Paulo Ramos da Silva Santos

Estudo ultraestrutural do desenvolvimento
da espermatogenese e da via espermática de preás
(*Galea spixii*; Wagler, 1831) criados em cativeiro

São Paulo
2012

PAULO RAMOS DA SILVA SANTOS

**Estudo ultraestrutural do desenvolvimento da
espermatogênese e da via espermática de preás (*Galea
spixii*; Wagler, 1831) criados em cativeiro**

São Paulo
2012

PAULO RAMOS DA SILVA SANTOS

**Estudo ultraestrutural do desenvolvimento da
espermatogênese e da via espermática de preás (*Galea
spixii*; Wagler, 1831) criados em cativeiro**

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

Departamento:
Cirurgia

Área de Concentração:
Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres

Orientador:
Prof. Dr. Antônio Chaves de Assis Neto

São Paulo
2012

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

BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP

22/6/12

AP

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2599
FMVZ

Santos, Paulo Ramos da Silva

Estudo ultraestrutural do desenvolvimento da espermatogênese e da via
espermática de preás (*Galea spixii*, Wagler, 1831) criados em cativeiro / Paulo
Ramos da Silva Santos. -- 2012.

149 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.
Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Chaves de Assis Neto.

1. Animais silvestres. 2. Órgãos genitais masculinos. 3. Testículos. 4. Macho
I. Título.

ERRATA

SANTOS, P. R. S. Estudo ultraestrutural do desenvolvimento da espermatogênese e da via espermática de preás (*Galea, spixii*, Wagler, 1831) criados em cativeiro. 2012. 144 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Página	Parágrafo	Onde se lê	Leia-se
Ficha catalográfica	5º	149 f.	144 f.
Resumo	4º	149 f.	144 f.
Abstract	4º	149 f.	144 f.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo ultraestrutural do desenvolvimento da espermatogênese e da via espermática em preá (*Galea spixii*; Wagler, 1831) criados em cativeiros", protocolado sob o nº 2486/2011, utilizando 20 (vinte) preás, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Antonio Chaves de Assis Neto, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 11/4/2012.

We certify that the Research "Ultrastructural study of the development of spermatogenesis and sperm airway in preá (*Galea spixii*; Wagler, 1831)", protocol number 2486/2011, utilizing 20 (twenty) preás, under the responsibility Prof. Dr. Antonio Chaves de Assis Neto, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 4/11/2012.

São Paulo, 12 de abril de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SANTOS, Paulo Ramos da Silva

Título: Estudo ultraestrutural do desenvolvimento da espermatogênese e da via espermática de preás (*Galea spixii*; Wagler, 1831) criados em cativeiro.

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

Data: __/__/__

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Fonte: Hugo Coelho, 2009.

Preá

Galea spixii

“Baleia queria dormir.
Acordaria feliz, num mundo de preás.”

Graciliano Ramos

Dedicatória

Aos meus amados pais, **Paulo dos Santos** e **Maria Cecília Ramos da Silva Santos**, pelo amor, carinho, dedicação, os “suquinhos de laranja” de todas as manhãs, além do apoio que sempre tive, por nunca medirem esforços para proporcionar a mim uma ótima formação acadêmica, e deixar um grande ensinamento “Persistir até obter êxito”.

Aos meus grandes irmãos, **Gustavo dos Santos Netto** (Gu) e **Guilherme Ramos da Silva Santos** (Gui), por todos os bons momentos que tivemos e pelos infinitos “helps” durante minha vida.

Às minhas queridas avós, **Aurora** e **Conceição** (*in memorian*), pelo carinho eterno e dedicação que sempre tive.

Às Marias da minha vida, **Mãe**, **Maria Clara**, **Maria Cristina** (Tia Madrinha), por sempre estarem presentes na minha vida, e **Maria Carolina**, pela grande alegria que nos proporciona.

Ao meu orientador, **Antônio Chaves de Assis Neto**, pela oportunidade oferecida de continuarmos trabalhando juntos na pesquisa, por acreditar no meu potencial, pela amizade, paciência, por todos os ensinamentos e pela parceria desde a graduação.

AGRADECIMENTOS

Aos **Assisetes**, Maria Angélica (MA, a segunda), Delys (Natal, Chris), Bruno (Berta), Patty, Maria Vitória (Cô), Daniela (Bragança), Amilton (Capitão), Camila (Juta), por fazerem uma vida melhor na pós-graduação, pelos grandes momentos de festa sem deixarmos de cumprir com as obrigações, por compartilharem momentos de muitas alegrias e tensões.

Aos meus amigos de **Graduação da Unesp Dracena**, Carmen, Ludmila, MA, Miojo, Isa, Fruchi, Slot, Kralho, Fer, Dé, Fran, Marisa, Kelly, Trops, Puff, mesmo cada um seguindo o seu caminho, encontramos um tempinho para nossa amizade.

Aos meus amigos do **Colegial**, Cássia, Carol, Paulo e Barbara, mesmo eu indo para o extremo do Estado, nossa amizade permanece a mesma.

Aos amigos de **Pós-graduação da Anatomia**, Thais (Cô), Rodrigo, Elaine (rumo ao BFF), Rafa Carvalho, Marina Brolio, Marcão, André Franciulli, Greyson, Phelipe, Marcio, Naira, Bruno (Mineiro), Aline (Chapolete), Silvia, Amanda, Diego Muniz, Diego Carvalho, Caio, Matheus Tarja, Luana Stunitz, Di Kelly, Sarmento, Aninha, pela amizade e convivência.

A **Prof. Dr. Maria Angelica Miglino**, pela oportunidade do ingresso e desenvolver a pesquisa no programa de pós-graduação.

Ao **Prof. Moacir Franco de Oliveira**, pela grande colaboração no projeto, pela amizade, e por ter me recebido em sua casa, de braços abertos durante o período de coleta de material.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Alan Peres Ferraz de Melo, Carlos Eduardo Ambrósio,

Francisco Javier Henandez-Blazquez, José Roberto Kfour Jr; Maria Angelica Miglino; Paula de Carvalho Papa e Pedro Primo Bombonato, pelos ensinamentos.

A **Prof. Dr. Isaura Maria Mesquita Prado** e **Prof. Dr. Andrea Maria Mess**, pelo apoio, ensinamentos e colaborações neste projeto.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia da FMVZ/USP-São Paulo Edinaldo Ribas Farias, Jaqueline Martins de Santana, Maicon Barbosa da Silva, Ronaldo Agostinho da Silva e Rose Ely Grassi Rici pelo apoio e colaboração neste projeto.

A Coordenação do **CEMAS** - Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN por ter cedido os animais para esta pesquisa e pela parceria desde minha iniciação científica.

A **FAPESP** – Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo financiamento do projeto por intermédio de bolsas (projetos FAPESP nº 2008/57190-8 e 2010/14516-0) e Auxílio Reunião Exterior (projeto nº 2011/51238-1) que possibilitou a divulgação dos resultados desta pesquisa em eventos internacionais renomados na área de Medicina Veterinária.

“No tempo de semear, aprenda; no tempo de
colher, ensine; no entretanto, desfrute.”

William Blake

RESUMO

SANTOS, P. R. S. **Estudo ultraestrutural do desenvolvimento da espermatogenese e da via espermática de preás (*Galea spixii*; Wagler, 1831) criados em cativeiro.** [Ultrastructural study of the development of spermatogenesis and sperm airway in preá (*Galea spixii*; Wagler, 1831)]. 2012. 149 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

A potencialidade da produção de inúmeras espécies silvestres vem sendo pesquisada em todo mundo, demonstrando que estas podem se transformar em fontes renováveis de produtos de grande rentabilidade. Alguns espécimes vêm sendo explorados indiscriminadamente como fonte de proteína de origem animal, como o preá (*Galea spixii*) que já está sendo criado com objetivo de manejo e reprodução, com repercussão econômica. Para perspectiva de produção comercial e de preservação da espécie, tem de haver estudo das diversas etapas do desenvolvimento testicular, especialmente daquelas associadas à puberdade e a maturidade sexual na reprodução. Assim, o presente projeto desenvolvido teve como objetivo avaliar os detalhes ultraestruturais dos componentes dos compartimentos testiculares, a evolução do processo espermatogênico e os aspectos relativos à evolução dos demais órgãos da via espermática em preás em diferentes fases do ciclo reprodutivo. Fragmentos testiculares e da via espermática de preás machos em diferentes idades foram coletados no Centro de Multiplicação da Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, RN, por ocasião do projeto de IC (Processo FAPESP n ° 08/57190-8). O material coletado foi processado para microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão. As observações e eletromicrografias sub-celulares e de superfície foram realizadas nos microscópios eletrônicos de transmissão e varredura do Setor de Anatomia da FMVZ/USP. Dados microscópicos revelaram a presença de espermatozoides no lúmen do túbulo seminífero e do epidídimo aos 45 dias de idade. O desenvolvimento das células de Sertoli e Leydig está diretamente relacionado com a entrada à puberdade dos preás. Os estádios de desenvolvimento sexual em preás podem ser classificados nas seguintes fases: impúbere (zero e 15

dias), pré-púbere (30 dias), púbere (45, 60, 75 e 90 dias de idade) e pós-púbere (120 e 150 dias).

Palavras-chave: Animais silvestres. Órgãos genitais masculinos. Testículo. Macho.

ABSTRACT

SANTOS, P. R. S. **Ultrastructural study of the development of spermatogenesis and sperm airway in preá (*Galea spixii*; Wagler, 1831).** [Estudo ultraestrutural do desenvolvimento da espermatogênese e da via espermática de preás (*Galea spixii*; Wagler, 1831) criados em cativeiro]. 2012. 149 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The production capability of many wild species has been researched worldwide, demonstrating that these can turn into renewable products with high profitability. Some specimens have been indiscriminately exploited as a source of animal protein, such as the cavy (*Galea spixii*) that is already created with the purpose of handling and reproduction, with economic impact. To view the commercial production and preservation of the species, there must be study of the various stages of testicular development, especially those associated with puberty and sexual maturity in reproduction. Thus, this project was developed to evaluate the ultrastructure details of the components of testicular compartments, the evolution of the spermatogenic process and aspects of the evolution of spermatic via in spix's yellow-toothed cavy at different stages of the reproductive cycle. Testicular fragments and spermatic via the male spix's yellow-toothed cavy at different ages were collected Multiplication Center of Universidade Federal Rural do Semi-Arido, Mossoró, RN, at the Scientific Initiation Project (FAPESP Process No. 08/57190-8). The collected material was processed for light microscopy, scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. The observations and photomicrographs cellular and surface were performed in transmission and scanning electron microscopes of the Department of Anatomy FMVZ / USP. Microscopic data revealed the presence of spermatozoa in the lumen of the seminiferous tubule and epididymis at 45 days old. The development of Sertoli and Leydig cells are directly related to the entry of puberty in spix's yellow-toothed cavy. The stages of sexual development in spix's yellow-toothed cavy may be classified into the following phases: impuberal (zero and 15

days), prepubertal (30 days), pubertal (45, 60, 75 and 90 days old) and post pubertal (120 and 150 days).

Keywords: Male. Male genital organs. Testis. Wild animals.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 O PREÁ.....	18
2.2 MORFOLOGIA DO TESTICULO.....	19
2.2.1 Compartmento Tubular	19
2.2.2 Compartmento Intertubular	21
2.3 ESPERMATOGÊNESE	22
2.4 ESTABELECIMENTO DA ESPERMATOGÊNESE EM ANIMAIS COM POTENCIAL ZOOTÉCNICO	25
2.5 ESTABELECIMENTO DA ESPERMATOGÊNESE	27
2.6 VIA ESPERMÁTICA.....	29
2.6.1 Epidídimo	29
2.6.2 Ducto Deferente.....	32
2.6.3 Uretra e pênis.....	34
3 OBJETIVOS.....	40
3.1 OBJETIVO GERAL.....	40
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
4 MATERIAIS E MÉTODOS	42
4.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	42
4.2 FIXAÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL PARA OBSERVAÇÃO AO MICROSCÓPIO DE LUZ.....	43

4.3 PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO	42
4.4 PROCESSAMENTO PARA CORTES HISTOLÓGICOS SEMIFINOS	42
4.5 PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	42
5 RESULTADOS.....	47
5.1 TESTÍCULO	47
5.1.1 Microscopia de Luz e Microscopia Eletrônica de Varredura.....	47
5.1.2 Desenvolvimento da Espermatogênese	49
5.1.2.1 Espermatogônias.....	49
5.1.2.2 Espermatócitos.....	50
5.1.2.3 Espermátides.....	51
5.1.2.4 Espermatozóides.....	52
5.1.2.5 Células de Sertoli e Células de Leydig	53
5.2 VIA ESPERMÁTICA.....	47
5.2.1 Epidídimo	73
5.2.2 Ducto Deferente.....	84
5.2.3 Uretra e Pênis	94
6 DISCUSSÃO	47
6.1 TESTÍCULO	47
6.1.1 Morfologia do testículo	96
6.1.2 Desenvolvimento da Espermatogênese	97

6.1.3 Células de Sertoli e Células de Leydig	99
6.2 VIA ESPERMÁTICA	47
6.2.1 Epidídimo	100
6.2.2 Ducto Deferente	101
6.2.3 Uretra e Pênis	101
7 CONCLUSÃO	104
REFERÊNCIAS	105
APÊNDICE	104

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional e a demanda crescente de alimentos remetem urgente a procura do uso racional dos recursos naturais existentes, desde que não comprometa a sobrevivência de várias espécies animais, muitos das quais em via de extinção. Como resultado, a conservação de um recurso natural biótico engloba tanto sua proteção como sua exploração racionais sendo ambos os aspectos baseados no conhecimento da ecologia das espécies a conservar (COUTINHO, 1982).

A potencialidade da produção de inúmeras espécies silvestres vem sendo pesquisada em todo mundo, demonstrando que estas podem se transformar em fontes renováveis de produtos de grande rentabilidade, contribuindo para o aumento da produção de alimentos e concorrendo, em custo de produção, com os animais domésticos tradicionais (ODA et al., 2004).

A fauna silvestre brasileira é bastante diversificada, apresentando uma gama variável de espécies no grupo dos mamíferos. Alguns espécimes vêm sendo explorados indiscriminadamente desde a época dos pioneiros da colonização agropecuária até a atualidade como fonte de proteína de origem animal, situação agravada pelo avanço de fronteiras agrícolas levando a uma redução significativa do nível de população destes animais, os quais atualmente são passíveis de exploração econômica racional como produção de carne, ou como modelo racional.

Correntes conservacionistas atuais apontam a criação de animais silvestres com finalidade comercial como um dos caminhos para a preservação de algumas espécies da fauna brasileira, como a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), a cutia (*Dasyprocta aguti*), a paca (*Agouti paca*), a ema (*Rhea americana*), as perdizes, os catetos (*Tayassu tajacu*), os queixadas (*Tayassu pecari*), etc. Estas espécies têm potencial zootécnico, pois apresentam capacidade de reprodução em cativeiro, boa prolificidade e outros atributos desejáveis à domesticação. Porém, a falta de pesquisas para a abordagem zootécnica desta atividade é o ponto crítico da exploração de animais silvestres, bem como a falta de tecnologia desenvolvida nas

diversas regiões do Brasil para que resulte em atividades economicamente rentáveis.

As populações rurais de regiões tropicais a subtropicais dependem de animais silvestres para sua alimentação proteica. Com isto, essas espécies sofrem com a caça predatória e a destruição de seus habitat, levando suas populações a uma diminuição progressiva, e até mesmo a extinção.

Vale ressaltar que o consumo de carne de caça ou de animais silvestres está aumentando e ganhando adeptos, no mundo todo. A demanda comercial de seus produtos (principalmente a carne e o couro) e subprodutos (óleos e plumas) não está sendo atendida e por isso abre imenso potencial econômico e zootécnico para as espécies. Além dessa produção não atender a demanda interna, existe o mercado externo cada vez mais interessado em carnes de melhor qualidade e consideradas mais saudáveis.

Nos últimos anos, no Brasil tem se notado um incremento na criação de animais silvestres, com a organização de criatórios específicos. Destas espécies a preá (*Galea spixii*) já está sendo criados com objetivo de manejo e reprodução, com repercussão econômica, pois apresenta uma carne com alto teor de proteína, baixo teor de colesterol e níveis insignificantes de lipídios e gorduras (PARAÍBA, 2007).

Os programas de preservação e aprimoramento de qualquer espécie ou raça requerem conhecimentos básicos de sua fisiologia reprodutiva. Assume relevância, no caso de machos, o estudo de diversas etapas do desenvolvimento testicular, especialmente daquelas associadas à puberdade e a maturidade sexual, uma vez que a entrada em atividade sexual depende da cronologia desses eventos (FRANÇA; CARDOSO, 1988). Isto é de fundamental importância para perspectiva de produção comercial e de preservação da espécie, tendo em vista o uso racional dos machos na reprodução, seja na cobertura natural ou na inseminação artificial.

Pesquisas sobre função testicular em roedores silvestres limitam-se a descrição da composição e organização de seus compartimentos, com estudos ultraestrutural, que abordam as características do compartimento tubular (FRANÇA et al., 1999), o desenvolvimento da espermatogênese (RASGOT et al., 1988), a formação do acrossomo (PICHERAL, 1972), modificações citoplasmáticas e eliminação de membranas (SPRANDO; RUSSELL, 1988).

Este projeto vem a dar continuidade ao projeto de iniciação científica que objetivou estudar o desenvolvimento dos órgãos genitais masculino da espécie em questão (Processo FAPESP: 08/57190-8). Entretanto, os aspectos relacionados à ultraestrutura do desenvolvimento da espermatogênese, assim como a evolução dos demais órgãos genitais do macho foram apresentados neste trabalho.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O PREÁ

O preá silvestre do semiárido (*Galea spixii*, Wagler, 1831) é um roedor que pertence à família Caviidae. Possui um corpo alongado, uma coloração uniforme, com a superfície dorsal cinza-escura amarelada e com um ventre branco (OLIVEIRA et al., 2010). São menores que os roedores da família Dasypodidae como as cutias, e maiores que os roedores da família Muridae. Possuem três dedos nas mãos e quatro nos pés (Murideos possuem cinco), sua pelagem é rala e áspera apresentando um anel de coloração mais clara ao redor dos olhos, além disso observa-se ausência de uma cauda (PERCEQUILLO et al., 2007).

Esta espécie de roedores vive na vegetação do Semiárido da Caatinga do Nordeste brasileiro (OLIVEIRA et al., 2008). Apresenta hábito crepuscular, vive em bandos e alimenta-se de folhas, ramos e frutos de plantas rasteiras, raízes tubérculos e casca de árvores (OLIVEIRA et al., 2010).

Os preás silvestres do semiárido possuem tamanhos variando entre 22,5-23,5 cm de comprimento e seu peso varia entre 375- 405 gramas, sendo, portanto, muito menor que o *Guinea pig*. Em adição a este fato a ninhada do *Galea spixii* também é menor, gerando entre dois e quatro filhotes e apresenta um período gestacional máximo de 48 dias (OLIVEIRA et al., 2008).

É um animal muito social que se reproduz em diferentes épocas do ano, mesmo na estação de verão seco e na ausência de abundância de alimento relativos à estação do ano (OLIVEIRA et al., 2008). As fêmeas desta espécie podem inclusive manter a gestação mesmo desprovidas de condições nutricionais ideais

No Brasil, o preá silvestre do semiárido já vem sendo criado em cativeiro, com o intuito de fornecer alimento, preservar a espécie e proporcionar o desenvolvimento de pesquisas nesses animais. Todavia, verifica-se que, na literatura, há carência de dados referentes à anatomia funcional destes animais (OLIVEIRA et al., 2010).

2.2 MORFOLOGIA DO TESTICULO

Os testículos são órgãos exócrinos e endócrinos combinados, e que se apresenta revestido por uma camada conjuntiva, a túnica albugínea. Este órgão é composto por dois compartimentos: o compartimento tubular, responsável pela produção de espermatozóides, onde se encontram os túbulos seminíferos e o compartimento intertubular ou intersticial, contendo células e fibras do tecido conjuntivo, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e, sobretudo, as células de Leydig, principal fonte de andrógenos do organismo (CASTRO; BERNDTSON; CARDOSO, 1997; BANKS, 1992). Apesar da estrutura geral do testículo seguir um padrão relativamente rígido para as diversas espécies de mamíferos, há uma grande variação no que concerne a proporção volumétrica do diferentes componentes que o constituem, principalmente em relação aos túbulos seminíferos, células de Leydig e vasos sanguíneos e espaços linfáticos.

2.2.1 Compartimento tubular

O túbulo seminífero apresenta grande variação na densidade volumétrica no testículo nas diferentes espécies de mamíferos, geralmente é o componente mais abundante do parênquima testicular (FRANÇA; RUSSELL, 1998). Parâmetros quantitativos relacionados com o túbulo seminífero, como: diâmetro tubular, espessura do epitélio seminífero e o comprimento total e por grama de testículo, possuem uma relação positiva com a atividade espermatogênica, assim fornecendo informações do estabelecimento da mesma, em determinada espécie (FRANÇA; RUSSELL, 1998; PAULA, 1999). São constituídos por uma túnica própria, epitélio seminífero e lume. Estão presentes na túnica própria células mióides ou peritubulares, membrana basal e fibras colágenas. Células de Sertoli de origem somática e as células germinativas são os dois tipos celulares presentes no epitélio

seminífero. No lume tubular encontram-se o fluido secretado pelas células de Sertoli e os espermatozóides (RUSSELL et al., 1990a).

De acordo com Courot, Hochereaua-de-Reviere e Ortavant (1970), os cordões testiculares contêm dois tipos de células: os gonócitos e as células somáticas. Os gonócitos multiplicam-se e dão origem as espermatogônias, que sofrem divisões mitóticas, e da diferenciação das células filhas forma um grupo de células germinativas. Há espermatogônia do tipo A, cuja cromatina do núcleo é homogênea e poeirenta em todos os mamíferos, mas o nucleoplasma é mais escuro nos roedores e tipo B, onde o núcleo apresenta cromatina pequena (CLERMONT, 1972). Os espermatócitos são células germinativas que se originam por divisões mitóticas ocorridas nas espermatogônias tipo B e que sofrem um processo meiótico, originando as espermatídes. As células que irão sofrer a primeira divisão são denominadas espermatócitos primários e a segunda divisão meiótica espermatócitos secundários. A próxima divisão meiótica originará duas espermatídes redondas cujo núcleo se assemelha a dos espermatócitos secundários, em menor tamanho. A primeira e segunda divisão pode ser distinguida pelo tamanho da placa metafásica (COUROT; HOCHEREAU-DE-REVIERS; ORTAVANT, 1970).

As células somáticas são as únicas presentes dentro do túbulo seminífero, tendo um papel estrutural e envolvimento nas relações das células germinativas com o ambiente interno, mais tardiamente originando as células de Sertoli (COUROT; HOCHEREAU-DE-REVIERS; ORTAVANT, 1970). O número de células de Sertoli por testículo é o principal fator na produção espermática e no tamanho do testículo (FRANÇA et al., 1995). Dentro dos túbulos, as células de Sertoli podem estar em três regiões: no compartimento basal que contém o início células germinativas (espermatogônias e espermatócitos primários precoce) em contato direto com os vasos sanguíneos, um compartimento intermédio contendo células transitórias (antigos espermatócitos primários), e um adluminal compartimento que contém os mais avançados tipos de células germinativas (antigos espermatócitos primários, espermatócitos secundários, espermatídes) separada da permeabilidade dos vasos sanguíneos por uma barreira (RUSSELL et al., 1990b).

As células de Sertoli desempenham um papel importante na regulação da espermatogênese (RUSSEL; GRISWOLD, 1993), como no suporte e nutrição das células germinativas em desenvolvimento, a compartimentalização do epitélio

seminífero, a liberação do espermatozóide no lume tubular, a secreção de fluidos e proteínas e a fagocitose de células germinativas em degeneração e do excesso de citoplasma das espermatídes em espermiação (FRANÇA; RUSSEL, 1998), também desempenha função na mediação da ação do FSH e da testosterona na espermatogênese, atuando de maneira cíclica (RUSSEL et al., 1990b). Segundo França (1991), estas células podem ser usadas como referência para a quantificação e a correção de contagem de células germinativas e como fator de correção de retração tubular, pois a população de células de Sertoli é estável ao longo dos estádios do ciclo do epitélio seminífero e não variam de acordo com a idade do animal adulto. Também pode ser analisada como parâmetro em alterações do processo espermatogênico, em decorrência de fatores patológicos (RUSSELL; CLERMONT, 1977; RUSSELL et al., 1990a).

Existem junções intercelulares altamente especializadas conhecidas como junções de oclusão ou “tight junctions”, que formam uma barreira de células de Sertoli (barreira hemato-testicular), que além de controlar o fluxo de substâncias no epitélio seminífero, delimita neste, dois compartimentos, o basal e o adluminal (RUSSELL et al., 1990b; JUNQUEIRA; CARNERO, 2005). Em que no primeiro, encontram-se as espermatogônias e os espermatócitos primários nas fases iniciais (pré-leptóteno/leptóteno). No compartimento adluminal, são encontrados os espermatócitos primários, em fase de maior desenvolvimento (zigóteno, paquíteno e diplóteno), os espermatócitos secundários e as espermatídes arredondadas e alongadas (LEBLOND; CLERMONT, 1952; RUSSELL; CLEMONT, 1977).

