

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

MARÍLIA HENRIQUES RODRIGUES

ANÁLISE MORFOMÉTRICA E FUNCIONAL DO
DESENVOLVIMENTO TESTICULAR DE CAPRINOS DA RAÇA ALPINA
CRIADOS EM CONDIÇÕES SEMI-INTENSIVAS

Campos dos Goytacazes - RJ
FEVEREIRO – 2010

MARÍLIA HENRIQUES RODRIGUES

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA E FUNCIONAL DO
DESENVOLVIMENTO TESTICULAR DE CAPRINOS DA RAÇA ALPINA
CRIADOS EM CONDIÇÕES SEMI-INTENSIVAS.**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração de Reprodução e Melhoramento Genético Animal, linha de pesquisa Melhoramento e Biotecnologia da Reprodução.

ORIENTADOR: Prof. Francisco Aloizio Fonseca

COORIENTADOR: Prof. Deiler Sampaio Costa

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

FEVEREIRO 2010

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 075/2010

Rodrigues, Marília Henriques

Análise morfométrica e funcional do desenvolvimento testicular de caprinos da raça Alpina criados em condições semi-intensivas / Marília Henriques Rodrigues. – 2010.
157 f. : il.

Orientador: Francisco Aloizio Fonseca
Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2010.
Bibliografia: f. 137 – 152.

1. Caprino 2. Desenvolvimento testicular 3. Histologia testicular I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 636.39089

MARÍLIA HENRIQUES RODRIGUES

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA E FUNCIONAL DO
DESENVOLVIMENTO TESTICULAR DE CAPRINOS DA RAÇA ALPINA
CRIADOS EM CONDIÇÕES SEMI-INTENSIVAS.**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração de Reprodução e Melhoramento Genético Animal, linha de pesquisa Melhoramento e Biotecnologia da Reprodução.

Aprovada em 23 de fevereiro 2010.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Tarcísio Antônio Rego de Paula (Doutor, Biologia Celular)-UFV

Prof. Sérgio Luis Pinto da Matta (Doutor, Biologia Celular)-UFV

Prof. Deiler Sampaio Costa (Doutor, Ciência Animal)-UFMS

Prof. Francisco Aloizio Fonseca (PhD, Animal Science)-UENF
(Orientador)

Dedic esta dissertação

A minhas filhas Marina, Marcelle e Mariana,
pelo carinho, compreensão e amor.

À minha família, pelo apoio.

Aos animais que tanto me ensinaram.

AGRADECIMENTOS

A Deus, criador da vida do Universo, por iluminar o meu caminho, dando-me forças para superar todos os desafios.

A meus pais, por serem a base da minha vida e de tudo o que sou hoje. A toda minha família. A minhas irmãs e filhas, pelo apoio, incentivo, compreensão e amor.

A Paulo Portugal, pelo carinho, por ter estado sempre ao meu lado, incentivando-me para prosseguir.

Ao Prof. Francisco Aloizio Fonseca, por ter acreditado no meu potencial de trabalho, pelo apoio durante todos esses anos de estudo e, principalmente, pelo exemplo de vida e amizade. Muito obrigada, pela compreensão, confiança depositada e orientação.

Ao Prof. Deiler Sampaio Costa, pela ideia inicial do projeto, pelos ensinamentos conferidos, pela coorientação e pela contribuição fundamental na execução da pesquisa, mesmo estando distante.

Ao Laboratório de Sanidade Animal/CCTA/UENF e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, pela oportunidade de aprimoramento profissional.

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

À Profa. Isabel Candia Nunes da Cunha, pelos ensinamentos e colaboração enquanto chefe do Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal.

À Profa. Telma Nair Santana Pereira do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, pelo exemplo de vida e dedicação, pela oportunidade que generosamente me concedeu, abrindo as portas do Setor de Citogenética Vegetal.

Aos colegas do curso de pós-graduação, Alessa, Helen, Liana, Pedro, Bruno, Maurício, Sérgio, Monique e Carlos, pelo agradável convívio, pela força nos momentos mais difíceis.

Aos professores, técnicos e toda a equipe do Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal, pela valiosa colaboração: Prof. José

Frederico Straggiotti Silva, Prof. Reginaldo da Silva Fontes, Prof. Ângelo José Burla Dias. Aos técnicos, Fausto Paes de Carvalho, João Gomes Siqueira, Marcus Antônio Pessanha Barreto, pelo auxílio nos trabalhos de campo. A Mariane Barreto Rosa Azevedo, Carla Sobrinho Paes de Carvalho e Bruna Lomba Dias, pela amizade e disposição para ajudar.

Aos trabalhadores de apoio no campo, Ricardo Monteiro Soares, Heuzenil Souza Cordeiro, Josué Barbosa Martins, José Francisco da Silva, Ozéias Cavalari da Silva, Alberto Neves Pereira, Paulo Sérgio Lourenço da Silva, Wellington Viana Azeredo, pela valiosa ajuda no fornecimento de alimentos e cuidados aos animais. Mais uma vez muito obrigada!

Aos colegas do LSA/HV, Orlando Augusto Melo Junior, Jorge Pereira dos Santos Filho, Josias Alves Machado, pelo convívio, auxílio e apoio nos trabalhos nas horas mais difíceis.

Ao Guilherme Azevedo Fernandes e André Rangel de Matos, GRC/CCTA, pelo apoio computacional.

À colega Luciana da Silva Lemos, pelo incentivo e pela colaboração na fase inicial das análises.

Aos professores do LZNA, Carlos Augusto de Alencar Fontes, Ricardo Augusto Mendonça Viana e Alberto Magno Fernandes, pela disponibilização das dependências da Unidade de Pesquisa no Colégio Agrícola Antonio Sarlo.

Aos trabalhadores da Unidade de Pesquisa do LZNA Colégio Agrícola Antônio Sarlo, especialmente, Alcir Manhães da Silva, José Fábio de Souza Castro, Antônio Pereira de Souza, pela valiosa ajuda no manejo dos animais durante o período que ali estiveram.

Aos estagiários do Colégio João Barcelos Martins: Jamile, Dhéssica, Sinara, Lilia, Ricardo, Suelen, Luana, Ana Paula, Isabela, Vanessa e Isabelle, pela dedicação e contribuição em todas as etapas dos trabalhos realizados.

Aos bolsistas TECNORTE, Antônio Augusto Carvas Sant'Anna, Débora Vaccari Quaresma e, especialmente, a Marina Henriques Rodrigues Chagas Santos, pela imensurável ajuda no processamento histológico das amostras. Que Deus continue iluminando o seu caminho.

Aos chefes do LBCT/Setor de Microscopia Eletrônica, Prof. Flávio Costa Miguens e, depois, Prof. Renato Augusto DaMatta, pela confiança, oportunidade e colaboração. Às técnicas do Laboratório de Preparo de Amostras, Giovana Alves de Moraes e Beatriz Ferreira Ribeiro, pelo convívio agradável, pelo inestimável auxílio e por estarem sempre prontas a ajudar. Obrigada por tudo, pela boa vontade e carinho.

Ao Prof. Marcelo Teixeira Rodrigues, por ter disponibilizado os animais que utilizei neste experimento, sempre solícito em atender-me.

Ao Prof. Edmundo Jorge Abílio, Diogo Benchimol de Souza e Carlos Magno Anselmo Mariano, pelo auxílio nas primeiras cirurgias. A Marília Cipriano Dias e José Evaldo Machado, pela colaboração no fornecimento dos materiais necessários.

Ao Prof. Geraldo de Amaral Gravina, pelo auxílio no desenvolvimento das análises estatísticas.

À Maria Cecília do Santos Silvestre pela colaboração na revisão e apresentação da tese de acordo com as normas da língua portuguesa.

Ao Prof. Sérgio Luis Pinto da Matta, por ter aceitado compor a banca do exame de qualificação e de defesa de tese deste estudo.

Ao Prof. Tarcísio Antônio Rego de Paula, por ter participado da banca de defesa de tese.

Meus sinceros agradecimentos.

Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.

(Francisco Cândido Xavier)

RESUMO

Objetivou-se, com este estudo, avaliar o peso corporal, perímetro e volume escrotais, descolamento prepucial, características do ejaculado, peso testicular e morfometria histológica, caracterizando-se as fases do desenvolvimento testicular, do nascimento aos 12 meses de idade. Foram utilizados quarenta e sete caprinos machos Alpinos, distribuídos em 13 grupos experimentais. Os testículos foram coletados por meio da orquiectomia bilateral, pesados em balança analítica, e mensuradas as medidas biométricas. Os fragmentos testiculares foram coletados e incluídos em resina plástica, e as lâminas foram preparadas para análises histométricas. Aos 4 meses de idade, 75% dos animais apresentaram descolamento completo do prepúcio. Aos cinco meses, todos os animais apresentavam espermatozoides móveis no ejaculado e, aos 9 meses, os animais apresentavam sêmen dentro dos padrões de normalidade. O crescimento testicular foi mais acelerado próximo ao surgimento dos primeiros espermatozóides e houve correlação positiva alta entre o perímetro escrotal ($r=0,9621$), o peso corporal ($r=0,8989$) e o índice gonadossomático ($r=0,9707$). As células de Sertoli proliferaram até os 4 meses. O comprimento do túbulo seminífero acompanhou a proliferação destas células, enquanto o seu diâmetro acompanhou o aumento do número de células germinativas. O rendimento geral da espermatogênese decresceu com o avanço da idade, provavelmente devido à influência do fotoperíodo. Os animais, do nascimento aos 2 meses, encontravam-se na fase impúbere; de 3 a 4 meses, na fase pré-púbere; aos 5 meses, na fase púbere; de 6 a 8 meses, na fase pós-púbere; e aos 9 meses de idade, a morfologia do processo espermatogênico de caprinos Alpinos, criados em sistema semi-intensivo, foi semelhante ao relatado para animais sexualmente maduros.

