis de testosterona, a biometria testicular e o sêmen desta espécie.

Com relação aos aspectos histológicos, a espermatogênese em caititu adulto foi descrita por Costa *et al.* (2004), que afirmou que estes animais possuíam semelhanças morfológicas com o suíno, tais como: o comprimento dos túbulos seminíferos por grama de parênquima testicular, a proporção volumétrica dos componentes dos testículos, a composição celular dos oito estádios do ciclo do epitélio seminífero, a capacidade de suporte de células de Sertoli e o rendimento geral da espermatogênese.

Entretanto, torna-se necessário um estudo mais detalhado sobre a espermatogênese nos caititus, em diferentes idades, atestando dessa forma o estabelecimento da mesma, contribuindo para o melhor entendimento desta espécie em termos reprodutivos, assim como para a conservação da espécie.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. ASPECTOS BIOLÓGICOS DO *Tayassu tajacu*

O caititu (Fotografia 1) pertence à sub-ordem Suiformes, família Tayassuidade, juntamente com duas outras espécies, o queixada e o pecari do chaco (*Catagonus Wagneri*). Sua distribuição geográfica se estende do sul do Texas (EUA) até o norte da Argentina (SOWLS, 1997), incluindo desde as regiões de clima árido até a floresta úmida (NOWAK e PARADISO, 1983).

Essa espécie convive em grupos que variam de dois a 30 indivíduos, compostos por machos e fêmeas adultos, juvenis e filhotes (SANTOS, 2004). O tamanho dos grupos pode variar entre as regiões, dependendo do tipo de hábitat, e da oferta dos recursos alimentares (SOWLS, 1997).

Os caititus quando adultos medem de 80 a 90 cm de comprimento, 25 a 45 cm de altura e podem pesar até 27 quilos em cativeiro (NOGUEIRA-FILHO e NOGUEIRA, 2005). A característica diferencial desta espécie é a presença de uma faixa de pêlos esbranquiçados que formam o colar na região do pescoço. Sendo que adquirem a pelagem de adulto por volta dos 75 dias de vida (ROMÁN, 1996).



**Fotografia 1-** Caititus (*Tayassu tajacu*) no criatório científico da EMBRAPA Amazônia Oriental.

Em florestas tropicais, os caititus caracterizam-se por um regime essencialmente frugívoro, também se alimentam de folhas, raízes e tubérculos, variando em função da disponibilidade (BODMER *et al.*, 1997). São onívoros dotados de estômago dividido em três compartimentos, o que lhes permite o aproveitamento de diversos alimentos, incluindo as fibras e em cativeiro se adaptam bem a ração comercial para suínos (ALBUQUERQUE, 2005).

Considerado um dos ungulados mais produtivos, a fêmea do caititu apresenta reprodução contínua, ovulação espontânea, e a partir dos 12 meses de idade pode gerar de um a três filhotes, sendo o cio observado após oito dias no período pós-parto (GUIMARÃES *et al.*, 2004). Os filhotes são precoces e podem acompanhar a mãe no mesmo dia do nascimento (BARBELLA, 1993 ; Da SILVA *et al.*, 2002).

Os machos são sexualmente ativos a partir de um ano de idade (SOWLS, 1997). As concentrações séricas de testosterona e as mensurações testiculares em caititus machos adultos durante o ano variaram em amplitude baixa, com médias máximas de concentração de testosterona de 1150-1400pg/ml durante o outono e inverno norte americano, no entanto, as características do sêmen não apresentaram variações (HELLGREN *et al.*, 1989).

## 2.2. MORFOFISIOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO

O sistema reprodutivo do macho é composto por diferentes estruturas incluindo os testículos, os ductos urogenitais e as glândulas sexuais secundárias. Estas estruturas e a glândula pituitária se comunicam para coordenar a atividade reprodutiva dos machos. O hipotálamo secreta GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas), que controla a produção e a secreção de LH (hormônio luteinizante) e de FSH (hormônio folículo estimulante) na glândula pituitária, sendo que estes dois hormônios são os responsáveis pela regulação da função testicular (JOHNSON *et al.*, 1970; LARS, 1995).

Os mecanismos envolvidos nas funções reprodutivas sofrem modificações progressivas durante o desenvolvimento sexual e envolvem o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, bem como a glândula adrenal (GRIFFIN e WILSON, 1985).

Os testículos têm como função primária a produção de espermatozoides e de hormônios, como a testosterona. Este órgão apresenta estrutura similar em várias

espécies de mamíferos, diferindo em geral a proporção volumétrica dos seus componentes. Tem como estrutura de revestimento uma cápsula conjuntiva que envia septos para o seu interior, dividindo-o em lóbulos. Dentro dos quais encontramos os túbulos seminíferos, contendo as células germinativas e de Sertoli (BANKS, 1992). Estas são responsáveis pela produção de estrogênio, inibina e ABP (proteína ligadora de androgênio), além de outras funções (CUPPS, 1993).

A testosterona é um hormônio esteróide que atua em inúmeras fases do processo reprodutivo do macho, que vai desde a diferenciação sexual até o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários. Determina o comportamento sexual além de manter a função epididimal e das glândulas sexuais acessórias (HAFEZ, 2004).

As células intersticiais ou de Leydig são as responsáveis pela produção de testosterona e estão localizados no estroma testicular. Fawcett *et al.* (1973), descreveram que o arranjo e a proporção dos elementos constituintes do espaço intertubular em diferentes espécies de mamíferos seguem em geral três padrões distintos: 1- espécies nas quais as células de Leydig e o tecido conjuntivo ocupam uma área muito pequena no compartimento intertubular; 2- espécies que apresentam grupos de células de Leydig espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo; 3- espécies nas quais agrupamentos de células de Leydig ocupam praticamente todo o compartimento intertubular.

De acordo com a seqüência morfológica, os espermatozóides deixam os túbulos seminíferos e entram na *rete testis*, depois seguem ao ducto eferente e ao epidídimo (HAFEZ, 2004). Este consiste em um tubo espiralado que tem como principais funções, a maturação espermática. Posteriormente, os espermatozóides seguem para o ducto deferente, ducto ejaculatório e a uretra (SETCHELL, 1993).

### 2.2.1. Morfologia dos Testículos em Mamíferos

Os testículos em quase todos os mamíferos são órgãos ovóides que migram da cavidade abdominal para o escroto, entre 55 e 110 dias de gestação, portanto estão presentes no escroto ao nascimento (HUGHES *et al.*, 1984).

O crescimento testicular máximo é observado em mamíferos domésticos no período de estabelecimento da atividade espermatogênica. Foi observado em bovinos no nono mês, em ovinos e caprinos no quinto (ORTAVANT *et al.*, 1997), em suínos no quarto (FRANÇA, 1987).

O processo de desenvolvimento testicular envolve o aumento do tamanho deste órgão, proliferação coordenada das células que o constitui o amadurecimento das funções diferenciadas das mesmas (NITTA e COOKE, 1997). Desta forma, os testículos possuem estrutura dinâmica desde o nascimento à puberdade e todos os seus componentes passam por etapas de proliferação e diferenciação antes da puberdade (VILAR, 1970).

Os caititus e os queixadas (*Tayassu pecari*) são suiformes e possuem morfologia reprodutiva semelhante ao dos demais suídeos. Nos Tayassuideos o escroto localiza-se ventralmente ao ânus, projetando-se na superfície corporal (Fotografia 2). A pele do escroto apresenta pigmentação, como no restante do corpo, porém está desprovida dos pêlos típicos dos Tayassuideos, caracteristicamente longos e espessos, possuindo apenas alguns pêlos mais delicados (SONNER *et al.*, 2004).



**Fotografia 2-** Posição dos testículos em caititus, localizados dentro do escroto (\*).

Histologicamente, o parênquima testicular dos catetos e queixadas é constituído por um compartimento tubular, onde encontram-se os túbulos seminíferos nos animais adultos e os cordões testiculares nos animais jovens impúberes. O estroma é formado pelo compartimento intertubular, onde se encontram as células de Leydig, o tecido conjuntivo e os vasos sanguíneos. Os túbulos seminíferos dos catetos e queixadas tornam-se menos contorcidos a medida que se aproximam do mediastino testicular, assumem um trajeto quase reto e continuam-se pelos túbulos retos, até a rede testicular (SONNER *et al.*, 2004).

Nos testículos de queixadas jovens, no período impúbere, os túbulos seminíferos ainda não estão formados e em seu lugar há cordões testiculares, caracterizados pela ausência de luz no tubo e presença de duas populações celulares, os gonócitos e as células de Sertoli (SONNER *et al.*, 2004).

Em estudo realizado em caititus adultos por COSTA *et al.* (2004), observou-se que o comprimento dos túbulos seminíferos por grama de parênquima testicular, a proporção volumétrica dos componentes dos testículos, a composição celular dos oito estádios do ciclo do epitélio seminífero, a capacidade de suporte de células de Sertoli e o rendimento geral da espermatogênese destes animais é muito semelhante ao observado em suínos.

### **2.2.2. Espermatogênese**

Nos túbulos seminíferos, constituindo o chamado epitélio germinativo, encontram-se as células germinativas em seus vários estágios de desenvolvimento, e as células de suporte, denominadas células de Sertoli. É no interior destes túbulos que ocorre a espermatogênese, processo definido como conjunto de divisões e transformações através das quais as células-tronco da linhagem germinativa masculina, as espermatogônias, dão origem aos espermatozóides (CASTRO *et al.*, 1997).

A espermatogênese é um processo sincrônico e regular de diferenciação celular pelo qual uma espermatogônia tronco é gradativamente diferenciada numa célula haplóide altamente especializada, o espermatozóide. Essa diferenciação envolve três classes de células germinativas: as espermatogônias, os espermatócitos e as espermátides. Esse processo, que ocorre nos túbulos seminíferos, dura em torno de 40 a 60 dias na maioria dos mamíferos estudados (FRANÇA e RUSSELL, 1998).

O processo espermatogênico estuda o conjunto de alterações citológicas e histológicas que ocorrem no interior dos túbulos seminíferos (SANTOS, 1999). O conhecimento desta cinética possui grande importância para a caracterização da atividade testicular de uma espécie.

Nos adultos a espermatogênese é um processo contínuo que pode ser dividido em três fases distintas: fase mitótica ou espermatogônica; fase meiótica; e a espermiogênese (ROSS e ROWRELL, 1993).

Durante a fase mitótica, as células tronco dão origem a duas outras, uma vai servir para a renovação da população de células tronco e a outra entra no processo espermatogênico. Esta última, por sua vez vai dar origem à espermatogônia intermediária, que se divide para formar as espermatogônias B. No final da divisão, as espermatogônias B, por sua vez, dão origem a outras células que entram numa fase de meiose prolongada com espermatócitos em pré-leptóteno. Mais tarde tais células serão assimiladas dentro do compartimento ad-luminal do epitélio seminífero pela passagem através das junções entre células de Sertoli adjacentes. Todos os tipos celulares subsequentes vão ficar neste compartimento (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

Na terceira fase da espermatogênese, as espermátides se diferenciam através de uma série de modificações morfológicas progressivas em espermatozóides, processo usualmente conhecido como espermiogênese, na qual as espermátides arredondadas se diferenciam em espermátides alongadas, envolvendo achatamento nuclear, condensação da cromatina e paralisação da transcrição (JOHNSON, 2000).

Estas modificações incluem desenvolvimento do acrossoma, condensação e alongamento do núcleo e formação da cauda espermática. Durante o desenvolvimento do acrossoma notam-se quatro fases distintas: a fase de Golgi, de capuz, do acrossoma e de maturação (GARTNER e HIATT, 2003).

O alongamento das espermátides é iniciado quase ao mesmo tempo em que ocorre a condensação nuclear. Este período é caracterizado pela formação do flagelo e pelo acúmulo de mitocôndrias na peça intermediária. Associado a estes eventos, ocorre uma redução progressiva do volume citoplasmático, caracterizado pela eliminação de água, formando um corpo residual de citoplasma o qual é fagocitado pelas células de Sertoli. Finalmente, as espermátides maduras serão liberadas para o lume tubular, passando então a se chamar espermatozóides, marcando, assim, o final da espermatogênese (GARTNER e HIATT, 2003).



A expressão cinética da espermatogênese designa o conjunto de todos os processos citológicos (multiplicação e diferenciação das células germinativas) e histológicos (evolução dos grupos celulares) que ocorrem dentro dos túbulos seminíferos (CLERMONT e HARVEY, 1967).

Ao avaliar-se uma seção de túbulos seminíferos, pode-se observar que a proliferação das células germinativas se dá seguindo um padrão de camadas celulares sucessivas. As gerações menos diferenciadas, constituídas pelas espermatogônias, situam-se junto à membrana basal, enquanto as células mais avançadas, representadas pelas espermátides, encontram-se próximas ao lúmen tubular. Entre as espermatogônias e as espermátides, situam-se uma ou duas gerações de espermátocitos (CASTRO *et al.*, 1997; BECKER-SILVA, 2000).

A quantificação histológica do testículo constitui-se em um instrumento acurado para avaliação da capacidade espermatogênica dos animais, tanto em condições de normalidade, como patológicas ou experimentais. As razões numéricas entre as espermatogônias A e os demais tipos celulares, como: espermatogônias intermediárias, espermatogônias B, espermátocitos primários e espermátides por seção transversal de túbulo são usadas como meios para se estimar o coeficiente de eficiência da espermatogênese. Comparando-se a razão real entre os tipos celulares, obtida pela contagem da população celular corrigida para seus diâmetros nucleares, pode-se estimar o rendimento da espermatogênese em qualquer ponto do ciclo do epitélio seminífero (CASTRO *et al.*, 1997).

#### 2.2.2.1. Ciclo do Epitélio Seminífero

As células espermatogênicas encontram-se dispostas nos túbulos seminíferos de forma organizada e bem definida, constituindo associações celulares que caracterizam os estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES). Considera-se uma associação celular ou estágio do CES, como sendo um conjunto definido de gerações de células germinativas encontrado, em determinado momento, num túbulo seminífero seccionado transversalmente (CASTRO *et al.*, 1997; BECKER-SILVA, 2000). Em todas as espécies, com exceção da humana, determinada associação celular ocupa um segmento relativamente extenso ao longo de um túbulo seminífero e um corte transversal apresenta somente um tipo de associação de células espermatogênicas (ROSS e ROWRELL, 1993).

Dois métodos importantes podem ser utilizados para identificar os estágios do CES. O primeiro baseia-se nas mudanças que ocorrem no sistema acrossômico das espermatídes, sendo denominada de sistema acrossômico, dividindo o CES em um número de estágios que varia entre as espécies, sendo, portanto, mais arbitrário e registrando comparações entre espécies e autores (BERNDTSON, 1977; FRANÇA *et al.*, 1999). A segunda, mais usual, baseia-se na avaliação morfológica das espermatídes, especialmente do seu núcleo (FRANÇA e RUSSEL, 1998) juntamente com eventos meióticos, e resulta na divisão do CES em oito estágios (BERNDTSON, 1977; WROBEL *et al.*, 1995; FRANÇA *et al.*, 1999; JOHNSON, 2000).

Roosen-Runge e Giesel-Jr (1950) e Courot *et al.*(1970) citados por Ferreira (2002) classificam o CES com base no método da morfologia tubular, o qual é bastante utilizado na caracterização dos estádios de algumas espécies domésticas como em *Bos taurus* (AMANN, 1962), *Bubalus bubalis* (SHARMA e GUPTA, 1980), *Bos indicus* e *Bos taurus* (CARDOSO e GODINHO, 1983), *Bos sondaicus* (MCOOL e ENTWISTLE, 1989), em búfalos mestiços (MELO, 1991; OHASHI, 1993), e caprinos (BECKER-SILVA, 2000), além de espécies silvestres, como a paca (PASHOV e MATAMOROS, 1984), e capivara (PAULA *et al.*, 1999).

De acordo com esses autores, em mamíferos são observados os seguintes estádios:

- Estádio 1: caracteriza-se pela presença de espermatídes com núcleos arredondados;
- Estádio 2: ocorre o início do alongamento dos núcleos das espermatídes;
- Estádio 3: as espermatídes arredondadas começam a se organizar em feixes até o início da primeira divisão meiótica;
- Estádio 4: compreende o início da primeira divisão meiótica ao fim da segunda divisão meiótica;
- Estádio 5: se estende do fim da segunda divisão meiótica, com o aparecimento de novas espermatídes arredondadas e feixes de espermatídes alongadas situadas próximas ao núcleo da célula de Sertoli;
- Estádio 6: é caracterizado pelo início do afastamento e dissociações dos feixes de espermatídes alongadas dos núcleos das células de Sertoli ao início da migração dos feixes em direção ao lume;
- Estádio 7: do início ao fim da migração das espermatídes alongadas em direção à luz do túbulo seminífero, com a formação de camadas próximas a borda do lúmen tubular;

- Estádio 8: é determinado pelo fim do deslocamento centrípeto das espermatídes alongadas ao fim da liberação dos espermatozóides do lume.