2.2.2 Compartimento Intertubular

O arranjo do compartimento intertubular nas diferentes espécies indica uma variação de células de Leydig, vasos linfáticos, vasos sanguíneos, nervos e uma população celular de fibroblastos, macrófagos e mastócitos (FAWCETT, 1973; RUSSEL, 1996). A célula de Leydig é o principal componente deste compartimento (HOOKER, 1970), sendo responsável pela síntese e armazenamento de testosterona, para incrementar a libido, a ocorrência do processo espermatogênico,

manter a função das glândulas acessórias e as características sexuais secundárias (DELLMANN; WROBEL, 1982; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005). Estas iniciam a secreção da testosterona ainda na vida fetal, para a diferenciação embriológica dos órgãos genitais masculino, estimuladas pelo hormônio gonadotrófico materno, que atravessa a placenta e atinge o sangue fetal (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005). Inúmeros fatores podem influir na quantidade de células de Leydig por animal, dentre os quais podem ser destacados: a quantidade de LH disponível; o número de receptores de LH por célula; a quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar em um dado tempo; a velocidade pela qual a testosterona deixa o testículo via vasos linfáticos, vasos sanguíneos e fluidos seminais; o volume sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (RUSSELL et al., 1994; RUSSELL, 1996). Variações na secreção de testosterona resultam mais na capacidade individual desta célula em secretar este hormônio do que diferenças do volume total das mesmas no testículo (EWING et al., 1979). Foi observado em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), que os níveis de testosterona, apresentaram uma correlação positiva e significativa com o volume individual de células de Leydig e não com a sua proporção total ou o número das mesmas por testículo (COSTA; SILVA, 2006).

2.3 ESPERMATOGÊNESE

Espematogênese é o desenvolvimento de células germinativas, espermatogônias tronco, originando os espermatozóides, uma célula haplóide altamente especializada (FRANÇA; RUSSELL, 1998). Pode ser dividida em três fases. Na primeira fase, espermatocitogênese, as espermatogônias do tipo B se diferenciam nos espermatócitos primários, mantendo a população espermatogonial necessária para a continuação deste processo, conhecidas também como células estaminais de renovação. A segunda fase, a meiótica, os espermatócitos primários e secundários originam células haplóides, as espermátides, através da divisão reducional ou meiótica. A terceira fase, a espermiogênese, processo em que as espermátides sofrem transformações citológicas formando os espermatozóides

(BANKS, 1992). É um processo contínuo em que cada fase é caracterizada por alterações morfológicas e bioquímicas dos componentes do citoplasma e do núcleo (COUROT; HOCHEREAU-DE-REVIERS; ORTAVANT, 1970). De acordo com Clermont (1972) a primeira e terceira fases mostram características morfológicas que são espécie-específica, comum em várias espécies de mamíferos domésticos.

Em animais sexualmente maduros, as espermatogônias do tipo A podem ser agrupadas em espermatogônias indiferenciadas e diferenciadas; no primeiro grupo estão presente as espermatogônias isoladas (Ai), pareadas (Apr) e as alinhadas (Aal), no segundo grupo estão as espermatogônias do tipo A, intermediárias (In) e do tipo B, que estão comprometidas irreversivelmente com a formação de espermatozoides (RUSSELL et al., 1990a; DE ROOIJ; GROOTEGOED, 1998). Na primeira fase da espermatogênese, a sua produção total é ajustada numericamente para a capacidade de suporte das células de Sertoli, fazendo com que ocorram degenerações em um grande número de células (DE ROOIJ; LOK, 1987).

Os espermatócitos primários formados a partir das espermatogônias do tipo B iniciam a prófase meiótica e migram para o compartimento adluminal, onde terminam as divisões meióticas, culminando com a produção de espermátides arredondadas, que sofrem espermiogênese no qual há transformação até uma das células especializadas e diferenciadas do corpo, o espermatozoide (SHARPE, 1994). Durante a meiose ou espermiogênese, pode ocorrer alguma degeneração, sendo que o período mais crítico para que isto ocorra é na fase de metáfase, no fim da meiose. Durante o período de metáfase a degeneração é um fator comum à maioria dos mamíferos (ROOSEN-RUNGE, 1973).

O estágio do ciclo do epitélio seminífero é considerado como um conjunto de gerações de células germinativas encontradas, em determinado momento, num túbulo seminífero (CASTRO et al., 1997). A associação celular ou estágio é definido por um agrupamento de tipos de células germinativas em fases de desenvolvimento (RUSSELL et al., 1990b). Cada associação distinta é constituída de uma ou duas gerações de espermatogônias, espermatócitos, espermátides (BERNDTSON, 1977) e cada tipo de célula é morfolologicamente integrado com as outras no seu processo de desenvolvimento. O ciclo do epitélio seminífero é definido como a seqüência dos eventos celulares que ocorrem entre dois estágios idênticos sucessivos (BANKS, 1992; CLERMONT, 1972; ORTAVANT; COUROT; HOCHEREAU-DE-REVIERS,

1984; RUSSELL et al., 1990b). De acordo com Clermont, 1972 e Amann e Schanbacher, 1983, a duração do ciclo do epitélio seminífero é uma constante biológica espécie-específica, a qual está sob o domínio de uma célula germinativa, não sendo influenciada por qualquer fator. No entanto, a duração da espermatogênese varia de uma espécie para outra, e entre animais de mesma espécie (COUROT; HOCHEREAU-DE-REVIERS; ORTAVANT, 1970).

A duração da espermatogênese permanece do tempo necessário para produzir um espermatozóide a partir da primeira divisão espermatogonial. Para estimar a duração completa da espermatogênese, é necessário conhecer o início e o término deste processo. O término da espermatogênese é definido como o momento da liberação de espermatozoides no lúmen. No entanto, o início depende da forma como define o ponto de partida.

Um método básico utilizado para identificar as etapas do ciclo do epitélio seminífero de várias espécies, é conhecido como o método da morfologia tubular, baseado em mudanças na forma do núcleo dos espermátides, e na ocorrência de divisões meióticas e ao arranjo do epitélio germinativo (CURTIS, 1918).

Através do método da morfologia tubular, Toledo, Messias e Ohashi (1995) descreveu as seguintes associações celulares para o epitélio seminífero da cutia macho (*Dasyprocta prymnolopha*) em cativeiro: Estágio I - Espermatogônias A, espermátocitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, espermátocitos primários em paquíteno, e espermátides arredondadas; Estágio 2 - Espermatogônias A, espermátocitos primários em paquíteno, espermátocitos primários em zigóteno, espermátides e início de alongamento; Estágio III - Espermatogônias A, espermátocitos primários em paquíteno, espermátocitos primários em diplóteno, e espermátides alongadas formando feixes; Estádios IV - Espermatogônias A e In, espermátocitos primários em paquíteno, espermátocitos secundários, figuras de meiose, e feixes de espermátides alongadas; Estágio V - Espermatogônias A e B, espermátocitos primários em paquíteno, e espermátides alongadas em feixes; Estágio VI - Espermatogônias A e B, espermátocitos primários em paquíteno e início de dissociação dos feixes das espermátides alongadas; Estágio VII - Espermatogônias A e B, espermátocitos primário em paquíteno, início da formação de camadas das espermátides alongadas e presença de corpos residuais; Estágio VIII - Espermatogônias A, espermátocitos primários em pré-leptóteno,

espermátocitos primários em paquíteno, espermátides alongadas organizadas em uma única camada e presença de grande quantidade de corpos residuais.

2.4 ESTABELECIMENTO DA ESPERMATOGÊNESE EM ANIMAIS COM POTENCIAL ZOOTÉCNICO

O desenvolvimento testicular de machos tem sido estudado por diversos autores em muitas espécies ou raça de animais domésticos e até mesmo em roedores de laboratórios, tendo como objetivo determinar o período em que se assume a puberdade a partir de análises histológicas: bovino (CURTIS; AMANN, 1981); suíno (FRANÇA, 1987), búfalo (MELO, 1991), caprino (SILVA, 2000), hamster (MARTINS, 1988) cobaia (TSE, 1991), entretanto, são deficientes os trabalhos com roedores silvestres. Métodos de quantificação da eficiência da espermatogênese através de estudo histológico podem verificar com acurácia performances de produção espermáticas em indivíduos da mesma espécie, ou entre espécies (VALE FILHO, 2001).

Conforme Assis Neto et al. (2003a,d,e) em cutia, o desenvolvimento testicular, após o nascimento, pode ser dividido nas seguintes fases: 1) impúbere, fase em que os animais possuem cordões testiculares sólidos, formados por gonócitos e células de suporte correspondem ao período de 0 a 5 meses de idade; 2) pré-pubere, caracterizada por túbulos seminíferos em luminação e espermatogênese incipiente, com espermátocitos e espermátides presentes; 3) púbere, quando a espermatogênese apresenta-se incompleta, com liberação dos primeiros espermatozóides no lume tubular e luminação completada; ocorrem entre 6 a 8 meses de idade e caracteriza uma fase de transição da pré-puberdade à puberdade; 4) pós-púbere, caracterizada pelo aumento do número de espermátocitos e espermátides, com a melhoria progressiva do rendimento da espermatogênese, de 9 a 10 meses de idade a fase de puberdade e 5) fase adulta (maturidade sexual), na qual os níveis altos do rendimento da espermatogênese são alcançados e permanecem constantes, embora os pesos corporais e testiculares continuem aumentando, de 12 a 14 meses de idade a fase pós-puberdade.

A análise quantitativa do processo espermatogênico, realizada por Melo e Vale Filho (1993) em búfalos jovens (10 a 24 meses de idade) com a finalidade de caracterizar o período pós-puberal e determinar a maturidade sexual, revelou que o aumento da população de espermátócitos primários e espermátides arredondadas a partir de 16 meses de idade correspondem ao período inicial da pós-puberdade. A análise geral da instalação do processo espermatogênico, utilizando-se o total de células espermatogênicas, mostrou que não houve tendência à estabilização numérica, sendo este um indicativo de que, até 24 meses de idade, estes animais ainda não haviam atingido o seu potencial máximo de produção espermática.

Ojasti (1973) ao realizar estudos sobre as condições reprodutivas da capivara macho afirma que os espermatozóides estão presentes em todos os machos estudados a partir de um peso total de 20Kg (peso testicular de 80g). Isto significa que a partir desta etapa a espermatogênese é contínua. O autor acrescenta que é difícil determinar a que idade ou tamanho do macho adquire a maturidade sexual, pois a presença de esperma nos animais de 20Kg não significa uma capacidade efetiva de se reproduzirem adequadamente.

Avaliação histológica quantitativa do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrachæris*) adultas teve o objetivo de verificar a proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular, bem como a determinação do índice gonadossomático, comprimento e diâmetro dos túbulos seminíferos. Concluiu que o índice gonadossomático encontrado para capivaras encontra-se dentre os mais baixos observados para roedores e que a proporção volumétrica encontrada para os túbulos seminíferos e para as células de Leydig encontram-se, respectivamente, entre a mais baixa e a mais alta observada entre os mamíferos já estudados (PAULA; NAVARRO, 2001).

Toledo, Messias e Ohashi (1995) estudando os aspectos reprodutivos básicos da cutia macho (*Dasyprocta prymnolopha*) em cativeiro, através da análise de secções transversais de túbulos seminíferos, descreveu oito estágios do ciclo do epitélio seminífero e as associações celulares nesta espécie. Entretanto, não foi descrito os eventos da puberdade ou maturidade sexual.

Pashov e Matamoros (1984) descreveram histologicamente o epitélio seminífero do testículo de paca (*Cuniculus paca*, BRISSON, 1762) e observaram as células germinativas com espermatogônias, tipo A e B, espermátócitos primários

jovens e velhos, espermatócitos secundários e espermatozóides. Estas células formaram grupos de composição celular constante, a qual origina um ciclo de outras etapas. Observou também que a produção de espermatozóides foi um processo contínuo durante o ano e as células de Leydig apresentaram-se em pouquíssimas quantidades.

Conhecimentos básicos da biologia reprodutiva, como a determinação do estabelecimento da puberdade, permitirão fornecer subsídios para melhor criação racional, dentro de uma tecnologia científica e zootécnica, proporcionando uma maior disponibilidade de animais, desta forma evitando a caça predatória sem riscos de extinção e assim atingindo a população de baixa renda, principalmente naquelas regiões mais carentes do país.

2.5 ESTABELECIMENTO DA ESPERMATOGÊNESE

Segundo Courot, Hochereaua-de-Reviere e Ortavant, (1970) a curva de crescimento testicular é sigmóide, com uma zona média de rápido aumento de peso. Esta zona correspondente ao período de estabelecimento da espermatogênese e maturidade sexual, direcionado à puberdade e à fase adulta. A iniciação da espermatogênese começa com a conversão de gonócitos em espermatogônias, envolvendo mudanças na estrutura testicular, tais como: aumento do diâmetro, do comprimento e do volume dos túbulos seminíferos. Tudo isto resulta em aumento do peso testicular, o qual pode ser relacionado com as etapas do estabelecimento da espermatogênese.

França (1987) descreve as seguintes fases para dividir o estabelecimento da espermatogênese após o nascimento: (a) impúbere caracterizada pela presença de cordões sólidos, contendo somente gonócitos primordiais e células indiferenciadas de suporte; (b) pré-púbere, na qual se inicia o processo de luminação dos cordões testiculares e a diferenciação espermatogênica, com o aparecimento dos primeiros espermatócitos primários e espermátides arredondadas; (c) puberdade, caracterizada pela presença de espermatogêneses completa nos túbulos

seminíferos, com a liberação dos primeiros espermatozóides no lume tubular; (d) pós-púbere, na qual ainda aumenta a população de células dos túbulos seminíferos, com melhoria progressiva do rendimento da espermatogênese; (e) maturidade sexual, na qual o rendimento da espermatogênese atinge níveis adultos e permanece constante, enquanto os testículos e o peso corporal continuam crescendo.

Em estudo sobre o desenvolvimento morfológico testicular pós-natal no hamster, foi observado que aos 10 dias de idade eram vistos cordões testiculares isentos de luz e núcleos celulares predominantemente periféricos representados por células indiferenciadas de suporte e núcleos com contornos nucleares mais definidos ou então figuras de divisão mitótica precursora das espermatogônias tipo A. Aos 20 dias de idade os túbulos já se encontravam luminados e o epitélio seminífero formado por células de Sertoli, espermatogônias e espermatócitos em pré-leptóteno. Nos animais com 30 e 40 dias de idade alguns eventos morfológicos de diferenciação celular já eram observados, como presenças de espermatogônias entremeadas a células de Sertoli, espermatócitos primários em diferentes etapas de maturação e espermátides de forma arredondada e alongada. Aos 45 dias o processo espermatogênico se completa com caracterização de túbulos seminíferos onde foram observados espermatozóides em fase de pré-espermiação e espermiação, no entanto o processo se encontra consolidado aos 60 dias de idade com caracterização de todos os estágios do ciclo do epitélio seminífero (MARTINS,1988).

Em cutias Assis Neto et al. (2003b) observou que a fase impúbere corresponde do nascimento aos cinco meses de idades, em que predominaram nos cordões testiculares a presença de gonócitos e de lume tubular; de seis a oito meses de idade a fase de transição da pré-puberdade à puberdade, com início da luminação tubular e aparecimento dos primeiros espermatócitos primários e espermátides arredondadas ; nove a dez meses de idade a fase de puberdade, ocorrendo proliferação das células espermatogênicas, aumentos do diâmetro e peso testicular; e doze a quatorze meses de idade a fase de pós-puberdade, onde a espermatogênese apresentou-se estabelecida com a presença das associações dos estágios do ciclo do epitélio seminífero.

Em cobaia foram observados os seguintes eventos introdutivos ao estabelecimento pleno da espermatogênese: presença de cordões testiculares sólidos aos oito e 10 dias de idade; presença de luminação tubular e de espermátocitos primários aos 20 e 30 dias, exceção das células em diplóteno-diacinese que só apareceram aos 30 dias de idade; observações do término da segunda divisão de maturação, caracterizado pela presença das primeiras espermátides arredondadas, aos 45 dias de idade; observações das espermátides alongadas ou “pós-espermátides”, já tendo início a fase de maturação da espermiogênese, aos 60 dias; processo espermatogênico completo, com observações de espermatozóides no lume tubular, aos 70 dias (TSE, 1991).

De acordo com Ortavant, Courot e Hochereau-de-Reviere, (1984), ocorre um crescimento vagaroso nos primeiros meses após o nascimento, seguido por um período de crescimento acelerado quando começa a espermatogênese. Ao final deste período o crescimento testicular se mostra novamente lento.

2.6 VIA ESPERMÁTICA

2.6.1 Epidídimo

O epidídimo é um órgão considerado importante na via espermática extra testicular, tem como função maturação e armazenamento de espermatozóides (BEDFORD, 1967). Entretanto, o epitélio epididimário é responsável por criar condições ideais para produção de espermatozóides férteis e capazes de mover-se pelas vias de absorção e secreção (HINTON, 1990; TURNER, 1991).

Nos mamíferos o epidídimo caracteriza-se por ser um tubo enovelado, dividido em três áreas distintas na maioria das espécies: cabeça, receptora de espermatozóides e fluídos dos túbulos eferentes; o corpo, que conecta a cabeça a cauda; e a cauda, a qual armazena os espermatozóides antes da ejaculação (BARONE et al., 1973; MATAMOROS, 1981; BORGES, 2004; MARTUCCI et al., 2006).

Olds e Olds (1979) afirmaram que no rato o epidídimo é um túbulo fino e tortuoso, que dobra sobre si mesmo, formando uma bulbosa cabeça, no qual apresenta uma massa de tecido adiposo e esta liga o corpo e cauda.

Greene (1963) e Junqueira e Martins (1947) descreveram que o epidídimo do rato é composto por uma cabeça, que adere á extremidade proximal dos testículos, um corpo fixo parcialmente a sua margem epididimária e sua cauda, encontram-se completamente livre. Entretanto, no camundongo de laboratório a cabeça do epidídimo esta ligada ao testículo pelo ducto eferente (COOK, 1965).

No rato branco, o epidídimo é um túbulo altamente convoluto, relacionando os ductos eferentes e deferentes, este apresenta uma cabeça, revestindo a porção anterior dos testículos, seguindo um corpo aderido à superfície lateral e conflui como a caudal na porção posterior da glândula (CHIASSEON, 1969).

Segundo Ojasti (1973) na capivara o epidídimo apresenta um formato de faixa, que inicia com uma dilatação no pólo cranial dos testículos, volta-se caudalmente para o pólo distal deste órgão, no qual se dilata novamente para formar a cauda do epidídimo.

Nos animais domésticos a cabeça do epidídimo é longa e se curva sobre a extremidade dorsal, o corpo é relativamente estreito e situado ao longo da parte lateral da borda caudal do testículo, o qual está inserido por uma estreita prega peritoneal. A cauda é grande e está intimamente inserida na extremidade ventral do testículo (GETTY, 1997).

O epidídimo do porquinho da índia, apresenta a cabeça, como a sua maior parte, esta se situa caudodorsal a um grande corpo adiposo, percorre toda a borda medial dos testículos, até sua cauda que prende-se a túnica vaginal dos testículos (COOPER; SCHILLER, 1975), porém para Hoffer e Greenberg (1978) a cabeça do epidídimo deste roedor é estreita desde o porção cranial dos testículos, seguindo caudalmente até o porção caudal da gônada, onde ocorre uma expansão, formando uma região globosa, denominada de cauda do epidídimo.

O ducto epididimário é dividido anatomicamente em cabeça, corpo e cauda, entretanto, este termo parece ser inadequado para os estudos histológicos e metabólicos comparativos, uma vez que as células de revestimento do túbulo sofrem alterações histológicas e funcionais, descritas na estrutura do epitélio epididimário nos diversos mamíferos. Desta forma, histologicamente o epidídimo compreende o

segmento inicial, cabeça, corpo ou segmento médio e cauda com suas partes distal e proximal (ROBAIRE; HERMO, 1988).

Robaire e Hermo (1988) citaram que os autores dividem o epidídimo adotando critérios histológicos, assim Hoffer e Greenber (1978) descreveram o epidídimo do porquinho da índia, dividido em sete zonas distintas, das quais cinco localizadas na cauda, sendo segmento inicial, com epitélio pseudo-estratificado colunar, zona II com epitélio mais curto, zona V com epitélio mais curto e estereocílios mais curtos, zona VI com estereocílios mais longos e zona VII onde o diâmetro do túbulo era maior que a anterior.

No rato, camundongo isogênico e no hamster este órgão dividia-se em cinco segmentos, porém no rato o segmento I, o epitélio alto e torna-se sucessivamente mais baixo nos segmentos posteriores, ocorrendo o inverso com relação à quantidade de espermatozóides no lúmen do tubo, o qual aumenta em direção ao segmento V (ABE; TAKANO; ITO, 1982; ORSI et al., 1993; CALVO et al., 1999).

Morfológicamente o epidídimo dos mamíferos adultos é um ducto longo e enovelado revestido por epitélio pseudoestratificado, como observado no coelho; rato; hamster chancha e porquinho da índia. Porém em outros roedores, este epitélio apresenta-se do tipo pseudoestratificado e se altera para cilíndrico simples conforme se aproxima do ducto deferente (NICANDER, 1956; NICANDER; GLOVER, 1973; HOFFER; GREENBERG, 1978; MATAMOROS, 1981; VICENTINI; ORSI, 1987).

No rato gigante, na cutia e no hamster, o epidídimo apresenta os ductos revestidos por um epitélio colunar simples com estereocílios, e células epiteliais, maiores na cabeça deste órgão, porém a altura do epitélio diminui em direção a cauda, diferente do lúmen e a quantidade de espermatozóides que são menores na cabeça e aumentam em direção da cauda (AMIYA; MAITI, 1982; CALVO et al., 1999; MENEZES, 2001).

No epitélio pseudo-estratificado colunar do epidídimo dos mamíferos, nota-se seis tipos celulares distintas, as células principais, basais, claras, halos, delgadas e apicais (ROBAIRE; HERMO, 1988). Os tipos celulares mais abundantes no epitélio são as células principais, as quais estão envolvidas no processo de absorção do fluído luminal e há secreção de alguns produtos como proteínas e glicoproteínas.

No mamíferos os tipos celulares do epitélio do ducto epididimário, podem variar regionalmente, sendo que algumas células aparecem com maior frequência em alguns segmentos do que em outros, estas variações não ocorrem somente quanto ao tipo celular, mas também em outras características como a altura do epitélio (geralmente diminui da cabeça para a cauda) e o diâmetro luminal, que apresenta um comportamento regional oposto (ROBAIRE; HERMO, 1988).

Calvo et al. (1999) no hamster, constataram a presença das células principais e basais, porém estas apresentam variações morfológicas, conforme a região. Hebel e Stromberg (1986) e Orsi et al. (1993) observaram no camundongo e no rato, cinco tipos de células no epitélio do ducto epididimário, sendo: principais, basais, apicais, claras e basofílicas. Entretanto, na paca nota-se quatro destes tipos de células: principais, basais, apicais e linfócitos, localizadas no epitélio da região da cabeça e corpo do epidídimo (BORGES, 2004).

Aguilera-Merlo et al. (2009) relataram que na viscacha, estas células, variam em distribuição e nos diferentes segmentos epiteliais. No rato e no hamster estas alterações também foram evidenciadas (REID; CLELAND, 1957). Segundo estes autores, as células principais e basais são encontradas em todos os segmentos do epidídimo, porém as células delgadas são observadas apenas no segmento inicial. Estas células sofrem modificações evidentes, influenciadas pelo fotoperíodo, assim no período reprodutivo, apresentam um núcleo alongado, citoplasma com abundantes vacúolos e corpos densos e cromatina frouxa.

2.6.2 Ducto Deferente

Nos animais domésticos e em roedores, como as chinchilas, o ducto deferente é um órgão tubular longo com origem na cauda do epidídimo, relacionado com as estruturas vacúolos-nervoso do funículo espermático e termina dorsalmente no colo da vesícula urinária, junto ao colículo seminal. Seu epitélio é composto por células cilíndricas, altas, apicais e basais; sua lâmina própria apresenta células mióides com predomínio de feixes de fibras de colágeno (MARTINEZ; MARTINEZ; GARCIA, 1994).

Na cutia, camundongo e na paca o ducto deferente emerge da cauda do epidídimo, segue cranialmente, acompanhando as glândulas vesiculares e junto com esta desemboca no colículo seminal e na uretra, formando o ducto ejaculatório (COOK, 1965; MATAMOROS, 1981; MENEZES, 2001).

Hebel e Stromberg (1986) citaram que no rato o ducto deferente emerge a partir da superfície medial da cauda do epidídimo, dirigindo-se cranialmente, ao longo da borda medial do testículo e inserindo-se na cavidade abdominal, ao longo do ostio vaginal, curvando-se perpendicularmente, seguindo pelo colo da vesícula urinária, onde se unem com o lado oposto, penetrando no lobo dorsolateral da próstata e se abre dorsalmente na uretra. Este termina em forma de papila, como um vão em uma ampla ampola.