Palavras-chave: caprino, desenvolvimento sexual, histologia testicular.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the body weight, scrotal perimeter and volume, prepuce release, semen characteristics, testicular weight and the testicular histological morphometry, featuring up the stages of testicular development, during the period from birth to twelve months of age. There were used forty seven caprine males of the race Alpine, distributed in thirteen experimental groups. The testes were collected through bilateral orchietomy, weighed in analytical balance and measured the biometrics measures. Testicular fragments were collected and included in plastic resin and used prepare slides for histometric analyses. At four months of age 75% kids showed a released prepuce. At five months all the kids ejaculated live spermatozoa and at nine months the animals had normal sperm morphology. Testicular growth was faster just before live spermatozoa could be found in the ejaculate, and scrotal perimeter ($r=0,9621$) had high positive correlation with body weight ($r=0,8989$) and with gonadosomatic index ($r=0,9707$). Sertoli cells proliferate until four months old. Seminiferous tubule length followed Sertoli cell number increase, while tubule diameter followed the increase in germ cells number. The general profit spermatogenesis decreased with the advancement of the age, probably due to influence of the photoperiod. Animals from birth to two months were in the impuberal stage, from three to four months in the pre-puberal stage, at five months in the pubescent phase, from six to eight months in the post puberty stage, and at nine months the morphology of spermatogenesis process of wild Alpine bucks was similar to those animals which were sexually ripe.

Key words: goat, sexual development, testis histology.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso corporal, perímetro escrotal, volume escrotal, liberação do prepúcio (LP) de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo	78
Tabela 2 - Coeficientes de correlação (r) entre idade, dados biométricos e morfométricos de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	79
Tabela 3 - Peso testicular bruto, peso testicular líquido, índice gonadossomático, índice tubulossomático, peso e valor percentual do testículo ocupado pela albugínea, de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	84
Tabela 4 - Volume bruto e líquido, comprimento, largura e espessura testicular de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	90
Tabela 5 - Peso total, cabeça, corpo e cauda de ambos os epidídimos, direito e esquerdo, de caprinos da raça Alpina do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	93
Tabela 6 - Diâmetro, altura, comprimento tubular por testículo, comprimento tubular por grama de testículo e volume tubular de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	95
Tabela 7 - Proporção volumétrica entre os componentes do parênquima testicular, de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	100
Tabela 8 - População dos diferentes tipos celulares nos cordões testiculares ou nos túbulos seminíferos no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero de caprinos da raça Alpina do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo....	112
Tabela 9 - Diâmetros médios nucleolares das células de Sertoli e nucleares dos diferentes tipos celulares nos túbulos seminíferos de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	115
Tabela 10 - Rendimento intrínseco da espermatogênese, por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero e estação do ano em que foram realizadas as coletas dos testículos (orquiectomia), de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo...	118

Tabela 11 - Razão entre os números de células de Sertoli e células espermatogênicas, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	125
Tabela 12 - Reserva espermática testicular e por grama de testículo em caprinos da raça Alpina do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.	129
Tabela 13 - Volume, concentração, motilidade total, motilidade progressiva, turbilhonamento do sêmen de caprinos da raça Alpina estação do ano em que foram realizadas as coletas dos testículos (orquiectomia), do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	130
Tabela 14 - Percentual de defeitos espermáticos maiores em caprinos da raça Alpina de cinco a doze meses, criados em sistema semi-intensivo.....	133
Tabela 15 - Percentual de defeitos espermáticos menores em caprinos da raça Alpina de cinco a doze meses, criados em sistema semi-intensivo.....	133
Figura 16 - Percentual de defeitos espermáticos maiores e menores, defeitos totais e espermatozóides normais no ejaculado de caprinos de cinco aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	134

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Peso corporal e peso testicular de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	79
Figura 2. Perímetro e volume escrotais de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	81
Figura 3. Peso testicular e índice gonadossomático de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	85
Figura 4. Peso testicular e índice tubulossomático de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	88
Figura 5. Peso testicular bruto e percentual da albugínea em caprinos raça da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.	89
Figura 6. Volume testicular bruto e volume testicular líquido em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.	91
Figura 7. Comprimento, largura e espessura do testículo de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	92
Figura 8. Pesos do testículo direito e do epidídimo direito de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	93
Figura 9. Pesos da cauda do epidídimo direito e do testículo direito de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	94
Figura 10. Pesos do epidídimo direito e perímetro escrotal de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	94
Figura 11. Diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	96
Figura 12. Comprimento tubular (m) por testículo e por grama de testículo em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	97
Figura 13. Proporções volumétricas dos componentes testiculares (%) de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	101

Figura 14. Parênquima testicular de caprinos ao nascimento (fase impúbere). (Azul de toluidina - Borato de sódio).....	104
Figura 15. Parênquima testicular de caprinos com 1 mês de idade (fase impúbere). (Azul de toluidina - Borato de sódio).....	105
Figura 16. Parênquima testicular de caprinos aos 2 meses de idade (fase impúbere). (Azul de toluidina - Borato de sódio).....	106
Figura 17. Parênquima testicular de caprinos aos 3 meses de idade (fase pré-púbere). (Azul de toluidina - Borato de sódio).....	107
Figura 18. Parênquima testicular de caprinos aos 4 meses de idade (fase pré-púbere). (Azul de toluidina - Borato de sódio).....	108
Figura 19. Túbulos seminíferos de caprinos aos 5 meses (puberdade), apresentando lume formado e epitélio seminífero com diversos tipos celulares, (Azul de toluidina - Borato de sódio).....	109
Figura 20. Túbulos seminíferos de caprinos aos 5 meses (puberdade), apresentando lume formado e epitélio seminífero com diversos tipos celulares, (Azul de toluidina - Borato de sódio).....	109
Figura 21. Túbulos seminíferos de caprinos aos 9 meses (pós-púbere), apresentando lume amplo. (Azul de toluidina - Borato de sódio).....	111
Figura 22. Túbulos seminíferos de caprinos aos 9 meses (pós-púbere), apresentando lume amplo e epitélio seminífero com grande população celular e altura do epitélio superior ao verificado em idades anteriores. (Azul de toluidina - Borato de sódio).....	111
Figura 23. Número corrigido de gonócitos e células de suporte, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.....	113
Figura 24. - Número corrigido de células espermatozóides e células de Sertoli, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.	114
Figura 25. Razões entre os números corrigidos de células espermatozóides, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.	119

Figura 26. Razões entre números corrigidos de células espermatogênicas e células de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	126
Figura 27. Reserva espermática testicular e por grama de testículo de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	129
Figura 28. Concentração e motilidade total do sêmen de caprinos da raça Alpina, de 5 a 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	130
Figura 29. Aumento do perímetro escrotal e motilidade seminal em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	131
Figura 30. Percentual de defeitos maiores, defeitos menores, defeitos totais e espermatozóides normais no ejaculado de caprinos, dos 5 aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.....	135

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1. Aspectos anatômicos do sistema genital masculino.....	24
2.2. Características do testículo.....	24
2.3. Estabelecimento da espermatogênese.....	26
2.4. Controle hormonal da espermatogênese.....	31
2.4.1. Tecido intertubular e as células de Leydig.....	32
2.4.2. Tecido tubular e as células de Sertoli.....	34
2.5. A cronologia da espermatogênese.....	39
2.6. Características do epidídimo.....	46
2.7. Rendimento intrínseco da espermatogênese.....	48
2.8. Desenvolvimento testicular.....	50
2.9. Estacionalidade reprodutiva em caprinos.....	50
2.10. Características físicas do sêmen.....	54
2.10.1. Aspecto.....	54
2.10.2. Volume.....	55
2.10.3. Turbilhonamento.....	56
2.10.4. Motilidade.....	56
2.10.5. Concentração espermática.....	57
2.11. Características morfológicas.....	59
2.11.1. Total de anomalias espermáticas.....	59
2.11.2. Anomalias de cabeça.....	60
2.11.3. Anomalias de acrossomo.....	60

2.11.4. Anomalias de peça intermediária.....	60
2.11.5. Gotas citoplasmáticas.....	61
2.11.6. Anomalias de cauda.....	62
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	63
3.1. Animais experimentais.....	63
3.2. Avaliação ponderal e biometria escrotal.....	64
3.3. Colheita e processamento do testículo.....	64
3.4. Processamento do material para microscópio de luz.....	66
3.5. Análises morfométricas.....	66
3.5.1. Cálculo do peso líquido do testículo.....	66
3.5.2. Cálculo do índice gonadossomático.....	67
3.5.3. Índice tubulossomático.....	67
3.5.4. Diâmetro, altura e área da secção transversal dos túbulos seminíferos.....	68
3.5.5. Luminação dos túbulos seminíferos.....	68
3.5.6. Proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular.....	68
3.5.7. Comprimento total dos túbulos seminíferos.....	69
3.5.8. População celular dos túbulos seminíferos.....	69
3.5.9. Rendimento intrínseco da espermatogênese.....	71
3.5.10. Índices de células de Sertoli.....	71
3.5.11. Cálculo da reserva espermática testicular.....	72
3.6. Colheita do sêmen.....	72
3.7. Avaliação do sêmen.....	73
3.8. Morfologia espermática.....	75
3.9. Idade da puberdade e da maturidade sexual.....	76

3.10 Análise estatística.....	77
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
4.1. Desenvolvimento corporal.....	78
4.2. Dimensões escrotais e liberação do prepúcio.....	81
4.3. Biometria macroscópica dos testículos.....	83
4.4. Diâmetro, altura, área da secção transversal, comprimento e volume dos túbulos seminíferos.....	95
4.5. Proporção volumétrica dos componentes testiculares.....	100
4.6. Processo de luminação e cronologia da espermatogênese.....	103
4.7. População celular no epitélio seminífero.....	112
4.8. Rendimento intrínseco da espermatogênese.....	118
4.9. Índice de células de Sertoli.....	125
4.10. Reserva espermática testicular.....	128
4.11. Avaliação seminal.....	129
5. CONCLUSÕES.....	136
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	137
7. ANEXOS.....	153
7.1. ANEXO 1 - Solução Formol-Salina (Hancock, 1957).....	153
7.2. ANEXO 2 - Coloração de Sêmen pelo Vermelho Congo (Cerovsky, 1976).....	154
7.3. ANEXO 3 - Solução Fixadora de Glutaraldeído 4% em Tampão Fosfato a 0,05m.....	155
7.4. ANEXO 4 - Coloração pelo Azul de Toluidina-Borato de Sódio.....	156
7.5. ANEXO 5 - Parâmetros de configuração utilizados para análise do sêmen ovino no Hamilton Thorn Research modelo Ceros 10.8.....	157

1. INTRODUÇÃO

Os caprinos são mamíferos artiodáctilos, ruminantes, da família dos cavicórneos, pertencentes ao gênero *Capra hircus*. Foram os primeiros animais domesticados pelo homem capazes de produzir alimento, há cerca de 10 mil anos. Esses animais apresentam grande potencial para produzir leite de alto valor biológico, capacidade de proliferação, favorecendo o uso como animal para corte, além de fornecerem pele de qualidade com várias aplicações na indústria de processamento do couro (SILVA, 2000).