Ainda os estádios 1 a 3, são caracterizados pela presença de uma simples camada de espermatídes, e nos estádios 5 a 8 por mais de duas camadas de espermatídes.

A duração do CES é geralmente constante para uma determinada espécie, variando, no entanto, de uma espécie para a outra (AMANN, 1962; RUSSELL, 1990). Este intervalo de tempo é de 10,3 dias no carneiro (ORTAVANT, 1959); 12,9 dias no rato (CLERMONT, 1963); 13,5 dias no touro (HOCHEREAU-DE-RIVERS; COUROT; ORTAVANT, 1967); 8,6 dias no varrão (SWIERSTRA, 1968); 13,6 dias no cão (FOOTE; SWIERSTRA; HUNT, 1972); 12,2 dias no garanhão (SWIERSTRA; GEBAUER; PICKETTI, 1974); e 11,9 dias na capivara (PAULA, 1999).

As características dos estágios do CES dos caíditus foram descritas por Costa *et al.* (2004) que afirmaram ser possível identificar as associações celulares típicas de oito estádios. Estes animais apresentam um único estágio do ciclo por secções transversais, ao contrário do observado em primatas onde uma única secção transversal é ocupada por vários estádios (CLERMONT, 1963). Sendo que o estágio 1 apresenta a menor frequência relativa e o estágio 3 apresenta a maior.

Os oito estádios do CES de caíditus, assemelham-se, em termos de composição celular aos descritos em suínos (SWIERSTRA, 1968; FRANÇA, 1991), exceto pelo fato de que nesses últimos os espermátócitos I em zigóteno são encontrados nos estádios 2, 3 e 4, e no estágio 5, já se encontram na fase de paquíteno. Nos caíditus, os espermátócitos I em zigóteno são encontrados nos estádios dois a cinco, e apenas no estágio seis é que entram na fase de paquíteno da primeira prófase meiótica.

A cinética da espermatogênese deve incluir não só a classificação dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, como também a quantidade dos tipos celulares presentes, pois dessa maneira é possível acompanhar a evolução de cada tipo celular ao longo do ciclo (NETO *et al.*, 2003). No estudo da quantificação espermatogênica, é necessário o reconhecimento morfológico dos diferentes tipos celulares que compõem o epitélio seminífero, incluindo-se aí tanto células germinativas como células somáticas de sustentação (de Sertoli).

De acordo com França (1991), na quantificação da espermatogênese, são necessários o conhecimento do CES, a caracterização dos estádios que o compõem e a

determinação da frequência relativa desses estádios. Através da quantificação das células do epitélio seminífero, com o auxílio da biometria testicular é possível determinar as fases do desenvolvimento reprodutivo de qualquer espécie.

Costa *et al.* (2004) baseando-se na morfologia nuclear e na posição topográfica em relação a outras células e à lâmina basal identificou três tipos de espermatogônias em caíto: tipo A, intermediária e, tipo B. A morfologia dessas células, dos espermatócitos primários em prófase meiótica, dos espermatócitos secundários e das espermátides dos catetos não diferiram substancialmente do descrito para os mamíferos em geral (COUROT *et al.*, 1970; ORTAVANT *et al.*, 1977). Os diâmetros nucleares médios foram próximos aos reportados para suínos (SWIERSTRA, 1968; FRANÇA, 1991). No entanto, a população de espermátides arredondadas em caíto foi menor do que a relatada para suínos (FRANÇA, 1991) e o dobro da população observada em secções transversais de túbulos seminíferos de capivaras (PAULA, 1999).

### 2.3. PUBERDADE

O conceito de puberdade para animais é variável entre alguns autores. Para Amann e Schanbacher (1983), é caracterizada pelo período de rápido crescimento testicular, secreção de LH e início da espermatogênese. Para Hafez (1995), é determinada a partir do momento em que o macho é capaz de liberar gametas e de manifestar a sequência completa relacionada ao comportamento sexual. No caso de bovinos, Okun *et al.* (1996) consideram o início da puberdade a partir do momento em que apareciam os primeiros espermatozóides no lume do epitélio seminífero.

Considera-se que o macho adquire o estado de puberdade quando aparecem espermatozóides livres nos túbulos seminíferos (primeira onda de espermatogênese) e estes se apresentam na cauda epididimal (LEVIS, 1997).

Têm-se verificado que segundo critério histológico há uma grande variação em mamíferos relativo à idade da puberdade. Assim, a puberdade em camundongo foi determinada aos 30 dias (ONUMA e NISHIKAWA, 1955), aos oito meses em suíno (FRANÇA *et al.*, 1988, ORSI *et al.*, 1985) e bovinos (CURTIS e AMMAN, 1981; WROBEL *et al.*, 1986); aos quarenta e cinco dias em hamster (MARTINS, 1988), aos quatro meses em suíno Piau (FRANÇA, 1988), em torno dos três a quatro meses em

caprinos (ONUMA E NISHIKAWA, 1955; SILVA, 2000), aos treze meses em búfalos mestiços (MELO, 1991), aos setenta dias em cobaias (TSE, 1991) e aos oito meses na cutia (*Dasyprocta sp.*)(FERREIRA, 2002).

A puberdade é precedida por alterações fisiológicas caracterizadas por um aumento no diâmetro e comprimento dos túbulos seminíferos, a formação de um lúmen tubular e o aparecimento de células espermatogênicas. O controle do aparecimento da puberdade é precedido por um aumento dos níveis circulantes de FSH, que provocam o desenvolvimento de receptores de LH nos testículos aumentando assim a secreção de testosterona (HUGHES e VARLEY, 1984).

### **3.OBJETIVOS**

#### **3.1.OBJETIVO GERAL**

Estudar o desenvolvimento reprodutivo através da análise da espermatogênese e do crescimento testicular em caítilus (*Tayassu tajacu*) de diferentes idades criados em cativeiro.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Correlacionar a idade com o peso testicular e a biometria testicular;
2. Avaliar a evolução do diâmetro do túbulo seminífero em relação à idade;
3. Quantificar as células espermatogênicas;
4. Determinar a frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero;
5. Avaliar o rendimento geral da espermatogênese e a capacidade de suporte das células de Sertoli;

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. ANIMAIS

Foram utilizadas amostras testiculares de 15 caaitus, nascidos e criados em cativeiro, com idade variando de 7 a 16 meses, provenientes do criatório científico de animais silvestres da EMBRAPA Amazônia Oriental (Belém-PA), registrado no IBAMA sob o número de processo 0201800542/96-61. Este trabalho foi submetido ao comitê de ética da UFPA em pesquisa com animais de experimentação (CEPAE), e aprovado com o número de parecer ZOO 001/2008.

Os animais eram mantidos em baias experimentais de 36 m<sup>2</sup>. Conviviam em grupos familiares (machos e fêmeas adultos, filhotes), permanecendo em iluminação natural das 6:00 às 18:00 horas e temperatura ambiente (28-34° C). A alimentação foi fornecida diariamente e incluiu ração comercial para suínos (13% PB)<sup>1</sup>, capim elefante e frutas.

O controle sanitário foi realizado diariamente com a higienização das baias, retirada de sobras alimentares e dejetos. O controle de endoparasitas foi feito com a utilização de um anti-helmíntico polivalente de uso oral para suínos, Mebendazole 30g/50Kg .

### 4.2. COLHEITA E PROCESSAMENTO DO MATERIAL HISTOLÓGICO

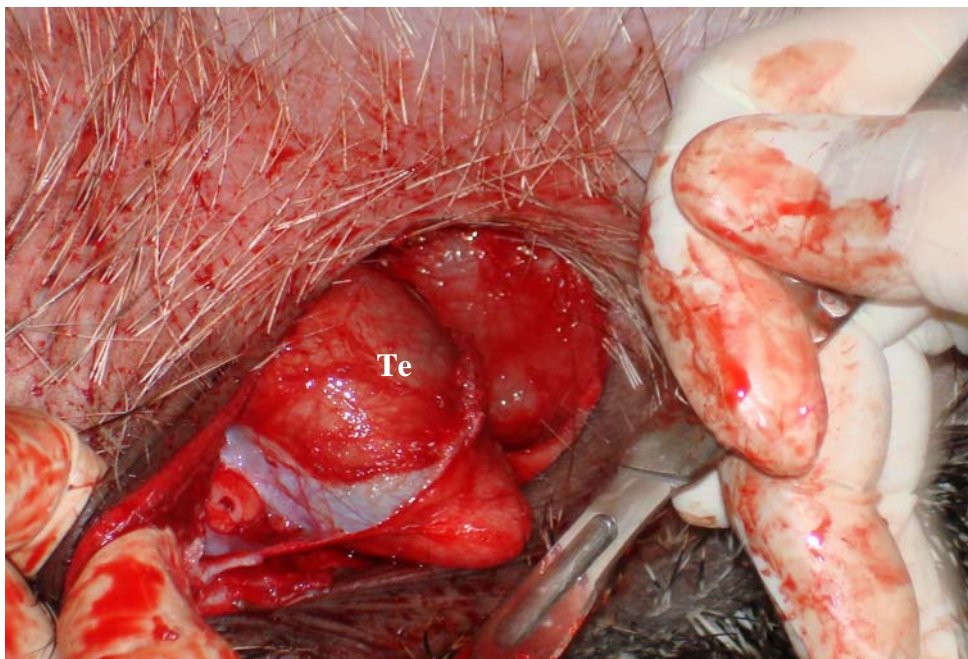
Para o experimento, os animais foram agrupados de acordo com a faixa etária, formando cinco grupos, contendo três animais em cada, sendo denominados: G1 (7-8 meses), G2 (9-10 meses), G3 (11-12 meses), G4 (13-14 meses), G5 (15-16 meses).

Ao atingirem a idade programada, os animais foram submetidos à cirurgia de castração (orquiectomia) bilateral (Fotografia 3), previamente anestesiados com cloridrato de quetamina (5 mg/Kg) e acepromazina 0,2%, (0,2 mg/Kg).

Após a biometria, os fragmentos testiculares foram fixados em solução ALFAC por 24 horas, passando por processamento histológico de desidratação, diafanização e inclusão em blocos de parafina. Após o emblocamento, submetidos a cortes histológicos de 5 µm de espessura em série no micrótomo<sup>2</sup> e corados em Hematoxilina-Eosina . As lâminas depois de coradas e montadas, foram analisadas em microscopia ótica.

<sup>1</sup> Makaru indústria comércio e representação Ltda

<sup>2</sup> Micrótomo Leika RM 2245



**Fotografia 3-** Momento da incisão cirúrgica para a orquiectomia bilateral em castrado. Te- Testículo.

#### 4.3. DIÂMETRO DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS

Foram medidos 10 diâmetros em secções transversais de túbulos seminíferos, para cada animal com atividade espermatogênica completa, e 20 secções transversais para aqueles nos quais não foram visualizadas todas as células da linhagem espermatogênica. As medidas foram feitas com auxílio de uma lente micrométrica acoplada na ocular de 10X, sendo que foram corrigidas conforme a objetiva utilizada no microscópio óptico.



#### 4.4. QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS

No interior das secções transversais dos túbulos seminíferos, foram quantificadas as células espermatogênicas com núcleos de contorno circular e as células de Sertoli, corrigidas para seus diâmetros nucleares e nucleolares, respectivamente. A análise quantitativa e as mensurações celulares foram feitas de acordo com o método da morfologia tubular, proposto por COUROT *et al.* (1970), da seguinte forma:

a) Para avaliar a quantificação das células espermatogênicas foram analisadas 10 secções transversais de túbulos seminíferos, em cada animal com atividade espermatogênica completa, e 20 secções transversais de túbulos seminíferos nos animais que não apresentaram espermatogênese completa.

b) As mensurações foram realizadas em 10 células por túbulo seminífero nos animais considerados púberes e 20 células por túbulo seminífero nos animais considerados impúberes.

Em cada célula da linhagem espermática (espermatogônias e espermatócitos) e ainda as células de Sertoli, foram obtidas as médias entre os eixos X (maior) e Y (menor).

Todas as mensurações foram submetidas a um fator de correção de acordo com a objetiva, tendo sido utilizada uma lente micrométrica. A contagem obtida no interior das secções transversais dos túbulos seminíferos para cada tipo celular, foi corrigida para o diâmetro nuclear e/ou nucleolar médio e a espessura do corte segundo a fórmula de ABERCROMBIE (1946), modificada por AMANN (1962).

As fotomicrografias dos túbulos seminíferos contendo as células da linhagem espermatogênica foram tiradas com auxílio de uma máquina fotográfica Nikon DS-Fi1 acoplada a um microscópio Nikon Eclipse.

#### 4.5. FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESTÁDIOS DO CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO

A determinação da frequência relativa com que cada estágio aparece no túbulo seminífero, foi feita por meio da análise da morfologia da população das células da linhagem espermatogênica e a classificação de suas associações. Foram analisadas 100 secções transversais de túbulos seminíferos por animal, somente nos animais que já apresentavam o ciclo espermatogênico completo, onde todos os estádios já se

encontravam presentes. Esta análise foi feita segundo a metodologia utilizada por COUROT *et al.* (1970).

#### 4.6. RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DAS CÉLULAS DE SERTOLI

O rendimento intrínseco ou geral da espermatogênese foi calculado baseando-se nas razões entre as células espermatogônias do tipo A e as espermátides arredondadas, presentes em túbulos seminíferos do estágio 1 do CES, de acordo com COUROT *et al.* (1970).

Para avaliar a capacidade de suporte das células de Sertoli nos animais que haviam estabelecido a atividade espermatogênica, foi calculada a razão entre o número das células de Sertoli e o número total das células espermatogênicas localizadas nos túbulos seminíferos classificados no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.

#### 4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram aplicados métodos estatísticos descritivos e inferenciais. Para os testes de hipótese aplicados aos dados de quantificação das células espermatogênicas e o diâmetro tubular, foi prefixado o nível de significância  $\alpha = 0,05$  para rejeição da hipótese de nulidade. O teste estatístico denominado ANOVA (com *post hoc* Teste t de *Student*) permitiu analisar as diferenças entre as fases de crescimento dos animais. O teste de Coeficiente de Correlação Linear de Pearson foi aplicado para medir o grau de correlação linear entre duas variáveis numéricas, correspondentes aos valores entre a idade e o peso testicular, e a biometria testicular e o peso testicular com as células espermatogênicas. Todo o processamento estatístico foi realizado sob o suporte computacional do pacote bioestatístico BioEstat versão 5 (AYRES *et al.* 2008).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. BIOMETRIA TESTICULAR

Os dados de biometria testicular referentes aos valores de peso, comprimento e largura, dos animais por grupos etários estão descritos nas tabelas 1 e 2. Esses parâmetros apresentaram crescimento constante e gradual com diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) entre as faixas etárias.

Os dados relativos ao peso dos testículos demonstraram aumento significativo ( $p < 0,05$ ) do peso testicular do grupo G1 com média de  $2,9 \pm 0,2$  g, até o grupo G3, cuja média foi de  $15,7g \pm 1,0$  g. A partir do G3, o desenvolvimento do peso testicular apresentou-se lento, mas com o aumento significativo ( $p < 0,05$ ) até o G5. O peso testicular apresentou um crescimento linear em relação à idade dos animais (Anexo1).

O comprimento e a largura testiculares demonstraram crescimento acentuado e significativo até os animais do G3 ( $p < 0,05$ ). A partir do G4, evidenciou-se crescimento mais lento, mas significativo ( $p < 0,05$ ).

Os dados biométricos apresentaram alta correlação positiva ( $p < 0,001$ ) entre si, a saber, peso testicular e comprimento ( $r=0,97$ ); o peso testicular e a largura ( $r=0,88$ ); e o comprimento testicular e a largura ( $r=0,92$ ) (Tabela 2).