O ducto deferente da chinchila é um órgão oco, longo, que não apresenta grandes variações quanto ao diâmetro, este origina-se na porção distal da cauda do epidídimo, sendo que sua parte medial é longa envolta pelo funículo espermático, termina dorsal ao colo da vesícula urinária, juntamente com a glândula coaguladora e vesicular. Neste animal o ducto deferente abre isoladamente dos ductos destas glândulas, na face craniodorsal da uretra, com colículo seminal (MARTINEZ; MARTINEZ; GARCIA, 1994).

Alguns autores dividem o ducto deferente dos roedores seguindo vários critérios, no porquinho da índia o critério utilizado foi o aspecto anatômico, sendo dividido em porção: epididimária, tortuosa; emaranhada e reta (COOPER; SCHILLER, 1975). No rato utilizou-se o critério levando em consideração a espessura da parede muscular, dividindo o ducto em porção: proximal e distal (KENNEDY; HEIDGER JR., 1979;). Na cutia e no rato gigante o ducto deferente apresenta-se anatomicamente dividido em porção: inicial, relacionada com os testículos, uma porção média que esta em contato com o funículo espermático e uma porção distal (AMIYA; MAITI, 1982; MENEZES, 2001).

Estudos descritivos do ducto deferente, de varias espécies, mostram que este apresenta variações morfológicas, conforme o segmento. No rato o ducto tem uma transição gradual, marcada por um aumento na espessura da parede muscular, e variação na estrutura do epitélio. Entretanto, alguns autores observaram que a porção proximal do ducto mostra-se aplanada, sendo esta forma resultado da

distribuição irregular das camadas de músculo liso ao redor do ducto (KENNEDY; HEIDGER JR., 1979).

Neste roedor as fibras musculares são longitudinais, porém no segmento proximal, abaixo da lâmina própria há uma camada de músculo com fibras em disposição circular. Na porção distal do ducto, o epitélio é alto com microvilos, diferentemente da região de transição da parte proximal para a distal onde o epitélio torna-se pregueado e na sua porção terminal o epitélio mostra-se com pequenas células sobrepostas, o qual ativamente fagocitam espermatozóides (HAMILTON; COOPER, 1978).

Segundo Niemi (1965) o ducto deferente do rato, apresenta um epitélio pseudo-estratificado com estereocílios, composto por células altas colunares e células basais aplanadas e uma estreita membrana basal, que separa o epitélio da lâmina própria composta por capilares sanguíneos. O ducto deferente do rato gigante é um tubo reto coberto por tecido fibromuscular denso, revestido por um epitélio pseudo-estratificado colunar com estereocílios, este apresenta pregas que aumentam gradualmente da parte proximal para a parte distal, juntamente com a camada fibromuscular (AMIYA; MAITI, 1982).

Gude et al. (1982) descreveram que no rato de laboratório o ducto deferente apresenta um epitélio pseudo-estratificado colunar, como observado em outros roedores, porém este se encontra rodeado por uma camada de tecido conjuntivo frouxo e túnica que consiste de uma camada interna mais espessa com células musculares lisas dispostas longitudinalmente, camada média circular e externa longitudinal.

Na paca e no porquinho da índia, o ducto deferente apresenta um epitélio pseudo-estratificado colunar, com poucos estereocílios, composto por células principais e basais. Seu epitélio encontra-se sobre uma camada de tecido conjuntivo frouxo entremeado por duas camadas de músculo liso, sendo uma camada circular interna e uma longitudinal externa (HOFFER; GRENBORG, 1978; BORGES, 2004). Entretanto, no rato de areia (*Psammomys obesus*), o ducto apresenta três camadas musculares: longitudinal interna, camada circular média e externa longitudinal (SPRANDO et al., 1999).

2.6.3 Uretra e Pênis

Segundo Dyce, Sack e Wensing (2004), o pênis nos mamíferos fica suspenso abaixo do tronco e está parcialmente escondido entre as coxas, onde fica preso ao assoalho pélvico pelo ligamento suspensor. O órgão é construído por colunas de tecido erétil. Cada uma destas colunas consiste em um núcleo de tecido conjuntivo (túnica albugínea), sendo o complexo conhecido corpo cavernoso. A uretra está envolta por uma bainha vascular denominada corpo esponjoso. A expansão cranial a extremidade distal do corpo cavernoso, geralmente conhecida como glândula, forma o ápice de todo o órgão.

Nos roedores como na paca, capivara, cutias e camundongos o pênis apresenta formato cilíndrico, comprido lateralmente e está localizado ventral à sínfise púbica, direcionando caudalmente, formando uma flexura em forma de “U” deitado (OJASTI, 1973; CAVALCANTE-FILHO et al., 1996), diferente do que ocorre com a maioria dos *Histricomorphos* que apresenta o pênis em formato sigmoide, ou seja, em formato de “S” (COOPER; SHILLER, 1975; VAN AARDE; SKINNER; 1986).

O pênis do Hutia (*Capromys pilorides*) é formado por duas porções distintas, uma proximal, a qual compreende a crua e o corpo cavernoso e a porção distal, constituída pela glândula e prepúcio. O óstio uretral abre-se para uma fenda em forma de “T” invertido, no qual abre-se duas saculações (ANGULO; ALVAREZ, 1948).

Na superfície da glândula dos roedores como, hutia, porquinho da Índia, paca e no rato, nota-se a presença de minúsculas espículas córneas, também denominadas com projeções papilares, as quais recobrem totalmente esta estrutura (ANGULO; ALVAREZ, 1948; COOPER; SCHILLER, 1975; HEBEL; STROMBERG, 1986).

Nos roedores pertencentes à subordem dos *Histricomorphos*, a glândula do pênis apresenta espículas ou esporões córneos, localizados em fissuras e pregas epiteliais, situadas laterais ou caudoventral ao orifício uretral, porém em *Proechimys* estas espículas não revestem toda a superfície da glândula (OJASTI, 1973; WEIR, 1974; COOPER; SCHILLER, 1975; MATAMOROS, 1981; CAVALCANTE-FILHO et al., 1996).

Cavalcante-filho et al. (1996) ao estudarem o pênis da cutia (*D. Aguti*) citam que este se estende entre a região pré-umbilical e púbica cuja exteriorização pelo ostio prepucial faz-se no sentido caudal.

Entretanto, na cutia segundo Menezes et al. (2003) o pênis emerge do arco isquiático e segue cranialmente no plano sagitalmendiano, ventral a sínfise púbica até a região do pecten do osso púbis. Este órgão apresenta dois tecidos eréteis, o corpo cavernoso e o corpo esponjoso, sendo que o primeiro encontra-se revestido pela túnica albugínea. Segundo Chiasson (1969) e Olds e Olds (1979) relataram que o pênis do rato branco, consiste de três corpos cavernosos (Dois corpos cavernosos peniano e um uretral), glande e osso peniano. Neste roedor nota-se a presença da glândula prepucial, sendo que segundo o autor é uma pequena estrutura lobulada presente na abertura do prepúcio, entre este e a glande.

Histologicamente o pênis é semelhante nas diferentes espécies mamíferas, porém apresentam variações na sua organização, desta forma, o pênis pode ser dividido em raiz, corpo e glande (COOPER; SCHILLER, 1975; HEBEL; STROMBERG, 1986; MENEZES, 2001).

O corpo peniano e a raiz apresentam semelhança, são formados pela albugínea, tecido erétil (corpo cavernoso) músculo liso, musculo esquelético e uretra. O corpo cavernoso está envolto por tecido conjuntivo denso e fibras elásticas da túnica albugínea, A glande é revestida pelo prepúcio que é uma dobra de pele, constituída por tecido conjuntivo “trabecular” altamente vascularizado. Esta estrutura dependendo da espécie pode conter tecido erétil, osso ou cartilagem e tecido conjuntivo denso (BANKS, 1992).

Na cutia e nos ratos o pênis, apresenta o corpo cavernoso constituído por tecido erétil e aureolas calibrosas, revestidas por espessas camadas de tecido conjuntivo denso, o corpo esponjoso e a uretra peniana estão envoltos pela túnica albugínea (JUNQUEIRA; MARTINS, 1947; MENEZES et al., 2003).

A glande na cutia encontra-se revestida por uma epiderme espessa, uma camada córnea e não apresenta glândulas cutâneas, embora a derme se mostra bastante vascularizada. No prepúcio histologicamente nota-se duas glândulas prepuciais, de formato arredando e achatadas dorsoventralmente (MENEZES et al., 2003).

Borges (2004) cita que o pênis da paca, microscopicamente é constituído por grande quantidade de tecido fibroelástico e tecido erétil, sendo classificado como fibroelástico, diferentemente do pênis da cutia, o qual nota-se grande quantidade de tecido erétil classificando-o como fibrocavernoso (MENEZES et al., 2003).

Na cutia e no rato de laboratório, o osso peniano inicia-se na transição do corpo para a glândula, como uma continuação do corpo cavernoso do pênis. Este é constituído de tecido ósseo compacto nas cutias, porém, nos ratos há um segmento proximal formado pela fusão de um osso membranoso e cartilagem hialina que se ossifica gradualmente após o nascimento (GRIFFITH; FARRIS, 1942; MURAKAMI; MIZUNO, 1986; MENEZES et al., 2003).

Segundo Banks (1992) a uretra nos machos é a continuação dos sistemas de ductos excretores dos testículos, tendo como função o transporte de urina, bem como o sêmen e o espermatozóides.

Nos animais domésticos e alguns roedores, a uretra está dividida em duas regiões, a pélvica e peniana (esponjosa), que são revestidas por epitélio de transição (COOPER; SCHILLER, 1975; HEBEL; STROMBERG, 1976; MENEZES, 2001; PINHEIRO et al., 2003).

A uretra pélvica possui uma lâmina própria, ou “submucosa” que é constituída por tecido conjuntivo frouxo, numerosos elementos granulares e tecido erétil com espaços cavernoso de parede fina em toda sua extensão, presente principalmente na uretra esponja (BANKS, 1992).

Segundo Nakano e Muto (1989) a uretra de alguns mamíferos está dividida em três porções: prostática, membranosa e esponjosa. A uretra prostática apresenta um epitélio de transição, entretanto a membranosa e esponjosa apresenta epitélio colunar estratificado.

No gerbil e no rato a uretra pélvica inicia no óstio interno na vesícula urinária, apresenta um epitélio de transição, com espessa camada de músculo uretral que a envolve, e termina entre o músculo isquiocavernoso e o pênis. A uretra peniana inicia no divertículo uretral localizado no bulbo do pênis, de formato de coração e simetria bilateral, encontra-se revestida pelo corpo esponjoso, ventral ao osso peniano e termina no óstio externo da uretra na parte distal do pênis, sendo constituída por epitélio estratificado colunar (PINHEIRO et al., 2003).

Bacha Jr. e Bacha (2003), mostra em seus estudos que a uretra peniana passa através da região ventral do pênis e é revestida por uma mistura de epitélio transicional, cubóide estratificado, colunar estratificado ou colunar simples. Os espaços cavernosos são maiores e mais abundantes na uretra peniana e o corpo esponjoso que circunda a túnica albugínea.

De acordo com Junqueira e Martins (1947) no rato a uretra esta dividida em três partes: prostática, membranosa e peniana. A uretra peniana do rato consiste de um corpo cavernoso uretral, com espaços anfractuosos envolvidos por tecido conjuntivo denso e revestidos por endotélio. Dorsal a uretra, nota-se dois corpos cavernosos que se fundem na parte mais distal do pênis.

Borges (2004) descreveu que na paca, a uretra é dividida em duas porções: pélvica e peniana, como em outros roedores, porém a uretra pélvica desta espécie é constituída pelo músculo uretral, exceto na sua porção mais dorsal a qual é composta por uma fita fibrosa, em toda sua extensão.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Considerando a importância de projetos voltados a potencialização comercial e preservação de espécies silvestres este trabalho teve como objetivo detalhar a ultraestrutura dos componentes dos compartimentos testiculares, averiguar a evolução do processo espermatogênico e os aspectos relativos à evolução dos demais órgãos da via espermática em preás da espécie *Galea spixii*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Averiguar as características histológicas dos órgãos reprodutivos do macho;
- 2- Estudar o processo espermatogênico na espécie *Galea spixii* ao longo do desenvolvimento pós-natal;
- 3- Caracterizar a evolução morfológica das células espermatogênicas;
- 4- Definir a ultraestrutura dos compartimentos intertubulares e tubulares nas diferentes fases do desenvolvimento testicular;
- 5- Definir a ultraestrutura dos componentes da via espermática.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento proposto foi conduzido sob avaliação e aprovação da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade São Paulo (Protocolo nº 2486/2011).

O material foi previamente coletado no Centro de Multiplicação da Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, RN (Projeto FAPESP 08/57190-8) (Autorização IBAMA nº2028236/2008).

Os fragmentos dos órgãos dos testículos e da via espermática de preás foram destinados às análises obedecendo as fases do desenvolvimento sexual de acordo com a metodologia definida por Assis Neto et al. (2003e) (impúbere, pré-púbere, púbere, pós-púbere e maturidade sexual).

4.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados grupos etários nas diferentes fases do desenvolvimento (Apêndice), como definido a seguir:

- Grupo 0 (Animais impúberes): sendo o G0 composto por animais de um dia de nascido;
- Grupo 1 (Animais impúberes): sendo G1 de animais de 15 dias de idade;
- Grupo 2 (Animais pré-púberes): sendo G2 de animais de 30 dias de idade;
- Grupo 3 (Animais púberes): sendo G3 de animais de 45 dias de idade;
- Grupo 4 (Animais púberes): sendo G4 de animais de 60 dias de idade;
- Grupo 5 (Animais púberes): sendo G5 de animais de 75 dias de idade;
- Grupo 6 (Animais púberes): sendo G6 de animais de 90 dias de idade;
- Grupo 7 (Animais pós-púberes): sendo G8 animais de 120 dias de idade;
- Grupo 8 (Animais pós-púberes): sendo G9 de animais de 150 dias de idade.

4.2 FIXAÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL PARA OBSERVAÇÃO AO MICROSCÓPIO DE LUZ

Parte do material foi fixada em solução de Glutaraldeído a 2,5% ou em Paraformaldeído a 4%. Pós-fixados, os fragmentos de testículos e da via foram lavados com soluções de PBS (Tampão Sódio Fosfato), e posteriormente para remoção do fixador, foram submetidos a uma série de lavagem em álcoois : a 30%, a 50% e a 70%. Após a remoção do fixador, os materiais foram submetidos ao processo de desidratação com soluções de álcool 90%, álcool etílico absoluto I, álcool etílico absoluto II, xilol I, xilol II, histosec I, e histosec II. Para a inclusão do material foram montadas as travas de alumínio e preenchidos de histosec III junto com o material com sua devida identificação.

Cortes de 5 µm de espessura foram realizados em Micrótomo (Modelo Leica RM 2145) onde passaram pelo “banho-maria” em uma temperatura aproximada de 40° C, cujo cortes testes, corados com azul de toluidina, e os cortes definitivos foram retirados. O processo de coloração se estabelece em duas baterias. A bateria I constitui: xilol I (10 min), xilol II (10 min), álcool etílico absoluto I (05 min), álcool etílico absoluto II (05 min), álcool 90% (05 min), álcool 70% (05 min), água destilada (15 min). Seguida pela utilização dos corantes Hematoxilina e Eosina: Hematoxilina de Harris (03 min), água corrente (04 min) e Eosina 5% (02 min), e assim prosseguindo a Bateria II: álcool 95% (05 min), álcool etílico absoluto I (05 min), álcool etílico absoluto II (05 min), xilol diafanizador (05 min), xilol intermediário (05 min) e xilol de montagem (15 min). Após esses procedimentos as lâminas foram analisadas para caracterizar o desenvolvimento da espermatogênese e dos órgãos da via espermática.

4.3 PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

Os fragmentos foram previamente fixados em glutaraldeído 2.5%¹ em tampão fosfato 0,1M, PH 7.2. O material foi lavado em tampão fosfato de sódio a 0,1 M, PH 7,4 por três vezes durante dez minutos e pós-fixado em tetróxido de ósmio 1%² por 1 hora. Após novas lavagens em tampão fosfato, os fragmentos foram desidratados em álcool etílico a 50%, 70%, 90% e 100% e lavados em óxido de propileno³.

Por um tempo de 12 a 16 horas, os fragmentos permaneceram sob-rotação a 1:1 de óxido de propileno e resina⁴. Na sequência, esta mistura foi substituída por resina pura por 4 a 5 horas. Após este período, foram embebidas com resina pura em moldes. Uma vez incluída, os fragmentos permaneceram em estufa a 69° por 72 horas para consolidar a polimerização da resina.

4.4 PROCESSAMENTO PARA CORTES HISTOLÓGICOS SEMIFINOS

Com a finalidade de localizar e caracterizar as áreas de interesse, os blocos foram cortados em ultra-micrótomo Leica ULTRACUT UCT®. Cortes semifinos de 1µm de espessura foram obtidos, corando-se o quente com solução de borato de sódio a 1% em água destilada, contendo 0,25% de azul de Toluidina para observação ao microscópio de luz.

Os cortes ultrafinos de cerca de 60 nm de espessura foram colhidos em telas de cobre e contrastados pelo acetato de uranila 2% em água destilada por 5 minutos e pelo citrato de chumbo 0,5% em água destilada durante 10 minutos. As

¹ Glutaraldehyde grade I: 70% aqueous solution (Sigma chemical Co., USA)

² Osmium tetroxide 4% w/w solution in water (polyscience, Inc., USA)

³ Propylene oxide EM Grade, Polysciences, Inc., USA

⁴ Spurr Spurr's kit-Electron Microscopy Sciences, Co. USA

observações e eletromicrografias sub-celulares foram realizadas no microscópio eletrônico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMVZ/USP.

4.5 PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Fragmentos dos testículos e via espermática foram fixados em paraformaldeído a 4% e glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato a 0,1 M pH 7,4 e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1%. Desidratações em álcool etílico a 50%, 70%, 90% e 100% e em ponto críticas (Balzers CPD 020) foram feitas, com posterior montagem em suportes metálicos “stubs” e revestimento com ouro (“sputtering” Emitech K 550). A microscopia de varredura foi realizada em um Microscópio Eletrônico Leo 435 VP na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ - USP.

5 RESULTADOS

5.1 TESTÍCULO

5.1.1 Microscopia de Luz e Microscopia Eletrônica de Varredura

O parênquima testicular dos animais ao nascimento é formado por cordões testiculares, sem luminação e liberação de espermatozoides, e um compartimento intercordonal, constituído de tecido conjuntivo frouxo, células Leydig, vasos e nervos (Figuras 5, 6 e 7). No interior dos cordões testiculares observou-se gonócitos e células indiferenciadas de suporte (Figura 6). Os primeiros localizam-se próximos à membrana basal e seus núcleos apresentam formato circular/ovalado. Já as células indiferenciadas de suporte caracterizam-se por um núcleo alongado e se encontram na membrana basal, dispostas lado a lado, entremeadas por gonócitos.

Assim como ao nascimento, aos 15 dias de idade foram observados os cordões testiculares com o epitélio constituído por gonócitos e células indiferenciadas de suporte (Figuras 8 e 9). Um animal apresentou espaçamentos no lúmen dos cordões testiculares com células em processo de transformações: gonócitos se modificaram em espermatogônias e espermátócitos primários. Entre os cordões testiculares, pode-se observar tecido conjuntivo frouxo com vasos sanguíneos e grupos de células intersticiais ou de Leydig.

Aos 30 dias de idade foram observados no parênquima testicular do preá a presença de cordões testiculares e túbulos seminíferos, sendo que um animal apresentou túbulos seminíferos com processo de luminação avançado. Neste mesmo animal foram visualizadas células de Sertoli, placas metafásicas e células em diferentes fases do epitélio seminífero, como espermatogônias e espermátócitos primários (Figura 10). Nos demais animais foram observados cordões testiculares com gonócitos e células indiferenciadas de suporte. No espaço intersticial notou-se

tecido conjuntivo frouxo com grupos de vasos sanguíneos e células intersticiais de Leydig (Figura 10).

Aos 45 dias de idade, o parênquima testicular é completamente formado por túbulos seminíferos. Estes, na maioria dos animais, são estruturados pelo epitélio germinativo, formado em diferentes estádios do ciclo do epitélio seminífero (Figura 11). Pela primeira vez foi observado espermatozoides no lúmen tubular, evidenciando a entrada na puberdade (Figura 11).

Assim como os animais de 45 dias de idade, aos 60 dias o parênquima testicular é composto pelos túbulos seminíferos. Estes túbulos apresentam o processo de luminação completo e com os estádios do ciclo do epitélio seminífero definido (Figura 12). Porém, ainda foram constatados em regiões do corte histológico, túbulos seminíferos em processo de luminação e células do epitélio em diferentes fases de divisões celular (Figura 12).

No parênquima testicular do preá com 75 dias de idade, pode-se observar a presença de túbulos seminíferos com luminação completa e células do epitélio seminífero em diferentes estádios (Figura 13), além de interstício (Figura 13).

Com 90 dias de idade o parênquima testicular do preá também apresentou túbulos seminíferos e interstício. Nota-se luminação completa e células do epitélio seminífero em diferentes estádios (Figura 14).

Aos 120 dias de idade, pode-se observar que os túbulos seminíferos no parênquima testicular estavam completamente luminados, com o epitélio germinativo formado, em diferentes estádios do ciclo do epitélio seminífero (Figura 15), indicando que nesta idade o animal encontra-se na fase de pós-puberdade.

A morfologia dos tipos celulares do epitélio seminífero foi estudada no estágio 1 (Figura 11). As espermatogônias encontravam-se próximas à membrana basal, possuíam núcleos claros, nucléolo escuro e de formato ovalado, em sua maioria ($4,04 \pm 0,21 \mu\text{m}$ de diâmetro). Os espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno localizavam-se próximos à membrana basal. Os pré-leptótenos possuíam núcleos claros e arredondados; e os leptótenos, com núcleos mais escurecidos ($3,08 \pm 0,23 \mu\text{m}$ de diâmetro). Os espermatócitos primários em paquíteno foram os que mais predominaram nos túbulos em todas as idades, caracterizando-se pelo maior diâmetro ($4,84 \pm 0,37 \mu\text{m}$ de diâmetro), localizados mais distantes da membrana basal e com núcleo mais distribuído. As espermátides

arredondadas apresentam núcleo claro ($2,80 \pm 0,12 \mu\text{m}$ de diâmetro), dispostas com 4 a 6 camadas do epitélio seminífero (Figura 15). As células de Sertoli localizam-se próximas à membrana basal, e exibem um contorno nuclear irregular, levando a um formato triangular, com presença de um ou dois nucléolos pequenos ($2,12 \pm 0,26 \mu\text{m}$ de diâmetro).

5.1.2 Desenvolvimento da Espermatogênese

5.1.2.1 Espermatogônias

Levando em consideração as características ultraestruturais apenas três tipos de espermatogônias pode ser identificado com precisão para o preá: espermatogônias do tipo A “escuro”, espermatogônias do tipo A “pálida”, e espermatogônias do tipo B (Figura 11). As espermatogônias do tipo A “escuro”, geralmente se apresenta com formato elíptico, aderido à lâmina basal, com a qual forma projeções e depressões. Células de Sertoli encontram-se próximas no compartimento basal do epitélio germinativo (Figura 11A). Tem como característica um núcleo oval contendo uma cromatina finamente granular, “grupos” de cromatina condensada são também observados. Apresenta um nucléolo único, grande, granular e de forma irregular, geralmente com localização central. O citoplasma se mostrou pequeno, com poucas organelas, algumas mitocôndrias e extensões de retículo endoplasmático (liso e rugoso) são observadas.

As espermatogônias do tipo A “pálida” apresentam um formato alongado e uma menor aderência à lâmina basal. Como nas espermatogônias do tipo A “escuro”, encontram-se próximas às células de Sertoli e ao compartimento basal dos túbulos seminíferos (Figura 11B). Possuem um núcleo oval, contendo uma homogênea cromatina granular. Em casos raros é visto um nucléolo grande granular (Figura 11B). O citoplasma se mostra maior, com mitocôndrias, extensões de retículo endoplasmático (liso e rugoso), complexo de Golgi, centríolos.

As espermatogônias do tipo B apresenta a menor adesão de células para a lâmina basal entre todas as espermatogônias. Geralmente é circundado pelas células de Sertoli e células do compartimento adluminal. Possui um núcleo redondo contendo cromatina homogênea, com pontos de cromatina condensada próximo ao envelope nuclear (Figura 11C). O nucléolo mostra-se grande, granular, e com uma localização central. O compartimento citoplasmático mostra-se semelhante às outras espermatogônias.

5.1.2.2 Espermatócitos

Os espermatócitos se originam da diferenciação das espermatogônias durante a primeira divisão meiótica. Nesta fase, ocorre à condensação da cromatina, formação de complexos sinaptonêmicos (uma estrutura constituída por proteínas que formam um eixo central e duas barras laterais às quais se associam aos cromossomos para que ocorra o emparelhamento dos cromossomos homólogos), e a ascensão das células para o lúmen tubular. O início da ascensão pode ser observado na transição entre as fases pré-leptóteno e leptóteno. Os espermatócitos em pré-leptóteno possui um formato circular, apresentando um núcleo circular contendo cromatina homogênea. O citoplasma mostra-se pequeno com poucas organelas (Figura 12).