Por apresentarem distribuição geográfica extensa, podem ser criados nos mais diferentes climas, solos e vegetações, em ecossistemas mais áridos e quentes, desertos e até nas frias montanhas da Europa e da Ásia. O conjunto dessas características torna evidente a capacidade de os caprinos adaptarem-se às condições adversas, o que justifica sua reputação de animal rústico e versátil economicamente (RIBEIRO, 1998).

Os caprinos podem contribuir de maneira significativa para o desenvolvimento sócio-econômico de uma determinada região. Segundo Ribeiro (1998), 94,2% do efetivo caprino do mundo encontram-se em regiões em desenvolvimento. Em função disso, a criação de caprinos tornou-se uma atividade econômica que vem crescendo bastante nos últimos anos. Entretanto, essa exploração apresenta pequena expressão econômica, pois, na maioria das nações, a criação de caprinos é desenvolvida em sistemas extensivos com baixo nível tecnológico.

Por outro lado, quando existe técnica e estrutura, a criação de caprinos apresenta bons índices de lucratividade. Constatou-se que 5,8% dos caprinos localizados em regiões desenvolvidas são responsáveis por 26,3% do leite produzido com a exploração desta espécie, demonstrando que, quando os animais são manejados de forma adequada, apresentam alta produtividade (RIBEIRO, 1998).

A exploração desses animais depende, dentre outros aspectos, da organização da atividade de maneira lucrativa, do uso de tecnologia, de investimento na formação e qualificação de mão-de-obra e da avaliação da relação custo benefício na utilização das inovações tecnológicas (SIMPLÍCIO et al., 2000).

Nesta perspectiva, há ampla necessidade de monitorar os aspectos da reprodução dos caprinos para permitir o aumento da eficiência reprodutiva dos rebanhos. A adoção de programas de melhoramento genético torna-se uma ferramenta importante para a multiplicação eficiente de genótipos superiores.

A maioria das raças de caprinos tem suas origens em países de clima temperado, causando, nesses animais, marcada variação sazonal reprodutiva. Ao contrário da atividade estral da fêmea, a espermatogênese do macho caprino é contínua ao longo do ano. Entretanto, ocorrem mudanças sazonais importantes na produção de espermatozoides, que constitui fator limitante para o uso intensivo destes animais na reprodução. O peso testicular, que é o reflexo da intensidade da atividade espermatogênica, mostra-se habitualmente mais baixo na primavera e mais alto no verão (SILVA, 2000).

A taxa de fertilidade do rebanho é, em grande parte, influenciada pela fertilidade do macho. Desse modo, é importante que dentre os parâmetros utilizados para sua seleção, serem utilizadas características reprodutivas. O perímetro escrotal, como estimativa indireta do tamanho testicular, está altamente correlacionada com o peso corporal (KILGOUR e BLOCKEY, 1980) e a taxa de ovulação da progênie feminina (LAND, 1973). Segundo Borgohain et al. (1983), em caprinos a circunferência escrotal apresenta correlações com produção espermática, capacidade de serviço e desenvolvimento sexual. Essa contribuição dos machos para a eficiência reprodutiva e produtiva do rebanho é de grande importância, uma vez que, além do aporte genético, neles a seleção pode ser feita de maneira mais intensa que nas fêmeas. Considerando que o macho é o principal responsável pelo melhoramento genético de um rebanho, a escolha de reprodutores potencialmente mais férteis deve estar sempre baseada na sua produtividade e não somente nas características raciais do animal ou nas preferências do criador (SANTOS et al., 2006).

Ressalta-se a importância do manejo reprodutivo voltado para a redução da idade ao primeiro parto e do intervalo entre os partos. Para melhorar a eficiência reprodutiva do rebanho, é aconselhável que a escolha de machos jovens para reposição seja realizada em dois momentos. O primeiro, por ocasião do desmame, quando deve considerar aspectos como: genealogia, ausência de defeitos e/ou taras, padrão racial, produção de leite da mãe, ganho de peso durante a fase de aleitamento, tipo de nascimento. E o segundo, quando os

indivíduos alcançam a puberdade, sendo possível considerar, dentre outros parâmetros, a precocidade sexual, o desenvolvimento corporal, a conformação dos membros, em especial, dos posteriores, o desenvolvimento e simetria dos testículos e epidídimos, a aceitação da vagina artificial, a qualidade do ejaculado e a libido (SIMPLÍCIO et al., 2000).

O processo de seleção dos machos adultos, para serem utilizados como futuros reprodutores e propagadores de material genético deve ser embasado nas características seminais, no comportamento sexual, bem como, na realização periódica de minuciosa avaliação clínica, principalmente, do sistema reprodutivo, para identificar possíveis alterações na consistência testicular e epididimária (SANTOS et al., 2006).

Sabe-se que a puberdade marca o começo da atividade reprodutiva e este momento tem grande influência na produção animal. Entretanto, para a expressão máxima da capacidade reprodutiva, é necessário que o macho atinja a maturidade sexual, que é a fase em que o animal apresenta instinto sexual, capacidade de monta e condições espermáticas condizentes com a reprodução plena. O conhecimento da idade em que o animal inicia a puberdade e as características do desenvolvimento sexual precoce são critérios importantes na seleção de reprodutores, visto que o início da maturidade sexual dos reprodutores pode influenciar a eficiência reprodutiva de um rebanho, que está diretamente relacionada ao número de fêmeas servidas (MACHADO et al., 1994).

Assim, a viabilidade econômica da exploração de caprinos está estreitamente relacionada à idade em que os animais atingem a puberdade e a maturidade sexual, que é cada vez menor, o que permite diminuir o intervalo entre as gerações e realizar maior intensidade de seleção, devido ao maior número de animais disponíveis no rebanho. No entanto, ainda não está bem definido a partir de que idade as avaliações seminais seriam úteis para determinar a real capacidade reprodutiva dos caprinos.

A avaliação da morfologia dos testículos, incluindo as medidas de perímetro escrotal, permite a escolha de melhores animais jovens destinados à reprodução, devido à alta correlação entre essas características com a produção total de sêmen e o desempenho reprodutivo.

Hafez e Hafez (2004) demonstraram que é vantajoso incrementar as taxas de crescimento dos animais jovens destinados ao rebanho de reprodução e isso

somente é alcançado por meio do conhecimento da fisiologia e do comportamento dos animais, o que exige estudo criterioso dos parâmetros apresentados por ocasião da puberdade e da maturidade sexual. Entretanto, existem poucas informações a respeito da puberdade e da maturidade sexual no macho caprino.

Fatores relacionados ao próprio animal, como raça, idade, peso corporal e características testiculares, assim como as variações climáticas, quantidade e qualidade das forragens ou concentrados fornecidos, podem influenciar as características reprodutivas, acelerando ou retardando a puberdade e a maturidade sexual (SANTOS et al., 2006).

No Brasil, os modelos de produção de caprinos disponíveis variam desde criações de subsistência e os ultraextensivos, passando ao semi-intensivo até as criações comerciais. O primeiro modelo produz exclusivamente para o próprio consumo em pequenos criatórios, tanto nas áreas rurais quanto nas periferias das grandes cidades. O modelo ultraextensivo é aquele em que os animais são recolhidos uma vez ao ano para medidas de manejo e abate do excedente. O semi-intensivo é quando os animais recebem complementação da alimentação no cocho. E as criações comerciais bem organizadas, em confinamento total, possuem grande estrutura de produção e, na maioria das vezes, dedicam-se também ao beneficiamento e à comercialização dos produtos (SILVA, 2000).

No sistema de produção semi-intensivo e no confinamento, a eficiência reprodutiva é o principal fator limitante da lucratividade. Na maioria das explorações, a produtividade ainda é baixa devido a indefinições quanto aos objetivos, metas e estratégias de criação, além da ausência de melhorias no regime de manejo e de sistemas de produção compatíveis com a exploração. Muitas vezes, existe a necessidade de melhorar o patrimônio genético ou mesmo incorporar raças especializadas aos rebanhos (PIMENTA FILHO e SIMPLÍCIO, 1994).

Embora o Brasil possua um dos maiores rebanhos de caprinos do mundo, somente há poucos anos vêm sendo desenvolvidos programas de melhoramento, com a introdução de animais geneticamente superiores, principalmente de aptidões leiteiras, importados da Europa. Dentre as raças leiteiras disponíveis para criação no Brasil, a Alpina vem adquirindo grande importância, sendo utilizada como raça pura ou para cruzamentos visando ao aprimoramento genético dos rebanhos. A raça Alpina, originária da Suíça, é especializada na

produção de leite, possuindo número expressivo de animais no Brasil. Os machos pesam em média 80 kg e as fêmeas 50 kg e se adaptam bem ao regime de criação semi-intensivo (RIBEIRO, 1998).

As pesquisas realizadas nas condições brasileiras atingem um pequeno número de animais, sendo que algumas raças não foram completamente estudadas. A importância de se estabelecer o momento em que ocorrem a puberdade e a maturidade sexual nos caprinos torna-se necessária, para a adoção de técnicas de manejo reprodutivo relacionadas à castração, à época da separação dos animais por sexo, (evitando-se os cruzamentos indesejáveis), à seleção precoce de animais destinados à reprodução, que contribuem para reduzir o intervalo entre as gerações e, conseqüentemente, permitem o melhoramento genético mais rápido do rebanho (NUNES, 2001).

Além disso, nos estudos desenvolvidos em reprodução de caprinos, poucos tratam dos aspectos relativos à biologia reprodutiva do macho. A correlação entre a biometria, a morfologia microscópica do testículo e a avaliação da produção espermática pode auxiliar na caracterização da puberdade e da maturidade sexual, além de dar suporte para análises comparativas com outras espécies. A medida do diâmetro tubular é um parâmetro que pode ser usado como indicador da atividade espermatogênica em estudos sobre o desenvolvimento testicular, influência sazonal na espermatogênese, efeitos da idade avançada e estudos toxicológicos (COSTA e PAULA, 2003).