**Tabela 1-** Peso (g), comprimento (mm) e largura (mm) testicular nas diferentes fases de crescimento do caítitu.

		Grupos (idade-meses)				
		G1	G2	G3	G4	G5
		(7 - 8)	(9 - 10)	(11 - 12)	(13 - 14)	(15 a-16)
PT (g)	Média	2,9	6	15,7	18,1	19,3
	D. Padrão	$\pm 0,2^a$	$\pm 2,1^b$	$\pm 1,0^c$	$\pm 0,5^d$	$\pm 0,8^e$
CT (mm)	Média	23,5	29,4	38,7	40,2	42,9
	D. Padrão	$\pm 0,6^a$	$\pm 2,3^b$	$\pm 2,5^c$	$\pm 1,1^c$	$\pm 3,2^d$
LT (mm)	Média	14,9	18,6	22,8	23,2	26,3
	D. Padrão	$\pm 0,6^a$	$\pm 1,6^b$	$\pm 3,2^c$	$\pm 3,1^c$	$\pm 1,9^d$

Sobrescritos diferentes na mesma linha diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Nota: PT – Peso Testicular, CT – Comprimento Testicular e LT – Largura Testicular.

**Tabela 2** – Correlação entre o peso, largura e comprimento testicular em caititus de 7 a 16 meses de idade.

	r	p-valor
Peso x Comprimento	0,97	<0,001*
Peso x Largura	0,88	<0,001*
Comprimento x Largura	0,92	<0,001*

\*Teste de Correlação Linear de Pearson

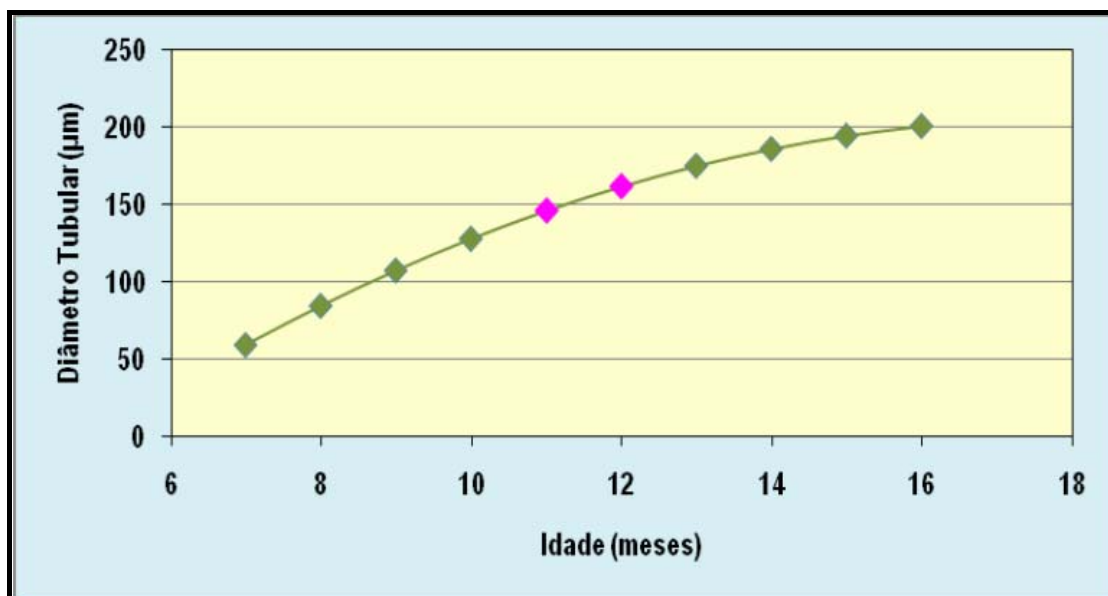
## 5.2. DIÂMETRO DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS

Na avaliação dos valores dos diâmetros dos túbulos seminíferos observou-se que houve aumento significativo ( $p < 0,05$ ) dos animais do grupo G1, que apresentaram média no valor de  $70,3 \pm 3,4 \mu\text{m}$  para o G4, com média de  $180,0 \pm 7,6 \mu\text{m}$ . A partir do G4 até o G5, houve crescimento lento e contínuo, não havendo significância estatística ( $p > 0,05$ ). Esses valores estão representados na tabela 3 e a evolução do crescimento tubular está representado no gráfico 1. Houve correlação forte e positiva entre o peso testicular e o diâmetro tubular ( $r=0,99$ ;  $p < 0,05$ ), conforme apresentado no anexo 2.

**Tabela 3**- Diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ) de caititus nos diferentes grupos.

		<b>Grupos (idade-meses)</b>				
		<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>	<b>G5</b>
		<b>8-9</b>	<b>9-10</b>	<b>11-12</b>	<b>13-14</b>	<b>15-16</b>
<b>DT</b>	Média	70,3	102,6	166,9	180,0	196,8
	D. Padrão	$\pm 3,4^a$	$\pm 10,0^b$	$\pm 9,9^c$	$\pm 7,6^d$	$\pm 6,7^d$
	(Min,	(68,3;	(94,9;	(156,3;	(171,3;	(189,0;
	Máx)	74,1)	113,9)	176,0)	185,0)	201,3)

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ). DT-diâmetro tubular.



**Gráfico 1-** Regressão polinomial do segundo grau do diâmetro tubular de caítitus em função da idade (meses). Os losangos destacados indicam as idades em que ocorreu maior crescimento.

### 5.3. QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS DE CAITITUS

Os valores médios da quantificação das células espermatozóides e das células de Sertoli, identificadas em secções transversais de túbulos seminíferos no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, foram corrigidos para os seus diâmetros nucleares e nucleolares médios respectivamente, e para a espessura do corte, e estão apresentados na tabela 4.

Considerando a população total de células espermatozóides, seus valores demonstraram significância estatística ( $p < 0,05$ ) até o G3, apresentando um comportamento de crescimento de forma gradual e lento do G1 até o G2; sendo que a partir dos 11 meses de idade a atividade espermatozóide aumentou de maneira acelerada com tendência para estabilização a partir do G3 (Tabela 4).

**Tabela 4** - Tipos celulares e células de Sertoli de caimitus nos diferentes grupos etários, com valores corrigidos segundo Amann (1962), (média,  $\pm$  desvio padrão).

Tipos celulares	Grupos (idade-meses)				
	G1 (7 – 8)	G2 (9 – 10)	G3 (11 – 12)	G4 (13 – 14)	G5 (15 – 16)
A	0,88 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,98 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	1,02 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	1,01 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	1,05 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
PL/L	---	19,72 $\pm$ 1,03 <sup>a</sup>	23,65 $\pm$ 0,56 <sup>b</sup>	24,64 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>	25,06 $\pm$ 0,43 <sup>b</sup>
PQ	---	---	16,66 $\pm$ 0,46 <sup>a</sup>	17,97 $\pm$ 0,52 <sup>a</sup>	21,70 $\pm$ 2,22 <sup>b</sup>
AR	---	---	65,85 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	69,29 $\pm$ 0,38 <sup>b</sup>	70,86 $\pm$ 1,02 <sup>c</sup>
CE	0,88 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	11,10 $\pm$ 9,59 <sup>b</sup>	26,79 $\pm$ 25,06 <sup>c</sup>	28,23 $\pm$ 26,35 <sup>c</sup>	29,67 $\pm$ 26,65 <sup>c</sup>
CS	15,24 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	13,82 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>	9,96 $\pm$ 0,61 <sup>c</sup>	8,63 $\pm$ 0,27 <sup>d</sup>	7,45 $\pm$ 0,18 <sup>e</sup>

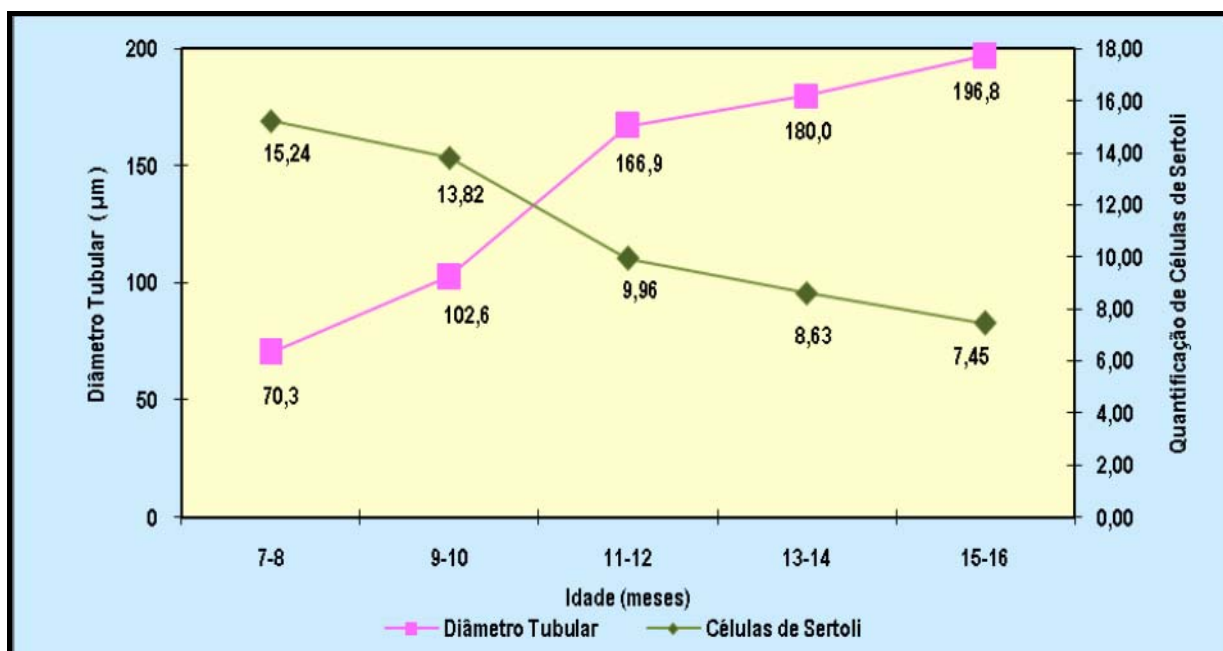
Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ). DT-diâmetro tubular. Células espermatogônias (A), espermatócitos em pré-leptóteno/leptóteno (PL/L), espermatócitos em paquíteno (Q), espermatídes arredondadas (AR); CE – Células espermatogênicas; CS – Células de Sertoli.

As espermatogônias do tipo A, apresentaram significância estatística ( $p < 0,05$ ) do G1 para o G2, e a partir deste, até o G5, não houve significância estatística (Tabela 4).

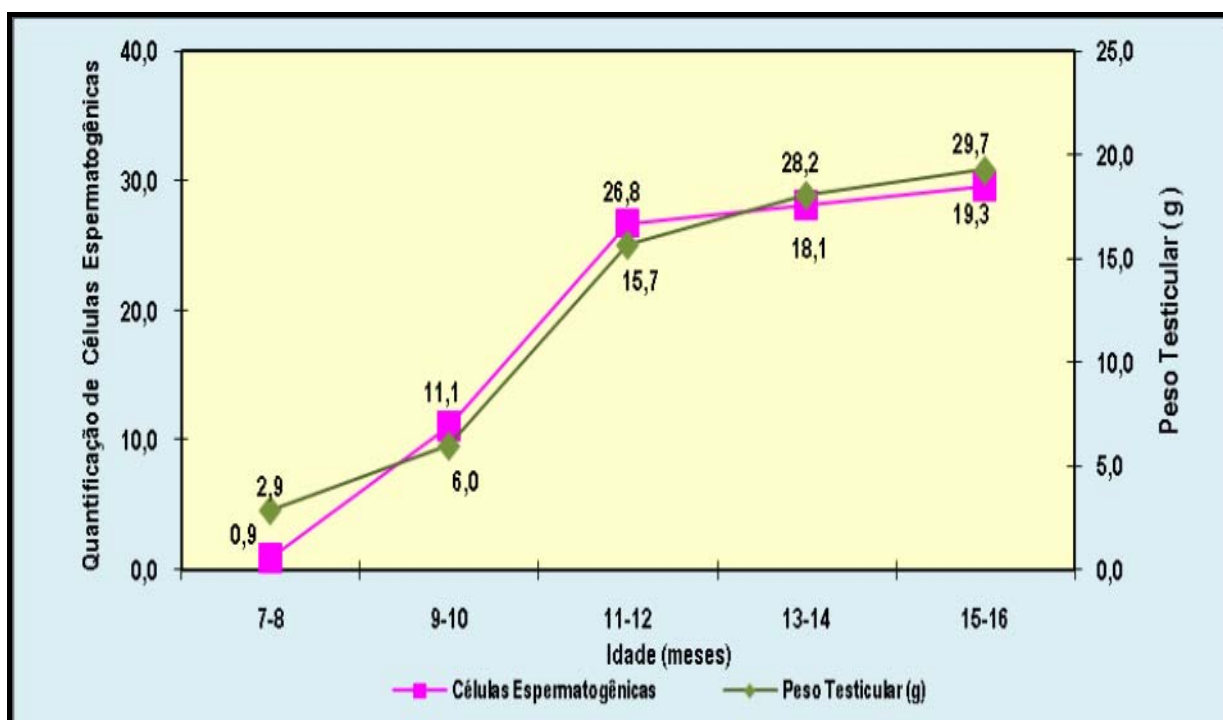
Em relação aos espermátócitos I em pré-leptóteno/leptóteno, verificou-se que houve significância estatística ( $p < 0,05$ ) somente entre os grupos G2 e G3. Os espermátócitos I que estavam na fase de paquíteno, apresentaram valores significantes estatisticamente entre os grupos G4 e G5 ( $p < 0,05$ ). Na população celular de espermátides arredondadas, foi observada diferença significativa estatisticamente ( $p < 0,05$ ) do G3 ao G5 (Tabela 4).

O acompanhamento do desenvolvimento das células de Sertoli demonstrou que o valor médio da quantidade das mesmas reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) dos animais do G1, onde a apresentação das mesmas ainda se encontrava na forma de células indiferenciadas de suporte, até a os animais que apresentaram todas as células da linhagem espermatogênica no interior dos túbulos seminíferos, ou seja, nos animais do G5 (Gráfico 2).

A correlação entre as células espermatogênicas e o desenvolvimento do peso testicular foi significativa ( $r = 0,98$ ;  $p < 0,001$ ), onde se observa um crescimento evolutivo entre esses parâmetros na medida em que os animais aumentam de idade. Pode-se observar no gráfico 3 e anexo3, que de acordo com o aumento da idade dos animais, tanto o peso testicular como a quantidade de células espermatogênicas tendem a um aumento progressivo e gradual (Gráfico 3).



**Gráfico 2-** Evolução do diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ) e das células de Sertoli em relação à idade.



**Gráfico 3-** Evolução das células espermato gênicas e do peso testicular em relação à idade.



### 5.3.1 Descrição Morfológica do Túbulo Seminífero

- **Grupo G1 ( 7-8 meses)**

A análise microscópica revelou túbulo seminífero preenchido por células caracterizando o epitélio germinativo em maturação. Nesse período não foi observado luz no interior do túbulo seminífero.

Este epitélio encontrava-se apoiado numa lâmina basal; logo abaixo dessa estrutura eram observadas células de formato fusiforme. Entre os túbulos era visível um tecido conjuntivo com células de aspecto arredondado (Fotomicrografia 1).

- **Grupo G2 (9-10 meses)**

Os túbulos seminíferos dos animais nessa faixa etária apresentavam luz e o epitélio germinativo constituído por células espermatogênicas em diferentes fases de maturação.

Nos animais a partir dos 9 meses de idade, eram visíveis células, cujo núcleo apresentavam cromatina descondensada, caracterizando espermatócitos primários na fase de pré-leptóteno/leptóteno; enquanto nos animais de 10 meses de idade além de serem observados espermatócitos primários, foi possível visualizar células de Sertoli. (Fotomicrografia 2).

- **Grupo G3 (11-12 meses)**

Os animais dessa faixa etária apresentaram túbulos seminíferos bem definidos, com epitélio germinativo apresentando células espermatogênicas: espermatogônias A, intermediárias e B; espermatócitos primários e secundários, espermatídes e espermatozóides. Ainda foram observadas células de Sertoli caracterizadas pelo formato irregular ou piramidal (Fotomicrografia 3).