No espermatócito em leptóteno o núcleo apresenta um maior tamanho, evidenciando-se o início da condensação da cromatina. A condensação da cromatina ocorre gradualmente dos espermatócitos em zigóteno para os espermatócitos em diacinese (Figura 12). A organização do nucléolo mostra-se uniforme entre os espermatócitos em pré-leptóteno e espermatócitos em zigóteno. A desorganização do nucléolo começa nos espermatócitos em paquíteno, através de sua ruptura. O nucléolo perde sua morfologia apresentando uma forma mais fragmentada (Figura 12).

Os espermatócitos em diplóteno e em diacinese, apresentam fragmentos de nucléolos que podem estar associados com determinadas regiões cromossômicas (Figura 12). Na fase de diacinese há uma redução nos fragmentos dos nucléolos.

Em algumas regiões pode encontra-lo associado com uma única região cromossômica (Figura 12). Nesta fase, foi observado o emparelhamento dos cromossomos (Figura 12).

5.1.2.3 Espermátides

O processo de diferenciação das espermátides pode ser observado em 12 etapas. Nestas etapas, alterações morfológicas podem ser notadas, tais como a formação do flagelo e do acrossomo, condensação da cromatina, alongamento nuclear e a eliminação do citoplasma. As etapas de 1-3 correspondem a Fase de Golgi, de 4-5 a Fase do Capuz, de 6-9 a Fase do Acrossomo, e de 10-12 Fase de Maturação (Figuras 13-14).

As espermátides I são originadas a partir da segunda divisão meiótica. Apresenta um núcleo esférico com pontos de cromatina condensada, uma região de cromatina concentrada foi vista próxima ao envelope nuclear. Em grande parte do compartimento citoplasmático são vistos o retículo endoplasmático rugoso e mitocôndrias. O complexo de Golgi mostra-se pouco desenvolvido associado a pequenas vesículas, precursoras do vacúolo proacrosomal, ou associado aos corpos cromatóides (Figura 13).

As espermátides II mostra a permanência esférica do núcleo. O nucléolo é visto em uma região mais periférica do núcleo. Nesta espermátide, o complexo de Golgi mostra-se em desenvolvimento, aumentando seu tamanho, cujas vesículas começam a se fundirem para formar as vesículas proacrosomal. Nota-se o deslocamento do centríolo para a região do complexo de Golgi (Figura 13).

As espermátides III apresenta uma morfologia semelhante às outras espermátides. Observa-se nesta etapa o deslocamento de centríolos para o polo oposto à formação do acrossoma. Sendo o centríolo distal que dará início a formação do axonema (Figura 13).

As espermátides IV mostra um complexo de Golgi desenvolvido com maior produção de vesículas proacrosomal que irão aderir o envelope nuclear para formar uma concavidade no núcleo celular (Figura 13). Seu formato nuclear permanece

esférico, com uma maior quantidade de cromatina. Nota-se a formação do acrossoma.

Nas espermatídes V, a região do acrossoma começa a cobrir o núcleo, ocupando quase toda a superfície (Figura 14).

As espermatídes VI mostra a condensação do acrossoma, apresentando uma matriz forte, densa e granular. O acrossoma propaga-se formando uma “tampa” cobrindo grande parte do envoltório nuclear (Figura 14).

As espermatídes VII mostra a migração do núcleo para região periférica da membrana plasmática, nota-se o início da desorganização do nucléolo. O acrossoma passa a cobrir grande parte da superfície nuclear, ocorrendo uma associação aos microtúbulos na região distal (Figura 14).

Nas espermatídes IX ocorre o alongamento nuclear, o acrossoma cobre por sua totalidade o núcleo, assumindo um formato de seta. Observa-se que nesta etapa o nucléolo não pode ser visto (Figura 14).

As espermatídes X apresenta o deslocamento total do anel nuclear na região do núcleo, há o início da organização da peça intermediária, com os aglomerados mitocondriais. Também foi notada a formação do “perfuratorium” na região rostral do núcleo (Figura 14).

As espermatídes XI mostram-se de formato alongado, a cabeça da espermatíde apresenta um “perfuratorium” proeminente. Observa-se na cauda atribuição e alinhamento dos aglomerados de mitocôndrias para a peça intermediária (Figura 14).

As espermatídes XII possuem um formato semelhante ao do espermatozóide, com a bainha mitocondrial organizada, a partir da peça intermediária, e da bainha fibrosa, a partir da peça principal. Nota-se grande mudança no compartimento citoplasmático diferindo das outras espermatídes (Figura 14). Esta é a última etapa antes da espermição e liberação dos espermatozoides no lúmen tubular.

5.1.2.4 Espermatozoides

O espermatozóide é formado por uma cabeça, pescoço, peça intermediária, peça principal e por uma parte final. A cabeça do espermatozoide é coberta externamente por uma membrana plasmática na parte superior do núcleo, com um espaço separando-o da membrana externa acrossomal, e ligando a sua porção final, na região terminal do acrossoma, o segmento equatorial. Estendendo-se da membrana interna acrossomal para o meio do acrossoma nota-se o “perfuratorium”. O núcleo mostra-se com uma cromatina densa e homogênea, e de formato em seta (Figura 15). O pescoço mostra-se na concavidade da base do núcleo, onde o centríolo proximal está ligado à placa basal e a membrana nuclear. A peça intermediária é uma região mais curta e apresenta pares mitocondriais. O diâmetro vai diminuindo na região da cauda, dando origem a peça principal.

A peça principal mostra-se maior que a peça intermediária. Apresentam fibras densas exteriores a partir da bainha fibrosa que se estendem e diminui e desaparecem na porção final da parte principal. A parte final, de difícil observação, apresenta um filamento axial delimitado por uma membrana plasmática (Figura 15).

5.1.2.5 Células de Sertoli e Células de Leydig

As células de Sertoli na fase impúbere são chamadas como células indiferenciadas de suporte. Nesta fase estas células são caracterizadas por um formato nuclear irregular, mostrando-se aderida à membrana basal e com um compartimento citoplasmático pequeno com poucas organelas. Com a entrada na fase púbere, estas permanecem associadas à membrana basal, onde possuem extensões citoplasmáticas envolvendo as células da linhagem espermatogênica. O núcleo se mostra grande e de formato triangular, com um nucleoplasma eucromático e homogêneo. O nucléolo apresentou-se disperso, ocupando uma região da área nuclear. O compartimento citoplasmático apresenta estruturas subcelulares, como o retículo endoplasmático, complexo de Golgi, mitocôndrias e ribossomos (Figura 18).

Ao nascimento, as células de Leydig não preencheram o espaço intersticial, encontrava-se em grupos de células, com um formato nuclear irregular, de coloração escura com citoplasma granular altamente denso. O citoplasma nestas células

encontra-se marcado por abundantes inclusões lipídicas. As mitocôndrias são abundantes com cristas tubulares típicas de células esteroideogênica. O retículo endoplasmático liso e vesículas são comuns, e o retículo endoplasmático rugoso encontra-se associado às mitocôndrias. Aos 45 dias, as células de Leydig encontravam-se emparelhadas e associadas aos vasos sanguíneos. Também são observados o complexo de Golgi, uma extensa rede de retículo endoplasmático liso e poucos lipídeos. Aos 120 dias, nota-se que as células de Leydig preencheram a maior parte do espaço intersticial em um menor espaço intercelular entre os túbulos seminíferos. As células de Leydig apresentaram-se de formato arredondado e núcleos ovais. O compartimento citoplasmático mostrou-se rico em retículo endoplasmático. Raramente foi observadas gotículas de lipídeo no citoplasma (Figura 19).

Figura 1 - Testículo, preá (*G. spixii*) ao nascimento e aos 15 dias de idade. Observam-se cordões testiculares sólidos (c), apresentando gonócitos (g) e células indiferenciadas de suporte (seta). No espaço intercordonal observa-se células intersticiais de Leydig (L). Fotomicrografia, Método HE, Barra= 50 µm.

Figura 2 - Testículo, preá (*G. spixii*) 30 dias de idade. Observar os túbulos seminíferos, apresentando espermatogônias (a) e células de Sertoli (s), placas metafásicas (seta) e espermatócitos primários (e). Nota-se o processo de luminação (L) e túbulos seminíferos em processo de luminação avançado (L). Fotomicrografia, Método HE. Barra= 50µm

Figura 3 - Testículo, preá (*G. spixii*), 45, 60, 75 e 90 dias de idade. Túbulos seminíferos luminados em diferentes fases do ciclo do epitélio seminífero (Ts). Notam-se espermatozoides (e) no lúmen pela primeira vez aos 45 dias. Em maior aumento, observa-se parte do epitélio seminífero no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero composto por espermatogônias (a), espermatócitos primários em pré leptóteno/leptóteno (PI/I), espermatócitos primários em paquíteno (pq) e espermatídes arredondadas (ar). Em "A" 45 dias, em "B" 45 dias, em "C" 60 dias, em "D" 75 dias, em "E" 90 dias, em "F" 90 dias. Fotomicrografias, Método HE.

Figura 4 - Testículo, preá (*G. spixii*), 120 e 150 dias de idade. Túbulos seminíferos luminados com o epitélio germinativo formado em diferentes fases do ciclo do epitélio seminífero. Observa-se a presença de espermatozóides no lúmen tubular (e). Notam-se nas duas idades o epitélio seminífero no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero: espermatogônia (a), espermatócitos primários em PL / L (PI/I), espermatócitos primários em paquíteno (pq), espermátides arredondadas (ar) e células de Sertoli (seta). Em "A" 120 dias, em "B" 150 dias. Fotomicrografia, Método HE. Barra= 20 μ m.

Figura 5 - Testículo, preá (*G. spixii*). Em “A”, corte sagital do testículo. Observam-se os túbulos seminíferos separados em lóbulos (ts), na região central, nota-se a rede testis (rt) e a túnica albugínea envolvendo o testículo, Eletromicrografia, Método MEV, 300µm. Em “B”, observa-se ao nascimento, o testículo na fase sexual impúbere, mostrando um parênquima testicular composto por cordões testiculares sólidos (cs), Eletromicrografia, Método MEV, 200µm. Em “C”, nota-se o parênquima testicular na puberdade, aos 75 dias de idade, os túbulos seminíferos (ts) encontram-se em luminação completa (cabeça da seta). Observa-se também que o ducto epididimário mostra-se em mesmo estágio de luminação (e), Eletromicrografia, Método MEV, 1 nn

Figura 6 - Testículo, preá (*G. spixii*) ao nascimento e aos 15 dias de idade. Observam-se cordões testiculares sólidos (cs, seta), poucos tipos celulares no compartimento cordonal. Ausência de luminação tubular (*) foi notada. Em “A” e “B” ao nascimento, em “C” e “D” aos 15 dias de idade. Eletromicrografia, Método MEV.

Figura 7 - Testículo, preá (*G. spixii*) 30, 45, 60, 75 e 90 dias de idade. Primeiras modificações no compartimento tubular foram observadas aos 30 dias de idade. Nota-se o processo de luminação (L) e túbulos seminíferos em processo de luminação avançado (L). No decorrer das idades, observa-se túbulos seminíferos com processo de luminação completo, epitélio germinativo (ep) em diferentes fases do ciclo do epitélio seminífero. Presença de espermatozóide (e) se mostrou constante a partir de 45 dias de idade. Em “A” 30 dias, em “B” 45 dias, em “C” 60 dias, em “D” e “F” 75 dias, em “E” 90 dias. Eletromicrografia, Método MEV.

Figura 8 - Testículo, preá (*G. spixii*), 120 e 150 dias de idade. Túbulos seminíferos luminados com o epitélio germinativo (ep) formado em diferentes fases do ciclo do epitélio seminífero. Observa-se a presença de espermatozóides no lúmen tubular (e). Em “A” e “C” 120 dias, em “B” 150 dias. Eletromicrografia, Método MEV.

Figura 9 - Testículo, preá (*G. spixii*) ao nascimento, aos 15 dias e aos 30 dias de idade.

Observam-se cordões testiculares sólidos (c), apresentando gonócitos (g) e células indiferenciadas de suporte (s). Aos 15 dias, os cordões testiculares apresentam células germinativas em diferenciação (estrela) e início de luminação do cordão (*). Aos 30 dias, podem ser vistos que os cordões estão em processo de luminação (*). No compartimento cordonal as células germinativas encontraram-se em diferenciação (estrela). Nota-se no compartimento intercordonal as células de Leydig e vasos sanguíneos (seta). Em “A” ao nascimento, em “B” e “C” aos 15 dias e em “D” aos 30 dias de idade. Fotomicrografia, Método Azul de Toluidina.

Figura 10 - Testículo, preá (*G. spixii*), 45, 60, 75, 90, 120 e 150 dias de idade. Túbulos seminíferos luminados com o epitélio germinativo (ep) formado em diferentes fases do ciclo do epitélio seminífero. Observa-se a presença de espermatozoides no lúmen tubular (e). Notam-se o desenvolvimento do epitélio germinativo nos diferentes grupos etários. Em “A” 45 dias, em “B” 60 dias, em “C” 75 dias, em “D” 90 dias, em “E” 120 dias e em “F” 150 dias. Fotomicrografia, Método Azul de Toluidina.

Figura 11 – Células da linhagem espermatogênica, células pré-meióticas, preá (*G. spixii*). Em “A” espermatogônias do tipo A_d “escura”, nota-se elevado grau de aderência à lamina basal (seta). Em “B” espermatogônia do tipo A_p “pálida”, observa-se um grau intermediário de adesão à lamina basal (seta). Em “C” espermatogônias do tipo B, nota-se o menor grau de aderência à lâmina basal (seta) e a presença de aglomerados de cromatina condensada no núcleo e pontos de cromatina condensada (estrela). (BL, lâmina basal; m, mitocôndrias; N, núcleo; No, nucléolo; rER, retículo endoplasmático rugoso; sER, retículo endoplasmático liso; Mc, células mióides). Eletromicrografia, Método MET.

Figura 12 – Células da linhagem espermatogênica, células meióticas (meiose I), préa (*G. spixii*). Em “A” espermatócitos em pré-leptóteno, “B” espermatócitos em leptóteno, “C” Espermatócitos em zigóteno, “D” espermatócitos em paquíteno, “E” espermatócitos em diplóteno, “F” espermatócitos em diacinese, “G” espermatócitos em metáfase. Observa-se a formação de pontos de condensado cromatina no núcleo (A). Nota-se o aumento no grau de condensação da cromatina em torno dos complexos sinaptonêmicos (setas). Há uma desorganização do nucléolo (materiais nucleolares dispersos) do leptóteno para diplóteno, com certas partes associadas a uma única região cromossômica em diacinese (F); o quadro estrutural no meio dos cromossomos em diacinese (F); a quebra do envelope nuclear na metáfase (G - seta) com os centríolos posicionados em polo oposto da célula (C, centríolos; Ch, cromossomos; m, mitocôndria; rER, RE rugoso; sER, RE liso; No, nucléolo). Eletromicrografia, Método MET.

Figura 13 – Células da linhagem espermatogênica, células meióticas (meiose II), preá (*G. spixii*). Em “A” Espermatídes I. Nota-se a pouca diferenciação deste tipo de espermatíde, os núcleos são esféricos. O corpo cromatóide e o complexo de Golgi estão estreitamente relacionados. Os centríolos são vistos na proximidade da membrana plasmática e mitocôndrias estão espalhadas por todo o citoplasma. “B” Espermatídes II, observa-se o desenvolvimento do complexo de Golgi e formação de vesículas pro-acrossomal (C, seta), mitocôndrias estão associadas a este complexo. O deslocamento de centríolos para a vizinhança do complexo de Golgi também foi observado. “C” Espermatídes III, nota-se o deslocamento dos centríolos para o polo oposto a formação do acrossomo para o desenvolvimento do axonema. “D” Espermatídes IV, observa-se vacúolos pro-acrossomal com forma redonda e compacto, juntando-se ao envelope nuclear (setas). Note-se a proximidade do corpo cromatóide para a região da formação acrossoma. (a, acrossoma; C, centríolos; Cb, o corpo de cromatóide; G, complexo de Golgi; m, mitocôndrias; N, núcleo; No, nucléolo; PV, pro-acrossomal vacúolo; rRE, RE rugoso). Eletromicrografia, Método MET.

Figura 14 – Células da linhagem espermatogênica, células meióticas (meiose II), preá (*G. spixii*). Em “A” Espermatídes V, Nota-se a associação íntima do acrossoma com o envelope nuclear. “B” Espermatídes VI, condensação e expansão do acrossoma, formando uma tampa de matriz granular densa, que cobre uma grande superfície do núcleo. “C” Espermatídes VII, migração do núcleo para a membrana plasmática; início da desorganização nucleolar; e desenvolvimento de uma elevação na região distal do acrossoma que se associa com os microtúbulos (seta). “D” Espermatídes IX, ocorre o alongamento nuclear, acrossoma estende-se em sua totalidade o núcleo (seta), assumindo uma forma de seta. “E” Espermatídes X, o anel nuclear completa o seu deslocamento para a região posterior do núcleo (seta). “F” Espermatídes XI, a cabeça das espermatídes possui um “perfuratorium” proeminente (seta). “G” Espermatídes XII, as espermatídes alcançam o formato básico do espermatozóide, com a bainha da peça intermediária mitocondrial e da bainha fibrosa. (a, acrossoma; m, mitocôndrias; N, núcleo; No, nucléolo; MP, peça intermediária; P/seta, “perfuratorium”; PP, peça principal). Eletromicrografia, Método MET.

Figura 15 - Ultraestrutura do espermatozóide, preá (*G. spixii*). (A) secção longitudinal do espermatozóide. (a, acrossoma; Af, filamento axial; An, anel, Bp, placa basal; Es, segmento equatorial; Fs, bainha fibrosa; m, mitocôndrias, N, núcleo; Od, fibras exteriores densas; P, perforatorium; Pc, centríolo proximal; Pm, membrana plasmática; RNM, membrana nuclear redundante; Sf, fibras satélite; Ss, espaço subacrosomal).

Figura 16 - Testículo, préa (*G. spixii*). Observam-se os compartimentos cordonal e intercordonal do testículo na fase sexual impúbere. No espaço intercordonal (1) observa-se células intersticiais de Leydig (2) e vasos sanguíneos (3). A membrana basal (5) dos cordões testiculares sólidos (6) apresentam células mióides (4). No interior dos cordões são vistos gonócitos (7) e células indiferenciadas de suporte (8). Eletromicrografia, Método MET, 10 μ m.

Figura 17 - Testículo, preá (*G. spixii*). Porção da parede tubular na fase sexual impúbere mostrando a organização das células dentro do limite do cordão seminífero (2). Nota-se gonócitos (g) em processo de transformação para espermatogônias (g) e células indiferenciadas de suporte (3). No espaço intercordonal observa-se células intersticiais de Leydig e vasos sanguíneos (1). Eletromicrografia, Método MET, 10 µm.

Figura 18 – Células de Sertoli em diferentes fases sexuais, preá (*G. spixii*). Em “A” célula indiferenciada de suporte, nota-se o formato irregular do núcleo e citoplasma com poucas organelas. Em “B” célula de Sertoli, fase púbere, observa-se o formato triangular do núcleo, nucléolo com cromatina condensada e presença de muitas mitocôndrias no compartimento citoplasmático. Em “C” células de Sertoli, nota-se aderência à lâmina basal e uma maior área citoplasmática. (BL, lâmina basal; m, mitocôndrias; N, núcleo; No, nucléolo; rER, retículo endoplasmático rugoso; sER, retículo endoplasmático liso;). Eletromicrografia, Método MET.

Figura 19 – Células de Leydig em diferentes fases sexuais, preá (*G. spixii*). Em “A” célula de Leydig, ao nascimento, nota-se o formato irregular do núcleo. Mostra-se com um grande espaço intersticial. Nesta fase, observam-se grupos de células com muitas inclusões lipídicas. Em “B” célula de Leydig, 45 dias, observa-se a abundância de mitocôndrias, retículo endoplasmático desenvolvido e vesículas. Em “C” células de Leydig, 90 dias, nota-se muitos grupos de mitocôndrias associadas ao retículo endoplasmático. Poucas gotículas de lipídio foram vistas. Em “D” célula de Leydig, 120 dias, mostra-se com mitocôndrias e retículo endoplasmático. Gotículas de lipídio são vistas ocasionalmente. (LC, células de Leydig; m, mitocôndrias; No, nucléolo; rER, retículo endoplasmático rugoso; sER, retículo endoplasmático liso; L, gotículas de lipídio; v, vesículas). Eletromicrografia, Método MET.

5.2 VIA ESPERMÁTICA

5.2.1 Epidídimo

O epidídimo do preá ao nascimento a 105 dias de idade apresentam várias secções em diferentes orientações, com um epitélio que varia de colunar alto a colunar baixo ou pseudo-estratificado esterociliado, entremeado por tecido conjuntivo. Uma camada de tecido conjuntivo denso envolve o epidídimo (Figuras 20-29). O lúmen do epidídimo passa por um processo de luminação do nascimento aos quinze dias de idade (Figuras 20-22). Nas fases púberes e pós-púberes os espermatozoides são identificados no lúmen tubular (Figuras 22 -23).

A cabeça do epidídimo apresenta um epitélio do tipo pseudoestratificado esterociliado envolto por uma camada de tecido conjuntivo. Notam-se diferentes tipos celulares característicos: células principais, de maior número; células basais, de núcleo ovóide, localizadas na lâmina basal; e as células apicais próximas ao lúmen com presença de linfócitos migrantes (Figuras 21-29).

O corpo do epidídimo mostra características epiteliais, entre a cabeça e a cauda do epidídimo, do tipo colunar pseudoestratificado, com presença de espermatozoides em seu lúmen (Figura 22).

A cauda do epidídimo apresenta um epitélio colunar baixo, de menor espessura que nas outras regiões do epidídimo, sendo colunar simples. No interstício nota-se tecido conjuntivo e vasos sanguíneos (Figuras 22-23).

Figura 20- Epidídimo, preá (*G. spixii*) ao nascimento e aos 15 dias de idade. Ductos epididimários (D) com ausência de espermatozóides e interstício composto por tecido conjuntivo frouxo (c). Observa-se que os ductos epididimários (D) estão revestidos internamente por epitélio colunar simples (setas). Em “A” e “B” ao nascimento, em “C” e “D” aos 15 dias de idade. Fotomicrografia, Método HE.

Figura 21- Epidídimo, preá (*G. spixii*) aos 30 dias de idade. Nota-se o tecido conjuntivo denso (c) envolvendo o epidídimo. Observa-se que os ductos epididimários (D) estão sofrendo o processo de luminação (*), portanto não há presença de espermatozóides no tubo epididimário. Em “A” e “B” aos 30 dias de idade. Fotomicrografia, Método HE.

Figura 22- Epidídimo, preá (*G. spixii*) aos 45, 60, 75 e 90 dias de idade. Ductos epididimários (D) com processo de luminação completo. Nota-se pela primeira vez aos 45 dias de idade a presença de espermatozoides (e). Interstício composto por tecido conjuntivo frouxo (c) e vasos sanguíneos. A porção do ducto apresentou um epitélio que varia de colunas pseudo-estratificado a colunar simples (Ep). Em “A” e “B” aos 45 dias, em “C” e “D” aos 60 dias, em “E” e “F” aos 75 dias, em “G” e “H” aos 90 dias de idade. Fotomicrografia, Método HE.

Figura 23 - Epidídimo, preá (*G. spixii*) aos 120 e aos 150 dias de idade. Ductos epididimários (D) com processo de luminação completo. Nota-se espermatozóides (e) no lúmen do ducto. Interstício composto por tecido conjuntivo frouxo (c) e vasos sanguíneos (setas). A porção do ducto apresentou um epitélio colunar simples (Ep), com predominância das células principais (p) e células basais (b). Em “A” e “B” aos 120 dias, em “C” e “D” aos 150 dias. Fotomicrografia, Método HE.

Figura 24 - Epidídimo, preá (*G. spixii*), ao nascimento e aos 15 dias de idade. Observa-se que os ductos epididimários (D) estão revestidos internamente por epitélio colunar simples (Ep). Nota-se que os ductos epididimários (D) estão sofrendo o processo de luminação, portanto não há presença de espermatozóides no lúmen. Em “A” Eletromicrografia, Método MEV, 100µm, em “B” Eletromicrografia, Método MEV, 30µm, em “C” Eletromicrografia, Método MEV, 100µm, em “D” Eletromicrografia, Método MEV, 30µm.

Figura 25 - Epidídimo, preá (*G. spixii*), aos 30, 45, 75 e 90 dias de idade. Observa-se que os ductos epididimários (D) estão revestidos internamente por epitélio colunar simples (Ep). Nota-se que aos 30 dias, os ductos epididimários (D) estão em processo de luminação (*), não apresentando espermatozoides em seu lúmen. Espermatozoides (e) foram vistos a partir dos 45 dias de idade. Em “A” 30 dias, em “B” 45 dias, em “C” 75 dias e em “D” 90 dias de idade. Eletromicrografia, Método MEV.