A proporção volumétrica do parênquima testicular de mamíferos é bastante variável, sendo um dos principais fatores responsáveis pela diferença observada na eficiência da produção espermática nas diversas espécies (FAWCETT et al., 1973).

Programas de preservação e aprimoramento zootécnico de qualquer espécie ou raça requerem conhecimentos básicos de sua fisiologia reprodutiva. Assume relevância, no caso de machos, o estudo das diversas etapas do desenvolvimento testicular, especialmente daquelas associadas à puberdade e à maturidade sexual, já que a entrada em serviço dos reprodutores depende essencialmente da cronologia destes eventos (MENEZES, 2006).

Apesar de a cronologia do desenvolvimento histológico do testículo e as características andrológicas de várias espécies estarem bem determinadas, não

foi encontrado nenhum estudo descrevendo tais eventos em caprinos da raça Alpina, criados em condições semi-intensivas.

O presente estudo foi desenvolvido com o intuito de suprir a crescente demanda por informações relativas à puberdade e à maturidade sexual de machos caprinos leiteiros. Considerando que a raça Alpina é bastante utilizada para a exploração leiteira em condições semi-intensivas, um estudo completo, quanto ao estabelecimento da função reprodutiva em machos desta raça, englobando os aspectos de desenvolvimento ponderal, mensurações escrotais, características macro e microscópicas seminais, histológicas do testículo, poderá oferecer subsídios e embasamento para o uso mais racional destes reprodutores.

O objetivo, neste estudo, foi determinar, do ponto de vista morfométrico, a idade média em que os caprinos da raça Alpina, manejados em sistema semi-intensivo, alcançam a puberdade e a maturidade sexual. Correlacionar o perfil espermático destes animais na fase pré-púbere, púbere e pós-púbere, determinar a influência do estágio de desenvolvimento sexual, peso corporal, idade e o perímetro escrotal sobre as características seminais e estimar as correlações simples entre as características. Os dados obtidos darão subsídios para discussão sobre o manejo reprodutivo, atualmente utilizado para esses animais, dando ainda ensejo aos estudos comparativos com animais de outras raças e espécies.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos anatômicos do sistema genital masculino

Os principais constituintes funcionais do sistema genital masculino dos animais domésticos são o prepúcio, pênis, escroto, testículos, uma série de ductos para transporte do sêmen (túbulos retos, rede testicular (*rete testis*), ductos eferentes, ducto epididimário, ducto deferente, uretra prostática, uretra peniana), epidídimos, glândulas sexuais acessórias incluindo a ampola do ducto deferente, glândulas vesiculares, próstata e glândulas bulbouretrais. Os órgãos reprodutivos dos animais domésticos machos têm vários aspectos característicos. Os ductos deferentes transportam os espermatozoides desde a cauda do epidídimo até a porção pélvica da uretra. No bode, o pênis se caracteriza por um apêndice vermiforme, que consiste em uma projeção curta de 3-4 cm de comprimento da uretra, que gira rapidamente durante a ejaculação (AISEN e BICUDO, 2008). As glândulas acessórias do macho produzem secreções conhecidas em conjunto como plasma seminal. Este líquido liberado, no momento da ejaculação, provê um meio ambiente nutritivo e ionicamente balanceado que contribui para a sobrevivência dos espermatozoides facilitando o seu transporte dentro do trato reprodutivo da fêmea. A dilatação de cada ducto deferente, ao final de sua trajetória, é denominada ampola do ducto deferente, e serve como reservatório espermático. As vesículas seminais estão situadas a cada lado da parede posterior dorsal da bexiga e são responsáveis por secretar a maior parte do líquido seminal. A próstata, única glândula ímpar, está disseminada no bode, encontra-se situada sobre o colo da bexiga comunicando-se com a uretra por meio de pequenos ductos excretores. As glândulas bulbouretrais são achatadas dorsoventralmente e situadas quase no nível do arco isquiático, na região caudal da uretra. Sua secreção aquosa é expelida na uretra peniana antes da passagem da fração rica em espermatozoides (AISEN e BICUDO, 2008).

2.2. Características do testículo

As gônadas do macho são glândulas mistas, cujas funções principais são a endócrina e a exócrina. A primeira, endócrina, está relacionada com a síntese,

armazenamento e liberação dos hormônios sexuais masculinos, testosterona e androstenediona, mediante o processo de esteroidogênese que ocorre na célula de Leydig; e a segunda, exócrina, é responsável pela formação dos gametas no processo de maturação e diferenciação celular, que ocorre nos túbulos seminíferos, conhecido como espermatogênese (AMANN e SCHANBACHER, 1983).

Durante a embriogênese, os testículos se desenvolvem retroperitonealmente na parede dorsal da cavidade abdominal e, posteriormente, migram e acabam suspensos em uma bolsa especializada, denominada escroto, responsável por sua proteção e suporte (FAWCETT et al., 1973). Na maioria das espécies de mamíferos, os testículos são de forma ovoide, em número de dois e apresentam localização extra-abdominal. Estão suspensos na túnica vaginal do escroto, em posição vertical, situados paralelamente, um em relação ao outro (GONÇALVES et al., 2008). Além de alojar e proteger os testículos, a função principal do escroto é regular a temperatura interna das gônadas, mediante a contração involuntária do músculo *dartos*, que recobre o escroto interna e basalmente. Esta função permite mantê-los entre 4° e 7°C abaixo da temperatura corporal interna, para a manutenção das funções testiculares, o que é indispensável para que se efetue a espermatogênese (AISEN e BICUDO, 2008). Segundo Nunes (2001), os testículos do bode são simétricos e de consistência firme, apresentam forma ovoide e estão alojados no escroto, em posição vertical. O peso dos testículos, no bode adulto, pode ser influenciado pela raça, estação do ano e estado nutricional do animal.

Cada testículo, em sua migração, carrega uma porção serosa derivada do peritônio, a túnica vaginal, que cobre a albugínea testicular nas porções anterior e lateral, que consiste em uma camada parietal e uma camada visceral (FAWCETT et al., 1973). Os testículos são recobertos por duas cápsulas serosas de túnica *vaginalis*, e uma cápsula de tecido conjuntivo denso e irregular, rico em fibras colágenas, que constitui a albugínea testicular. Imediatamente abaixo desta cápsula encontra-se um tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado, que forma a cápsula vascular do testículo. A partir da albugínea testicular, emergem trabéculas de tecido conjuntivo que convergem para uma região ligeiramente espessada denominada mediastino, no centro do parênquima testicular. As trabéculas dividem a gônada em número variável de compartimentos em forma de

pirâmide, denominados lóbulos testiculares. Como os septos são incompletos, os lóbulos se intercomunicam. Cada lóbulo é ocupado por um a quatro túbulos seminíferos imersos em tecido conjuntivo frouxo, contendo vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, mastócitos, macrófagos, fibroblastos e células intersticiais (Leydig) (MENEZES, 2006). Próximo do segmento terminal de um túbulo seminífero, as células espermatogênicas diminuem em número e as de Sertoli tornam-se mais numerosas. Na saída de cada lóbulo, uma zona de transição revestida por células de Sertoli une o túbulo seminífero a um túbulo reto. Este último está revestido por epitélio simples cúbico, com células mioides ao seu redor, e encontra-se circundado por tecido conjuntivo frouxo, ricamente vascularizado. Os túbulos retos, que conectam a extremidade aberta de cada túbulo seminífero à rede testicular (*rete testis*), são um sistema de espaços labirínticos localizados no interior do mediastino testicular (FRANÇA et al., 2005). Da rede testicular, partem vários túbulos chamados ductos eferentes, que convergem para a porção dorsal do mediastino, para chegarem à extremidade *capitata* do testículo. Os ductos eferentes são formados por epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado. Juntos, o ducto eferente e as porções iniciais do ducto epididimário constituem a cabeça do epidídimo (BACHA e BACHA, 2003). Os espermatozoides produzidos no epitélio seminífero dos túbulos seminíferos entram em ductos curtos e retos, onde alcançam a rede testicular, passando pelos ductos eferentes, para entrar no ducto epididimário (FRANÇA et al., 2005).

2.3. Estabelecimento da espermatogênese

A espermatogênese pode ser definida como o conjunto de divisões e transformações por meio dos quais as células germinativas masculinas, as espermatogônias, dão origem aos espermatozoides. O termo espermatogênese indica o processo evolutivo, cíclico e altamente organizado e precisamente sincronizado, envolvido na diferenciação gradativa de uma célula-tronco, ou espermatogônia, que se transforma em uma célula haploide altamente especializada, o espermatozoide. Esse processo bastante organizado ocorre nos testículos, de modo permanente e contínuo, inicia-se a partir da puberdade, na parede dos túbulos seminíferos, quando as espermatogônias processam a

mitose, e termina com a liberação de espermatozoides maduros no lume dos túbulos seminíferos, completando-se, na maioria dos mamíferos estudados, em 40 a 60 dias, quando os níveis dos hormônios FSH e LH elevam-se e ocorre o amadurecimento do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (SANTOS e SIMPLÍCIO, 2000; HAFEZ e HAFEZ, 2004). A espermatogênese envolve proliferação mitótica, divisão meiótica e diferenciação da espermátide haploide. Neste processo, participam três classes de células germinativas: as espermatogônias, os espermatócitos e as espermátides (RUSSELL et al., 1990; FRANÇA et al., 1999; FRANÇA et al., 2005).

Nos mamíferos, a partir da puberdade, a espermatogênese torna-se um processo contínuo que pode ser dividido em três fases distintas: a) espermatogonial (proliferativa ou mitótica), na qual as espermatogônias sofrem divisão celular para transformarem-se em espermatócitos; b) espermatocitária (meiótica), os espermatócitos se transformam em espermátides; c) espermiogênica (diferenciação), caracterizada por mudanças morfológicas e bioquímicas progressivas dos componentes do citoplasma e núcleo das espermátides; que se transformam em espermatozoides completamente formados, as quais são controladas por mecanismos específicos de regulação (COUROT et al., 1970; FRANÇA et al., 2005).