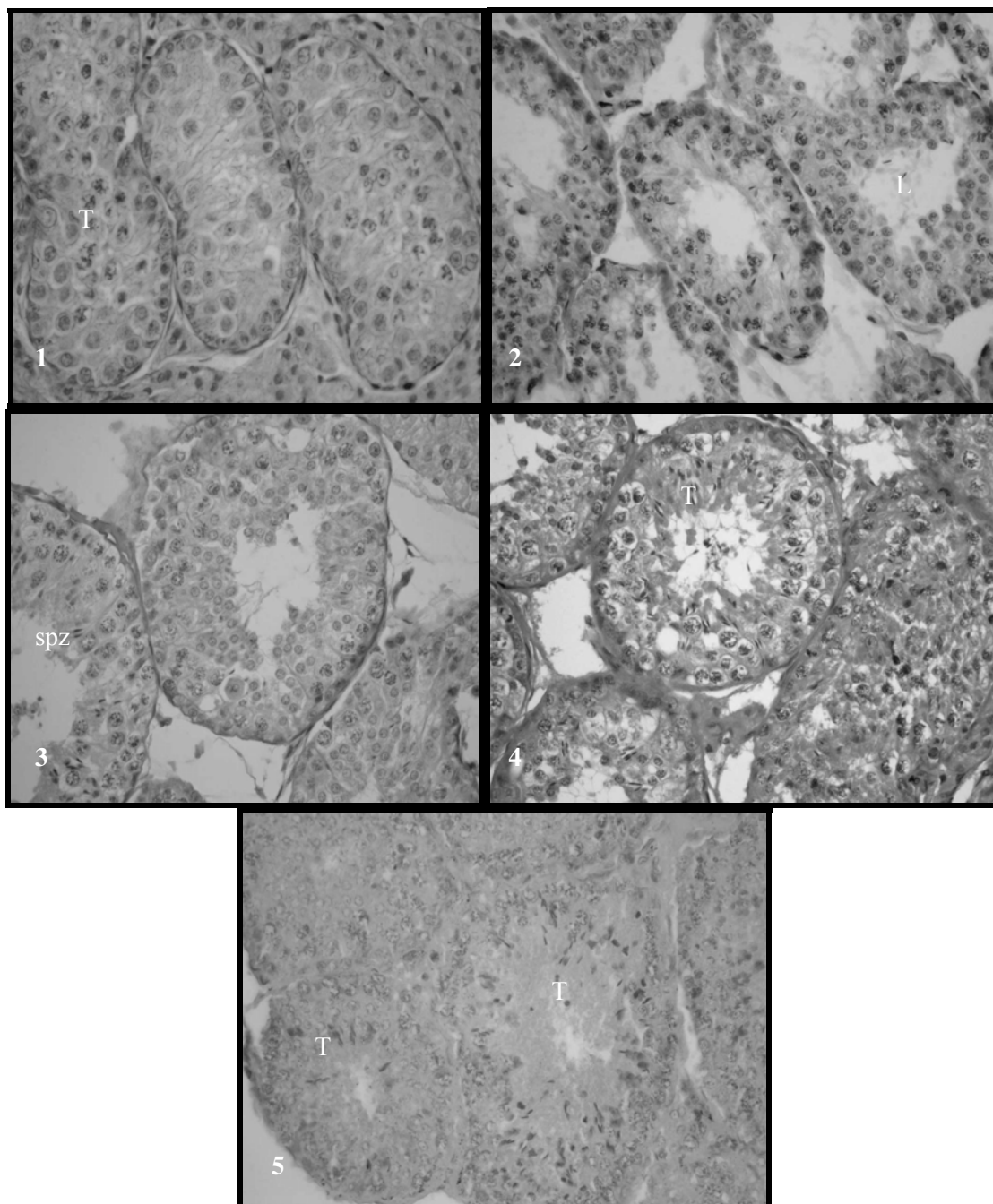
- **Grupo G4 (13-14 meses)**

Os animais que fizeram parte desse grupo apresentaram estrutura dos túbulos similar ao grupo anterior. Porém era visível o aumento na quantidade de células espermatogênicas. Os espermatozóides eram freqüentes na luz do túbulo (Fotomicrografia 4).

- **Grupo G5 (15-16 meses)**

Os animais nessa idade apresentavam testículo com túbulos seminíferos de aspecto semelhante aos dois grupos anteriores. No entanto não foi observado aumento na altura do epitélio germinativo pelo aumento do número de células, demonstrando a estabilidade do epitélio (Fotomicrografia 5).

De acordo com os estudos realizados neste trabalho, acerca das análises estatísticas da população celular do epitélio germinativo tubular e dados da biometria; da quantificação das células espermatogênicas corrigidas para os diâmetros dos seus núcleos e/ou nucléolos e das observações da composição morfológica dos túbulos seminíferos por grupos etários, as fases de desenvolvimento reprodutivo dos caimitus nesta pesquisa, foram classificadas nas seguintes etapas: impúbere (G1) os animais com faixa etária de 7 a 8 meses; pré-púbere (G2) com 9 a 10 meses; púbere (G3) com 11 a 12 meses; pós-púbere 1(G4) com 13 a 14 meses e pós-púbere 2 (G5) com 15 a 16 meses.



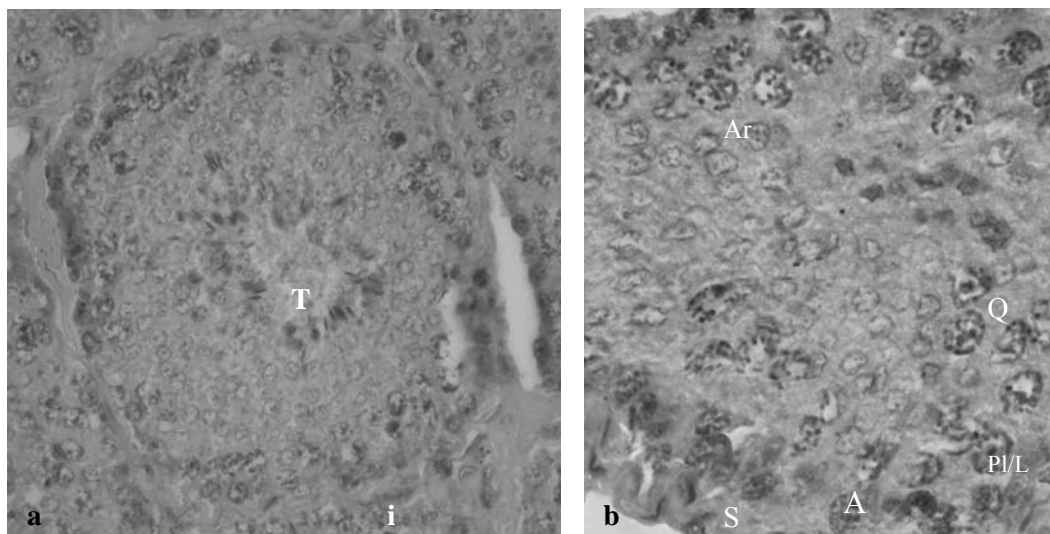
**Fotomicrografias:** 1- Túbulos seminíferos (T) de caititu com 8 meses de idade, 400x. 2-Lúmen do Túbulo seminífero (L) de caititu com 10 meses de idade, 400x. 3- Presença de espermatozóides (spz) na luz do túbulo seminífero de caititu com 11 meses de idade, 400x. 4- Túbulos seminíferos (T) de caititu com 13 meses de idade, 400x. 5- Túbulos seminíferos (T) de caititu com 15 meses de idade, 400x.

#### 5.4. MORFOLOGIA DOS ESTÁDIOS DO CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO DE CAITITUS

Analisando os túbulos seminíferos, a partir da puberdade do animal, foram identificados oito estádios do CES. Estes estádios foram caracterizados de acordo com a presença e organização dos tipos celulares, sendo os seguintes:

##### **Estádio 1**

Nesse estágio os túbulos seminíferos apresentavam espermatogônias caracterizadas como tipo A, por apresentarem formato arredondado com núcleo de aspecto ovóide e cromatina escura, irregularmente granular. Espermatócitos primários em pré-leptóteno caracterizadas pela organização da cromatina fina e longa e espermatócitos na subfase de paquíteno caracterizada pela cromatina densa, núcleos arredondados e volumosos. Ainda foram encontradas espermátides de formato arredondado que se organizavam em camadas e entre os túbulos observou-se um tecido intersticial denso (Fotomicrografia 6).

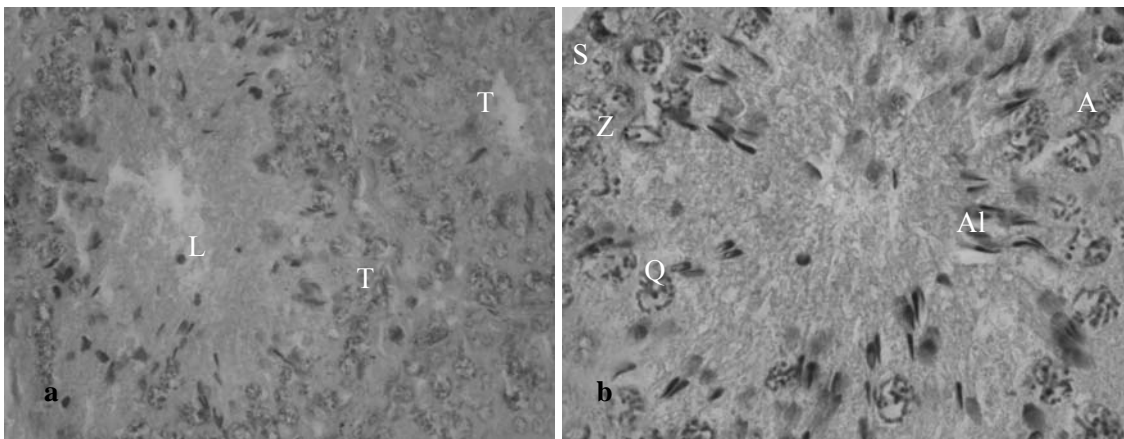


**Fotomicrografia 6- Estádio 1- a:** Aspecto geral do túbulo seminífero (T) e seu epitélio germinativo; Tecido intersticial (i), 400x. **b:** Presença de espermatogônias do tipo A (A); Espermatócitos nas subfases pré-leptóteno/leptóteno (Pl/L) e paquíteno (Q); Espermátides arredondadas (Ar) e células de Sertoli (S), 1000x.

## Estádio 2

Nesse estágio, foram encontradas espermatogônias do tipo A com aspecto similar ao estágio anterior; espermatócitos em zigóteno caracterizado pela maior condensação da cromatina; espermatócitos em paquíteno. Foram observadas espermátides no formato alongado, distribuídas aleatoriamente no interior do túbulo e próximas a luz do túbulo.

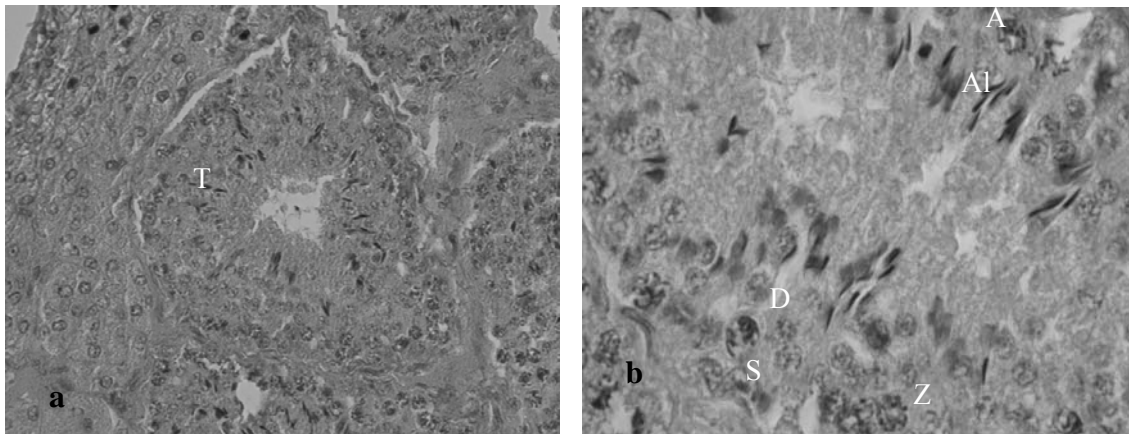
As células de Sertoli foram observadas por apresentarem núcleos irregularmente alongados ou piramidais (Fotomicrografia 7).



**Fotomicrografia 7- Estádio 2:** **a-** Túbulo seminíferos com luz delimitada e pouco tecido intersticial (T), Lúmen tubular (L) 400x. **b-** Espermatogônias do tipo A (A); Espermatócitos primários em zigóteno (Z); Espermatócitos em paquíteno (Q); Espermátides alongadas (Al); e células de Sertoli (S), 1000x.

## Estádio 3

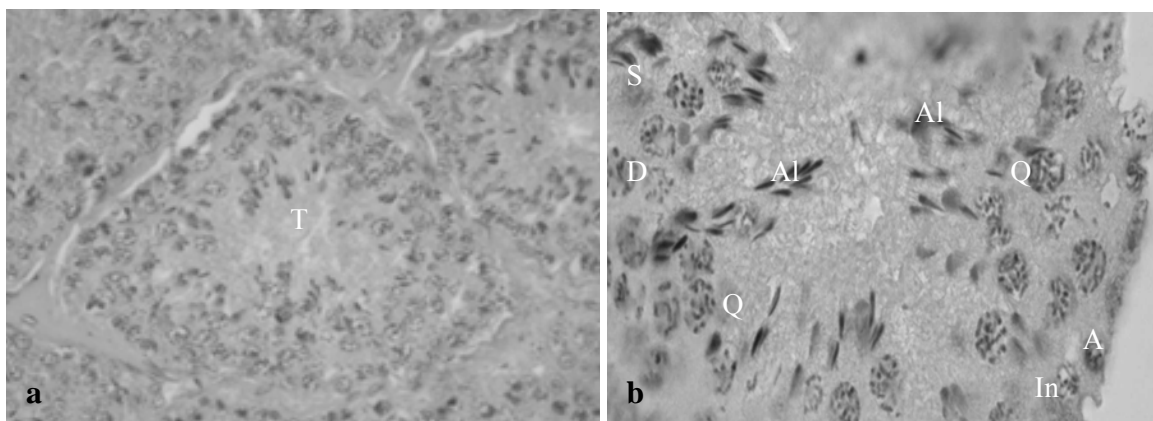
Nesse, foram observados espermatogônias do tipo A, espermatócitos na em zigóteno e em diplóteno caracterizado pela descondensação da cromatina. As espermátides de formato alongado apresentaram núcleo intensamente corado. Estas células se organizavam enfileiradas com disposição radial em relação à luz do túbulo (Fotomicrografia 8).



**Fotomicrografia 8- Estádio 3:** a- Túbulo seminífero (T), 400x. b- Espermatogônias do tipo A (A); Espermatócitos nas subfases zigóteno (Z) e diplóteno (D); Espermátides alongadas (Al) e células de Sertoli (S), 1000x.

#### Estádio 4

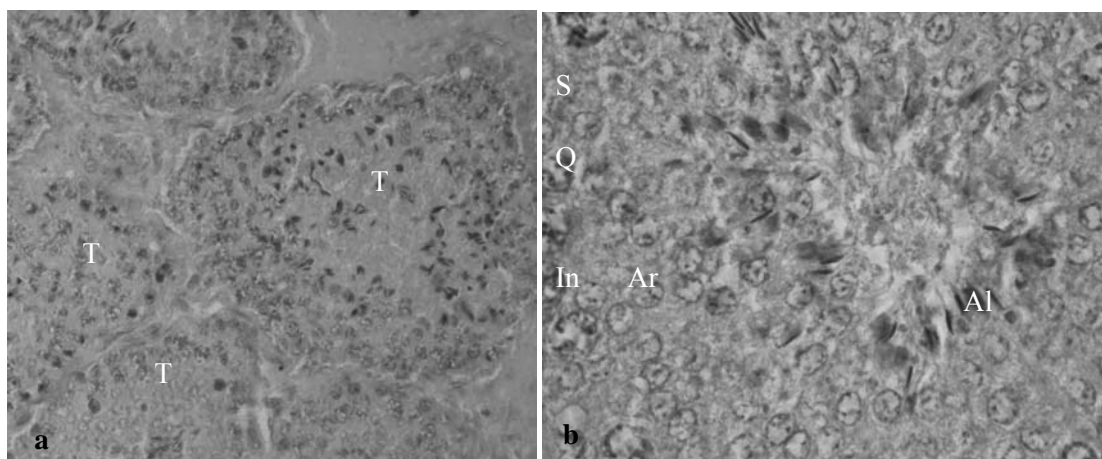
Nesses estádios eram visíveis espermatogônias intermediárias apresentando finos filamentos de cromatina e a condensação nuclear; espermatogônias A, espermatócitos primários em paquíteno e diplóteno, caracterizados pela organização da cromatina mais frouxa. Algumas espermátides apresentavam formato arredondado e organizavam-se em grupos (Fotomicrografia 9).



**Fotomicrografia 9- Estádio 4:** a- Túbulo seminífero (T), 400x. b- Espermatogônias A (A), Intermediárias (In); Espermatócitos em paquíteno (Q) e diplóteno (D); Espermátides alongadas (Al) e células de Sertoli (S), 1000x.