Figura 26 - Epidídimo, preá (*G. spixii*), aos 120 e 150 dias de idade. Ductos (D) da cauda do epidídimo com presença de espermatozoides (e), epitélio colunar simples (Ep). Em “A” e “B” 120 dias, e em “C” e “D” 150 dias de idade. Eletromicrografia, Método MEV.

Figura 27 - Epidídimo, preá (*G. spixii*), ao nascimento, 30, 45 e 120 dias de idade. Nota-se a evolução do desenvolvimento do ducto epididimário (D). Nota-se pela primeira vez aos 45 dias de idade a presença de espermatozóides (e). Interstício composto por tecido conjuntivo frouxo (c) e vasos sanguíneos (seta). A porção do ducto apresentou um epitélio que varia de pseudo-estratificado colunar a colunar simples (Ep) com predominância das células principais (p) e células basais (b). Em "A" e "B" ao nascimento, em "C" e "D" aos 30 dias, em "E" e "F" aos 45 dias, em "G" e "H" aos 120 dias de idade. Fotomicrografia, Método Azul de Toluidina.

Figura 28 - Epidídimo, preá (*G. spixii*), porção do epitélio epididimário diagramado para mostrar a organização das células do epidídimo nas fases impúbere e púbere. Notam-se as células basais (B) e células principais (P) compondo o epitélio seminífero. Reticulo endoplasmático rugoso (RER) e mitocôndrias (m) mostram-se evidentes na região citoplasmática. Em “A” aos 15 dias e em “B” aos 120 dias. Eletromicrografia Fotomicrografia, Método MET.

Figura 29 – Células do epitélio do epidídimo, preá (*G. spixii*). Em “A” célula principal, “B” célula basal.

(G, complexo de Golgi; m, mitocôndria; rER, RE rugoso; sER, RE liso; N, núcleo).

Eletromicrografia, Método MET.

5.2.2 Ducto Deferente

5.1.1 Microscopia de Luz e Microscopia Eletrônica de Varredura

Diferentes segmentos de ductos deferentes de preás em secções transversais são observados e assim foi determinado seu desenvolvimento. Do nascimento aos 150 dias de idade o epitélio do ducto deferente mostra-se do tipo pseudoestratificado colunar esterociliado (Figuras 30 -38), com células variando de altas a baixas (Figura 38). As células principais apresentaram um núcleo alongado com um citoplasma claro e as células basais uma forma arredondada e com um citoplasma claro (Figuras 30, 31, 38). O epitélio apoia-se sobre uma lâmina basal seguida pelo tecido conjuntivo que com o avanço da idade emite septos para o lume, apresentando um aspecto pregueado da mucosa. O epitélio apresenta-se circundado por duas camadas de tecido muscular, uma mais interna, disposta de forma circular, e outra mais externamente, com uma orientação longitudinal (Figuras 30-38). Aos 150 dias de idade são notadas presença de espermatozoides no lúmen (Figura 32).

Figura 30- Ducto deferente, preá (*G. spixii*) ao nascimento e aos 15 dias de idade. Notam-se as camadas musculares internas (mi) e externas (me) do ducto, o epitélio mostrou-se ser do tipo pseudoestratificado colunar (Ep), constituído pelas células principais (p) de formato alongado e pelas células basais circulares (c), apoiados por uma lâmina própria (lm). Observa-se um lúmen (l) pouco desenvolvido. Em “A” ao nascimento, em “B” aos 15 dias, em “C” ao nascimento. Fotomicrografia, Método HE.

Figura 31- Ducto deferente, preá (*G. spixii*) aos 45, 60, 75 e 90 dias de idade. Observa-se a mucosa do ducto pregueada envolta por uma camada muscular interna (m_i) e outra mais externa disposta longitudinalmente (m_e). O epitélio (Ep) pseudoestratificado colunar esterociliado (seta) foi observado, e suas células principais mostram-se de citoplasma claro (p) e as células basais circulares (c), apoiados sobre a lâmina própria (lm). Espermatozoides (e) foram vistos no lúmen do ducto. Em “A” e “B” 45 dias, em “C” 60 dias, em “D” 75 dias, em “E” e “F” 90 dias. Fotomicrografia, Método HE.

Figura 32- Ducto deferente, preá (*G. spixii*) aos 120 e 150 dias de idade. Observa-se a mucosa do ducto pregueada, envolta por duas camadas musculares, uma mais interna (m_i) e outra mais externa (m_e). A mucosa do ducto apresenta um epitélio pseudoestratificado colunar estereociliado (Ep) apoiado sobre a lâmina própria (lm). Espermatozóides (e) foram presentes no lúmen do ducto. Em “A” e “B” 120 dias F, em “C” e “D” aos 150 dias. Fotomicrografia, Método HE.

Figura 33 - **Ducto Deferente, preá (*G. spixii*), ao nascimento e aos 15 dias de idade.** Notam-se as camadas musculares internas (mi) e externas (me) do ducto, o epitélio mostrou-se com diferentes pregueamento. Observa-se um lúmen (l) pouco desenvolvido. Em “A” ao nascimento, em “B” e “C” 15 dias. Eletromicrografia, Método MEV.

Figura 34 - **Ducto Deferente, preá (*G. spixii*), 30, 45, 60, 75 e 90 dias de idade.** Notam-se as camadas musculares internas (m_i) e externas (m_e) do ducto, o epitélio mostra-se com diferentes pregueamento. Observa-se estereocílios no epitélio (seta). Em “A” 30 dias, “B” 45 dias, “C” 60 dias, “D” 75 dias, “E” 90 e em “F” 60 dias de idade. Eletromicrografia, Método MEV.

Figura 35 - **Ducto Deferente, preá (*G. spixii*), 120 e 150 dias de idade.** Notam-se as camadas musculares internas (m_i) e externas (m_e) do ducto, o epitélio mostra-se do tipo pseudoestratificado colunar (ep). Observa-se o lúmen completamente desenvolvido (L). Em “A” e “C” 120 dias, em “B” e “D” 150 dias de idade. Eletromicrografia, Método MEV.

Figura 36- Ducto deferente, preá (*G. spixii*) ao nascimento, 30 e 45 dias de idade. Observa-se a mucosa do ducto pregueada envolta por uma camada muscular interna (m_i) e outra mais externa disposta longitudinalmente (m_e). O epitélio (Ep) pseudoestratificado colunar esterociliado (seta) foi observado, e suas células principais mostram-se de citoplasma claro (p) e as células basais circulares (c), apoiados sobre a lâmina própria (lm). Espermatozoides (e) foram vistos no lúmen do ducto. Em “A” e “B” ao nascimento, em “C” e “D” 30 dias, e em “D” e “E” 45 dias de idade. Fotomicrografia, Método Azul de Toluidina.

Figura 37- Ducto deferente, preá (*G. spixii*). Porção do epitélio diagramado para mostrar a organização das células do ducto deferente. Notam-se as células basais (B) as células principais (P) e os estereocílios (E) compondo o epitélio seminífero. Em "A" aos 120 dias. Eletromicrografia Fotomicrografia, Método MET.

Figura 38- Ducto deferente, preá (*G. spixii*). Células do epitélio do epidídimo, preá (*G. spixii*). Em “A” célula principal, “B” célula basal. (G, complexo de Golgi; m, mitocôndria; rER, RE rugoso; sER, RE liso; N, núcleo). Eletromicrografia, Método MET.

5.2.3 Uretra e Pênis

O Pênis do preá é formado por uma cápsula de tecido conjuntivo denso que constitui a túnica albugínea do tecido erétil do corpo cavernoso. Observa-se que ao redor da uretra existe uma menor quantidade de tecido erétil. O corpo esponjoso da uretra mostra-se envolto por uma camada de tecido conjuntivo denso a exemplo do corpo cavernoso (Figura 39A). Pode-se observar o epitélio de transição na uretra peniana (Figura 39B).

Figura 39 - Secções do corpo do pênis do preá aos 30 dias de idade. Em A (50x), Observa-se o corpo cavernoso (c) rodeado de tecido conjuntivo denso; nota-se também o corpo esponjoso (e), próximo à uretra (u) e circundado pela túnica albugínea (ta). Em B (200x), nota-se o epitélio de transição (Ep) da uretra peniana. Fotomicrografia, Método HE.

6 DISCUSSÃO

Os órgãos genitais masculinos do preá estão representados por um par de testículos, epidídimo, ducto deferente, as glândulas genitais acessórias, o pênis, o prepúcio e o escroto. As glândulas sexuais acessórias da maioria dos mamíferos incluem a glândula vesicular, glândula coaguladora, próstata e as glândulas bulbouretrais, contudo nem todas as glândulas sexuais acessórias estão presentes nas espécies de mamíferos (MOLLINEAU et al., 2009).

A organização morfológica dos órgãos genitais masculinos do preá se assemelha a disposição e a localização das encontradas em outras espécies de roedores. Nos preás impúberes os órgãos genitais masculinos estão pouco desenvolvidos. Os testículos são pequenos com o epidídimo aderido, um ducto deferente retilíneo e pequena proporção das glândulas acessórias. Ao atingir a puberdade aos 45 dias, o testículo mostra-se os túbulos seminíferos formados com as diferentes células da linhagem espermatogênica e espermatozóides presente no lúmen tubular (SANTOS et al., 2012).

6.1 TESTICULO

6.1.1 Morfologia do testículo

O parênquima testicular do preá (*Galea. spixii*) ao nascimento e aos 15 dias de idade, são formados por cordões testiculares e um compartimento intercordonal com presença de células Leydig, vasos e nervos. No interior dos cordões testiculares observaram-se gonócitos e as células indiferenciadas de suporte. Os cordões testiculares ainda não se encontravam em processo de luminação e liberação de espermatozóides. O interstício constituído de tecido conjuntivo frouxo apresentou grupos de células de Leydig, assim como relatado em porquinhos da

Índia (COOPER; SCHILLER, 1975). Em cutias Assis Neto et al. (2003b,e) descreveu o início do processo de luminação dos cordões entre 6 a 8 meses de idade.

Aos 30 dias de idade observou-se um aspecto histológico semelhante. Foram ainda vistas, nos túbulos seminíferos do preá, placas metafásicas. De acordo com CLEMONT e PEREY (1957) numerosas figuras de mitoses foram visualizados em ratos de quatro dias de idade.

Os animais de 45, 60, 75 e 90 dias apresentam túbulos seminíferos com processo de luminação formado e com estádios do ciclo do epitélio seminífero definido, ainda foram constatados túbulos seminíferos em processo de luminação e células do epitélio em diferentes fases de divisões celulares, no rato albino tais tipos celulares foram observados aos 18 dias de idade.

Aos 120 e 150 dias de idade os túbulos seminíferos se encontravam em diferentes associações celulares do epitélio seminífero, mostrando espermatozóides liberados no lúmen tubular. Foram observados também túbulos seminíferos em processo de luminação com as células do epitélio germinativo em processo de divisão celular, como observado em suínos por França (1991) aos seis meses de idade.

Nos grupos etários a partir dos 45 dias de idade observa-se uma assincronia do desenvolvimento testicular, notado em suínos (FRANÇA et al., 1988) e aos sete meses de idade em cutias (ASSIS NETO et al., 2003a,b,d,e). Nestas idades, em alguns animais, há presença de espermatozóides no lúmen tubular, entretanto, os estágios do ciclo do epitélio seminíferos não se apresentavam completamente definidos por todo parênquima testicular. Considerando a visualização de espermatozóide no lume tubular, pode-se afirmar que o referido animal encontrava-se na fase puberal concordando com Courot et al., (1970) para a definição de puberdade do ponto de vista histológico.

6.1.2 Desenvolvimento da Espermatogênese

Espermatogênese é o desenvolvimento de células germinativas, espermatogônias tronco, originando os espermatozóides, uma célula haploide

altamente especializada (FRANÇA; RUSSELL, 1998). Pode ser dividida em três fases: fase de proliferação, a fase meiótica e espermiogênese (CLERMONT, 1972).

A fase de proliferação é a uma fase de renovação de células estaminais, cujo algumas espermatogônias dividem-se para reabastecer o “pool” de células-tronco, e outras irão sofrer divisões mitóticas, originando os espermatócitos (RUSSELL et al., 1990b). As espermatogônias possuem duas classificações: a associação entre as células e a sua disposição topográfica em relação à lâmina basal, que caracteriza em nove espermatogônias em espécies de roedores – A_s , A_{pr} , A_{al} , A_1 , A_2 , A_3 , A_4 , e B (DE ROOIJ, 2001); e a partir da morfologia nuclear, da condensação da cromatina e da posição dentro do epitélio seminífero, tendo três tipos identificados - A_d (escura), A_p (pálida) e B (SMITHWICK et al, 1996; EHMCKE et al, 2005). No presente estudo, os três tipos espermatogônias foram identificados e caracterizados como A_d , A_p e B . No entanto, nas diversas espécies de mamíferos, o número de gerações de espermatogônias não ultrapassa seis gerações (DE ROOIJ; RUSSELL, 2000).

A segunda fase do processo espermato gênico, a fase meiótica, é o processo em que espermatócitos ($2n$) sofrem divisões meióticas que originam espermatídes (n) (RUSSELL et al., 1990b). O processo começa nos espermatócitos em pré-leptótenos aumentando o seu tamanho nuclear, diferenciando-se em espermatócitos em leptóteno, iniciando a divisão celular. As características ultraestruturais do presente estudo são semelhantes a roedores e outros mamíferos (SCHLEIRMACHER; SCHMIDT, 1973; SOLARI; MOSES, 1973). A última fase corresponde a espermiogênese, o processo em que uma espermatíde arredondada diferencia-se em um espermatozóide capaz de fertilizar (CLERMONT, 1972). O número de passos na diferenciação das espermatídes varia em diferentes espécies (GUNAWARDANA; SCOTT, 1977; SINGWI; LALL, 1983; LIN; JONES, 1993; GÓES; DOLDER, 2002; SEGATELLI et al., 2002). Durante espermiogênese no *G. Spixii*, os seguintes eventos ocorrem: a condensação da cromatina nuclear, a formação do acrossoma, a eliminação do citoplasma residual, e o desenvolvimento do flagelo, processo semelhante na maioria dos mamíferos (GUNAWARDANA; SCOTT, 1977; LALLI; CLERMONT, 1981; CHATCHAVALVANICH et al., 2005).

Atualmente, a observação e análise da ultraestrutura do espermatozóide têm sido utilizadas como uma ferramenta importante para a identificação e classificação de diversos grupos de animais, desde anfíbios (COSTA et al., 2004.) e para alguns

grupos de mamíferos (SOON-JEONG et al, 2006) A ultraestrutura do espermatozoide do preá, mostra uma cabeça mais alongada dotada de um “perfuratorium”, semelhante aos marsupiais (LLOYD et al, 2008), a chinchila, gerbil, rato e hamster (FAWCETT; EDDY; PHILLIPS, 1970;. SEGATELLI et al., 2002). Assim, os dados mostram que o processo do desenvolvimento da espermatogênese do preá segue a conformação dos mamíferos (FAWCETT; EDDY; PHILLIPS, 1970; HOFFER et al, 1981).

6.1.3 Células de Sertoli e Células de Leydig

No que diz respeito à organização e modificação das células de Sertoli durante a espermatogênese em preás, são semelhantes aos descritos nos mamíferos em geral (RUSSEL; GRISWOLD, 1993). Os presentes resultados sugerem que, por sua organização estrutural, as células de Sertoli podem desempenhar um papel na regulação da espermatogênese, contribuindo para a maturação simultânea de células germinativas. Depois de atingir a puberdade, as células de Sertoli estão modificadas, com estruturas como um retículo endoplasmático estendido, e mitocôndrias com cristas tubulares. A este respeito, pode ser discutido que os elementos celulares derivados das células de Sertoli dão suporte a espermatogênese a se manter ativamente (FRANÇA; RUSSEL, 1998).

No preá, células de Leydig adultos podem ser distinguidas das células fetais pelo baixo teor lipídico, maior tamanho, uma tendência para formar agregados e uma forma irregular, assim como em outros roedores (ZIRKING; EWING, 1987, KERR e KNELL, 1988). O padrão de diferenciação celular de Leydig nos testículos do preá segue o observado em mamíferos e difere apenas no que diz respeito ao tempo. As células de Leydig podem ser identificadas ao nascimento como células intersticiais que são marcadas por um acúmulo de inclusões lipídicas, sendo estas derivadas de células mesenquimais indiferenciadas do interstício testículo. Algumas destas células mesenquimais tornam-se células de Leydig, enquanto outras formam células mióides peritubulares, fibroblastos e as células da túnica albugínea.

À medida que as células se desenvolvem o número de mitocôndrias, e especialmente a quantidade de REL, aumentam gradualmente. O aumento no tamanho da célula é acompanhado por um aumento global na abundância das células intersticiais. O acúmulo de lipídios é comum em populações fetais e puberal (LORDING e De KRETZER, 1972; GONDOS et al 1974), provavelmente resultado de animais imaturos ou vias de andrógenos inativa. No preá o conteúdo lipídico inicialmente é alto, acompanha de uma diminuição e reaparece em animais aos 45 dias, indicando o início da produção de espermatozoides. Em marsupiais, os andrógenos apresentam níveis baixos até a puberdade, coincidindo com o alto teor de lipídeos nessa fase (WILLIAMSON et al. 1990; RENFREE et al. 1992).

As células de Leydig apresentam um citoplasma de coloração escura, contendo mitocôndrias com cristas tubulares típico de células produtoras de esteroides. O REL se desenvolve com o avanço dos grupos etários, sendo que está diretamente relacionado com a produção de testosterona (ZIRKIN et al. 1980). Aos 120 dias, o REL é mais desenvolvido. No entanto, o REL nos dias iniciais não apresenta uma grande extensão, e a presença de lipídio nestas células sugere que a via enzimática esteroidogênica não é totalmente funcional.

6.2 VIA ESPERMÁTICA

6.2.1 Epidídimo

O mesmo revestimento epitelial observado nas regiões da cabeça do epidídimo do preá foi descrito para a capivara (PAES-DE-BARROS et al., 2000) sendo do tipo pseudo-estratificado. Na região da cauda, o epitélio mostra-se do tipo colunar simples, visto para a espécie *Cuniculus paca* como também no rato gigante da Índia (AMIYA; MAITI, 1982). Embora que para esta espécie, os autores relatam que a altura das células epiteliais diminui da região da cabeça para a cauda; este arranjo epitelial foi também encontrado no hamster dourado (NICANDER; GLOVER, 1973) e no rato (ABE; TAKANO; ITO, 1982). No coelho (NICANDER, 1956) e para a

cobaia (HOFFER; GREENBERG, 1978), o epitélio epididimário foi descrito como do tipo colunar, com presença de estereocílios, esta estrutura é observada no preá. Nas regiões da cabeça e corpo do epidídimo do preá, foi constatada a presença de diferentes tipos celulares: células principais, basais, apicais e linfócitos, já, no rato, Hebel e Stromberg (1986) encontraram, além dos três primeiros tipos, células claras e basofílicas.

6.2.2 Ducto deferente

O epitélio do ducto deferente no preá mostra-se pseudo-estratificado colunar com crescente presença de estereocílios com o avanço da idade, apresentando semelhanças ao rato gigante da Índia (AMIYA; MAITI, 1982) e no rato (NIEMI, 1965), espécies em que o epitélio também identificado como pseudoestratificado com estereocílios proeminentes. O epitélio do preá possui dois tipos celulares: as células principais e as basais, ambas apresentando citoplasma claro, diferindo-se pela forma de seus núcleos, as primeiras mostraram um núcleo alongado, enquanto as basais seus núcleos tem formato arredondado, estes dois tipos celulares foram observados por Sprando et al. (1999) no ducto deferente do rato de areia.

Dando sustentação ao epitélio, nota-se um tecido conjuntivo entremeado por duas camadas de músculo liso, uma delgada camada longitudinal externa e uma circular interna mais espessa que a primeira; sendo que esta disposição foi observada em ratos por Kennedy e Heider JR. (1979).

6.2.3 Uretra e Pênis

Histologicamente o pênis do preá apresenta uma estrutura que se assemelha ao da paca (BORGES, 2004) e ao da cutia (MENEZES, 2001), constituído por uma camada de tecido conjuntivo denso compondo a túnica albugínea do corpo esponjoso e corpo cavernoso. O epitélio que revestia a uretra, na paca, era do tipo

de transição e este mesmo tipo de epitélio foi observado por Junqueira e Martins (1947) na uretra do rato.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

No estudo da espermatogênese e da via espermáticas de preás (*Galea spixii*) do nascimento a 150 dias de idade, por meio das análises dos resultados conclui-se que:

O início da atividade reprodutiva dos preás foi observado a partir dos 45 dias de idade, pois já podem ser observados espermatozoides liberados no lúmen tubular;

O desenvolvimento das células da linhagem espermatogênica apresenta semelhança a outros roedores e mamíferos;

O desenvolvimento das células de Sertoli e de Leydig está diretamente relacionado com a entrada da puberdade;

Os órgãos genitais masculinos do preá passaram por transformações morfológicas no transcorrer das fases do desenvolvimento sexual. Este estudo foi importante para confirmar o início da puberdade que nesta espécie ficou evidenciada aos 45 dias de idade, quando são observados espermatozóides em segmento da via espermática;

Os dados apresentados permite determinar pela primeira vez, o início da puberdade e o desenvolvimento gonadal de preás criados em cativeiro, contribuindo, desse modo, para o aprimoramento de estudos da fisiologia reprodutiva a fim de que seja possível melhorar o manejo produtivo da espécie. Podem-se classificar as seguintes fases do desenvolvimento sexual: do nascimento aos 15 dias de idade corresponderam à fase impúbere; 30 dias de idade a fase pré-púbere; 45, 60, 75 e 90 dias de idade a fase púbere; e 120 e 150 dias de idade a fase pós-púbere.

REFERÊNCIAS

- ABE, K.; TAKANO, H.; ITO, T. Response of the epididymal duct in the corpus epididymidis to efferent of epididymal duct ligation in the mouse. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 64, n. 1, p. 69-72, 1982.
- ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear population from microtome sections. **Anatomical Record**, v. 92, n. 2, p. 239-247, 1946.
- ADDU, P. G.; AWUMBILA, B.; AWOTWI, E.; ANKRAH, N-A. Reproductive characteristics of the female grasscutter (*Thryonomys swinderianus*) and formulation of colony breeding strategies. **Livestock Research for Rural Development**, v. 19, p. 28-37, 2007.
- AGUILERA-MERLO, C.; FOGAL, T.; SATOR, T.; DOMINGUEZ, S.; SOSA, M.; SCARDAPANE, L.; PIEZZI, R. Ultrastructural and biochemical seasonal changes in epididymal corpus and cauda of Viscacha (*Lagostomus maximus maximus*). **Journal of Morphology**, v. 270, p. 805-814, 2009.
- ALMEIDA, F. F. L.; LEAL, M. C.; FRANÇA, L. R. Testis morphometry, duration of spermatogenesis, and spermatogenic efficiency in the wild boar (*Sus scrofa scrofa*). **Biology of Reproduction**, v. 75, p. 792-799, 2006.
- AMANN, R. P.; ALMQUIST, J. O. Reproductive capacity of dairy bull. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. **Journal Dairy Science**, v. 45, n. 1, p. 774-781, 1962.
- AMANN, R. P.; SCHANBACHER, B. D. Physiology of male reproduction. **Journal Animal Science Supplement**, v. 57, n. 2, p. 380-403, 1983.
- AMIYA, P.; MAITI, B. R. Quantitative studies of the accessory reproductive organs of the male bandicoot rat: A common rodent pest. **Anatomischer Anzeiger**, v. 151, p. 483-495, 1982.
- ANGULO, J. J.; ALVAREZ, M. T. The genital tract of the male conga hutia *Capromys pilorides* (Say, 1822). **Journal Mammalogy**, v. 29, p. 277- 285, 1948.
- ASHDOWN, R. R.; HAFEZ, E. S. E. Anatomia da reprodução masculina. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 6. ed. São Paulo: Manole, 1995. cap. 1, p. 3-20.
- ASSIS NETO, A. C.; MELO, M. I. V. de; CARVALHO, M. A. M. de; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F. de. Análise histométrica do desenvolvimento testicular em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiro. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p. 202-208, 2003a. Suplemento 3.
- ASSIS NETO, A. C.; MELO, M. I. V. de; CARVALHO, M. A. M. de; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F. de; MENEZES, D. J. A. de; PAPA, P. C.; KFOURY JÚNIOR, J. R. Análise qualitativa do estabelecimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta*

aguti) criadas em cativeiros. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p. 180-184, 2003b. Suplemento 3.

ASSIS NETO, A. C.; CARVALHO, M. A. M. de; MELO, M. I. V. de; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F. de; ALMEIDA, M. M. de; PAPA, P. C., KFOURY JUNIOR, J. R. Aspectos biométricos do desenvolvimento testicular e corporal de cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40 (supl), p. 154 - 160, 2003c. Suplemento, 2.

ASSIS NETO, A. C.; MELO, M. I. V.; CARVALHO, M. A.; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F.; AMBRÓSIO, C. E.; SOUZA, S. M. M. Histologic quantification of the seminiferous tubules cells and spermatogenesis yield in Agoutis (*Dasyprocta aguti*) raised in captivity. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 40, p. 175-179, 2003d. Suplement, 3.