Em caprinos, Bilaspuri e Guraya (1984) identificaram seis gerações de espermatogônias comprometidas com o processo espermatogênico, que contêm o número de cromossomos característico da célula somática da espécie e podem ser classificadas como: a) espermatogônias tipo A, que incluem as espermatogônias A_1 e formas celulares mais diferenciadas, denominadas espermatogônias A_2 e A_3 ; b) espermatogônia intermediária "In", derivada da A_3 ; c) espermatogônia tipo B que inclui B_1 e B_2 (COSTA e PAULA, 2003).

A primeira fase da espermatogênese, a mitose, tem como função básica assegurar a produção de grandes números de células germinativas. A espermatogônia do tipo A é uma célula diploide que se divide por mitose para formar outras duas espermatogônias, uma serve para a renovação da população de células-tronco e a outra entra no processo espermatogênico. Desta última, origina-se a espermatogônia intermediária, que se divide para formar as espermatogônias do tipo B. No final da divisão, a espermatogônia do tipo B_2 , ao sofrer mitose, origina os espermatócitos primários em pré-leptóteno. Esta célula

passa pelas fases de leptóteno, paquíteno e diplóteno. Tais células serão assimiladas dentro do compartimento adluminal do epitélio seminífero, pela passagem através das junções entre as células de Sertoli adjacentes. Todos os tipos celulares subsequentes ficarão no compartimento adluminal. Neste compartimento, as células ficam isoladas, sendo dependentes das células de Sertoli para prover seus requerimentos (COSTA e PAULA, 2003).

A meiose, a segunda fase da espermatogênese, tem como função a redução do número de cromossomos da célula germinativa para o estado haploide. Isto é essencial para permitir a união dos espermatozoides e oócitos haploides para formar novos indivíduos com o número correto de cromossomos. A fase meiótica envolve a síntese de DNA nos espermatócitos em pré-leptóteno, síntese de RNA em espermatócitos em paquíteno e, no final, ocorre a meiose reducional, resultando na formação do espermatócito secundário, que, ao sofrer meiose equacional, dá origem às espermátides haploides (AMANN e SCHANBACHER, 1983).

A terceira e última fase da espermatogênese envolve a maturação das espermátides, que se diferenciam por uma série de modificações morfológicas progressivas em espermatozoides, processo conhecido como espermiogênese. Estas modificações incluem a condensação e alongamento do núcleo; formação da cauda espermática, para auxiliar nos movimentos dentro do trato reprodutivo da fêmea; desenvolvimento da mitocôndria para fornecer energia, durante o movimento no trato feminino; desenvolvimento de uma organela, o acrossoma, que possibilita a penetração no oócito. Durante o desenvolvimento do acrossoma, notam-se quatro fases distintas: a Fase de Golgi, de Capuchão, do Acrossoma e de Maturação (RUSSELL et al., 1990). Uma quantidade considerável de citoplasma é perdida pela célula durante a espermatogênese. Algumas vezes são observados remanescentes do citoplasma aderidos ao espermatozoide, denominados como gotículas citoplasmáticas. A presença de gotículas citoplasmáticas é, algumas vezes, interpretada como indicação de que a maturação do espermatozoide não está completa (DUKES, 2004).

O processo espermatogênico, marcado pela liberação dos espermatozoides, é precedido por um aumento no nível de andrógenos e no desenvolvimento das glândulas acessórias. As células de Sertoli, em resposta ao hormônio folículo-estimulante (FSH), regulam o número de espermatogônias que entram no

processo de divisão celular e exercem papel importante no alongamento nuclear e formação do acrossoma nas espermatídes (ASDELL, 1946; LEVASSEUR e THIBAUT, 1982).

Em bezerros, a proliferação das espermatogônias ocorre durante a 16^a-20^a semanas após o nascimento; espermatócitos primários estão presentes na 24^a semana de vida; espermatídes na 28^a semana; e a completa espermatogênese é observada em torno da 32^a semana (CURTIS e AMANN, 1981).

Em equinos, aos 12 meses, as espermatogônias e espermatócitos primários estão presentes, seguidos pelas espermatídes arredondadas por volta do 16^o mês e espermatídes maduras aos 36 meses de idade. Entretanto, existe considerável variação no tempo de aparecimento de células germinativas específicas entre os ganhões e entre os túbulos do mesmo ganhão (AMANN, 1981).

Na maioria das espécies, grande número de células germinativas em apoptose pode ser encontrado durante o estabelecimento da espermatogênese (CLERMONT e PEREY, 1957; ATTAL e COUROT, 1963; CURTIS e AMANN, 1981). Uma vez estabelecida, a eficiência da produção espermática é aumentada até haver a estabilização, com produção espermática compatível à do animal adulto. O aumento da produção espermática, durante a puberdade e antes da maturidade sexual, está relacionado com o aumento do tamanho do testículo.

O estabelecimento da espermatogênese ocorre aleatoriamente no parênquima testicular na maioria das espécies (COUROT et al., 1970), exceto em ganhões, nos quais tal estabelecimento inicia-se da região central dos testículos para a periferia (JOHNSON, 1981).

O epitélio seminífero de animais sexualmente maduros é composto, além das células de Sertoli, por uma geração de espermatogônias vistas ao longo da membrana basal, por uma ou duas gerações de espermatócitos e por uma ou duas gerações de espermatídes no limite do lume tubular (MENEZES, 2006).

A espermatogênese é iniciada no mesmo ponto da célula a intervalos regulares. Cada espermatogônia que substitui a célula-mãe começa a se dividir a intervalos de tempo que são característicos para cada espécie. As células espermatogênicas encontram-se arranjadas nos túbulos seminíferos de forma organizada e bem definida, constituindo associações celulares que caracterizam os estádios do ciclo do epitélio seminífero. Considera-se uma associação celular ou estágio do ciclo do epitélio seminífero como sendo um conjunto definido de

gerações de células germinativas, encontrado em determinado momento, numa secção transversal de túbulo seminífero. Na maioria das espécies de mamíferos estudadas, o arranjo dos estádios do ciclo do epitélio seminífero é segmentado e, normalmente, existe apenas um estágio por secção transversal de túbulo (CASTRO et al., 1997).

A duração do processo espermatogênico, iniciando-se na espermatogônia A₁ até a liberação do espermatozoide maduro na luz do túbulo, é uma constante biológica sob controle genotípico das células germinativas para cada espécie e leva 4,5 ciclos para se completar (FRANÇA e RUSSELL, 1998; FRANÇA et al., 1999), variando de 30-75 dias na maioria dos mamíferos (FRANÇA et al., 2005). No caprino, dados demonstram que este tempo seria de 47,7 dias (FRANÇA et al., 1999), o que é muito semelhante à duração observada em carneiros, de 47 dias (FRANÇA e RUSSELL, 1998).

Geralmente, um determinado estágio do ciclo do epitélio está em posição contígua a um segmento em estágio subsequente. Esta disposição sequencial de estádios ao longo do túbulo é denominada onda do epitélio seminífero. A onda envolve uma sequência de estádios, iniciando-se com os menos avançados no meio da alça, até os progressivamente mais evoluídos e mais próximos a *rete testis* (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Porém, existe a possibilidade de irregularidades na expressão da ordem das fases consecutivas da onda do epitélio seminífero, denominada modulação. A origem deste evento é desconhecida, mas parece ser resultado de uma sincrônica, mas não simultânea, divisão de espermatogônias-tronco em segmentos tubulares adjacentes (COSTA e PAULA, 2003).

Segundo Johnson (1991), funcionalmente, a onda do epitélio seminífero tem, como objetivos: assegurar a liberação constante de espermatozoides; reduzir a congestão ao longo do túbulo seminífero, caso a espermição ocorra simultaneamente; diminuir a competição por hormônios e metabólicos usados em um dado estágio; assegurar o fluxo constante de fluido do túbulo seminífero, mantendo o veículo para o transporte de espermatozoides e hormônios utilizados pelo epitélio do epidídimo; e manter um fluxo constante de espermatozoides e hormônios para o epidídimo, favorecendo a maturação dos espermatozoides.

2.4. Controle hormonal da espermatogênese

As funções espermatogênica e de produção hormonal são exercidas em consonância com o eixo hipotalâmico-hipofisário. A regulação da atividade sexual ocorre em três níveis: fatores reguladores hipotalâmicos, hormônios hipofisários e hormônios sexuais secretados pelos testículos. Dois tipos celulares são responsáveis pela produção de hormônios nos testículos: a célula de Leydig e a célula de Sertoli.

Os fatores reguladores hipotalâmicos alcançam a hipófise anterior por meio do sistema de vasos porta-hipofisário. A secreção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) pelo hipotálamo estimula a hipófise anterior a secretar dois outros hormônios gonadotróficos: hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH). O LH é necessário para a espermatogênese por causa do seu papel na produção de testosterona. O FSH é importante para o complemento da meiose das células germinativas em virtude de sua influência sobre a atividade das células de Sertoli.

França e Russell (1998) relataram que há uma correlação positiva entre o peso testicular e a produção espermática. Porém, o índice gonadossomático, que corresponde ao investimento somático em massa gonadal, é maior em animais de pequeno porte em relação àqueles de maior porte corporal (KENAGY e TROMBULAK, 1986). Estes autores observaram que animais de menor peso corporal alocam maior proporção de massa corporal e desprendimento de energia no tecido testicular, quando comparados com animais de maior porte.

Ao nascimento, o parênquima testicular é composto por cordões testiculares sólidos, constituídos por gonócitos primordiais e células indiferenciadas de suporte, e por tecido intercordonal, caracterizado pela presença de células mesenquimais e células intersticiais (Leydig) (ABDEL-RAOUF, 1960; COUROT, 1978; FRANÇA, 1987). O parênquima testicular dos mamíferos adultos é constituído por dois tipos de tecidos que diferem entre si anatômica e funcionalmente: a) tecido intertubular ou intersticial, b) tecido tubular (CASTRO et al., 1997).