### Estádio 5

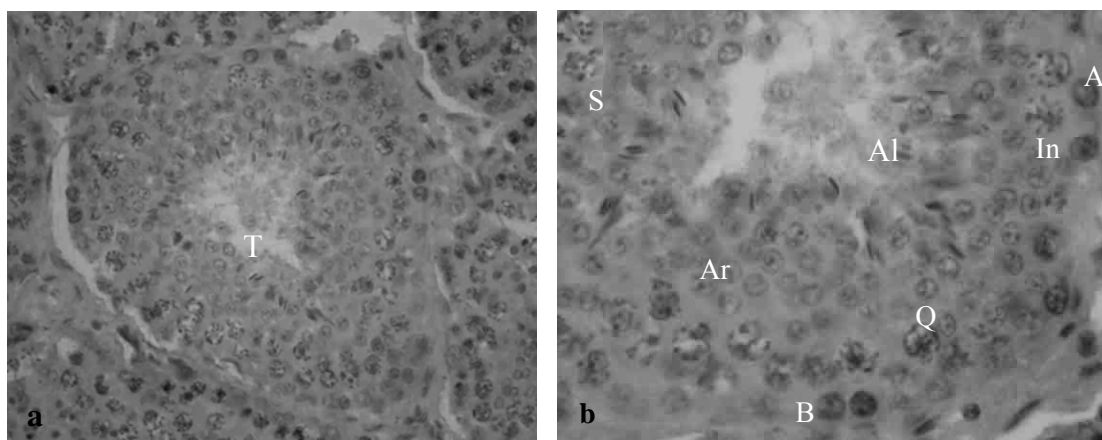
Nesse estágio foram observadas espermatogônias dos tipos A e Intermediárias; espermatócitos primários em paquíteno; espermatócitos secundários e espermátides arredondadas e alongadas, com os núcleos direcionados para as células de Sertoli, estando estas localizadas predominantemente no compartimento adluminal do túbulo seminífero (Fotomicrografia 10).



**Fotomicrografia 10- Estádio 5:** a- Túbulo seminífero (T) com diferentes populações celulares e luz pouco visível, 400x. b- Espermatogônias Intermediárias (In); Espermatócitos em paquíteno(Q); Espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al), células de Sertoli (S), 1000x.

### Estádio 6

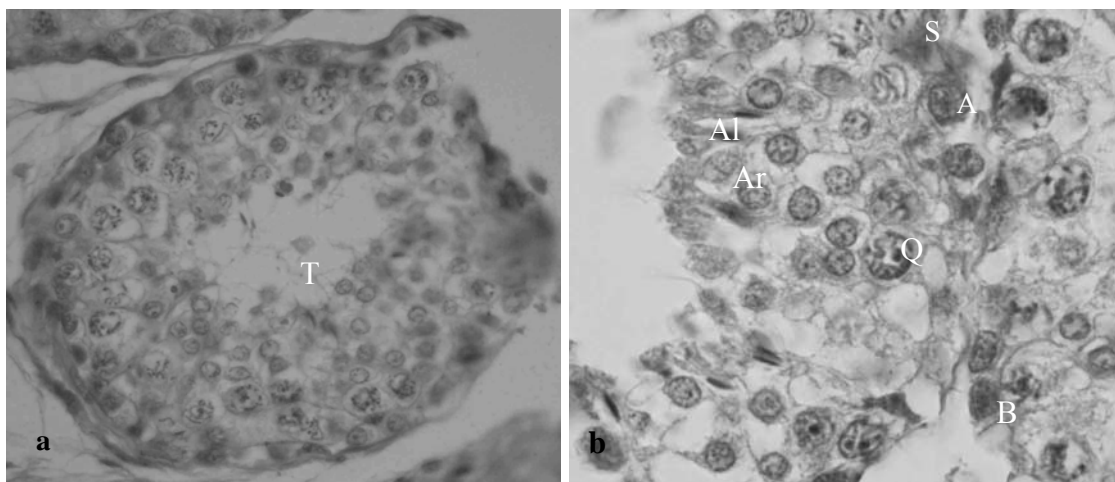
Nesse estágio foram observadas espermatogônias dos tipos A, Intermediárias e B, estas últimas caracterizadas por apresentarem cromatina densa com grânulos grossos; espermatócitos primários em paquíteno; espermátides arredondadas e alongadas organizadas para o lúmen (Fotomicrografia 11).



**Fotomicrografia 11- Estádio 6:** a –Túbulo seminífero (T) com epitélio germinativo organizado, 400x. b- Detalhe das espermatogônias A (A), Intermediárias (In) e B (B); Espermatócitos primários em paquíteno (Q); Espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al) e células de Sertoli (S), 1000x.

### Estádio 7

Nesse estágio foram observados espermatogônias dos tipos A e B e espermátides arredondadas e alongadas. Estas células apresentavam núcleos alongados colocados na borda luminal com presença de flagelos para o lúmen dos túbulos e com abundantes corpos residuais nas proximidades, caracterizando a fase final da espermiogênese. As células de Sertoli caracterizavam-se por apresentar núcleos ora alongados ora piramidais e com eixo maior voltado para lâmina basal. Entre os túbulos seminíferos havia um tecido intersticial frouxo (Fotomicrografia 12).

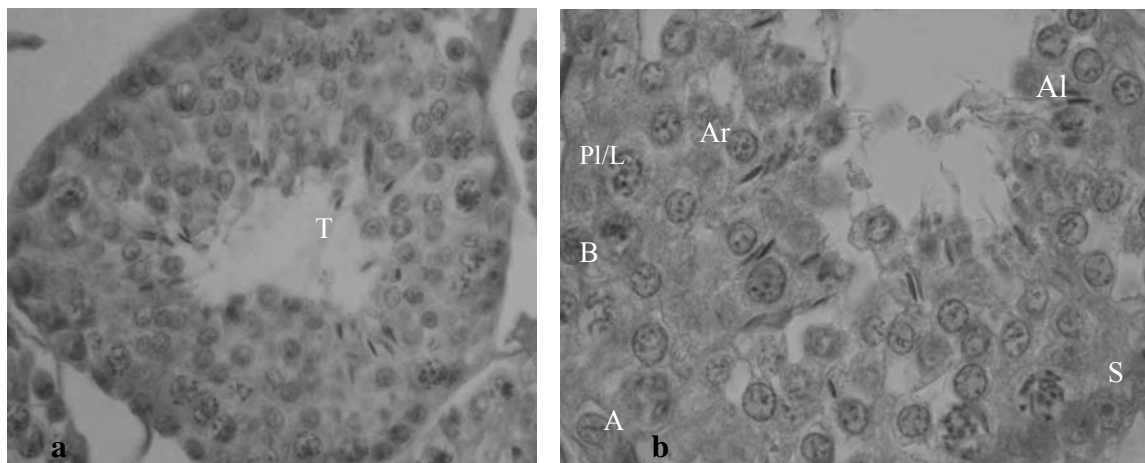


**Fotomicrografia 12- Estádio 7:** a- Túbulo seminífero bem definido (T), 400x. b- Detalhe das espermatogônias dos tipos (A ;B); Espermatócitos primários em paquíteno (Q); Espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al); célula de Sertoli (S), 1000x.

### Estádio 8

Nesse estágio foram visualizadas espermatogônias dos tipos A e B; espermatócitos em leptóteno e paquíteno. As espermátides se encontravam com aspecto similar ao estágio anterior, porém com predomínio alongado, e circundadas de corpos residuais. Espermatozóides foram visualizados na luz dos túbulos seminíferos (Fotomicrografia 13).





**Fotomicrografia 13- Estádio 8:** **a-** Túbulo seminífero com espermatozóides na luz (T), 400x. **b-** Espermatogônias dos tipos (A; B); Espermatócitos primários em pré-leptótene/leptótene (Pl/L); Espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (Al), e células de Sertoli (S), 1000x.

#### 5.4.1.Freqüência Relativa dos Estádios do Ciclo do Epitélio Seminífero

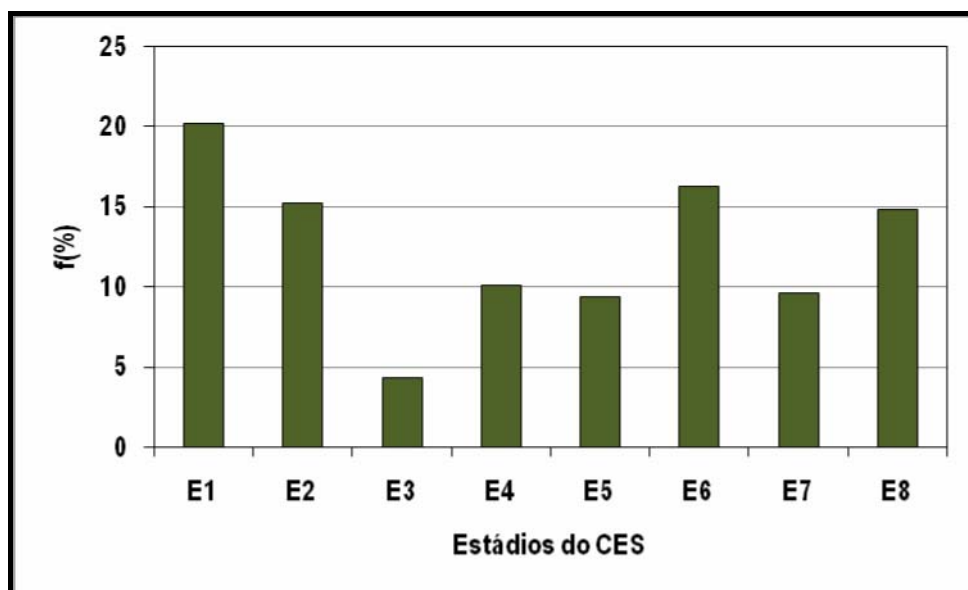
Foram observadas variações entre os estádios, conforme os valores apresentados na tabela 5.

Nos grupos G3, G4 e G5, o estágio 1 apresentou maior freqüência média ( $20,2 \pm 1,3\%$ ) e o de menor freqüência foi o estágio 3 ( $4,3 \pm 1,0\%$ ) (Gráfico 4).

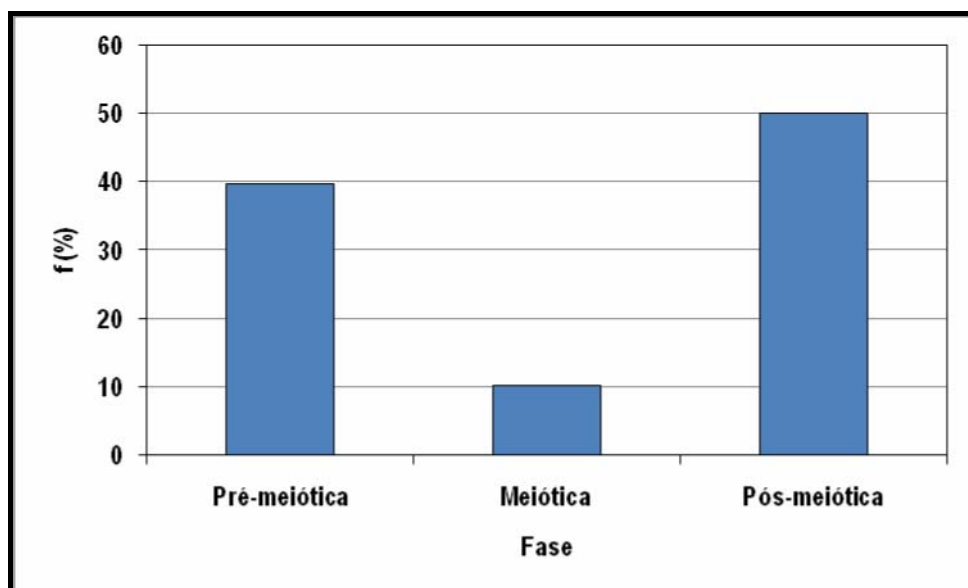
A análise da freqüência conjunta revelou que da fase pré-meiótica (39,7%) houve redução significativa ( $p < 0,001$ ) para a fase meiótica (10,1%). Da mesma forma, da fase meiótica (10,1%) houve aumento significativo ( $p < 0,001$ ) para a fase pós-meiótica (50,1%) (Gráfico 5).

**Tabela 5-** Freqüência relativa (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em caaitus segundo a faixa etária .

Idade		Estádios do ciclo do epitélio seminífero								
		1	2	3	4	5	6	7	8	
G3	(11-12)	Média	20,3	14,0	4,7	10,3	8,3	18,3	9,7	14,3
		D. Padrão	$\pm 1,5$	$\pm 2,0$	$\pm 1,5$	$\pm 2,5$	$\pm 1,5$	$\pm 1,5$	$\pm 1,5$	$\pm 4,1$
G4	(13-14)	Média	20,7	15,3	4,3	10,3	9,0	15,0	10,0	15,3
		D. Padrão	$\pm 1,5$	$\pm 2,1$	$\pm 0,6$	$\pm 0,6$	$\pm 3,0$	$\pm 2,0$	$\pm 4,4$	$\pm 3,2$
G5	(15-16)	Média	19,7	16,3	4,0	9,7	11,0	15,7	9,0	14,7
		D. Padrão	$\pm 1,2$	$\pm 4,2$	$\pm 1,0$	$\pm 1,2$	$\pm 2,6$	$\pm 3,1$	$\pm 1,0$	$\pm 0,6$



**Gráfico 4-** Frequência relativa média (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em caítitus nas diferentes idades.



**Gráfico 5-** Frequência conjunta dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em caítitus.

### 5.5. RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DE CÉLULA DE SERTOLI POR TOTAL DE CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS

Na avaliação do rendimento geral não foi observado aumento significativo ( $p > 0,05$ ) das espermátides arredondadas nos animais após a idade de 11 meses (Tabela 6).

Na avaliação do índice de célula de Sertoli houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ). Entretanto, pode-se observar que as razões celulares de Sertoli decrescem à medida que os animais atingem o grupo G5 (Tabela 6).

**Tabela 6-** Razão celulares espermatogênicas de caítilus, de 11 a 16 meses de idade (média,  $\pm$  desvio padrão).

Grupos	Idade (meses)	Razões celulares	
		Rendimento Geral SPGA:SPD Ar	Índice de célula de Sertoli CS:CE
G3	(11-12)	1: 64,54 $\pm$ 4,04	1:10,79 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>
G4	(13-14)	1: 68,69 $\pm$ 2,8	1:13,09 $\pm$ 0,49 <sup>b</sup>
G5	(15-16)	1: 67,50 $\pm$ 1,6	1:15,93 $\pm$ 0,72 <sup>c</sup>
p-valor		>0,05	<0,05*

Nota: C.S. – Células de Sertoli; C.E. – Células Espermatogênicas; SPGA-espermatogônia A; SPD Ar - espermátide arredondada.

\*ANOVA com *post-hoc* (Teste t de Student).

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1. BIOMETRIA TESTICULAR

O desenvolvimento reprodutivo dos animais pode ser determinado por alguns fatores, dentre os quais, a avaliação dos parâmetros biométricos testiculares (BRITO *et al.*, 2004). As principais características testiculares pesquisadas e abordadas na literatura são volume, peso, comprimento e largura, além da circunferência escrotal. Estas mensurações testiculares dependem de diversos fatores, como a raça (LAND e SALES, 1977; FORGATY *et al.*, 1980), a estação do ano (FORGATY *et al.*, 1980; MATOS *et al.*, 1992), a idade e o peso corporal (BONGSON *et al.*, 1982; FREITAS *et al.*, 1991; MACHADO *et al.*, 1991; SOUZA *et al.*, 2001),

Os dados da biometria testicular apresentados neste trabalho mostraram uma correlação entre o peso e o comprimento ( $r=0,97$ ) e peso e largura ( $r=0,88$ ) dos caítitus foi significativa. Resultados semelhantes foram observados em outros mamíferos como suíno (FRANÇA, 1987), bubalino (MELO, 1991; OHASHI, 1993; OHASHI *et al.*, 2007) caprino (BECKER-SILVA, 2000), cutia (FERREIRA, 2002), e queixada (SONNER *et al.*, 2004).

O peso testicular de caítitus entre 7 a 16 meses de idade apresentou crescimento progressivo, tendo correlação positiva ( $p<0,001$ ) com a idade. Teve crescimento acelerado até o grupo G3 (11 - 12 meses), aumentou lentamente até os 16 meses de idade. Esse aspecto é semelhante ao observado no desenvolvimento do peso testicular de raças suínas (MCFEE e EBLEN, 1967; SWIERSTRA, 1976; GODINHO *et al.*, 1978; FRANÇA, 1987), em cutias (FERREIRA, 2002) e ratos Wistar (MOURA, 2006).