ASSIS-NETO, A. C.; CARVALHO, M. A. M. de; MELO, M. I. V. de; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F. de; MARIANA, A. N. B. Fases do desenvolvimento e diferenciação testicular em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p. 71-79, 2003e. Suplemento 1.

ASSIS-NETO, A. C.; MELO, M. I. V.; CARVALHO, M. A. M.; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F.; AMBRÓSIO, C. E.; SILVA, S. M. M. S.; BLASQUEZ, F. X. H.; PAPA, P. C.; KFOURY JUNIOR, J. R. Quantificação de células dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiro. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 175-179, 2003f. Suplement, 3.

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

BACHA JUNIOR, W. J.; BACHA, L. M. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003. 457 p.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. 629 p.

BARBOSA, L. P.; RODRIGUES, M. V.; NEVES, M. M.; MORAIS, D. B.; MELO, B. E. S.; BALARINI, M. K. Caracterização da calpocitologia em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, n. 4, p. 258-266, 2007.

BARBOUR, R. A. Histology and histochemistry of the accessory reproductive glands in the male hairy-nosed wombat (*Lasiorninus latifrons*). **Histochemistry**, v. 72, p.133-148, 1981.

BARONE, R.; PAVAUX, C.; BLIN, P. C.; CUQ, P. **Atlas of anatomia du lupin**. Paris: Masson, 1973. 241 p.

- BEDFORD, J. M. Effect of duct ligation on the fertilizing ability of spermatozoa in the epididymis of the rabbits. **Journal Experimental Zoology**, v. 166, p. 271-282, 1967.
- BENTON, L.; SHAN, L. X.; HARDY, M. P. Differentiation of adult Leydig cells. **Journal Steroid Biochemistry Molecular Biology**, v. 53, n. 1-6, p. 61-68, 1995.
- BERNDTSON W. E. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **Journal Animal Science**, v. 44, n. 5, p. 818-883, 1977.
- BILASPURI, G. S.; GURAYA, S. S. The seminiferous epithelial cycle and spermatogenesis in rams (*ovis aries*). **Theriogenology**, v. 25, n. 4, p. 485-505, 1986.
- BORGES, E. M. **Morfologia dos órgãos genitais masculinos da paca (*Agouti paca*, Linnaeus, 1766)**. 2004. 165 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- BUSSO, J. M.; PONZIO, M. F.; CUNEO, M. F.; RUIZ, R. D. Year-round testicular volume and semen quality evaluations in captive Chinchilla lanigera. **Animal Reproduction Science**, v. 90, p.127-134, 2005.
- CALVALCANTE-FILHO, M.F.; CARVALHO, M.A.M.; MIGLINO, M.A. Estudo Morfológico do pênis da Cutia (*Dasyprocta aguti*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, 17., 1996, Fortaleza-CE. **Anais...** 1996. 94 p.
- CALVO, A.; PASTOR, L. M.; MARTÍNEZ, E.; VÁZQUEZ, J. M.; ROCA, J. Age-related changes in the hamster epididymis. **Anatomical Record**, v. 256, p. 335-346, 1999.
- CARDOSO, D. L. **Puberdade em caititus (*Tayassu tajacu*): estudo da espermatogênese em diferentes faixas etárias**. 2009. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Universidade Federal do Pará, Pará, 2009.
- CARDOSO, F. M. **Morfologia, cinética e quantificação da espermatogênese em zebus (*Bos indicus*)**. 1981. 208 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 1981.
- CARDOSO, F. M.; GODINHO, H. P. Morphological events occurring in the seminiferous tubules of the brazilian Nelore zebu associated with puberty. **Anatomischer Anzeiger**, v. 145, n. 3, p. 262-267, 1979.
- CARVALHO, A. F.; LIMA, M. C.; SANTOS, T. C.; BONATELLI, M.; MIGLINO, M. A.; SAMOTO, V. Y.; OLIVEIRA, M. F.; AMBRÓSIO, C. E.; PEREIRA, F. T. V.; MARTINS, J. F. P. Análise microscópica do ovário de cateto em fase gestacional. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 27, n. 2, p. 278-279, 2003.
- CASTRO, A. C. S.; BERNDTSON, W. E.; CARDOSO, F. M. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em estudos da reprodução de mamíferos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 21, n. 1, p. 25-34, 1997.

CEPEDA, R.; ADARO, L.; PEN~AILILLO, P.; OROSTEGUI, C. Seasonal morphological variations of bulbourethral glands of chinchilla (*Chinchilla laniger*, Grey) in captivity. **Revista Chilena de Anatomía**, v. 17, n. 1, p. 59–66, 1999.

CHATCHAVALVANICH, K., THONGPAN, A., NAKAI, M. Ultrastructure of spermiogenesis in a freshwater stingray, *Himantura signifier*. **Ichthyological Research**, 52, 379–385, 2005.

CHAVES, E. M.; AGUILERA-MERLO, C.; FILIPPA, V.; MOHAMED, F.; DOMINGUEZ, S.; SCARDAPANE, L. Anatomical, histological and immunohistochemical study of the reproductive system accessory glands in male viscacha (*Lagostomus maximus maximus*). **Anatomia Histologia, Embriologia**, v. 40, n. 1, p. 11–20, 2011.

CHIASSEON, R. B. **Laboratory anatomy of the white rat**. 2. ed. Arizona-USA: Wm. C. Brow, 1969. 81 p.

CLERMONT, Y. Cycle de l'épithélium seminal et mode de renouvellement des spermatogonies chez le hamster. **Revue Canadienne Biologie**, v. 13, p. 208-245, 1954.

CLERMONT, Y. Cycle of the seminiferous epithelium of the guinea pig: a method for identification of the stages. **Fertility and Sterility**, v. 11, p. 563-573, 1960.

CLERMONT, Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. **Physiological Reviews**, v. 52, n. 1, p. 198-236, 1972.

CLERMONT, Y. The cycle of the seminiferous epithelium in man. **American Journal of Anatomy**, v. 112, p. 35-51, 1963.

CLERMONT, Y.; PEREY, B. Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. **The American Journal of Anatomy**, v. 100, p. 241-268, 1957.

COOK, M. J. **The anatomy of the laboratory mouse**. London: Academic Press, 1965. 417 p.

COOPER, G.; SCHILLER, A. L. **Anatomy of guinea pig**. Cambridge, Mass: Harvard University Press, 1975. 417 p.

CORRADELLO, E. F. **A criação de preá**. São Paulo: Ícone, 1987. p.15-37.

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

COSTA, D. S.; PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P. The intertubular compartment morphometry in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. **Animal Reproduction Science**, v. 91, p. 173-179, 2006.

COSTA, D. S.; SILVA, J. F. S. Wild boar (*Sus scrofa scrofa*) seminiferous tubules morphometry. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, p. 739-745, 2006.

COSTA, G. C.; VIEIRA, G. H. C.; TEIXEIRA, R. D.; GARDA, A. A.; COLLI, G. R.; BÃO, S. N. Na ultrastructural comparative study of the sperm of *Hyla pseudopseudis*, *Scinax rostratus*, and *S. squalirostris* (Amphibia: Anura: Hylidae). **Zoomorphology** 123,191–197, 2004.

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, 1970. v. 1, p. 339-432.

COUTINHO, L. M. Ecological effect of fire in Brazilian cerrado. In: B. J. Huntley & B. H. Walker (eds.) **Ecology of tropical savannas**. Berlin, Springer-Verlag, p. 273-291, 1982.

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

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

DELHON, G.; LAWZEWITSCH, I. **Lecciones de histología veterinaria**: aparato reproductor masculino comparado. Hemisferio Sur, Buenos Aires, 1985. 51 p.

DELLMANN, H. D.; BROWN, E. M. **Histología veterinaria**. Zaragoza: Acribia, 1980. 331 p.

DELLMANN, H. D.; WROBEL, K. Sistema reproductor masculino, In: DELMANN, H.; BROWN, E. M. **Histologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. cap. 12, p. 232-253.

DE ROOIJ, D.G. Proliferation and differentiation of spermatogonial stem cells. **Reproduction** 121, 347–354, 2001.

DE ROOIJ, D.G.; RUSSELL, L. D. All you wanted to know about spermatogonia but were afraid to ask. **Journal of Andrology**, v.21, n. 6, p. 776-798, 2000.

De ROOIJ, D. G.; GROOTEGOED, J. A. Spermatogonial stem cells. **Current Opinion in Cell Biology**. v. 10, p. 694-701, 1998.

DE ROOIJ, D. G.; LOK, D. Regulation of the density of spermatogonia in the seminiferous epithelium of the Chinese hamster: II. Differentiating spermatogonia. **Anatomical Record**, v.217, p.131-137, 1987.

DOMINGUES, S. F. S.; CALDAS-BUSSIÉRE, M. C. Fisiologia e biotécnicas da reprodução desenvolvidas em fêmeas de primatas neotropicais importantes para a pesquisa biomédica. **Revista Brasileira de Reprodução**, v. 30, p. 57-71, 2007.

DYCE, R. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **O tratado de anatomia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 816 p.

EHMCKE, J.; LUETJENS, C. M.; SCHLATT, S. Clonal organization of proliferating spermatogonial stem cells in adults males of two species of non-human Primates, *Macaca mulatta* and *Callithrix jacchus*. **Biology of Reproduction**, v. 72, p. 293–300, 2005.

EISENBERG, J. F.; RERDFORD, K. H. **Mammals of the neotropics**: the Central Neotropics, Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil. Chicago: University of Chicago Press, 1999. v. 3, 609 p.

EWING, L. L.; ZIRKIN, B. R.; COCHRAN, R. C.; KROMANN, N.; PETERS, C.; RUIZ-BRAVO, N. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell mass. **Endocrinology**, v. 105, n. 5, p. 1135-1142, 1979.

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

FAWCETT, D. W.; EDDY, E. M.; PHILLIPS, D. M. Observations on the Fine Structure and Relationships of the Chromatoid Body in Mammalian Spermatogenesis. **Biology of Reproduction**. v. 2, p. 129-153, 1970.

FLICKINGER, C. J. Synthesis, transport and secretion of protein in the initial segment of the mouse epididymis as studied by electron microscope radioautography. **Biology of Reproduction**, v. 20, p. 1015-1030, 1979.

FORGATY, N. M.; LUNSTRA, D. D.; YOUNG, L. D. Breeds effects and heritability of testis measurements in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 51, p. 177, 1980. Supplement, 1.

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

FRANÇA, L. R. **Desenvolvimento testicular de suínos da raça Piau, do nascimento aos 12 meses de idade**. 1987. 79 f. Dissertação (Mestrado Biologia Celular) - Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG, Belo Horizonte, 1987.

FRANÇA, L. R.; AVELAR, G. F.; ALMEIDA, F. F. L. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. **Theriogenology**, v. 63, p.300-318, 2005.

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

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

FRANÇA, L. R.; CASTRO, A. C. S.; CARDOSO, F. M.; BARBOSA, A. S. Desenvolvimento testicular de suíno. I. Aspectos biométricos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 40, n. 3, p. 165-180, 1988.

FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L. D. The testis of domestic animals, In: REGADERA, J.; MARTÍNEZ-GARCIA, F. (Ed.). **Male reproduction: a multidisciplinary overview**. Madrid: Churchill Livingstone, 1998. p. 197- 219.

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

FRANÇA, L. R.; YE, S-J.; YING, L.; SANDBERG, M.; RUSSEL, L. D. Morphometry of rat germ cells during spermatogenesis. **Anatomical Record**, v. 241, p. 181-204, 1995.

FRANCIOLLI, A. L. R.; COSTA, G.M.; MANÇANARES, C. A. F.; MARTINS, D. S.; AMBRÓSIO, C. E.; MIGLINO, M. A.; CARVALHO, A. F. Morfologia dos órgãos genitais masculinos de quati (*Nasua nasua*, Linnaeus 1766). **Biotemas**, v. 20, n. 1, p. 27-36, 2007.

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, p. 51-63, 1991.

GENDT, K.; ATANASSOVA, N.; TAN, K. A. L.; FRANÇA, L. R. Development and function of the adult generation of Leydig cells in mice with Sertoli. **Endocrinology**, v. 146, n. 9, p. 4117-4126, 2005.

GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de janeiro: Guanabara koogan, 1997. p.147-153.

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

GÓES, R.M., DOLDER, H. Cytological steps during spermiogenesis in the house sparrow (*Passer domesticus* Linnaeus). **Tissue Cell** 34, 273–282, 2002.

GOMES, W. R.; VANDERMARK, N. L. (Ed.). **The testis**. New York: Academic Press, 1970.

GONDOS, B.; PAUP, D.; ROSS, J.; GORSKI, R. Ultrastructural differentiation of Leydig cells in the fetal and postnatal hamster testis. **Anatomical Record**. 178 , 551–566, 1974.

GREENE, E. C. **Anatomy of the rat**. Philadelphia: American Philosophical Society, 1963. 370 p.

GRIFFIN, J. E.; WILSON, J. D. **Distúrbios dos testículos**. Harrison: medicina interna. 15. ed. Rio de Janeiro: Mc Graw-Hill Interamericana do Brasil, 2002.

GRIFFITH, J. Q.; FARRIS, E. J. **The rat in laboratory investigation**. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1949. p. 33-35.

GUDE, W. D.; COSGROVE, G. E.; HIRSCH, G. P. **Histological atlas of the laboratory mouse**. New York: Plenum Press, 1982. p. 70-79.

GUERRA, M.O. Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitpelo seminífero, em dados da literatura. **Revista Brasileira Biologia**, v. 43, n. 4, p. 385-394, 1983.

GUIMARÃES, D. A.; BASTOS, L. V.; FERREIRA, A. C. S.; LUZ-RAMOS, R. S.; OHASHI, O. M.; RIBEIRO, H. L. Características reprodutivas da paca fêmea (Agouti paca) criada em cativeiro. **Acta Amazônica**, v. 38, p. 531-538, 2008.

GUIMARÃES, D. A.; RAMOS, L. R.; OHASHI, O. M.; GARCIA, G. W.; VALE, W. G. Plasma concentration of progesterone and 17-beta-estradiol of black-rumped agouti (*Dasyprocta prymnolopha*) during the estrous cycle. **Revista Biologia Tropical**, v. 59, n. 1, p. 29-35, 2011.

GUNAWARDANA, V.K., SCOTT, M.G.A.D. Ultrastructural studies on the differentiation of spermatids in the domestic fowl. **Journal of Anatomy**. 124 (3), 741–755, 1977.

HAMILTON, D. W.; COOPER, T. G. Gross and Histological variations along the length of the rat vas deferens. **Anatomical Record**, v. 190, n. 4, p. 795-780, 1978.

HART, R. G.; GRENSTEIN, J. S. Um papel recém-descoberto para a secreção da glândula de Cowper na coagulação do esperma de roedores. **Journal Reproduction Fertility**, v.17, p.87-94, 1968.

HEBEL, R.; STROMBERG, M. V. **Anatomy and embriology of the laboratory rat**. Wörthensee: BioMed Verlag, 1986. 270 p.

HELLER, C. G.; CLERMONT, Y. Kinetics of the germinal epithelium in man. **Recent Progress in Hormone Research**, v. 20, p. 545-571, 1964.

HESS, R. A.; SCHAEFFER, D. J.; EROSCHENKO, V. P.; KEEN, J. E. Frequency of the stages in the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Biology of Reproduction**, v. 43, p. 517-524, 1990.

HINTON, B. T. The testicular and epididymal luminal amino acid microenvironment in the rat. **Journal Andrology**, v. 11, p. 498-505, 1990.

HOFFER, A. P.; GREENBERG, J. The structure of the epididymis, efferent ductules and ductus deferens of the guinea pig: a light microscopy study. **Anatomical Record**, v. 190, n. 3, p. 659-678, 1978.

HOOKE, C. W. The intertubular tissue of the testis. In : JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; WANDEMARK, N. L. (Ed.). **The testis**. New York: Academic, 1970. p. 703-712.

HOSKEN, F. M. **Cutia é animal de criação vantajosa e carne rica em nutrientes**. 2010. Disponível em: <<http://www.cpt.com.br/noticias/cutia-e-animal-de-criacao-vantajosa-e-carne-rica-em-nutrientes>>. Acesso em: 06 jun. 2011.

HUMASON, G. L. **Animal tissue techniques**. 3. ed. San Francisco: W.H. Freeman and Co., 1972.

JOHNSON, L.; NGUYEN, H. B. Annual cycle of the Sertoli cell population in adult stallions. **Journal Reproduction Fertility**, v. 76, p. 311-316, 1986.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Aparelho Reprodutor Masculino. In: JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. cap. 21, p. 323-334.

JUNQUEIRA, L. C. U.; MARTINS, E. O. **Atlas de anatomia microscópica do rato**. São Paulo: Tipografia Rossolillo, 1947. 142 p.

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

KENNEDY, S.; HEIDGER JR., P. M. Fine structural studies of the rat vas Deferens. **The Anatomical Record**, v. 194, n. 1, p. 156-180, 1979.

KERR J.B., KNELL C.M. The fate of fetal Leydig cells during the development of the fetal and postnatal rat testis. **Development** 103 , 535–544, 1988.

LALLI, M., CLERMONT, Y. Structural changes of the head components on the rat spermatid during late spermiogenesis. **American Journal Anatomy**. 160, 419–434, 1981.

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

LIN, M., JONES, R.C. Spermiogenesis and spermiation in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Journal of Anatomy**. 183, 525–535, 1993.

LEAL, M.C. AND FRANÇA, L.R. Slow increase of Sertoli cell efficiency and daily sperm production causes delayed establishment of full sexual maturity in the rodent *Chinchilla lanigera*. **Theriogenology**, 71, p. 509-518, 2009.

LEBLOND, C. P.; CLERMONT, Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Annals New York Academy Sciences**, v. 55, p. 548-584, 1952.

LIPPERTS, H. **Anatomia texto y atlas**. Madrid: Marbón, 1999.425p.

LLOYD, S., CARRICK, F., HALL, L. Unique features of spermiogenesis in the Musky Rat-kangaroo: reflection of a basal lineage or a distinct fertilization process? **J. Anat.** 212, 257–274, 2008.

LORDING D., DE KRETZER D. Comparative ultrastructural and histochemical studies of the interstitial cells of the rat testis during fetal and postnatal development. **J Reprod Fertil** 29, 261–269, 1972.

LORENZANA, M. G.; LOPEZ-WILCHIS, R.; GOMEZ, C. S.; ARANZABAL, M. C. U. A Light and Scanning Electron Microscopic Study of the Epididymis Active State of the Endemic Mexican Rodent *Peromyscus winkelmani* (Carleton) (Rodentia: Muridae). **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 36, p. 230-240, 2007.

LUNA, L. G. **Manual of histology stainig methods of the armed forces intitute of pathology**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258 p.

LUNSTRA, D. D.; SCHANBACHER, B. D. Testicular function and Leydig cell ultrastructure in long-term bilaterally cryptorchid rams. **Biology of Reproduction**, v. 38, p. 211-220, 1988.

LUZ, P. A. C.; ANDRIGHETTO, C.; SANTOS, P. R. S.; JORGE, A.; CONSTANTINO, M. V. P. ; PEREIRA, F. T. V.; MESS, A.; ASSIS NETO, A. C. Daily sperm production and evaluation of morphological reproductive parameters of Murrah buffaloes in an extensive breeding system. **Spermatogenesis**, v. 2, n. 2, 2012 (*In print*)

MACHADO JUNIOR, A. A. N.; ASSIS NETO, A. C.; SOUSA, A.; MENEZES, D. J. A.; ALVES, F. R.; SOUSA, A. L.; CARVALHO, M. A. M.; ASSIS NETO, A. C . Daily sperm production and testicular morphometry in goats according to external scrotal conformation. **Animal Reproduction Science**, v. 127, p. 73-77, 2011.

MACHADO JUNIOR, A. A. N.; OLIVEIRA, L. S.; ASSIS NETO, A. C.; ALVES, F. R.; MIGLINO, M. A.; CARVALHO, M. A. M. Spermatogenesis in goats with and without scrotum bipartition. **Animal Reproduction Science**, v. 1, p. 30-40, 2012

MARTINEZ, F. E.; MARTINEZ, M.; GARCIA, P. J. Anatomia e histologia do ducto deferente da chinchila (*Chinchilla langer*). **Revista Brasileira de Ciência Morfológica**, São Paulo,v.11, p.184-188, 1994.

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

MARTUCCI, M. F.; PIRES FILHO, L. A. S.; MANÇANARES, C. A. F.; OLIVEIRA, P. C. de; AMBRÓSIO, C. E.; MIGLINO, M. A.; MARTINS, D. S.; ROSA, R. A.; SOUZA,

F. F. ; QUIRINEA, V. H. ; VILLAVERDE, A. I.; CARVALHO, A. F. de. Sistema reprodutor masculino de *Procyon cancrivorus* ("Mão-Pelada")-Estudo macro e microscópico associado ao modelo reprodutivo. In: **ENCONTRO DE PRODUÇÃO ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA – UNIFEOB**, 7., 2006, São João da Boa Vista – SP. 2006. 270 p.

MATAMOROS, Y. Anatomia e histologia del sistema reproductor del tepezcuinte (*Cunicullus paca*). **Revista Biología Tropical**, v. 29, p.155-164, 1981.

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

MELO, M. I. V.; VALE FILHO, V. R. Puberty in crossbred buffaloes. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 44, p. 537-542, 1992.

MELO, M. I. V.; VALE FILHO, V. R. Análise quantitativa do processo espermatogênico de búfalos jovens. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 17, n. 3/4, p. 75-80, 1993.

MELO, M.I. V.; VALE FILHO, V. R. Puberty in crossbred buffaloes. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 44, p. 537-542, 1992.

MENDES, B. V. **Plantas e animais para o nordeste**. Rio de Janeiro: Globo, 1987. 167p.

MENDIS-HANDAGAMA, S. M. L.C.; ARIYARATNE, H. B. Differentiation of the adult Leydig cell population in the postnatal testis. **Biology of Reproduction**, v. 65, n. 3, p. 660-671, 2001.

MENEZES, D. J. A. **Morfologia dos órgãos genitais masculinos da cutia (*Dasyprocta aguti*. Linnaeus, 1766)**. 2001. 169 f. Dissertação (Mestrado em Anatomia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

MENEZES, D. J. A.; ASSIS NETO, A. C.; OLIVEIRA, M. F.; MIGLINO, M. A.; PEREIRA, G. R.; AMBRÓSIO, C. E.; FERRAZ, M. S.; CARVALHO, M. A. M. Morphology of the male agouti accessory genital glands (*Dasyprocta prymnolopha* Wagler, 1831). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 9, p. 793-797, 2010.

MENEZES, D. J. A.; CARVALHO, M. A. M.; ASSIS NETO, A. C.; OLIVEIRA, M. F.; FARIAS, E. C.; MIGLINO, M. A.; MEDEIROS, G. X. Morphology of the external male genital organs of agouti (*Dasyprocta aguti*. Linnaeus, 1766). **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 40, n. 2, p. 148-153, 2003.

MOLLINEAU, W. M.; ADOGWA, A. O.; GARCIA, G. W. The Gross and micro anatomy of the accessory sex glands of the male agouti (*Dasyprocta leporina*). **Anatomia, Histologia, Embriologia**, v. 38, p. 204-207, 2009.

MOLLINEAU, W. M.; ADOGWA, A. O.; JASPER, N.; YOUNG, K.; GARCIA, G. W. The gross anatomy of the male reproductive system of a neotropical rodent: The agouti (*Dasyprocta leporina*). **Anatomia, Histologia, Embriologia**, v. 35, p. 47-52, 2006.

MOREIRA, J. R.; CLARCKE, J. R.; MACDONALD, D. W. The testis of capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Journal Mammalian**, 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.; ALVES, L. C. A. Avaliação histomorfométrica do parênquima testicular de ratos adultos Wistar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 799-808, 2006.

MURAKAMI, R.; MIZUNO, T. Proximal-distal sequence of development of the skeletal tissue in the penis of rat and the inductive effect of epithelium. **Journal of Embryology and Experimental Morphology**, v. 92, p. 133-143, 1986.

NAKANO, T.; MUTO, H. Scanning electron microscopic observation on the distal part of the male urethra of the mouse. **Zeitschrift fur Mikroskopisch-Anatomische Forschung**, v. 103, n. 1, p. 28-35, 1989.

NICANDER, L. On the regional histology and cytochemistry of the ductus epididymids in rabbits. **Acta Morphological Neerlando-Scandinava**, v. 1, p. 99-118, 1956.

NICANDER, L.; GLOVER, T. D. Regional histology and fine structure of the epididymal duct in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). **Journal Anatomical**, v. 114, n. 3, p. 347-364, 1973.

NIEMI, M. The fine structure and Histochemistry of the epithelial cells of the rat vas deferens. **Acta Anatomica**, v. 60, n. 1, p. 207-219, 1965.

NOGUEIRA FILHO, S. L. G.; NOGUEIRA, S. S. C. Criação Comercial de Animais Silvestres: Produção e Comercialização da Carne e de Subprodutos na Região Sudeste do Brasil. **Revista Econômica do Nordeste**, Fortaleza, v. 31, n. 2 p. 188-195, 2000.

NUNES, J. F. **Étude des effets du plasma seminal sur la survie in vitro des spermatozoïdes de bunc**. Paris. Université Paris VI, 1982. 45 p. Tese (Ciência da Vida).