2.4.1 Tecido intertubular e as células de Leydig

O tecido intertubular ou intersticial, preenche o espaço entre os túbulos seminíferos, contém vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, fibras de tecido conjuntivo, fibroblastos, macrófagos, mastócitos (SETCHELL, 1991). Dispersos entre os túbulos seminíferos, encontram-se ainda grupos de células endócrinas, as células intersticiais (Leydig), principal fonte de andrógeno do organismo, exercendo importante papel na esteroidogênese testicular. As células de Leydig iniciam a secreção de testosterona ainda na vida fetal, para a diferenciação embriológica dos órgãos genitais masculinos. Após o nascimento, as células intersticiais (Leydig) tornam-se quiescentes, voltando à atividade durante a puberdade, com o estímulo do hormônio luteinizante (LH) secretado na hipófise, e tornam-se evidentes, assumindo forma arredondada ou poligonal, núcleo central e citoplasma, contendo numerosas gotículas de lipídios e abundante retículo endoplasmático liso (LUETJENS et al., 2005). Os produtos de secreção destas células são os hormônios masculinos testosterona e androsterediona, a activina e o fator de crescimento semelhante à insulina IGF-I. As células de Leydig produzem andrógenos em resposta ao estímulo por parte do hormônio luteinizante (LH), liberado pela hipófise que, por sua vez, é estimulada pelo hormônio gonadotrófico (GnRH), secretado no hipotálamo (RUSSELL et al., 1990). A testosterona produzida pelas células de Leydig é necessária para a função das células de Sertoli, produção de espermatozoides e pelos caracteres sexuais masculinos.

O hormônio luteinizante (LH) controla a atividade endócrina das células de Leydig. O LH no testículo liga-se especificamente ao receptor localizado na superfície da membrana da célula de Leydig e ativa a adenosina-monofosfato cíclica (cAMP). Este processo dá início à ativação das proteínas quinase, que catalisam a fosforilação das proteínas intracelulares e mobilizam os esteroides, principalmente mediante a conversão do colesterol em pregnenolona, promovendo a síntese de testosterona, um hormônio esteroide, que se difunde para o interior do túbulo seminífero. Altas concentrações intratesticulares de testosterona são necessárias para dar suporte à atividade espermatogênica, especialmente para o processo de meiose (WALKER e CHENG, 2005). O mecanismo clássico, pelos quais os andrógenos e os outros hormônios esteroides

exercem seus efeitos, é iniciado com a difusão simples ou facilitada do hormônio para o interior de célula-alvo através da membrana plasmática. A testosterona se liga com alta afinidade aos receptores proteicos específicos intracelulares, presentes no citoplasma ou no núcleo. O complexo receptor-esteróide formado atua como fator de indução de transcrição para recrutar proteínas coativadoras e estimular a transcrição do gene (WALKER e CHENG, 2005). A testosterona, principal produto da célula de Leydig, também se desloca rapidamente pelo sistema vascular sanguíneo, onde é importante para modular o comportamento reprodutivo, desenvolvimento e manutenção da libido, atividade secretória dos órgãos acessórios masculinos e é responsável pelo desenvolvimento das características corporais associadas com o fenótipo masculino (MASCARENHAS et al., 2006).

Os testículos secretam vários hormônios sexuais masculinos, coletivamente chamados androgênios, que compreendem não só a testosterona, mas também a diidrotestosterona e androstenediona. Aumentos na secreção de LH são seguidos, dentro de 30 a 60 minutos, por níveis aumentados de testosterona, que duram de uma a várias horas. A testosterona secretada nos testículos, em resposta ao LH, inibe a secreção hipofisária de LH, agindo no hipotálamo ou diretamente sobre a hipófise. O efeito direto da testosterona no hipotálamo diminui a secreção de GnRH, causando uma diminuição correspondente da secreção de LH e FSH pela hipófise anterior, ao passo que o decréscimo do LH diminui a secreção de testosterona pelos testículos (GONÇALVES et al., 2008). O LH também tem um efeito trópico sobre as células de Leydig, estimulando-as a se hipertrofiar. A remoção do LH produz cessação de produção de testosterona e uma grande redução no tamanho das células de Leydig (DUKES, 2004).

Hales (2002), estudando a influência dos macrófagos testiculares sobre a função esteroidogênica das células de Leydig, relatou que a associação física entre as células de Leydig e os macrófagos testiculares intersticiais sugeria que estas células estavam relacionadas funcionalmente. Em condições fisiológicas normais, quando não havia inflamação, os macrófagos exerciam importante influência no desenvolvimento das células de Leydig. Constatou ainda que, no caso de os macrófagos estarem ausentes no tecido intersticial, ocorriam falhas no desenvolvimento normal das células de Leydig, sugerindo que os macrófagos

forneciam fatores de crescimento e de diferenciação para as células de Leydig. Por outro lado, quando os macrófagos eram ativados e elaboravam mediadores inflamatórios, a função esteroidogênica das células de Leydig era suprimida. Os macrófagos ativados produzem citocinas pró-inflamatórias, tais como, Interleucina 1 (IL-1) e Fator de Necrose Tumoral (TNF), que causavam efeitos profundamente inibitórios para as células de Leydig e pareciam atuar como inibidores da expressão dos genes da transcrição das enzimas esteroidogênicas. Os macrófagos também eram responsáveis pela síntese de Espécies Reativas ao Oxigênio (ROS), tais como, o peróxido de hidrogênio, que também inibia as células de Leydig de realizarem suas funções.

A densidade populacional das células de Leydig pode variar entre os indivíduos de espécies diferentes e mesmo entre os indivíduos da mesma espécie. Dentre os fatores que podem influenciar a quantidade de células de Leydig por animal, estão a quantidade de LH disponível, o número de receptores por célula, a quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar por unidade de 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 de testosterona (CALDEIRA, 2007).

De acordo com Fawcett et al. (1973), a organização e a proporção dos elementos constituintes do espaço intertubular, nas diferentes espécies de mamíferos, seguem três padrões distintos: (I) espécies nas quais as células de Leydig e o tecido conjuntivo ocupam uma área muito pequena no compartimento intertubular, contrastando com extensos espaços linfáticos; (II) espécies que apresentam grupos de células de Leydig distribuídos por toda parte, cujo tecido conjuntivo frouxo é drenado por um vaso linfático localizado no centro ou, excentricamente, no espaço intertubular e; (III) espécies nas quais abundantes grupos de células de Leydig ocupam praticamente todo o compartimento intertubular, apresentando pouco tecido conjuntivo e vasos linfáticos.

2.4.2 Tecido tubular e as células de Sertoli

O tecido tubular, onde se encontram os túbulos seminíferos é constituído pela túnica própria, epitélio seminífero e lume. Na túnica própria, encontram-se as

células mioides ou peritubulares, a membrana basal e as fibras colágenas. O epitélio seminífero é formado pelas células somáticas de Sertoli, que estão presentes em todos os estádios do ciclo do epitélio seminífero. Estas células são grandes, têm nucléolos evidentes e estão em contato direto com a membrana basal dos túbulos seminíferos, e se estendem da base até o ápice do epitélio seminífero (RUSSELL et al., 1990; COSTA, 2001; COSTA e PAULA, 2003; MENEZES, 2006). As células de Sertoli têm longos processos que envolvem as células germinativas e proveem uma estreita interação com estas células durante todo o seu desenvolvimento. Elas são importantes para o controle do desenvolvimento das células germinativas, visto que sintetizam vários fatores nutritivos e reguladores, fundamentais para o processo de espermatogênese e a fertilidade do macho (WALKER e CHENG, 2005). As células da linhagem espermatogênica, se dividem e se diferenciam para formar espermatozoides no processo denominado espermatogênese. Os espermatozoides maduros são liberados das células de Sertoli e se tornam livres no lume dos túbulos seminíferos. No lume tubular, encontra-se também o fluido secretado pelas células de Sertoli junto com os espermatozoides.

O hormônio folículo estimulante (FSH) está diretamente relacionado com o início e a manutenção da atividade gametogênica dos túbulos seminíferos. Inicialmente, o FSH se fixa aos receptores específicos, presentes nas células de Sertoli, nos túbulos seminíferos. Walker e Cheng (2005), relataram que, quando o FSH interagia com o receptor, acoplado à proteína G, ocorriam mudanças estruturais na membrana da célula de Sertoli, com a ativação da adenilato ciclase (AC), o que ocasionava o aumento dos níveis intracelulares de adenosina-monofosfato cíclico (cAMP) e estimulava a secreção de substâncias espermatogênicas. Estes mesmos autores observaram também que o aumento dos receptores para o FSH era concorrente com a proliferação aumentada das células de Sertoli.

As células de Sertoli exercem importantes funções no processo espermatogênico, bem como na movimentação das células germinativas. Dentre as funções que desempenha, podem-se destacar: que são responsáveis pela formação da barreira hematotesticular; servem de suporte estrutural e nutricional para as células germinativas em desenvolvimento; permitem a progressão das células germinativas em diferenciação e em direção ao lume; liberam os

espermatozoides no lume tubular, processo conhecido como espermição, durante a espermatogênese; realizam a fagocitose de células germinativas degeneradas e de corpos residuais eliminados do citoplasma de células germinativas maduras. A célula de Sertoli converte a testosterona em diidrotestosterona, um androgênio de maior potência biológica que a testosterona, embora esta também se desloque, sem ser transformada, através das células de Sertoli para o compartimento adluminal. Estas células promovem a síntese e a liberação da proteína ligadora de andrógenos (ABP), a qual se une aos andrógenos dentro do compartimento adluminal. Realizam a síntese e a secreção do hormônio inibina, cuja função é suprimir a secreção do hormônio folículo-estimulante pela hipófise anterior. A inibina apresenta subunidades que estão ligadas por pontes de dissulfeto. Na presença de alta atividade espermatogênica, as concentrações de FSH tendem a ser baixas devido à secreção de inibina. Um dos sinais de que o processo espermatogênico está diminuído é um elevado nível de FSH no macho. As células de Sertoli sintetizam e secretam a transferrina testicular, uma proteína que capta o ferro da transferrina sérica, e o conduz para os gametas em maturação (FRANÇA, et al., 2005). A transferrina sérica diférrica interage com o receptor para a transferrina, receptor este localizado na extremidade basal da membrana da célula de Sertoli e que libera os dois íons férricos internalizados, no compartimento celular, pelo complexo transferrina-íon férrico-receptor transferrina. Os íons férricos são captados pela transferrina testicular recentemente sintetizada, e secretados no compartimento adluminal, onde o ferro é liberado para as células germinativas. Nas células germinativas, o ferro é incorporado por várias proteínas, incluindo a ferritina (GRISWOLD, 1998). O ferro estocado na ferritina fica disponível para a síntese de heme e não-heme ferro proteínas (SYLVESTER e GRISWOLD, 1994). As células de Sertoli contribuem para a produção de um meio rico em frutose que nutre e facilita o transporte dos espermatozoides através dos túbulos em direção à *rete testis*. Produzem a “Substância Inibidora Mülleriana”, uma glicoproteína, responsável pela supressão do ducto paramesonéfrico (Mülleriano), a partir do qual se desenvolvem o útero e a vagina (HAFEZ e HAFEZ, 2004; FRANÇA et al., 2005), estabelecendo a masculinidade do embrião em desenvolvimento (MRUK e CHENG, 2004). A célula de Sertoli é também responsável por mediar as ações estimuladoras dos hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH) para a