Nos caítitus de 7 a 16 meses de idade, estudados neste trabalho, os parâmetros de comprimento e largura testicular demonstraram uma correlação positiva ( $r=0,92$ ), cuja finalização do crescimento acelerado, coincide com o estabelecimento completo da espermatogênese, marcando a fase da puberdade nos animais pertencentes ao G3 (11-12 meses). Estes dados se relacionam com resultados encontrados em animais de outras espécies de mamíferos (ATTAL e COUROT, 1963), em bovinos e ovinos (ORTAVANT *et al.*, 1977) e em cutias (FERREIRA, 2002).

## 6.2. DIÂMETRO TUBULAR

O diâmetro médio dos túbulos seminíferos do caititu teve crescimento contínuo entre 7 a 10 meses, e posteriormente um crescimento acelerado entre 11 a 12 meses, à semelhança do que foi observado com o peso testicular na fase da puberdade. A partir dos 13 meses, tal crescimento começa a se tornar lento, tendendo a uma estabilidade a partir dos 16 meses de idade.

Houve alta correlação significativa entre o crescimento testicular, diâmetro tubular e número das células espermatogênicas em relação à idade do animal. No entanto observamos que no período de 11 a 12 meses, o aumento da população celular foi elevado, e a partir dos 13 meses, esse aumento passou a ser menos acelerado.

Comparando-se esses dados com os de suíno Piau, o diâmetro médio dos túbulos seminíferos após uma evolução lenta nos primeiros 3 meses de vida, experimenta um brusco aumento entre 4 e 5 meses, demonstrando também correlação positiva com a idade (FRANÇA, 1987) e ainda com o número de células espermatogênicas (FRANÇA *et al.*, 2000). Na capivara, ao contrário do ocorrido com os caititus estudados neste, o diâmetro tubular teve em relação à idade, uma correlação negativa, sendo  $r=-0,33$ , (MOREIRA *et al.*, 1997). Em cutias, de acordo com Ferreira (2002), o diâmetro tubular em relação à idade, acompanhou o aumento da população das células espermatogênicas e aumentou conforme o crescimento testicular ( $r=0,95$ ), a exemplo do que ocorreu com os caititus. Em machos bubalinos, observou-se correlação positiva entre diâmetro tubular e o total de células espermáticas (OHASHI *et al.*, 2007).

As diferenças nos parâmetros descritos acima, entre as espécies, podem estar relacionadas com os mecanismos envolvidos no desenvolvimento das funções reprodutivas, que sofrem mudanças progressivas desde o nascimento até a maturidade sexual. Envolvem o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (GRIFFIN e WILSON, 1985).

A curva de crescimento dos diâmetros dos túbulos seminíferos de caititus entre 7 a 16 meses de idade, apresentou aspecto quadrático, diferentemente do aspecto sigmóide apresentado em suínos de outras raças (GODINHO e CARDOSO, 1979) e por suínos da raça Piau (FRANÇA, 1987). Conforme pôde ser observado nos resultados, a aceleração do ritmo de crescimento do diâmetro tubular de caititus, coincide com a instalação completa da espermatogênese de acordo com a descrição da morfologia celular, marcando a época da puberdade .

O processo de luminação dos túbulos seminíferos, nos caititus, inicia-se aos 10 meses de idade, e a partir dos 11 meses de idade os mesmos estavam completamente luminados. Diferente do que ocorre em suínos Yorkshire cujo processo de luminação foi identificado em animais com 2 meses de idade (GODINHO e CARDOSO, 1979) e em suínos da raça Piau, cuja luminação teve início aos 3 meses de idade, e aos 5 meses já apresentaram os túbulos seminíferos luminados por completo (FRANÇA, 1987).

Segundo Bressler (1978), a formação do lúmen tubular é afetada pelos níveis testiculares de testosterona; assim, ocorrendo a variação nos níveis desse hormônio entre as espécies, obtém-se diferentes idades para o início do aparecimento da luminação tubular nas mesmas.

### 6.3. QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS

As fases de desenvolvimento reprodutivo baseadas no agrupamento de animais por faixas etárias de acordo com o padrão de proliferação celular, estabelecidas neste trabalho, foram de maneira similar, determinadas por outros autores em diferentes animais, como a cutia (FERREIRA, 2002 e ASSIS-NETO *et al.*, 2003), bubalinos (OHASHI *et al.*, 2007), e javalis (MURTA *et al.*, 2008).

Neste caso, foi constatada a espermatogênese completamente estabelecida, na faixa etária dos animais a partir do grupo G3 (11 a 12 meses), pois, encontravam-se presentes espermatogônias dos tipos A, In e B; espermatócitos primários e secundários, espermátides arredondadas e alongadas, assim como espermatozóides liberados no lúmen tubular e as células de Sertoli.

Esses mesmos tipos celulares foram descritos em suínos da raça Piau, (FRANÇA, 1987), em cutias (FERREIRA, 2002 e ASSIS-NETO *et al.*, 2003), em caititus adultos (COSTA *et al.*, 2004), em queixadas (COSTA *et al.*, 2006), e em ratos Winstar (MOURA *et al.*, 2006). Ressalta-se que neste trabalho, houve a preocupação em analisar o início do estabelecimento da espermatogênese, desde animais impúberes. Ainda foram identificados gonócitos por Ferreira (2002) e Assis-Neto *et al.* (2003), em cutias jovens. Esse tipo celular não foi evidenciado em caititus jovens, provavelmente porque estas células se diferenciam em espermatogônias, antes dos 7 meses de idade, nesses animais.

Nos caítitus do grupo G3 (11-12 meses), considerando a visualização de espermatozóide no lúmen tubular, pode-se afirmar que os referidos animais se encontravam na fase da puberdade, concordando com Courrot *et al.*(1970) para a definição de puberdade do ponto de vista histológico. Em suínos, a puberdade foi observada em animais a partir de 5 meses de idade, baseando-se também nos aspectos histológicos estudados (FRANÇA, 1987).

Na fase da puberdade, G3 (11-12 meses), o valor médio das células espermatogênicas foi significativo com relação aos demais grupos anteriores. Depois dessa fase, tal valor não apresentou diferença significativa entre os grupos G4 (13-14 meses) e G5 (15-16 meses) ( $P>0,05$ ). Com base no crescimento acelerado da população das células espermatogênicas a partir do G3, pode-se sugerir que a partir dos 11 meses de idade os caítitus já se encontram aptos a iniciar sua atividade reprodutiva, apesar do diâmetro tubular e da biometria testicular ainda estarem em desenvolvimento. Nesse caso, pode-se sugerir que a quantificação histológica das células foi uma opção importante para determinar as fases de desenvolvimento reprodutivo nos caítitus, tal como ocorre com outras espécies de mamíferos, segundo Castro *et al.* (1997).

O início da atividade reprodutiva também foi determinada por França (1987) em suínos da raça Piau, que ocorreu a partir dos 4 meses; em búfalos mestiços, aos 16 meses, por Melo (1991); em machos bubalinos, ao atingiram 24 meses, por Ohashi (1997); em cutias, a partir dos 8 meses de idade, por Ferreira (2002) e Assis-Neto (2003).

Provavelmente essa fase é precedida por um aumento dos níveis circulantes de FSH (hormônio folículo-estimulante) que provocam o desenvolvimento de receptores de LH (hormônio luteinizante) nos testículos, aumentando assim a secreção de testosterona, cuja ação hormonal é indispensável para atuar na maturação das células localizadas no parênquima testicular (HUGHES e VARLEY, 1984).

Comparando-se os valores médios das células espermatogônias do tipo A de caítitus em diferentes idades, com o número obtido por suínos das raças Yorkshire e Piau estudados por França (1987; 1991) e caítitus adultos estudados por Costa *et al.*(2004) verificou-se valores aproximados; todavia, em queixadas pesquisados por Costa *et al.*(2006), os valores celulares médios foram maiores.

Os valores médios de espermátócitos I em pré-leptoteno/leptoteno e paquíteno dos caítitus deste trabalho, foram aproximados aos encontrados por suínos da raça

Yorkshire (Wattermann,1979) e menores dos suínos Piau estudados por França(1987). Quando comparados aos valores encontrados por Costa *et al.*(2004) também em caimitus, observou-se que foram similares; todavia em ratos Wistar pesquisados por Almeida *et al.*(2000) e javalis por Murta *et al.* (2008), foram maiores.

A população de espermatídes arredondadas de caimitus estudadas neste, apresentou número menor do que a encontrada em suínos (GODINHO e CARDOSO, 1979; FRANÇA,1987) e queixadas (COSTA *et al.*, 2006); já em relação às capivaras (PAULA, 1999) e aos javalis (MURTA *et al.*, 2008) foram bem maiores; e aproximados ao da população celular em ratos Wistar pesquisados por Almeida *et al.*(2000).

As células de Sertoli diminuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) da fase impúbere para puberdade continuando a decrescer em termos quantitativos nas fases de pós-puberdade 1 e pós-puberdade 2.

De acordo com Fawcett (1994), as células de Sertoli constituem, após a puberdade, cerca de 10% das células do tubo seminífero ocupando uma posição estratégica que lhes permite um contato íntimo com todos os elementos da linhagem germinativa. O fato de ocorrer a redução aparente do número das mesmas, de acordo com o avanço da faixa etária dos caimitus, reforça o que afirma o mesmo autor, de que as células de Sertoli encontram-se distribuídas ao longo dos túbulos seminíferos e que por meio das expansões de seu citoplasma exista a relação com a diferenciação das células da linhagem germinativa.

O período da puberdade em caimitus foi caracterizado por uma correlação positiva entre as células espermatogênicas e a evolução do peso testicular ( $r=1,0$ ;  $p < 0,05$ ) e entre o peso testicular e o diâmetro dos túbulos seminíferos onde estes últimos apresentam aumento significativo ( $p < 0,05$ ). Tais dados permitem afirmar que os dados biométricos testicular podem ser indicativos importantes na definição dos parâmetros reprodutivos do caimitu.

Na espermatogênese de caimitus, verificou-se maior número de células espermatogênicas na fase da puberdade, estando presentes todos os tipos celulares que compõem o epitélio seminífero. Do mesmo modo, Ferreira (2002) e Assis-Neto *et al.*(2003), estimaram a população celular do epitélio seminífero em cutias e chegaram à resultados similares. Costa *et al.*(2004), estimaram a mesma população em caimitus adultos e Murta *et al.* (2008), em javalis. Com base nessas observações, sugere-se que



ocorre a ação da testosterona no processo de estabelecimento da espermatogênese nas espécies citadas, visto que tal hormônio esteróide, secretado pelas células intersticiais de Leydig, atua em inúmeras fases da reprodução do macho, abrangendo desde a diferenciação sexual, a função dos órgãos reprodutivos e a espermatogênese até o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários.

#### 6.5. DETERMINAÇÃO DOS ESTÁDIOS DO CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO DE CAITITUS

Após a puberdade, os testículos dos caititus estudados apresentavam associações celulares típicas dos oito estádios do ciclo do epitélio seminífero. Essas associações celulares foram encontradas por França (1987) em suínos da raça Piau, em cutias estudadas por Ferreira (2002), em caititus estudados por Costa *et al.* (2004), e em queixadas (COSTA *et al.*, 2006).

A frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero de caititus teve valores similares aos demonstrados por Foot *et al.* (1972) em cães; por Costa *et al.* (2004) em caititus e por Costa *et al.* (2006) em queixadas.

Devido à grande variedade das frequências relativas dos estádios nas diferentes espécies, os parâmetros de comparações devem ser tomados com restrições. Nos caititus deste trabalho, o estágio 1 apresentou a maior frequência e o estágio 3, a menor; sendo que o mesmo ocorreu em caititus estudados por Costa *et al.* (2004). Em búfalos estudados por Amman (1962) o estágio 1 também apresentou maior frequência, enquanto que o estágio 5 apresentou a menor. Em cutias pesquisadas por Ferreira (2002), o estágio 1 e o 8 apresentaram a maior e a menor frequências, respectivamente.

A diferença entre as frequências relativas dos estádios entre as espécies é importante para auxiliar na avaliação do tempo em que ocorre o processo espermatogênico ao longo do túbulo seminífero, até a liberação do espermatozóide no lúmen. Desse modo, o parâmetro apresentado torna-se necessário para ajudar a determinar a faixa etária em que os animais estão aptos a reproduzir.

#### 6.4. RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DAS CÉLULAS DE SERTOLI

O rendimento da espermatogênese é um indicativo importante da capacidade de produção espermática e pode servir como parâmetro na determinação da idade ideal para a entrada em serviços de reprodutores. Esse rendimento, a partir da puberdade, cresce gradualmente e chega a estabilizar-se por ocasião da maturidade sexual (FRANÇA e CARDOSO, 1988; MELO, 1991).

A eficiência do processo espermatogênico pode ser estimada de uma forma precisa a partir de índices numéricos entre as espermatogônias A e outras células germinativas por secção de túbulos seminíferos. Estes índices permitem a comparação entre as diferentes espécies, aliados aos aspectos histológicos dessas células (RUSSELL *et al.*, 1990). Para CASTRO *et al.* (1997), essa eficiência se deve às razões entre os números celulares presentes. Nos caíritos foi observado que as espermátides arredondadas aumentaram em número de acordo com a evolução da faixa etária e tal população de células foi menor do que a encontrada em suínos (GODINHO e CARDOSO, 1979; FRANÇA, 1978; 1991).

Nos suínos da raça Piau estudados por FRANÇA (1987) a razão entre esses tipos celulares foi maior a partir dos 6 meses. Em javalis também foram quantificados os tipos celulares incluindo espermatogônias do tipo A e as espermátides arredondadas (MURTA *et al.* (2008), sendo que os valores dessas últimas foram maiores do que os obtidos nos caíritos aqui estudados, visto que a razão entre esses dois tipos celulares teve crescimento positivo da fase de puberdade para a pós-puberdade 1 e para a pós-puberdade 2, demonstrando aumento na eficiência durante essas fases. Em cutias (FERRREIRA, 2002) foi observado um aumento significativo entre as razões dessas células nos animais a partir de 8 meses de idade ( $p < 0,05$ ), demonstrando melhora na eficiência da espermatogênese desses animais.

Devido ocorrer apoptose nas células germinativas durante o processo espermatogênico, são produzidos de 15 a 50% de espermatozoides do total em potencial, de acordo com CASTRO *et al.*, (1997) e FRANÇA e RUSSELL (1998). Esse mecanismo natural de destruição permite que a produção de células espermatogênicas seja proporcional à capacidade de suporte das células de Sertoli dos túbulos seminíferos e para eliminação de células anormais ou com cromossomos aberrantes (SHARP, 1994).

De acordo com COUROT *et al.*(1970), o número das células de Sertoli estabiliza-se durante a fase da puberdade. Nos caíditus estudados no presente trabalho o índice das células de Sertoli demonstrou tendência à estabilização a partir dos 11 meses de idade. Foi observado que a razão do número de células de Sertoli decresce de acordo com o avanço da idade dos animais, mostrando-se significativa ( $p < 0,05$ ) em relação às células espermatogênicas, durante as fases de puberdade até a pós-puberdade 2. Esses dados permitem afirmar que houve melhora na eficiência da espermatogênese dos caíditus, visto que as células de Sertoli são de fundamental importância para a dinamização do processo espermatogênico.

## 7. CONCLUSÕES

No que diz respeito ao estudo do estabelecimento da espermatogênese de caaitus (*Tayassu tajacu*) de 7 a 16 meses, por meio das análises dos resultados conclui-se que:

1. O início da atividade reprodutiva de caaitus foi observada a partir de 11 meses de idade;
2. A quantificação das células espermatogênicas e as análises histológicas das mesmas, demonstraram ser métodos eficientes para determinar a puberdade;
3. Os dados da biometria foram imprescindíveis para auxiliar no estudo do desenvolvimento reprodutivo da espécie;
4. Verificou-se que a frequência dos estádios do ciclo do epitélio seminífero é composta por oito tipos de associações celulares, tendo o maior índice de frequência, o estágio 1 e o menor, o estágio 3.
5. O rendimento geral da espermatogênese e o índice das células de Sertoli observados neste trabalho, expressos em razões celulares, demonstraram ser parâmetros importantes para determinar a eficiência de espermatogênese.
6. Os dados apresentados permitiram o estabelecimento da espermatogênese, o que determinou a puberdade, contribuindo desse modo para o estudo da fisiologia reprodutiva da espécie a fim de que seja possível melhorar o manejo produtivo dos caaitus em cativeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear population from microtome sections. **Anatomical Records**. v. 49. n. 1, p.238-248, 1946.