OAKBERG, E. F. Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium. **American Journal Anatomy**, v. 99, p. 507-516, 1956.

ODA, S. H.; BRESSAN, M. C.; MIGUEL, G. Z.; VIEIRA, J. O.; FARIA, P. B.; SAVIAN, T. V.; KABEYA, D. M. Efeito do método de abate e do sexo sobre a qualidade da carne de capivara (*Hydrochaeris hydrochareis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 341-346, 2004.

OJASTI, J. Estudio biológico del chigüira o capibara. Caracas: **Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuárias**, 1973. 275 p.

OKWUN, O. E.; IGBOELI, G.; FORD, J. J.; LUNSTRA, D. D.; JOHNSON, L. Number and function of Sertoli cells, number and yield of spermatogonia, and daily sperm production in three breeds of boar. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 107, n. 1, p. 137-149, 1996.

OLDS, R. J.; OLDS, J. R. **A colour atlas of the rat dissection guide**. London: wolf Medical, 1979. p. 54-61.

OLIVEIRA E SILVA, J. R. Active muscle drugs in duoden and in terminal ileum of prea *Cavia aperea aperea* - ERXLEBEN -1777 (RODENTIA). **Revista de Odontologia da UNESP**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 73-83, 1993.

OLIVEIRA, G. B.; RODRIGUES, M. N.; SOUSA, E. S.; ALBUQUERQUE, J. F. G.; MOURA, C. E. B.; AMBRÓSIO, C. E.; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F. Origem e distribuição dos nervos isquiáticos do preá. **Ciências Rural**, v. 40, n. 8, p. 1741-1745, 2010.

OLIVEIRA, M. F.; MESS, A.; AMBRÓSIO, C. E.; DANTAS, A. G.; FAVARON, P. O.; MIGLINO, M. A. Chorioallantoic placentation in *Galea spixii* (Rodentia, Caviomorpha, Caviidae). **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 6, p. 39, 2008. doi: 10.1186/1477-7827-6-39.

ORSI, A. M.; DIAS, S. M.; NOREIRA, J. E.; CAMILI, 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.

ORSI, A. M.; VIOTTO, M. J. S.; SILVA, T. P.; GOMES, E. R. C. Histological regional e desenvolvimento pós-natal do epidídimo do camundongo negro isogênico (Rodentia-Muridae). **Revista Brasileira de Ciências Morfológicas**, v. 10, n. 1, p. 53-60, 1993.

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

ORTAVANT, R.; COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M. T. Espermatogénese em los mamíferos domésticos. In COLE, H. H.; CUPPS, P. T. **Reproduccion de los animales domésticos**. 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1984. p. 171-190.

ORTS, F. **Anatomía humana**. 3. ed. Barcelona: Científico-Médica, 1967. 691 p.

OD, J. L.; DE ROOIJ, D. G. Spermatogenesis in the Chinese hamster. **Anatomical Record**, v. 187, p. 113-124, 1977.

PAES DE BARROS, M. A. F.; RONDON, A. S.; PERSONA, L. N.; SIMÕES, M. J. Morfologia microscópica do epidídimo de capivara *Hidrochoerus hidrochaerís*. **Brazilian Journal Morphological Science**, v. 17, p. 158, 2000.

PARAÍBA. Prefeitura Municipal de Santa Luzia. **Ibama autoriza comercialização de preá**. Disponível em: <http://www.santaluzia.pb.gov.br/index.php?pg=noticias&id=794>. Acesso em 15 agosto, 2009.

PARREIRA, G. G.; CARDOSO, F. M. Reproductive biology of males *Bolomys lasiurus* Lund, 1841 (Rodentia, Cricetidae). I. Morphology of spermatogenesis and seminiferous epithelium. **Revista Brasileira Biologia**, v. 51, n. 3, p. 639-646, 1991.

PASHOV, B.; MATAMOROS, Y. Description histological del epitelio seminifero del testiculo del tepezcuente (*Cuniculus paca*, Brisson, 1962) e identificación de sus diferentes etapas. **Ciências Veterinárias**, v. 1, n. 6, p. 9-15, 1984.

PAULA, T. A. R. **Análise histométrica e funcional do testículo de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adulta**. 1999. 84 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular) - Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG, Belo Horizonte, 1999.

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

PERCEQUILLO, A.; SANTOS, K.; CAMPOS, B.; SANTOS, R.; TOLEDO, G.; LANGGUTH, A. Mamíferos dos remanescentes florestais de João Pessoa, Paraíba. **Biologia Geral Experimental**, v. 7, p. 17-31, 2007.

PICHERAL, B. Les elements cytoplasmiques au cours de la spermiogénèse du triton *Pleurodeles waltlii* Michah. II. La formation du cou et l'évolution des organites cytoplasmiques non intégrés dans le spermatozoide. **Z. Zellforsch.**, v. 131, p. 371-398, 1972.

PINHEIRO, P. F. F.; ALMEIDA, C. C. D.; SEGATELLI, T. M.; MARTINEZ, M.; PADOVANI, C. R.; MARTINEZ, F. E. Structure of the pelvic and penile urethra – relationship with the ducts of the sex accessory glands of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Journal of Anatomy**, v. 202, p. 431-444. 2003.

PIRES, A. Pre-and postnatal exposure to ambient levels of urban particulate matter (PM_{2.5}) affects mice spermatogenesis. **Inhalation Toxicology**, v. 23, p. 237-245, 2011.

POLAKOSKI, K. L.; KOPTA, M. Seminal plasma. In: ZANEVELD, L. J. D.; CHATTERTON, R. T. (Ed.). **Biochemistry of mammalian reproduction**. New York: John Wiley and Sons, Inc; 1982. p. 89-116.

QUEEN, K.; DHABUWALA, C.; PIERREPOINT, C. The effect of the removal of the various accessory sex glands on the fertility of male rats. **Journal Reproduction Fertility**, v. 62, p. 423-426, 1981.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2006. ISBN 3-900051-07-0. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em: 12 abr. 2012.

RASTOGI, R. K., BAGNARA, J.T., IELA, L. & KRASOVICH, M.A. Reproduction in the Mexican leaf frog, *Pachymedusa dacnicolor*. IV. Spermatogenesis: A light and ultrasonic study. **Journal of Morphology**, v. 197, p. 277-302, 1988.

REID, B. L.; CLELAND, K. W. The structure and function of the epididymis. I. The histology of the rat epididymis. **Australian Journal Zoology**, v. 5, n. 3, p. 223-246, 1957.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Editora da Universidade Estadual de Londrina, 2006. 437p.

RENFREE M.; WILSON J.; SHORT R.; SHAW G.; GEORGE, F. Steroid hormone content of the gonads of the Tammar Wallaby during sexual differentiation. **Biology of Reproduction**. v. 47, 644–647, 1992.

ROBAIRE, B.; HERMO, L. Efferent ducts, epididymis, and vas deferens structure, functions, and their regulation. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. **The physiology of reproduction**. New York: Raven Press, 1988. p. 999-1080.

RODRIGUES, R. F. **Caracterização morfológica da subplacenta em cutia (*Dasyprocta leporina*)**. 2005. 112 f. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

ROOSEN-RUNGE, E. C.; GIESEL, J. R. O. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. **American Journal 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. **Cell & Tissue Reserach**, v. 41, n. 3/4, p. 221-235, 1955.

ROOSEN-RUNGE, E. C. Germinal-cell loss in normal metazoan spermatogenesis. **Journal Reproduction Fertility**, v. 35, p. 339-348, 1973.

ROOSEN-RUNGE, E. C.; GIESEL JR., L. O. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. **The American of Anatomy**, v. 87, n. 1, p. 1-30, 1950. doi:10.1002/AJA.1000870102

RUSSEL, L. D. Mammalian Leydig cell structure. In: PAYNE, A. H.; HARDY, M. P.; RUSSELL, L. D. (Ed.). **The leydig cell**. Viena, IL.: Cache River Press, 1996.

RUSSEL, L. D.; CLEMONT, Y. Degeneration of germ cells in normal, hypophysectomized and hormone treated hypophysectomized rats. **Anatomical Record**, v. 187, p. 347-366, 1977.

RUSSELL, L. D.; CHANDRASHEKAR, V.; BARTKE, A.; SINHA-HIKIM, A. P. The hamster Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. **International Journal Andrology**, v. 17, p. 93-106, 1994.

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

RUSSELL, L. D.; GRISWOLD, M. D. **The certoli cell**. Clearwater, Florida: Cache River Press, 1993.

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

SANTOS, P. R. S.; OLIVEIRA, M. F.; SILVA, A. R.; ASSIS NETO, A. C. Development of spermatogenesis in captive bred spix's yellow-toothed (*Galea spixii*, Wagler, 1831). **Reproduction, Fertility and Development**. 2012. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/paper/RD12015.htm>>. Acesso em: 12 abr. 2012

SANTOS, P. R. S.; OLIVEIRA, M. F.; MENEZES, D. J. A.; RODRIGUES, M.N.; ASSIS NETO, A. C. Anatomia Microscópica dos órgãos genitais de preás adultos (*Galea spixii*) criados em cativeiro. In: SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP DRACENA, 5., 2009, Dracena. **Anais...** 2009.

SCHLEIRMACHER, E., SCHMIDT, W. Changes of the synaptonemal complex at the end of pachytene. **Humangenetik** 19, 235–245, 1973.

SEGATELLI, T.M., ALMEIDA, C.C.D., PINHEIRO, P.F.F., MARTINEZ, M., PADOVANI, C.R., MARTINEZ, F.E. Kinetics of spermatogenesis in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Tissue Cell** 34 (1), 7–13, 2002.

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

SILVA, G. C. O.; BERBARE, P. E. B.; ZACCARIOTTI, R. L.; CORRÊA, S. H. R.; OLIVEIRA, C. A.; GUIMARÃES, M. A. B. V. Estudo da correlação das características citológicas vaginais e os níveis séricos de estradiol e progesterona em leão africano (*Panthera leo*) mantidos em cativeiro. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 227-232, 2006.

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

SMITHWICK, E. B.; YOUNG, L. G.; GOULD, K. G. Duration of spermatogenesis and relative frequency of each stage in the seminiferous epithelial cycle of the chimpanzee. **Tissue and Cell**, v. 28, n. 3, p. 357-366, 1996.

SPRANDO, R.L. & RUSSELL, D. L. Spermatogenesis in the bullfrog (*Rana catesbeiana*): A study of cytoplasmic events including cell volume changes and cytoplasmic elimination. **Journal of Morphology**, v. 198, p. 303-319, 1988.

SOLARI, A.J., MOSES, M.J. The structure of the central region in the synaptonemal complexes hamster and cricket spermatocytes. **Journal of Cell Biology**. 56, 145–152, 1973.

SOON-JEONG, J., JOO-CHEOL, P., HEUNG-JOONG, K., CHUN, S.B., MYUNG-HEE, Y., DO-SEON, L., MOON-JIN, J. Comparative fine structure of the epididymal spermatozoa from three Korean shrews with considerations on their phylogenetic relationships. **Biocell** 30 (2), 279–286, 2006.

SPRANDO, R. L.; COLLINS, T. F. X.; BLACK, T. N.; OLEJNIK, N.; RORIE, J. L.; WEST, L. J.; BOWERS, J. D.; SASS, N.; ROBL, M. Light microscopic observations on the reproductive tract of the male sand rat, *Psammomys obesus*. **Tissue and Cell**, v. 31, p. 99-115, 1999.

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

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

TAIT, A. J.; JOHNSON, E. Spermatogenesis in the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) and changes during sexual regression. **Journal Reproduction Fertility**, v. 65, p. 53-58, 1982.

TOLEDO, M. L. B.; MESSIAS, A. G.; OHASHI, O. M. **Determination of the seminiferous epithelium cycle of *Dasyprocta prymnolopha* using the tubular morphology method.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11., 1995, Belo Horizonte. **Anais...**1995. p. 229.

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

TURNER, T. T. Spermatozoa are exposed to a complex microenvironment as they traverse the epididymis. **Annals New York Academy of Science**, v. 637, p. 364-383, 1991.

VALE FILHO, V. R. A evolução da andrologia veterinária no Brasil e no mundo. **Cadernos Técnicos em Veterinária e Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 7-14, 2001.

VAN AARDER, R. J.; SKINNER, J. D. Reproductive Biology of cape porcupine *Hystrix africaeaustralis*. **Journal Reproduction Fertility**, v. 76, n. 2, p. 545-552, 1986.

VAN HAASTER, L. H.; ROOIJ, D. G. Spermatogenesis is accelerated in the immature Djungarian and Chinese hamster and rat. **Biology Reproduction**, v. 49, n. 6, p. 1229-1235, 1993.

VICENTINI, C. A.; ORSI, A. M. Histologia regional do epidídimo no hamster champagne (*Mesocricetus auratus*). **Revista Brasileira Biologia**, v. 47, p. 277-281, 1987.

WEIR, B. J. Reproductive characteristics of hystricomorph rodents. **Symposia of the Zoological Society of London**, v. 34, p. 265-446, 1974.

WILDT, D. E. Lions, tigers, and pandas, oh my. **Journal of Andrology**, v. 26, n.4, p. 452-454, 2005.

WILLIAMSON, P.; FLETCHER, T.P.; RENFREE, M.B. Testicular development and maturation of the hypothalamic–pituitary–testicular axis in the male tammar, *Macropus eugenii*. **Journal Reproduction Fertility** 88, 549–557, 1990.

WING, T. Y.; CHRISTENSEN, A. K. Morphometric studies on rat seminiferous tubules. **American Journal of Anatomy**, v. 165, p. 13-25, 1982.

YANAGIAMACHI, R. Mammalian fertilization. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. (Ed.). **The physiology of reproduction**. New York: Raven Press, 1994. p. 189-317.

YOUNG, W. C.; CORNER, G. W. **Sex and internal secretions**. 3. ed. sex and internal secretions, 1961. 366 p.

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

ZIRKIN B., EWING L.L. Leydig cell differentiation during maturation of the rat testis: a stereological study of cell number and ultrastructure. **Anatomical Record** 19, 157–163, 1987.

ZOGNO, M. A.; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F. Análise bioquímica dos líquidos fetais e citologia do fluido amniótico da fêmea de Mico (Kerodon rupestris). **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 41, p. 228-235, 2004.

APÊNDICE

Development of spermatogenesis in captive-bred Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*)

P. R. S. Santos ^A, M. F. Oliveira ^B, A. R. Silva ^B and A. C. Assis Neto ^{A C}

^A Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, 05508 270 São Paulo, Brazil.

^B Department of Animal Science, Federal Rural University of the Semi-arid Northeastern Region (UFERSA), Av. Francisco Mota 52, 59625 900 Mossoró, Brazil.

^C Corresponding author. Email: antonioassis@usp.br

Reproduction, Fertility and Development - <http://dx.doi.org/10.1071/RD12015>
Accepted: 19 January 2012 Published online: 24 February 2012

Abstract

The aim of this study was to evaluate the phases of sexual development and spermatogenesis of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) based on analyses of the structural components of the testes. The testes of animals from 0 to 150 days of age were collected by orchiectomy, weighed, and processed for analysis by light microscopy. At 45 days of age, spermatozoa were seen in the tubular lumen. Spermatogenesis was not established in animals from 45 to 150 days of age. The stages of sexual development may be classified into the following phases: from birth to the age of 15 days (immature); 30 days of age (prepubertal); 45–105 days of age (pubertal); and 120 and 150 days of age (postpubertal). This is the first study to address the male reproductive biology of Spix's yellow-toothed cavy.

Additional keywords: puberty, rodentia, sexual development, testis, wild animal.

Introduction

Over the past few years, increased wild animal breeding has occurred with the establishment of specific farms. Knowledge of reproductive biology and physiology is important for conservation and species management; such knowledge also aids efforts to ensure the propagation of endangered species and provides tools for more sustainable use of animals by industry (Busso *et al.* 2005; Wildt 2005).

For male animals, the study of the stages of testicular development is particularly relevant. The stages associated with puberty and sexual maturity, which are crucial parameters in determining the magnitude of sperm production, are especially important (França *et al.* 1988a). These aspects of development are also important for male reproductive physiology and management (Leal and França 2009). The spermatogenic process occurs through the development of germ cells, the stem spermatogonia, which give rise to highly specialised haploid cells, the spermatozoa. The Sertoli cells and Leydig cells are extremely important in this process. Additionally, Sertoli cells are responsible for supporting and nourishing the germ cells, releasing spermatozoa into the lumen, while Leydig cells boost libido and maintain spermatogenesis (Bilaspuri and Guraya 1986; Benton *et al.* 1995; Chamindrani Mendis-Handagama and Siril Ariyaratne 2001; França *et al.* 2005; Gendt *et al.* 2005).

Various investigators have studied the testicular development of males of different species or breeds of domestic animals by histological analysis with the purpose of determining the period in which the onset of puberty takes place. These studies have included investigations of cattle (Cardoso and Godinho 1979; Curtis and Amann 1981), pigs (Orsi *et al.* 1985; França 1987), buffalo (Melo and Vale Filho 1992) and goats (Silva *et al.* 2000). However, similar studies on Brazilian wildlife are scarce and have primarily been performed on the collared peccary, white-lipped peccary, agouti paca and capybara (Assis-Neto *et al.* 2003a; Costa *et al.* 2004, 2006). Methods for histological quantification of the efficiency of spermatogenesis can accurately determine spermatozoa production in individuals of the same species or among species (Vale Filho 2001).

Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) is found in regions of the semidry to arid caatinga vegetation of northeast Brazil. It is an herbivorous species with grey hair and a ring of white hairs around the eyes. When mature it has a length of 22.5–23.5 cm, weighs between 375 and 405 g, and breeds throughout the year with a gestation period of ~48 days, producing litters of 2–4 pups (Eisenberg and Redford 1999; Oliveira *et al.* 2008). The aim of this study was to evaluate the histological and morphological characteristics of the testes to determine the

development of the spermatogenic process and the phases of sexual development in this species.

Materials and methods

Twenty-five male Spix's yellow-toothed caviés were studied, which were obtained from the Center of Reproduction of Wild Animals at the Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. The animals were divided into the following age groups for sampling: newborns ($n = 4$), 15 days ($n = 5$), 30 days ($n = 3$), 45 days ($n = 2$), 60 days ($n = 2$), 75 days ($n = 2$), 90 days ($n = 2$), 120 days ($n = 2$) and 150 days ($n = 2$) to facilitate the characterisation of the sexual phases of this species.

Collection was scheduled and performed in the period between 7 February 2009 and 30 November 2009. The project was conducted in accordance with the ethical principles of animal experimentation of the Animal Experimentation Ethics Committee of the School of Animal Science of Unesp Dracena (Protocol No. 009/2008).

Testis collection

The testes of animals from 0 to 150 days old were collected by orchiectomy and weighed. During the procedure, the older animals were anaesthetised with 0.025 mg mL^{-1} of atropine sulfate administered subcutaneously and 0.2 mL kg^{-1} of Zoletil administered intramuscularly. Animals that were 0, 30 and 45 days old were anaesthetised similarly to the other groups and then sacrificed due to the difficulty of finding the small testes within the abdominal cavity. After the orchiectomy, each testis was separated from its respective epididymis and then weighed and measured. The weight (g) was determined using an analytical balance (Kern 430–21 max. 50 g $d = 0.001 \text{ g}$; Baden, Württemberg, Germany), and the length was measured with a stainless steel pachymeter with divisions in millimetric units (Vernier caliper 4-way measurement, $150 \times 0.02 \text{ mm}$; Mitutoyo, Kawasaki, Japan).

Histological processing

Subsequently, the testes of each animal were placed in Bouin's solution for a period of 24 h. After dehydration in increasing concentrations of alcohol, followed by

changes of xylenes, they were embedded in paraffin (Luna 1968). A microtome (Leica RM 2145, Berlin, Germany) was used to obtain sections of 5- μ m thickness, which were stained with hematoxylin-eosin (HE). The slides were analysed under a light microscope (Leica DM 2500) and used to obtain microscopic descriptions of the organs.

Cord and tubular diameters

The diameter was determined from 30 cross-sections of seminiferous cords and/or tubules of each testis using an image analysis system (Leica Qwin 3.0). The cross-sections were randomly chosen by horizontal scanning, and those with contours that were as circular as possible were used. The mean diameters of cords and tubules were compared by applying Tukey's test (5%).

Seminiferous epithelial height

The seminiferous epithelial height was measured in 30 cross-sections of seminiferous tubules from animals of each age in stage I of the seminiferous epithelial cycle (SEC) chosen according to the tubular morphology method (Courot *et al.* 1970). The samples with the most circular contours were randomly chosen with the aid of an image analyser (Leica Qwin 3.0). The seminiferous epithelial heights were compared by applying Tukey's test (5%).

Seminiferous tubule cell type counts

These counts were performed in 10 cross-sections of the seminiferous tubules with contours that were as circular as possible and that exhibited the same stage of the SEC each testis. For counts of different cell types, stage 1 of the SEC was chosen according to the tubular morphology method (Courot *et al.* 1970). All cell counts were corrected for the thickness of the cut and nuclear diameter (DM) in accordance with the Abercrombie (1946) correction factor, as modified by Amann and Almquist (1962).

$$\text{Corrected number} = \text{count obtained} \times \frac{\text{cut thickness}}{\text{cut thickness} \times \sqrt{[(DM)^2/2 - (DM)^2/4]}}$$

The mean DM was obtained by measuring 10 nuclei of the studied cell type in each testis. The DMs were measured with the aid of Leica Qwin 3.0 software.

Yield and Sertoli index

From puberty onwards, the following parameters were determined: spermatogenic yield, which was calculated from the ratio between round spermatids and spermatogonia at stage I; and the Sertoli cell index, which was calculated from the ratio between the total number of round spermatids at stage I and the total number of Sertoli cells.

Statistical analysis

Mean and standard deviation descriptive analyses were performed for testicular biometric parameters with the GraphPad Prism4 program (GraphPad Software Inc, USA). The model used in the analysis of variance for age and testicular development was a completely randomised design, and Tukey's tests (5% significance level) and *t*-tests (5%) were used for comparisons among the means. Age, bodyweight and testicular biometric parameters were submitted to correlation tests conducted using Statistic-R software (R Development Core Team 2009).

Results

Macroscopic aspects

The mean and standard deviation of the biometric parameters of each age group are shown in Table 1. An abrupt increase in bodyweight and body length was observed from birth to the age of 15 days (Figura 1). After this peak, the bodyweight has shown in growth, and significant differences were observed relating to the establishment of puberty (Table 1). Figura 2 shows that from the age of 15 days the body length exhibited constant growth until 150 days of age.

The mean testicular weight showed linear growth from birth to the age of 15 days and was observed to slow during the prepubertal phase (Figura 3). Growth during the prepubertal and pubertal stages was not statistically different, although it differed from the growth at the immature and postpubertal stages (Table 1). As

depicted in Figura 4, the mean testicular length showed rapid growth up to 15 days, and after this period it presented linear growth, with no statistical differences being observed among groups (Table 1). These periods of increased growth in the first fifteen days of age coincide with the immature stage of sexual development.

Bodyweight showed a significant correlation with age, body length, testicular weight, testicular length, and seminiferous tubule diameter. A significant correlation was observed between body length and testicular length. There was a positive correlation between testicular weight and length and seminiferous tubule diameters (Table 2).

Microscopic observations

Testis histology

Histologically, the testicular parenchyma of animals from birth to the age 30 days is formed by testicular cords and internal cord compartments associated with the presence of Leydig cells, vessels and nerves. Within the testicular cords, gonocytes and undifferentiated supporting cells were observed. Gonocytes were located in the region close to the basal membrane, and their nuclei presented shapes ranging from circular to oval. The undifferentiated supporting cells were characterised by an elongated nucleus interspersed with gonocytes, and they were found side by side in the basal membrane. The testicular cords at this stage had no lumen; one of the five 15-day-old animals had a lumen in seminiferous tubules and mitotic structures were present (Figs 5a, b, 6). In this section, primary spermatogonia and spermatocytes were visualised. A 30-day-old animal showed seminiferous tubules undergoing a luminal process. In the same animal, Sertoli cells, metaphasic plates and cells at different stages of the seminiferous epithelial cycle, such as spermatogonia and spermatocytes in the pachytene and zygotene stages, were seen.

At 45 and 60 days of age, the testicular parenchyma was observed to be constituted of seminiferous tubules and interstitial tissue that contained Leydig cells and blood vessels. Seminiferous tubules of these animals had lumen, with a germinative epithelium being formed at different stages of the seminiferous epithelial cycle (Figura 7a, b). Spermatozoa were first observed in the tubular lumen at 45 days

of age (Figura 7a). Only one 45-day-old animal did not present some development of the germinative epithelium, with cells being observed at different stages of division (not shown).

Testicular cords and seminiferous tubules were observed in the testicular parenchyma of different 75- and 90-day-old animals. It was observed that one animal of each age showed luminal development of the testicular cords with gonocytes and undifferentiated supporting cells. The other animals at these ages presented seminiferous tubules containing lumina and seminiferous epithelial cells at different stages (Figura 7d, e).

In the 120- and 150-day-old Spix's yellow-toothed caviés, all of the seminiferous tubules had luminal areas with cells at different stages of division (Figura 8a, b), and it was possible to classify them into eight stages of cellular associations in accordance with the tubular morphology method (Curtis 1981).