produção de testosterona nos testículos, provavelmente, por mecanismo estágio-dependente. Embora seja sugerido que o FSH represente maior papel na iniciação, manutenção e restauração da espermatogênese em primatas têm-se demonstrado que, na maioria das espécies de mamíferos investigadas, a testosterona é muito importante para a manutenção quantitativa da espermatogênese normal, enquanto o FSH exerce um papel qualitativo (FRANÇA, et al., 2005). Segundo Suire et al. (1995), o FSH é o maior regulador da produção de transferrina no testículo. Em que se refere à ação do FSH sobre a produção de transferrina na célula de Sertoli, acredita-se que seja mediada, pelo menos em parte, pelo segundo mensageiro, sistema 3', 5'- adenosina monofosfato cíclico, que estimula a transcrição do gene da transferrina.

Pouco antes da puberdade, as membranas laterais das células de sustentação (Sertoli) adjacentes formam, entre si, junções de oclusão que dividem funcionalmente a parede do túbulo seminífero em dois compartimentos concêntricos, isolando as células germinativas, que estão em processo de diferenciação, da circulação geral. O compartimento basal, mais estreito, localizado na extremidade basal da zônula de oclusão, circunda o extenso compartimento adluminal. Assim, as zônulas de oclusão dessas células estabelecem uma barreira hematotesticular, que exerce duas funções principais. A primeira permite a criação de um meio ambiente adluminal em que é controlado o metabolismo dos espermatozoides. Por exemplo, os íons potássio, seletivamente secretados para dentro do espaço adluminal, são importantes para a manutenção dos espermatozoides em estado de quiescência. A segunda é que a barreira hematotesticular protege contra o movimento dos espermatozoides dentro do interstício dos testículos, isolando o compartimento adluminal das influências do tecido conjuntivo, protegendo, portanto, os gametas em desenvolvimento do sistema imune (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Durante a sua formação, o espermatozoide se torna uma célula haplóide e, no caso do espermatócito secundário, ele não é reconhecido como "próprio" pelos mecanismos gerais de defesa do organismo. O acúmulo de espermatozoides no interstício pode resultar em forte reação inflamatória envolvendo principalmente as células do tipo monócito, com obliteração de áreas dos testículos (DUKES, 2004). A renovação e proliferação das espermatogônias até o espermatócito primário em pré-leptóteno ocorrem no compartimento basal. No início da fase de

leptóteno da primeira divisão meiótica, os espermátocitos primários migram por meio da barreira hematotesticular para o compartimento adluminal, onde a meiose continua e a espermatogênese ocorre (COSTA e PAULA, 2003). As células localizadas no compartimento basal recebem, diretamente da rede de capilares sanguíneos ou fluido intertubular, o suprimento hormonal, enquanto aquelas que se encontram no compartimento adluminal o fazem mediante as células de Sertoli, que estabelecem junções especiais com estas células (COSTA, 2001; MRUK e CHENG, 2004).

A eficiência da espermatogênese tem sido avaliada a partir da estimativa da população de células germinativas em relação à população de células de Sertoli (JOHNSON et al., 2000). Isto se torna possível, uma vez que a maioria dos autores considera que, durante o desenvolvimento testicular, as células de Sertoli se multiplicam por mitose, porém, após a chegada da puberdade, não sofrem mais divisões, não aumentam em número, mantendo sua população estável (COUROT et al., 1970). Este pode ser o limite da espermatogênese (FRANÇA e RUSSELL, 1998).

Contrastando com a maioria dos autores que afirmam que o número de células de Sertoli é estável após a puberdade, Johnson e Nguyen (1986), trabalhando com 186 garanhões, relataram que, durante a estação reprodutiva, estes animais tinham maior número de células de Sertoli que fora da estação. Tais autores ressaltaram ainda que valores intermediários foram encontrados no período entre as duas estações. Johnson et al. (2000), estudando o efeito da estação do ano sobre o número de células de Sertoli em testículo de equino, relataram que o número de células de Sertoli por testículo foi maior nos meses de maio e junho, quando comparado com o dos meses de agosto a outubro ou fevereiro a abril.

A produção de espermatozoide aumenta com a idade no período pós-puberdade e está sujeita às mudanças sazonais em várias espécies (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Costa e Paula (2003) relataram que a eficiência da espermatogênese aumenta progressivamente a partir da puberdade até ocorrer a maturidade sexual, quando a razão entre as células de Sertoli e as células espermatogênicas se estabiliza.

As células de Sertoli têm a capacidade de suporte de células germinativas, relativamente fixa, para cada espécie. Assim, o número de células de Sertoli por

testículo é o principal fator para determinação da produção espermática diária e do tamanho dos testículos, sendo o melhor indicativo da sua eficiência funcional. O rendimento da espermatogênese tem sido avaliado a partir da estimativa da população de células germinativas em relação à população de células de Sertoli (COSTA e PAULA, 2003).

2.5. A cronologia da espermatogênese

No processo de seleção de reprodutores, a idade em que se inicia a atividade sexual é importante para a determinação da eficiência reprodutiva. Na maioria das espécies de mamíferos, a curva de crescimento testicular é semelhante, apresentando maior crescimento próximo à puberdade (COURROT et al., 1970; CURTIS e AMANN, 1981; APONTE et al., 2005).

As dimensões testiculares são importantes indicadores da capacidade de produção espermática (SCHINCKEL et al., 1984). O estabelecimento da espermatogênese é um fenômeno longo e progressivo, distinguindo-se várias fases após o nascimento. Com a finalidade de se estabelecer parâmetros para a biologia reprodutiva do macho, com ênfase à puberdade e à maturidade sexual, os animais domésticos podem ser classificados, conforme a evolução cronológica da espermatogênese, nas seguintes fases: impúbere, pré-púbere, púbere, pós-púbere e maturidade sexual (ASSIS NETO et al., 2003).

No período compreendido entre o nascimento até o final da fase impúbere, o parênquima testicular é composto por cordões testiculares sólidos e tecido intercordonal. Nestes animais, predominam, nos cordões testiculares, a presença de células indiferenciadas de suporte, gonócitos dispostos próximo à lâmina basal e a ausência de lume tubular. O tecido intercordonal é caracterizado pela presença de células mesenquimais e células intersticiais (Leydig) (ABDEL-RAOUF, 1960; COURROT, 1978; FRANÇA, 1987; ASSIS NETO et al., 2003; APONTE et al., 2005). No momento do nascimento, nos mamíferos em geral, o número de células indiferenciadas de suporte é maior que o número de células germinativas (FRANÇA et al., 2000).

Os animais pré-púberes apresentam os cordões testiculares em processo de luminação, que não se dá de maneira homogênea e sincrônica em todo o testículo. A formação do lume é afetada pelos níveis testiculares de testosterona

(THOMAS e RAJA, 1980; FRANÇA, 1987). Os gonócitos persistem nos cordões testiculares até um pouco antes da puberdade, quando se dividem e se diferenciam para formar as espermatogônias. Na fase pré-púbere do desenvolvimento sexual, ocorrem o desaparecimento dos gonócitos e a proliferação das células germinativas no epitélio. As células germinativas primordiais passam por um processo de diferenciação gradual transformando-se em espermatogônias tipo A, intermediárias e do tipo B, marcando o início da atividade espermatogênica. Nesta fase, verificam-se espermatogônias e espermatócitos primários em diversas fases de divisão, espermatócitos secundários, espermátides arredondadas e alongadas (COUROT, 1970; FRANÇA, 1987; ASSIS NETO et al., 2003; APONTE et al., 2005). Geralmente, em torno de 40 e 80 dias antes da idade púbere, ocorre a completa diferenciação das células indiferenciadas de suporte em células de Sertoli madura (SHARPE, 1994; FRANÇA e RUSSELL, 1998). O surgimento dos primeiros espermatócitos primários e espermátides arredondadas ocorrem, simultaneamente, ao aumento da secreção de fluidos do epitélio seminífero, ao término do processo de luminação dos cordões testiculares, à formação da barreira hematotesticular e ao início da maturação das células de Sertoli (CURTIS e AMANN, 1981; SUN et al., 1985; FRANÇA, 1987; ASSIS NETO et al., 2003; APONTE et al., 2005).

A fase púbere é determinada quando a espermatogênese apresenta-se completa, identificando-se a liberação dos primeiros espermatozoides no lume tubular. Neste momento, as células de Sertoli apresentam-se diferenciadas e sua população estabilizada. Nesta faixa etária, ocorre a proliferação acelerada das células espermatogênicas, que se distribuem em associações celulares referentes aos estádios do ciclo do epitélio (FRANÇA, et al., 2000; ASSIS NETO et al., 2003). O que coincide com o aumento do diâmetro e do peso testicular, caracterizando a fase de maior desenvolvimento ponderal. Estes parâmetros correspondem cronologicamente ao período de estabelecimento da puberdade.

Na fase púbere, ocorre o desaparecimento completo das células indiferenciadas de suporte, que se diferenciam em células de Sertoli. Em carneiros, as espermatogônias proliferam para produzir espermatócitos aos 100 dias de vida, espermátides aos 120-125 dias e a completa espermatogênese se dá aos 140-150 dias (ORTAVANT et al., 1977).