ALBUQUERQUE, N. I.; DUAS, H.L.T.; LE PENDU, Y.; GUIMARÃES, D. A.; SILVA, J. V. Manejo reprodutivo e produtivo do caititu (*Tayassu Tajacu*) em cativeiro. **Revista Ciência Agrária**. Belém, n. 43, jun. / jul. 2005. Suplemento.

ALBUQUERQUE, N. I.; MOREIRA, J.A.; SILVA, J. V.; MEIRELLES, C.F.; PACKER, U. I.; GUIMARÃES, D. A. . Emprego do babaçu (*Orbignya phalerata*) como fonte energética para catetos (*Tayassu tajacu*). In: VII Congresso Internacional sobre manejo de fauna silvestre na Amazônia e América Latina, 2006, Ilhéus-BA. VII Congresso Internacional sobre manejo de fauna silvestre na Amazônia e América Latina, 2006.

ALENCAR, A.; NEPSTAD, D.; MCGRANYH, D.; MOUTINHO, P.; PACHECO, P.; DIAS, M. C. V.; FILHO, B.S. **Desmatamento na Amazônia: indo além da “Emergência Crônica”**. Belém: Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia, p. 2004.

ALMEIDA, L.M.; WEISS, R.R.; CASTRO, C.S.; BÜCHELE, J. Quantificação histológica da espermatogênese de ratos Wistar tratados com dimetil sulfóxido. **Archives of Veterinary Science**. v.5, p.129-135, 2000.

AMANN, R. P. Reproductive capacity of dairy bulls. IV. Spermatogenesis and testicular germ cell degeneration. **Animal Journal Anatomy**. v. 110, n. 1, p. 69-78, 1962.

AMANN, R. P. e SCHANBACHER, B. D. Physiology of male reproduction. **Journal Animal Science**. v. 57, p. 380-403, 1983.

ASSIS-NETO, A. C.; MELO, M. I.V.; CARVALHO, M. A. M.; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F. Quantificação de células dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. **Brazilian Journal Veterinari Animal Science**. v.40, sup. 3, São Paulo, 2003.

AYRES M, AYRES JR, AYRES DL, SANTOS AAS. Bioestat Versão 5.0. Sociedade Civil Mamirauá, MCT – CNPq. Belém, Pará, Brasil, 2008.

ATTAL, J. e COUROT, M. Developpement testiculaire et établissement de la spermatogênese chez le taureau. **Annals Biological Animal Biochimics**. v.3, p.219-241, 1963.

BAIA JÚNIOR, P. C. **Uso da fauna silvestre por populações rurais e urbanas de Abaetetuba, PA: a pecuária silvestre como alternativa de sustentabilidade**. 2006. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro Agropecuário, Universidade Federal do Pará, 2006.

- BANKS, W.J. **Histologia veterinária aplicada**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1992. 629 p.
- BARBELLA, S.L. Determinación del ciclo estral en el báquiro de collar (*Tayassu tajacu*). **Revista da Facultad de Agronomia** (Maracay). v.19, n. 2, p. 167 - 174, 1993.
- BECKER-SILVA, S.C. **Caracterização histológica e seminal do desenvolvimento sexual de caprinos Saanen, criados em sistema intensivo**. 177p. Belo Horizonte: Universidade federal de Minas Gerais, Dissertação de Mestrado, 2000.
- BERNDTSON, W.E. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **Journal of Animal Science**. v.44, n.5, p.818-833, 1977.
- BODMER, R.; AQUINO, R.; PUERTAS, P.; REYES, C.; FANG, T.; GOTTDENKER, N. Biología reproductiva de los pecaríes em el noreste del Perú. In: **Manejo y uso sustentable de pecaríes em la Amazonía Peruana**. Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN Ocasional paper nº 18 de la Comisión de Supervivencia de Especies. 1997.
- BODMER, R., LOZANO, E.P., FANG, T.G. Economic analyses of wildlife uses in the Peruvian Amazon. In: Silvins, K.M., Bodmer, R. E Fragoso, J.M.V. (Eds.) **People and Nature: Wildlife Conservation in South and Central America**. Columbia University Press, pp. 191- 207. 2004.
- BONAUDO, T.; LE PENDU, Y.; FAURE, J. F.; QUANZ, D. The effects of deforestation on wildlife along the transamazon highway. **European Journal Wild Resident** .v. 51,p.199-206, 2005.
- BONGSO, T. A.; JAINUDEEN, M. R.; SITIZHRAN, A. S. Relationship of scrotal circumference to age, body weight and onset of spermatogenesis in goats. **Theriogenology**. v.18, n. 5, p. 513-524, 1982.
- BRESSLER, R. S. Hormonal control of post-natal maturation of the seminiferous cord. **Annals biologic Biophysics**. v. 8, n. 2, p. 535-540, 1978.
- BRITO L.F.; SILVA A.E.; UNANIAN M.M.; DODE M.A.; BARBOSA R.T.; KASTELIC J.P. Sexual development in early- and latematuring *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. **Theriogenology**. v.62, p.1198-217, 2004.
- CARDOSO, F. M. e GODINHO, H. P. Cycle of the seminiferous epithelium and its duration in the Zebu, *Bos indicus*. **Animal Reproduction Science**. v. 5, p. 231-245, 1983.
- CASTRO, A.C.S.; BERNDTSON, W.E.; CARDOSO, F.M. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em estudo da reprodução de mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 21, n.1, p.25-34, 1997.
- CARVALHAL, R.; CAGNOTO, D.G.; DANIEL, R.J. Aspectos morfológicos dos testículos e funículos espermáticos em caíditus. **Brazilian Journal Morphological Science**. v.17, p.178. Suppl., 2000.

COSTA, D.S.; HENRY, M.; PAULA, T.A.R. Espermatogênese em catetos (*Tayassu tajacu*). **Arquivo Brasileiro Medicina e Zootecnia**. v.56, n. 1, p.46-51, 2004.

COSTA D. S.; MENEZES C.M.C.; PAULA T. A.R. Spermatogenesis in white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*). **Animal Reproduction Science**. 2006.

COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M. T.; ORTAVANT, R. Spermatogenesis. In: JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; VANDEMARK, N. L. (Ed.). **The testis**. New York: Academic Press, v. 1, cap. 6, p. 339-432, 1970.

CLERMONT, Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals, seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. **Physiologia Revista**. v. 52, n. 1, p. 198-236, 1963.

CLERMONT, Y. e HARVEY, S.C. Effects of hormones on spermatogenesis in the rat. **Endocrinology**. v.16, p.173-196, 1967.

CUPPS, P.T. **Reproduction Dom Animals**. Fourth edition. Cap. 6, p. 221-249. 1993.

CURTIS, S. K. e AMANN, R. P. Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein Bull. **Journal of Animal Science**. v. 53, p. 1645 – 1657, 1981.

Da SILVA, J. V.; CARDOSO, D.; GUIMARÃES, D. A.; ALBUQUERQUE, N., LE PENDU, Y.; OHASHI, O. Biologia reprodutiva de fêmeas de caititu (*Tayassu tajacu*) criadas em cativeiro na Amazônia. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Suppl. 5, p. 180 - 182, 2002.

FOOTE, R.H.; SWIERSTRA, E.E.; HUNT, W.L. Spermatogenesis in the dog. **Anatomy Rec**, n.173, 341–352, 1972.

FRANÇA, L.R. **Desenvolvimento testicular de suínos da raça Piau, do nascimento aos 12 meses de idade**. Belo Horizonte. UFMG .Dissertação de mestrado, 79p., 1987.

FRANÇA, L. R. e CARDOSO, F. M. Desenvolvimento testicular de suíno. IV. População celular dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 40, n. 5, p. 339–353, 1988.

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

FRANÇA, L. R. e RUSSELL, L. D. The testis of domestic animals. In: Regadera, J.; Martinez-Garcia (ed.). **Male reproduction: amultidisciplinary overview**. Churchill Livingstone: Madrid, p. 197-219, 1998.

FRANÇA, L.R.; BECKER-SILVA, S.C.; CHIARINI-GARCIA, H. The length of the seminiferous epithelium cycle in goats (*Capra hircus*). **Tissue and Cell**. v. 31, n.89, p.274-280, 1999.

FRANÇA, L.R.; SILVA, J.R.; V.A.; CHIARINI-GARCIA, H.; GARCIA, S.K.; DEBELJU K. Cell proliferation and hormonal changes during postnatal development of the testis in the pig. **Biology of Reproduction**. v. 63, p. 1629-1636, 2000.

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**, Champaign, v. 9, n. 5. 500-532, dec., 1973.

FAWCETT, D. W. In: **A Textbook of Histology**. 12th Ed. Chaoman e Hall, New York, 770-772, 1994.

FERREIRA, A.C. S. **Determinação de puberdade em cutias (Rodentia: Dasyproctidae) criadas em cativeiro, através da quantificação das células espermatozoides**. 78 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2002.

FREITAS, V. J. F, LIMA, F. R. G.; PAIVA, H. M. Biometria Testicular de caprinos e ovinos criados no Estado do Ceará. **Ciência Animal**. Fortaleza, v.1, n.1, p. 51-63, 1991.

FORGATY, N.M.; LUNSTRA, D.D.; YOUNG, L.D. Breed effects and heritability of testis measurements in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 51, (Suppl. 1), p. 117, 1980.

GARTNER, L.P. e HIATT, J.L. **Tratado de Histologia em Cores**. 2ª ed. Guanabara Koogan, RJ, 2003.

GODINHO, H. P. e CARDOSO, F. M. Desenvolvimento sexual de porcos Yorkshire.II. Estabelecimento e evolução da espermatogênese. **Arquivo Escola Veterinária**. UFMG, v. 31, p. 351-361, 1979.

GRIFFIN, J.E. e WILSON, J. D. Disorders of testes and male reproductive tract. In: Wilson, J. D. e Foster, D.W., **Textbook of Endocrinologia**, 7 th. Ed. Saunders Company, Philadelphia. p.259-311, 1985.

GUIMARÃES, D. A.; SILVA, J. V.; MAYOR, P.; LE PENDU, Y. ; ALBUQUERQUE, N. I.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G. Reproductive biology of female collared peccaries (*Tayassu tajacu*) raised in captivity in Amazon region. In: VI International wildlife ranching symposium, 2004, Paris. La faune sauvage: une resource naturelle. VI Symposium sur l'utilisation de la faune sauvage, p. 136-137. 2004.

HAFEZ, E.S.E. Anatomy of male reproduction. In: **Reproduction Farm Animal**. 6th edition. E.S.E. HAFES (ed). Lea and Febiger, Philadelphia. p. 3-19. 1995.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. Ed. Manole, 7ª ed. SP, 2004.

HELLGREN, E.C.; LOCHMILLER, R.; AMOSS, M.S.J.R.; SEAGER, S.W.; MAGYAR, S. J. Seasonal variation in serum testosterone testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 85, p.677-686, 1989.



HOCHREAU-DE-REVIERS, M.T.; MONET-KUNTZ, C.; COUROT, M. Spermatogenesis and Sertoli cell numbers and function in rams and bulls. **Journal of Reproduction and Fertility**. v.34, p. 101, 1987.

HORN, M.M.;MORAES, J.C.F.;EDEWEISS, M.I.A.Quantificação dos estádios do ciclo espermato gênico em touros de raças sintéticas com e sem alteração na qualidade seminal.Ciência Rural, Santa Maria. v. 33.n. 6, p.1111-1115, nov-dez, 2003.

HOSKEN, F.M. Acessoria e Projetos para criação de animais silvestres.**Zooway**. Website: <http://www.zooway.com.br/concei.htm>.2001.

HUGHES, P.E. e VARLEY, M.A. **Reproduccion del cerdo**. Editorial ACRIBIA - ZARAGOZA (España). cap. 14, p. 222-235, 1984.

JOHNSON, A.D.; GOMES, W.R.; VANDEMARK, N.L. **The testis**. Biochemistry. Academic Press, Inc. v. 2. 1970.

JOHNSON, L. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**. v.60-61, p.471-480, 2000.

JUNQUEIRA, L.C. ; CARNEIRO, J.**Histologia Básica Texto e Atlas**. Guanabara Koogan, 10ª edição, RJ, 2004.

LAND, R.B.; SALES, D.I. Mating behavior and testis growth of finish Landrace, Tasmanian Merino and crossbreed rams. **Animal Production**. v. 24, p. 83-90, 1977.

LARS, E.E. Fundamentals of veterinary reproductive endocrinology. **Seminario de actualizacion en endocrinologia de la reproduccion**. Facultad de Agronomia, Montevideo, Uruguay. p. 1-118. 1995.

LEVIS, D.G. Production Management: Managing post-pubertal boars for optimum fertility. **Swine Medicine**. p. 17-23, 1997.

MACHADO, R.; SIMPLÍCIO A.A.; ANDRIOLI, A. **Características do sêmen de bodes criados em região semi-árida**. Sobral: EMBRAPA-CNPC, 1991.

MARTINS, M. R. F. B. **Estudo morfológico do desenvolvimento pós-natal do testículo do hamster champanha (*Mesocricetus auratus*) observações de microscopia óptica**. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociência, Universidade Estadual paulista, Botucatu, São Paulo, 1988.

MARTINS, J.A.M. **Avaliação da biometria testicular, epididimal e das glândulas sexuais acessórias e correlações entre carneiros deslanados sem padrão racial definido**. Dissertação de Mestrado.Universidade Federal do Ceará, 2006.

MAYOR, P.; LE PENDU, Y.; GUIMARÃES, D.A.; DA SILVA, V.; TAVARES, H.L.; TELLO, M.; PEREIRA, W.; LÓPEZ-BEJAR M.; JOCI, F. **A heath evolution in a colony of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the castech Amazon**. Rescarch in Veterinary Science (in press) 2006.

MAUGET, R.; FEER, F.; HENRY, O.; DUBOST, G.; Hormonal and behavioural monitoring of ovarian cycles in peccaries. In: Proceedings of the First International Symposium on Physiology and Ethology of Wild and Zoo Animals, Supplement 248 II, Berlin, Germany, p. 145-149, 1997.

MCCOOL, C.J. e ENTWISTLE, K.W. The development of puberty and sexual maturity in the Australian swamp buffalo bull. **Theriogenology**. v.32, n. 2, p. 171-184, 1989.

MELO, M. I. V. **Desenvolvimento testicular e dinâmica da espermatogênese de búfalos mestiços de 10 a 24 meses de idade**. 66 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 1991.

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

MOURA, C.S.; GUERRA M.M.P.; SILVA V.A.; SILVA C.G.C.; CAJU F.M.; L.C. ALVES. Avaliação histomorfométrica do parênquima testicular de ratos adultos Wistar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 58, n. 5, Belo Horizonte, Out., 2006.

MURTA, D.V.F.; COSTA, D.S.; RODRIGUES, W.B. Rendimento intrínseco da espermatogênese durante o período púbere e pós-púbere em javalis (*sus scrofa scrofa*). XXIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2008.

NOGUEIRA-FILHO, S. L.G. e NOGUEIRA, S. S. C Captive breeding programs as an alternative for wildlife conservation in Brazil. In: SILVINS, K. M., BODMER, R. e FRAGOSO, J.M.V.(Eds.) **People and nature: wildlife conservation in South and Central America**. Columbia University Press, cap. 11, p. 171-190, 2004.

NOWAK, D. M.; PARADISO, J.L. **Walkeris Mammals of the World**. 2 ed. Baltimore: The Hopkins University Press, p. 1184-1185, 1983.

NITTA, H. e COOKE, P.S. Crescimento e desenvolvimento do testículo. In: **Fertilidade e infertilidade humana**. Badalotti.; Teloquen, C.Petracco, A.(Eds). Cap. 7, pg. 61-73, ed. Medsi, 1997.

OHASHI, M. O. **Estudo Morfofisiológico do Testículo de Búfalos Mestiços (*B. bubalis*) em diferentes idades**. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 1993.

OHASHI, O. M.; MIRANDA, M. S.; CORDEIRO, M. S.; SANTOS, S. S. D. Desenvolvimento reprodutivo do macho bubalino: circunferência escrotal, atividade espermática e endocrinologia. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.31, n.3, p.299-306, jul./set. 2007.

OJASTI, J. Manejo de fauna silvestre neotropical. Wildlife conservation - Latin America. Forest animals - Latin America. **Smithsonian Institution/MAB Program** (Washington, D.C) 290 p, 2000.

ONUMA, H. e NISHIKAWA, Y. Some observations on the development of the goat the mouse testis, particularly in comparison with that of the horse. **Animal Breed Abstracts**. v. 23, n. 4, p. 397, 1955.