Cord and tubular diameters

The growth of the tubular diameter from birth to the first month (immature phase) of age was found to be slow, and differences were found during the pubertal and postpubertal phases (Table 1). At 45 days of age, the tubular diameter presented significantly more rapid growth that remained linear up to the age of 150 days (Figura 9). The mean tubular diameter showed a strong significant correlation with age, bodyweight and testicular weight (Table 2).

Seminiferous epithelial height

The seminiferous epithelial height showed no differences in growth among the pubertal and postpubertal groups observed (Table 1), and no significant correlation was found between the body and testicular biometric parameters (Table 2).

Seminiferous tubule cell type counts

The mean corrected numbers of spermatogenic and Sertoli cell types per seminiferous tubule cross-section at stage I of the seminiferous epithelial cycle are shown in Table 3.

The spermatogonia presented a stable cellular population with no significant differences found between the pubertal and postpubertal phases; the primary

spermatocytes in the preleptotene/leptotene stage showed an increase associated with changes of the sexual phase. The populations of primary spermatocytes at the pachytene stage and round spermatids were statistically increased when the postpubertal stage was entered. With the change from pubertal stage to postpubertal stage there was a significant increase in the number of Sertoli cells (Table 3).

Yield and Sertoli index

The general spermatogenetic yield was observed to increase, although no significant difference was observed. Additionally, the Sertoli cell index showed similar ratios among the groups of 60 and 120 days and 90 and 150 days; this index was stable and did not differ statistically between the ages observed (Table 4).

Discussion

This was the first study to address the male reproductive biology of Spix's yellow-toothed cavy, with an emphasis on investigating the structure of the testes and the spermatogenic process and on establishing the sexual stages of the animal based on morphological parameters. Previous studies related to the species *Galea spixii* evaluated the female reproductive biology (Oliveira *et al.* 2008).

Macroscopic observations

The bodyweight and length of Spix's yellow-toothed cavy at birth were less than the values found in the same age group of *Cavia aperea* (Corradello 1987). Body growth of Spix's yellow-toothed cavy was rapid from birth to the age of 150 days, as in the chinchilla (Leal and França 2009), two peaks of faster growth were observed. The periods of faster growth coincided with the immature and pubertal stages of sexual development. Additionally, similar to what is observed in the chinchilla (Leal and França 2009), the testicular weight of Spix's yellow-toothed cavy exhibited progressive growth, showing a significant correlation ($P < 0.05$) with age, bodyweight and testicular length; this effect has also been observed in rodents (Kenagy and Trombulak 1986), pigs (França *et al.* 2000), wild boars (Almeida *et al.* 2006) and Landrace boars (Okwun *et al.* 1996).

From birth to the age of 150 days, the testicular length of Spix's yellow-toothed cavy showed a significant correlation with bodyweight, body length and testicular

weight, whose growth after 90 days coincides with the growth in the population of the spermatogenic cell type. This observation is similar to what has been found for other species of mammals (Attal and Courot 1963; França *et al.* 1988*b*; Melo and Vale Filho 1992).

Microscopic observations

Testis histology

The testicular parenchyma of Spix's yellow-toothed cavy from birth to the age of 15 days is formed by testicular cords with immature Sertoli cells and gonocytes, which are more centrally located, and an internal cord compartment containing Leydig cells, vessels and nerves, which were also found in guinea-pigs (Cooper and Schiller 1975), chinchillas (Leal and França 2009) and rams (Lunstra and Schanbacher 1988). Additionally, metaphasic plates were found in the seminiferous tubules of Spix's yellow-toothed cavy during the first month of life. According to Clermont and Perey (1957), several mitotic structures were also seen in rats at this stage.

In the age groups from 30 days onwards, testicular development was not completely established, as has also been noted at seven months of age in agoutis (Assis-Neto *et al.* 2003*b*) and pigs (França *et al.* 1988*b*). At these ages, spermatozoa have not been observed in the tubular lumen. From 45 days of age, all animals showed spermatozoa in the tubular lumen; however, the stages of the seminiferous epithelial cycle were not completely defined throughout the entire testicular parenchyma. Considering the observation of spermatozoa in the tubular lumen, it can be concluded that the animals were in the pubertal phase from 45 days of age, which is in agreement with the description of Courot *et al.* (1970) for the definition of puberty from a histological point of view.

Cord and tubular diameters

The mean tubular diameter of Spix's yellow-toothed cavy was below the values considered typical for most mammals (180–300 μm ; Roosen-Runge and Giesel 1950). There was a significant correlation between age, bodyweight and testicular weight. Comparing these data with those obtained from the Piau pig, after

slow development in the first 3 months of life, the mean seminiferous tubule diameter of the pig increased suddenly between 4 and 5 months, also showing a positive correlation with age (França 1987). According to Assis-Neto *et al.* (2003d), the increased tubular diameter in agoutis was accompanied by an increase in the population of spermatogenic cells related to age; this effect was also observed in Spix's yellow-toothed cavy. In rats, the tubular diameter was observed to increase during the later stages of the seminiferous epithelial cycle (Roosen-Runge and Giesel 1950).

Accelerated growth of the tubular diameter of Spix's yellow-toothed cavy coincides with the onset of spermatogenesis, indicating that the cellular morphology can be used to mark the pubertal stage of the animal.

Seminiferous epithelial height

According to Wing and Christensen (1982), the seminiferous epithelium height is more effective than the tubular diameter for evaluating sperm production, and it reveals the degree of tubular functionality (Courot *et al.* 1970). In Spix's yellow-toothed cavy, the mean seminiferous epithelium height was $27.48 \pm 2.71 \mu\text{m}$, which was lower than the values observed in domestic animals (60–100 μm) (França and Russell 1998) and wild rodents (63–78 μm) (Leal and França 2009).

Seminiferous tubule cell population

Spix's yellow-toothed cavy aged 60, 90, 120 and 150 days were confirmed to be in the pubertal stage, which is in agreement with the method of tubular morphology of Courot *et al.* (1970). When comparing the mean numbers of spermatogonia in Spix's yellow-toothed cavy at different ages with the number of spermatogonial obtained for Piau pigs by França (1991) and male peccaries by Costa *et al.* (2006), similar mean values were found. The mean numbers of spermatocytes I in the preleptotene/leptotene and pachytene stages in Spix's yellow-toothed cavy in this study were lower than those in the Piau pigs studied by França (1991). Similarly, the number of round spermatids was lower than in swine (Godinho and Cardoso 1979; França 1987), collared peccaries (Costa *et al.* 2006) and capybara (Paula *et al.* 1999) in previous studies. The Sertoli cell population was found to be stable, with an increase at postpubertal sexual phase. The stabilisation of

the population of Sertoli cells and its relationship with the round spermatids suggests that there is variation in daily sperm production (Okwun *et al.* 1996).

Spermatogenetic yield and Sertoli index

Spermatogenic output is an important indicator of sperm production capacity, and it may serve as a parameter for determining the ideal age for entering reproductive activity (Assis-Neto *et al.* 2003c). From the time of puberty, this yield increases gradually and stabilises upon reaching sexual maturity (França and Cardoso 1988; Melo and Vale Filho 1992). In Spix's yellow-toothed cavy, the yield was shown to be stable from puberty to the postpubertal stage, similar to what has been observed in chinchillas, which did not change from 5 to 30 months of age (Leal and França 2009). At the age of 150 days, it was observed that each type A spermatogonia produced only 35.82 round spermatids. This rate was similar to what was found in adult boars (Costa and Silva 2006), but below the rate described for domestic pigs (França and Russell 1998), Piau pigs (França 1991) and sheared sheep (Martins *et al.* 2008), and higher than the rates found for adult peccaries (Costa *et al.* 2004) and agoutis (Assis-Neto *et al.* 2003e).

The Sertoli cells are of fundamental importance for the spermatogenic process. They provide structural support and nutrition for germ cells, spermatation of mature spermatids, phagocytosis of degenerating germ cells and residual bodies, secretion of proteins and cell-to-cell communication (Johnson and Nguyen 1986). In the Spix's yellow-toothed cavies studied here, the Sertoli cell index was not stable, which indicates that up to 150 days of age Spix's yellow-toothed cavy is not in a stage of sexual maturity. This is similar to what has been reported in agoutis (Assis-Neto *et al.* 2003c), while in chinchillas, the index of Sertoli cells was found to increase 2-fold from 5 to 17 months of age (Leal and França 2009).

Based on our investigation of the spermatogenesis of Spix's yellow-toothed cavy from birth to the age of 150 days, it was concluded that the onset of reproductive activity in this species occurs at 45 days of age, as spermatozoa released into the tubular lumen could be seen at this time. In this species, spermatogenesis was not established in the testicular parenchyma, and the spermatogenetic yield was constant during puberty. The stages of sexual development may be classified into the following phases: from birth to the age of 15

days corresponds to the immature stage; 30 days of age to the prepubertal stage; 45, 60, 75, 90 and 105 days of age to the pubertal stage; and 120 and 150 days of age to the postpubertal stage. It was not possible to determine the stabilisation degree of the testicular cells and it was therefore not possible to determine the stage of sexual maturity.

Acknowledgements

This study was supported by Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), process numbers 08/57190-8 e 10/14516-0.

References

- Abercrombie, M. (1946). Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.* **94**, 239–247.
- Almeida, F. F. L., Leal, M. C., and França, L. R. (2006). Testis morphometry, duration of spermatogenesis, and spermatogenic efficiency in the wild boar (*Sus scrofa scrofa*). *Biol. Reprod.* **75**, 792–799.
- Amann, R. P., and Almquist, J. O. (1962). Reproductive capacity of dairy bull. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. *J. Dairy Sci.* **45**, 774–781
- Assis-Neto, A. C., Carvalho, M. A. M., Melo, M. I. V., Miglino, M. A., Oliveira, M. F., Almeida, M. M., Papa, P. C., and Kfoury Júnior, J. R. (2003a). Aspectos biométricos do desenvolvimento testicular em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* **40**, 154–160.
- Assis Neto, A. C., Carvalho, M. A. M., Melo, M. I. V., Miglino, M. A., Oliveira, M. F., and Mariana, A. N. B. (2003b). Fases do desenvolvimento e diferenciação testicular em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* **40**, 71–79.
- Assis-Neto, A. C., Carvalho, M. A. M., Melo, M. I. V., Miglino, M. A., Oliveira, M. F., Menezes, D. J. A., Papa, P. C., and Kfoury Júnior, J. R. (2003c). Análise qualitativa do estabelecimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* **40**, 180–184.

- Assis-Neto, A. C., Melo, M. I. V., Carvalho, M. A. M., Miglino, M. A., and Oliveira, M. F. (2003d). Análise histométrica do desenvolvimento testicular em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiro. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* **40**, 202–208.
- Assis-Neto, A. C., Melo, M. I. V., Carvalho, M. A. M., Miglino, M. A., Oliveira, M. F., Ambrósio, C. E., Silva, S. M. M. S., Blasquez, F. X. H., Papa, P. C., and Kfoury Júnior, J. R. (2003e). Quantificação de células dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiro. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* **40**, 175–179.
- Benton, L., Shan, L. X., and Hardy, M. P. (1995). Differentiation of adult Leydig cells. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **53**, 61–68.
- Bilaspuri, G. S., and Guraya, S. S. (1986). The seminiferous epithelial cycle and spermatogenesis in rams (*Ovis aries*). *Theriogenology* **25**, 485–505.
- Busso, J. M., Ponzio, M. F., Cuneo, M. F., and Ruiz, R. D. (2005). Year-round testicular volume and semen quality evaluations in captive *Chinchilla lanigera*. *Anim. Reprod. Sci.* **90**, 127–134.
- Cardoso, F. M., and Godinho, H. P. (1979). Morphological events occurring in the seminiferous tubules of the Brazilian Nelore zebu associated with puberty. *Anat. Anz.* **145**, 262–267.
- Chamindrani Mendis-Handagama, S. M. L., and Siril Ariyaratne, H. B. (2001). Differentiation of the adult Leydig cell population in the postnatal testis. *Biol. Reprod.* **65**, 660–671.
- Clermont, Y., and Perey, B. (1957). Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. *Am. J. Anat.* **100**, 241–267.
- Cooper, G., and Schiller, A. L. (1975). 'Anatomy of the Guinea Pig.' (Harvard University Press: Cambridge, UK.) pp. 417.
- Corradello, E. F. (1987). 'A Criação de Preá.' (Ícone: São Paulo, Brazil.) pp. 15–37.
- Costa, D. S., Henry, M., and Paula, T. A. R. (2004). Espermatogênese de Catetos (*Tayassu tajacu*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **56**, 46–51.
- Costa, D. S., and Silva, J. F. S. (2006). Wild boar (*Sus scrofa scrofa*) seminiferous tubules morphometry. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **49**, 739–745.
- Costa, D. S., Paula, T. A. R., and Matta, S. L. P. (2006). The intertubular compartment morphometry in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. *Anim. Reprod. Sci.* **91**, 173–179.

- Courot, M., Hochereaua-de-Reviers, M. T., and Ortavant, R. (1970). Spermatogenesis. In 'The Testis'. Vol. 1. (Eds A. D. Johnson, W. R. Gomes and N. L. Vandemark.) pp. 339–431. (Academic Press: New York, NY.)
- Curtis, S. K., and Amann, R. P. (1981). Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein Bull. *J. Anim. Sci.* **53**, 1645–1657
- Eisenberg, J. F., and Redford, K. H. (1999). 'Mammals of the Neotropics. The Central Neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil.' (The University of Chicago Press: Chicago, IL.)
- França, L. R. (1987). Desenvolvimento testicular de suínos da aça Piau, do nascimento aos 12 meses de idade. 79 f. Dissertação (Mestrado Biologia Celular), Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.
- França, L. R. (1991). 'Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau'. Thesis. (Instituto de Ciências Biológicas: Universidade Federal de Minas Gerais)
- França, L. R., and Cardoso, F. M. (1988). Desenvolvimento testicular de suíno. II. Análise histométrica. *Arquivo Brasileiro Med. Veterinaria Zootecnia* **40**, 181–192.
- França, L. R., and Russell, L. D. (1998). The testis of domestic animals. In 'Male Reproduction: a Multidisciplinary Overview'. (Eds F. Martinez-Garcia and J. Regadera.) pp. 197–219. (Churchill Livingstone: Madrid, Spain.)
- França, L. R., Cardoso, F. M., and Castro, A. C. S. (1988a). Desenvolvimento testicular de suínos Piau. IV. População celular dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **40**, 339–353.
- França, L. R., Castro, A. C. S., Cardoso, F. M., and Barbosa, A. S. (1988b). Desenvolvimento testicular de suíno. I. Aspectos biométricos. *Arquivo Brasileiro Med. Veterinaria Zootecnia* **40**, 165–180.
- França, L. R., Silva, V. A., Chiarini-Garcia, H., Garcia, S. K., and Debeljuk, L. (2000). Cell proliferation and hormonal changes during postnatal development of the testis in the pig. *Biol. Reprod.* **63**, 1629–1636.
- França, L. R., Avelar, G. F., and Almeida, F. F. L. (2005). Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology* **63**, 300–318.
- Gendt, K., Atanassova, N., Tan, K. A. L., França, L. R., Parreira, G. G., McKinnell, C., Sharpe, R. M., Saunders, P. T. K., Mason, J. I., Hartung, S., Ivell, R., Denolet, E.,

- and Verhoeven, G. (2005). Development and function of the adult generation of Leydig cells in mice with Sertoli cell-selective or total ablation of the androgen receptor. *Endocrinology* **146**, 4117–4126.
- Godinho, H. P., and Cardoso, F. M. (1979). Desenvolvimento sexual de porcos Yorkshire. II. Estabelecimento e evolução da espermatogênese. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **31**, 351–361.
- Johnson, L., and Nguyen, H. B. (1986). Annual cycle of the Sertoli cell population in adult stallions. *J. Reprod. Fertil.* **76**, 311–316.
- Kenagy, G. J., and Trombulak, S. C. (1986). Size and function of mammalian testes in relation to body size. *J. Mammal.* **67**, 1–22.
- Leal, M. C., and França, L. R. (2009). Slow increase of Sertoli cell efficiency and daily sperm production causes delayed establishment of full sexual maturity in the rodent *Chinchilla lanigera*. *Theriogenology* **71**, 509–518.
- Luna, L. G. (1968). 'Manual of Histology Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology.' 3rd edn. (McGraw-Hill: New York, NY.)
- Lunstra, D. D., and Schanbacher, B. D. (1988). Testicular function and Leydig cell ultrastructure in long-term bilaterally cryptorchid rams. *Biol. Reprod.* **38**, 211–220.
- Marins, J. A. M., Souza, C. E. A., Campos, A. C. N., Aguiar, G. V., Lima, A. C. B., Araújo, A. A., Neiva, J. N. M., and Moura, A. A. A. (2008). Measurements of reproductive traits and spermatogenesis in crossbreed hairy rams. *Arch. Zootec.* **57**, 553–556.
- Melo, M. I. V., and Vale Filho, V. R. (1992). Puberdade em búfalos mestiços. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **44**, 537–542.
- Okwun, O. E., Igboeli, G., Ford, J. J., Lunstra, D. D., and Johnson, L. (1996). Number and function of Sertoli cells, number and yield of spermatogonia, and daily sperm production in three breeds of boar. *J. Reprod. Fertil.* **107**, 137–149.
- Oliveira, M. F., Mês, A., Ambrósio, C. E., Dantas, C. A., Favaron, P. O., and Miglino, M. A. (2008). Chorioallantoic placentation in *Galea spixii* (Rodentia, Caviomorpha, Caviidae). *Reprod. Biol. Endocrinol.* **6**, 39.
- Orsi, A. M., Dias, S. M., Noreira, J. E., and Camilli, J. A. (1985). Algumas considerações sobre as etapas de diferenciação testicular pós-natal (pré-púbere e puberais) no porco doméstico em diferentes idades. *Cienc. Cult.* **37**, 852.

Paula, T. A. R., França, L. R., and Garcia, H. C. (1999). Seminiferous epithelium cycle and its duration in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Tissue & Cell*. **31**, 327–334.

R Development Core Team (2011). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at <http://www.R-project.org>.

Roosen-Runge, E. C., and Giesel, L. O. (1950). Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. *The American of Anatomy* **87**, 1–30.

Silva, S. C. B., Marques Júnior, A. P., and Andrade, P. V. D. (2000). Sexual development in Saanen bucks from birth to 12 months old. In 'International Conference on Goats'. pp. 427–429. (Institut de l'Elevage et INRA: Paris – França.)

Vale Filho, V. R. (2001). A evolução da andrologia veterinária no Brasil e no mundo. *Cad. Tec. Vet. Zootec.* **35**, 7–14.

Wildt, D. E. (2005). Lions, tigers, and pandas, oh my. *J. Androl.* **26**, 452–454.

Wing, T.-Y., and Christensen, A. K. (1982). Morphometric studies on rat seminiferous tubules. *Am. J. Anat.* **165**, 13–25.

Figura 1. Mean bodyweight of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) from 0 to 150 days of age.

Figura 2. Mean body length of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) from 0 to 150 days of age.

Figura 3. Mean testicular weight of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) from 0 to 150 days of age.

Figura 4. Mean testicular length of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) from 0 to 150 days of age.

Figura 5. Testis of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) characterised by immature sexual phase: (a) 0 days and (b) 15 days. Observe solid testicular cords (c) with gonocytes (g) and undifferentiated supporting cells (arrow). In the interstitium Leydig (L) cells, vessels and nerves. Photomicrograph, hematoxylin–eosin method, 400x.

Figura 6. Testis of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) featured in the prepubertal sexual phase at 30 days of age. (a) Note the presence of testicular cords (c) and internal cord (i) with interstitial cells. (b) Survey the seminiferous tubules, with spermatogonia (a) Sertoli cells (s), metaphase plates (arrow) and primary spermatocytes (e). Note the commencement of lumination (L). Photomicrograph, hematoxylin–eosin method, 400x.

Figura 7. Development of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) testes during the pubertal sexual phase. Testicular parenchyma composed of seminiferous tubules and interstitium. Observe the germinal epithelium (ep) (a, spermatogonia; arrow, primary spermatocytes in preleptotene/leptotene; p, primary spermatocytes at pachytene; ar, round spermatids; s, Sertoli cells; e, spermatozoa). For the first time, the presence of spermatozoa was observed in the tubular lumen at 45 days of age. The internal cord (i) consists of the interstitial Leydig cells. (a) 45 days, 40x; (b) 60 days, 40x; (c) 60 days, 100x; (d) 75 days, 40x; (e) 90 days, 40x; and (f) 90 days, 100x. Photomicrograph, hematoxylin–eosin method, 400x.

Figure 8. Testis of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) in postpubertal sexual phase. The seminiferous tubules are bright, with germ cells at different stages of division. At this stage we can see various stages of sexual cycle of the seminiferous epithelium. Note the seminiferous tubule germinal epithelium with developed (p) comprising: spermatogonia (a), primary spermatocytes in PL/L (p), primary spermatocytes at pachytene (pq), round spermatids (ar) and Sertoli cells (arrow). Note spermatozoa (e) in the tubular lumen. (a) 120 days, 40x; and (b) 150 days, 100x. Photomicrograph, hematoxylin–eosin method.

Figure 9. Mean testicular cord and seminiferous tubule diameter of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) from 0 to 150 days of age.

Table 1. Mean body and testicular biometric and histometric parameters due to the stage of sexual development of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) from 0 to 150 days of age. Means with different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$) as estimated by analysis of variance and Tukey's test (5%)

Sexual stage	Bodyweight (g)	Body length (cm)	Testicular weight ^A (g)	Testicular length ^A (cm)	Tubular diameter (μm)	Seminiferous epithelial height (μm)
Immature ^B	88.28 ± 56.45 ^a	13.67 ± 4.01 ^a	0.10 ± 0.07 ^a	0.87 ± 0.58 ^{ab}	26.03 ± 8.12 ^a	—
Prepubertal ^C	143.33 ± 5.69 ^{ab}	18.50 ± 0.71 ^b	0.59 ± 0.49 ^b	1.07 ± 0.36 ^b	31.22 ± 9.78 ^a	—
Pubertal ^D	195.45 ± 21.89 ^b	18.20 ± 1.30 ^b	0.45 ± 0.21 ^b	1.17 ± 0.32 ^b	75.53 ± 19.40 ^b	24.20 ± 4.25 ^a
Postpubertal ^E	272.20 ± 54.57 ^c	21.00 ± 1.63 ^b	1.17 ± 0.40 ^c	1.53 ± 0.21 ^b	98.71 ± 11.74 ^c	27.46 ± 4.87 ^a

^AMean of both testes.

^BNewborn and 15 days ($n = 9$).

^C30 days ($n = 3$).

^D45, 60, 75 and 90 days ($n = 8$).

^E120 and 150 days ($n = 4$).

Table 2. Correlation coefficient between age, bodyweight and testicular parameters of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) from 0 to 150 days of age. BW, bodyweight; BL, body length; TW, testicular weight; TL, testicular length; TD, tubular diameter; SEH, seminiferous epithelium height; **, $P < 0.05$

	Age	BW	BL	TW	TL	TD	SEH
Age	—	0.89**	0.67	0.85**	0.63	0.90**	0.74
BW	—	—	0.87**	0.80**	0.79**	0.89**	0.81
BL	—	—	—	0.61	0.76**	0.62	0.99
TW	—	—	—	—	0.76**	0.78**	0.31
TL	—	—	—	—	—	0.68	0.44
TD	—	—	—	—	—	—	0.92
SEH	—	—	—	—	—	—	—

Table 3. Corrected number¹ of cells per cross-section of the seminiferous tubule of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) from 60 to 150 days of age.

Means with different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$) as estimated by analysis of variance and *t*-test; SPG, spermatogonia; PI/L, young primary spermatocyte in the preleptotene/leptotene stage; P, old primary spermatocyte in the pachytene stage; SPD Ar, round spermatid at stage I; ¹correction according to Abercrombie (1946) modified by Amann and Almquist (1962); ²45, 60, 75 and 90 days ($n = 8$); ³120 and 150 days ($n = 4$).

Sexual stage	SPG	Primary spermatocyte		SPD Ar	Sertoli cells
		PI/L	P		
² Pubertal	15.15 ± 3.66 ^a	43.03 ± 8.42 ^a	45.48 ± 8.97 ^a	93.95 ± 31.57 ^a	5.17 ± 0.95 ^a
³ Postpubertal	15.05 ± 3.84 ^a	48.88 ± 9.54 ^b	50.74 ± 10.93 ^b	122.60 ± 39.08 ^b	7.86 ± 2.34 ^b

Table 4. Ratio between the number of spermatogenic cells per cross-section of the seminiferous tubule of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) from 60 to 150 days of age. Means with different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$) as estimated by analysis of variance and Tukey's test; SPD ar, round spermatid; SPA, spermatogonia; CS, Sertoli cells.

Age (days)	Sertoli index SPD ar : CS	Spermatogenetic yield SPD ar : PA
60 ($n = 2$)	20.49 ^a	31.02 ^a
90 ($n = 2$)	15.57 ^a	24.10 ^a
120 ($n = 2$)	20.34 ^a	34.81 ^a
150 ($n = 2$)	15.93 ^a	35.82 ^a