ORSI, A. M.; DIAS, S. M.; NOREIRA, J. E.; CAMILLI, J. A. Algumas considerações sobre as etapas de diferenciação testicular pós-natal (pré-púbere e puberais) no porco doméstico em diferentes idades. **Ciência e Cultura**. v. 37, n.1, p. 852, 1985.

ORTAVANT, R. Déroulement et durée du cycle spermatogénétique chez le belier. Première partie. Définition et étude histologique du cycle spermatogénétique. **Annals Zootechnia**. v.8, p.183-224, 1959.

ORTAVANT, R.; COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M. T. Spermatogenesis in domestic mammals. In: Coole, H. H.; Cupps, P.T. (eds). **Reproduction in domestic animals**. Academic Press. New York. p. 203-227, 1977.

OKUN, E.O.; IGBOELI, G.; LUNSTRA, D.D.; FORD, J.J.; JOHNSON, L. Testicular composition, number of A spermatogonia, germ cell ratios, and number of spermatids in three different breeds of boards. **Journal of Andrology**. v. 17, n.3, p. 301-308, 1996.

PARVINEN, M. et al. In vitro stimulation of stage-specific deoxyribonucleic acid synthesis in rat seminiferous tubule by interleukin-1 $\alpha$ . **Endocrinology**. v. 129, p. 1614-1620, 1991.

PASHOV, B. e MATAMOROS, Y. Descripción histológica del epitélio seminífero del testículo tepezcuinte (*Cuniculus paca*, BRISSON, 1762) e identificación de sus diferentes etapas. **Ciências veterinárias**. Heredia, v.1, n.1, p. 9-15, 1984.

PAULA, T. A.R. **Avaliação histológica e funcional do testículo de capivaras adultas** (*Hydrochoerus hydrochoeris*) 84f. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

ROMÁN. M.T. “Pecari” o “Puerco Sahino”. Distribucion geografica em America y diferentes nombres segun cada pais. Bernal H.Y e Martinez. M. F. **SECAB, Ciencia y Tecnologia**. n.61. p. 37, Diciembre, 1996.

QUEIROZ, G.C.; CARDOSO, F.M. Avaliação histológica do rendimento da espermatogênese de carneiros deslanados adultos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.13, n.2, p. 99-108, 1989.

ROSS, H.M., ROWRELL, L.J. **Histologia texto e atlas**. 2ª ed. Ed.Médica Panamericana, 1993.

ROOSEN-RUNGE, E. C. e GIESEL-JR, O. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. **The American of Anatomy**. v. 87, n.1, p. 1-30, 1950.

ROOSEN-RUNGE, E. C. Untersuchungen über die degeneration samenbildender zellen in der normalen spermatogenese der ratte. **Z. Zellforsch.** v. 41, p. 221-235, 1955.

RUSSELL, L. D. **Histological and histopathological evaluation of the testis.** Cache River Press, Clearwater, Florida, 1990.

SANTOS, R.L. Morte celular por apoptose no testículo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.** v.23, n.4, p. 486-499, 1999.

SANTOS, J.C.C.; MAURO, R.A.; AGUIAR, L.M.S. Cateto - *Tayassu tajacu*. Fauna e Flora do Cerrado, Campo Grande, Julho 2004. Disponível em: < <http://www.cnpqc.embrapa.br/cateto.html> >.

SETCHELL, B.P.; MADDOCKS, S.; BROOKS, D.E. Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. In: **The Physiology of Reproduction.** v. 1. Knobil, E. and Neill, J.D. (eds). Raven Press, New York. p. 1063-1176, 1993.

SHARMA, A.K. e GUPTA, R.C. Duration of seminiferous epithelial cycle in buffalo bulls (*Bubalus bubalis*). **Animal Reproduction Science.** v. 3: 271-224, 1980.

SHARPE, R. M. Regulation of spermatogenesis. In. Knobil, E.; Neil, J. D. (Eds.). **The physiology of reproduction.** 2. ed. New York, p. 1363-1434, 1994.

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

SONNER, J.B.; SANTOS, T.C.; MIGLINO, M.A. **Morfologia dos testículos em queixadas (*Tayassu tajacu* Link 1795).** Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 26, n. 2, 2002.

SONNER, J.B.; MIGLINO, M.A.; SANTOS, T. C.; CARVALHAL, R.; NERO, A. C.; MOURA, C.E.B.; OLIVEIRA, M. F. **Aspectos macroscópicos e morfométricos dos testículos em catitus e queixadas.** Biota Neotropica. v.4, n 2, p 1- 13, 2004.

SOWLS, L.K. **Juveniles and other Peccaries:** Their Biology, Managment and Lese. Texas A and M. University Press. College Station, 1997.

SOUZA, C.E.A.; MOURA, A.A.; LIMA, A.C.B. Circunferência escrotal e características seminais em carneiros Santa Inês. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.** v. 25, p. 196-199, 2001.

SWIERSTRA, E.E., GEBAUER, M.R., PICKETTI, B.W.,. Reproductive physiology of the stallion. I. spermatogenesis and testis composition. **Journal Reproduction Fertilidad.** v.40, p.113-123, 1974.

SWIERSTRA, E. E. **Citology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit throught the epididymis.** Anat. Rec. 161: 171-186, 1968.

SPRANDO, R. L. e RUSSELL, L. D. Comparative study of cytoplasmic elimination in spermatids of selected mammalian species. **Animal Journal Anatomy**. v. 178, p. 72-80, 1987.

TSE, M. C. P. **Morfologia do desenvolvimento pós-natal do testículo e epidídimo da cobaia (*Cavia porcellus*, L.)**. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociência, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 1991.

WROBEL, K. H.; SCHILLING, E.; ZWACK, M. Postnatal development of the connexion between tubulus seminiferous and tubulus rectus in the bovine testis. **Cell and Tissue Research**. v. 246, p. 387 – 400, 1986.

WROBEL, K.H.; REICHHOLD, J.; SCHIMMEL, M. Quantitative morphology of the ovine seminiferous epithelium. **Annals of Anatomy**. v. 177, p. 19-32, 1995.

VENTURIERI, B. e LE PENDU. Padrões de atividades de caimitus (*Tayassu tajacu*) em cativeiro. **Revista de Etologia**. 2006. III Congresso Norte e Nordeste de Reprodução animal (CONERA), Belém-PA, Brasil, 2006.

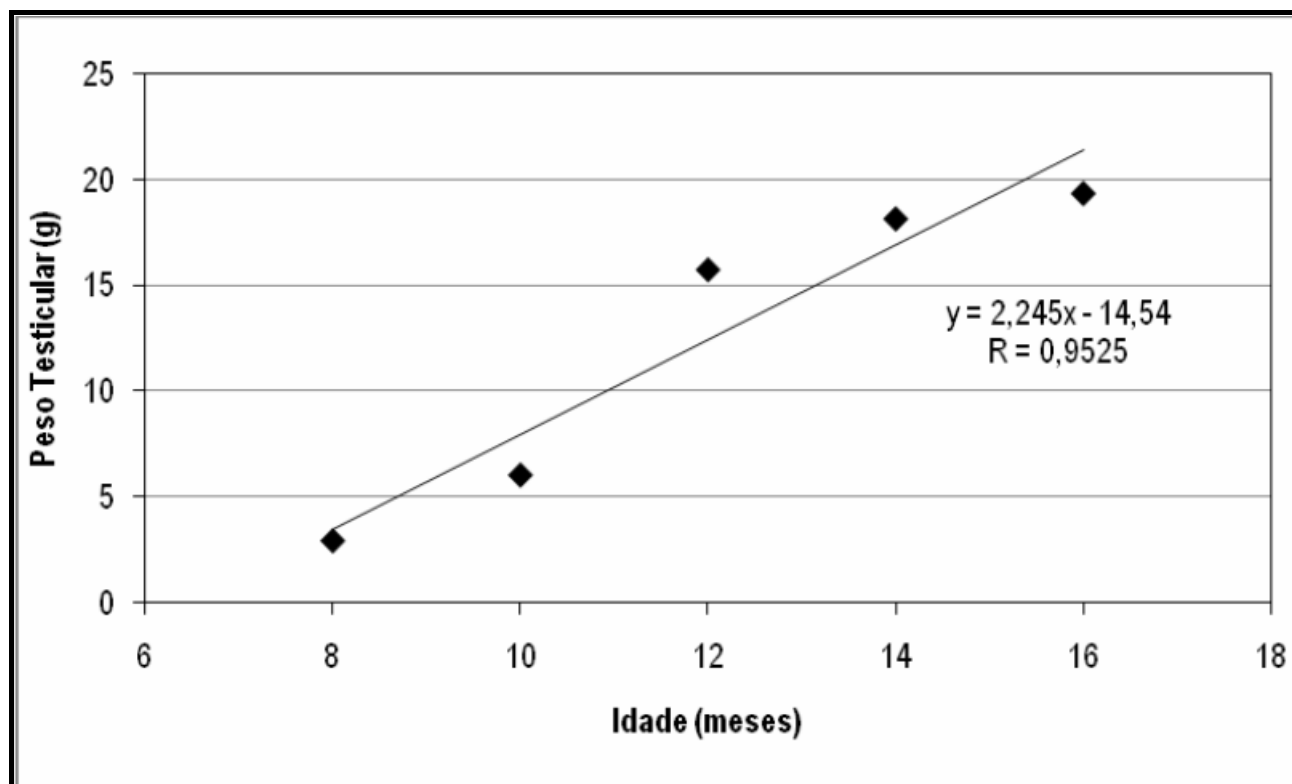
VEERAMACHANENI, D.N.R. Reproductive physiology. **Review**. p: 18-19, 1986.

VILAR O. Histology of the human testis from neonatal period to adolescence. **Adv Exp Medicina Biological**. n.10, p. 95-111, 1970.

ZENGWEI, Y.; McLACHLAN, R. I.; BREMNER W. J.; WREFORD N. G. Quantitative (Stereological) study of normal spermatogenesis in the adult monkey (*Macaca fascicularis*). **Journal of Andrology**. v. 18, n. 6, nov/dec., 1997.

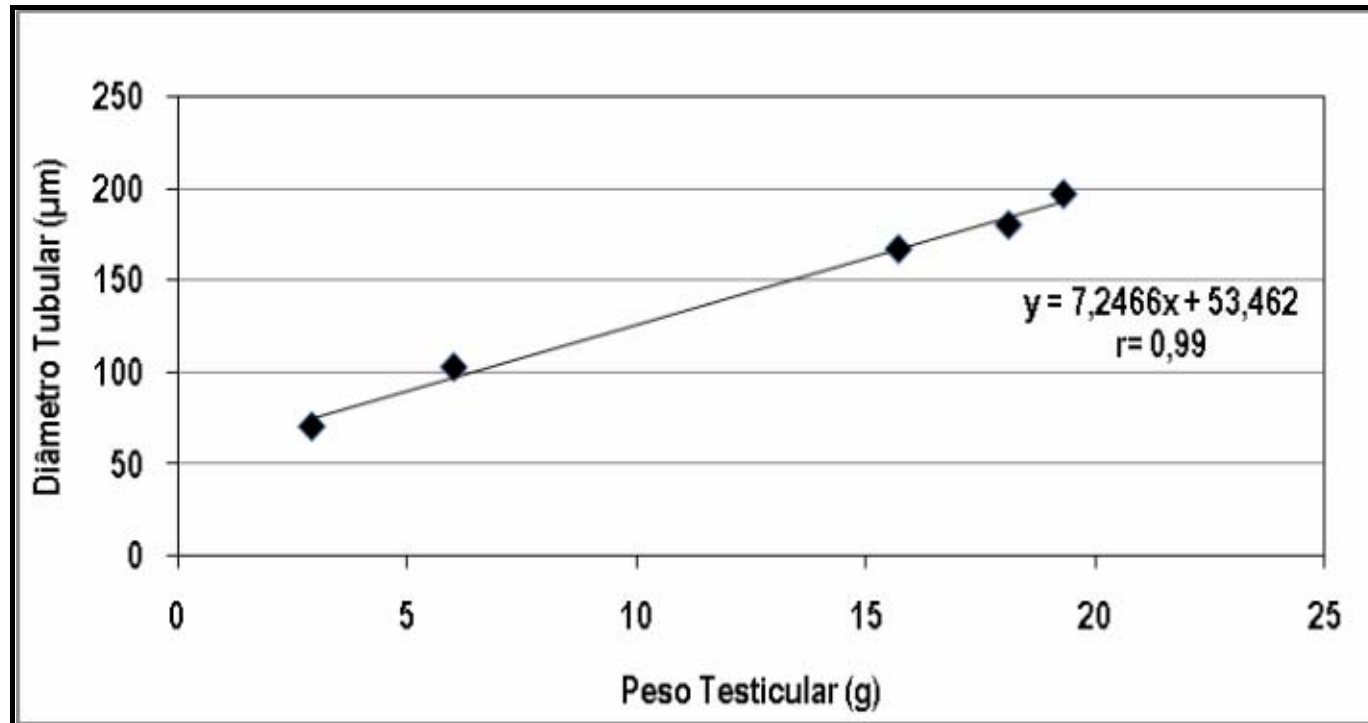
**ANEXOS**

## Anexo 1



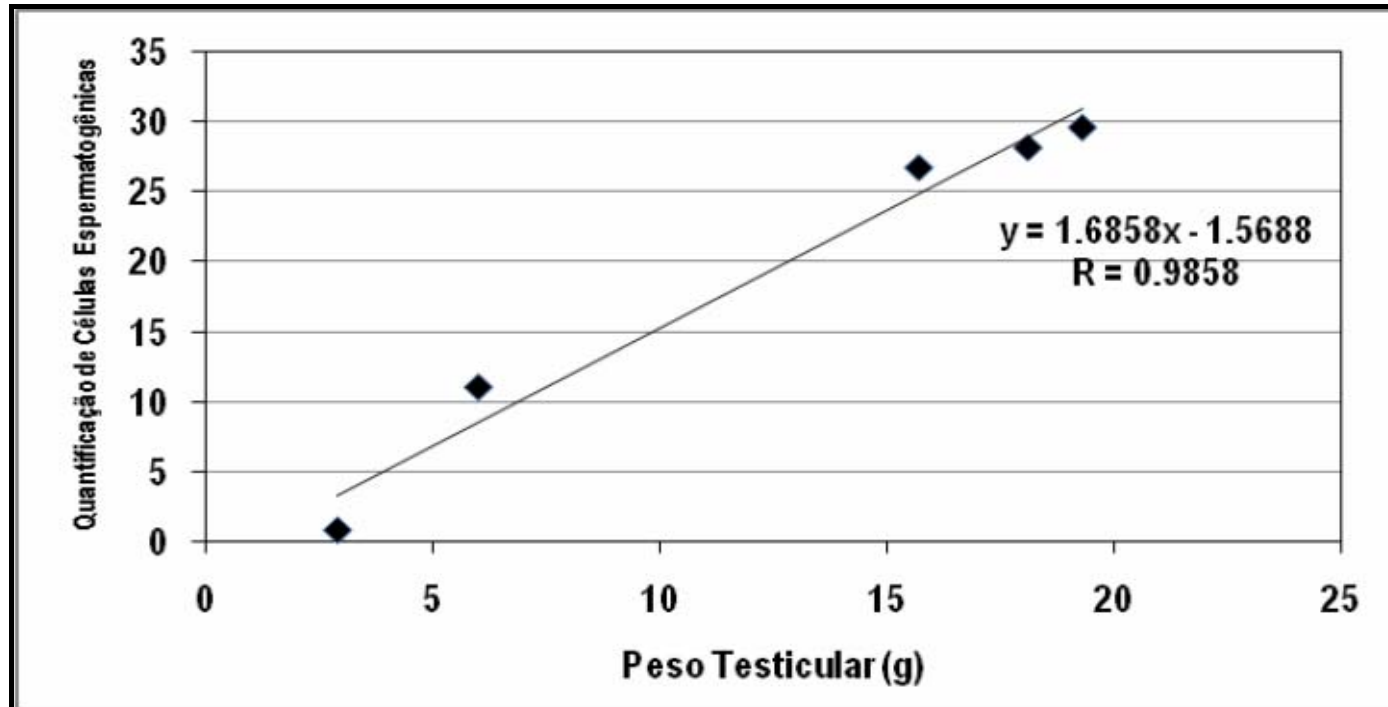
Evolução do peso testicular (g) em relação à idade dos animais

## Anexo 2

Evolução do diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ) e peso testicular (g)



## Anexo 3



Evolução das células espermatozógenas e do peso testicular (g)