A puberdade pode ser definida como a época em que o macho atinge a capacidade de fertilizar uma fêmea. Ocorre entre os 5 a 7 meses nos caprinos, e de 6 a 7 meses nos ovinos. Em geral, a puberdade pode ser definida como a idade em que os animais começam a expressar as características sexuais secundárias. Essa idade é afetada por fatores como níveis de testosterona e gonadotrofinas circulantes e depende, além da idade, de fatores como raça, nível nutricional, saúde, temperatura ambiental, fotoperíodo, peso corporal, e a depender do regime de manejo utilizado, com a época do nascimento.

Inicialmente, Asdell (1946) definiu a puberdade no macho como a idade em que o animal tornava-se capaz de reproduzir, com a liberação dos primeiros espermatozoides. Posteriormente, Skinner (1971) considerou que a puberdade no macho ocorria quando havia secreção de andrógenos em resposta às gonadotrofinas hipofisárias, o que acelerava o desenvolvimento dos órgãos-alvo do sistema reprodutor e das características sexuais secundárias.

Hafez e Hafez (2004) definiram a puberdade como o momento em que o macho é capaz de liberar gametas e de manifestar uma sequência completa relacionada com o comportamento sexual. A puberdade seria basicamente o resultado de um ajuste gradual entre o aumento da atividade gonadotrófica e da habilidade dos testículos em realizar, simultaneamente, a gametogênese e a esteroidogênese.

No início da puberdade, as concentrações circulantes de gonadotrofinas aumentam em consequência dos impulsos periódicos de gonadotrofinas, resultantes da ação dos esteroides sexuais e, possivelmente, do aumento da capacidade de resposta do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), secretado pelo hipotálamo (LUETJENS et al., 2005).

A qualidade do sêmen dos animais púberes é relativamente baixa quando comparada com a dos animais adultos. O volume e a concentração aumentam gradativamente no período pós-púbere, acompanhados do aumento no número de espermatozoides vivos morfológicamente normais, levando ao incremento do potencial fertilizante do sêmen devido ao aumento da motilidade (DUN, 1955; WATSON et al., 1956; LOW e JOUBERT, 1964; SKINNER, 1970).

Ao alcançarem a puberdade, no aspecto biológico, os animais estão aptos à reprodução, porém, do ponto de vista zootécnico, ainda não apresentam desenvolvimento corporal e maturidade sexual compatíveis para exercerem a

atividade reprodutiva em sua plenitude. Por isso, não é recomendável que sejam utilizados para a reprodução ao atingirem a puberdade (SIMPLÍCIO, et al., 2000).

Nessa fase, os testículos passam a responder de forma mais eficiente aos estímulos das gonadotrofinas, hormônio do crescimento e prolactina, induzindo a esteroidogênese. O principal estímulo endócrino da espermatogênese é o andrógeno. Esta dependência esteroidogênica é proporcionada pela produção de andrógenos pelas células intersticiais ou de Leydig. Essas células são estimuladas pelo LH para a secreção de andrógenos. Os andrógenos produzidos pelas células de Leydig agem no hipotálamo e na hipófise para controlar a produção de LH, enquanto a gonadotrofina, FSH, estimula a produção de uma proteína fixadora de andrógenos (ABP) nas células de Sertoli. A ABP, que é secretada na luz do túbulo seminífero, ajuda a manter alto nível de andrógenos no túbulo, pela formação de um complexo com os esteroides. As duas gonadotrofinas funcionam em conjunto para concentrar testosterona e diidrotestosterona dentro dos túbulos seminíferos, onde estimulam o desenvolvimento das células germinativas (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Diferentes critérios foram utilizados para definir a puberdade, em bovinos. França e Russell (1998), por exemplo, consideraram, como marco inicial, o aparecimento dos primeiros espermatozoides no lume do epitélio seminífero. Amann e Schanbacher (1983) associaram a puberdade ao período de rápido crescimento testicular, aumento da secreção do hormônio luteinizante (LH) e início da espermatogênese. Baker et al. (1988) caracterizaram a puberdade como o surgimento dos primeiros espermatozoides no ejaculado, enquanto, para Garcia et al. (1987), é a idade em que aparecem os primeiros espermatozoides móveis no ejaculado. Dentre as definições mais aceitas está a de Wolf et al. (1965), que caracteriza a puberdade como a idade em que o touro produz ejaculado, com o mínimo de 50×10^6 espermatozoides e 10% de motilidade progressiva. Este critério foi ligeiramente modificado por Hardin et al. (1982), que acrescentaram os requisitos de desprendimento completo do frênulo prepucial e um mínimo de 10×10^6 espermatozoides vivos normais no ejaculado.

Variações da época da instalação da puberdade nos animais podem ser atribuídas à idade, raça dos pais, manejo, temperatura ambiente, fotoperíodo e peso corporal afetado pela nutrição e taxas de crescimento antes e após o desmame (ASSIS NETO et al., 2003). Estudos comprovam que o início da

puberdade está mais intimamente relacionado com o peso corporal do animal do que com a idade propriamente dita (NUNES, 2001).

Segundo Simplício (2000), a puberdade no macho caprino pode ser caracterizada pela liberação do pênis do prepúcio (desprendimento completo do frênuo prepucial), o que propicia a condição de poder expor o pênis, e pela presença de espermatozoides móveis no ejaculado. Estudos têm demonstrado que o desbridamento peniano em caprinos de raças leiteiras, ocorreu nos animais com 20 semanas de idade (SMITH, 1986). Foote e Simplício (1988) observaram em cabritos Moxotó que o pênis tornou-se livre do prepúcio com 17,8 semanas e encontraram espermatozoides móveis no ejaculado com 18,4 semanas de idade. Girão et al. (1996) verificaram o desbridamento peniano nos caprinos da raça Marota e mestiços com Anglo-Nubiano, com 19 e 20 semanas, para a raça Baladi; 22 semanas (ABI-SAAB et al., 1997); e 16 semanas para cabritos Saanen (BECKER-SILVA et al., 1999). A liberação do pênis é visível e facilmente mensurada, e uma vez que ocorre imediatamente antes ou logo após a primeira ejaculação de espermatozoides móveis, representa um método útil para se estimar a idade da puberdade. Neste momento, a cópula e a colheita de sêmen, em vagina artificial, tornam-se possíveis.

Nunes (2001) constatou que a puberdade no bode está associada ao marcante aumento na secreção de testosterona, à espermatogênese e ao comportamento sexual. O peso dos testículos de 16 bodes, de 140 a 341 dias de idade, mostrou média de 145 g contra 22,5 g dos epidídimos.

Segundo Levasseur e Thibault (1982), a presença dos espermatozoides no ejaculado tem sido o parâmetro prático para a determinação da idade da puberdade. Porém, a eficiência reprodutiva plena não é atingida por ocasião do primeiro cio ou ejaculação, uma vez que, nas primeiras ejaculações, a qualidade do sêmen é baixa.

De acordo com este parâmetro, encontra-se grande variação da idade em relação à puberdade em caprinos, segundo a raça. Os machos da raça Boer apresentaram idade média da puberdade de 157,5 dias (LOW e JOUBERT, 1964). Elwishy e Elsawaf (1971) observaram, na Índia, que os machos da raça Damascus, na puberdade, apresentaram idade e peso médio de 509,2 dias e 36,60 kg, respectivamente. Bongson et al. (1982) observaram, em machos mestiços da raça Saanen e Jamnapari, idade média na puberdade de 210 dias.

Traldi (1983), trabalhando com caprinos da raça Moxotó, considerou a puberdade como o aparecimento dos primeiros espermatozoides no ejaculado colhido com vagina artificial, o que ocorreu em média aos 143,9 dias. Skalet et al. (1988) encontraram 141,0 dias de idade média na puberdade para a raça Nubiana; e Silva (2000) registrou 120 dias para a raça Saanen.

Em caprinos Alpinos, Trejo et al. (1988) encontraram os primeiros espermatozoides no ejaculado aos 5 meses. Chakraborty et al. (1989) caracterizaram a puberdade como sendo o primeiro momento em que se obteve, com eletroejaculador, espermatozoides móveis no ejaculado, o que ocorreu entre os 7 e 9 meses.

A fase pós-púbere caracteriza-se por alterações significativas nos túbulos seminíferos, verificando-se somente aumento quantitativo da população celular, o que reflete a melhoria da espermatogênese. Esta proliferação de células, após a puberdade, é o principal fator responsável pelo crescimento dos túbulos seminíferos, tanto em diâmetro, quanto em comprimento (COURROT, et al., 1978; FRANÇA, 1988; ASSIS NETO et al., 2003). Após a puberdade, os túbulos seminíferos já possuem associações celulares correspondentes aos oito estádios do ciclo do epitélio seminífero (FRANÇA, 1987; MELO, 1991).

A fase de maturidade sexual é definida, quando se verifica a estabilidade da diferenciação e multiplicação celular, tornando-se constante o rendimento intrínseco da espermatogênese, atingindo níveis de um animal adulto. No entanto, o peso testicular e peso corporal continuam em crescimento (COURROT, et al., 1970; FRANÇA, et al., 1988; ASSIS NETO et al., 2003; APONTE et al., 2005).

Amann (1970) definiu a maturidade sexual como o momento em que o macho atinge a produção espermática diária máxima. Garcia et al. (1987), trabalhando com bovinos, sugeriram, como critério de maturidade sexual, o aparecimento de defeitos espermáticos maiores em até 15% e defeitos totais até 30%. Fonseca et al. (1992) e Henry e Neves (1998) colocaram, como padrão de normalidade para o macho caprino sexualmente maduro, a detecção de defeitos espermáticos totais de até 20%.

Courot et al. (1970) relataram que a condição matura do indivíduo é evidenciada na fase pós-púbere, quando os testículos ainda se encontram em desenvolvimento e a espermatogênese se assemelha à do animal adulto. Embora os caprinos estejam aptos à reprodução por ocasião da puberdade, a maturidade

sexual só ocorrerá um pouco mais tarde, quando o sêmen por eles produzido estiver dentro dos padrões normais para caprinos.

Nos trabalhos de Traldi (1983) e Maia e Vieira (1992), a maturidade sexual em caprinos foi aceita quando o sêmen se apresentava com padrões físicos e morfológicos adequados à espécie, ressaltando que, a partir da puberdade, as características seminais de volume, concentração, motilidade e vigor apresentaram valores crescentes, enquanto os percentuais de defeitos espermáticos mostraram-se decrescentes e que, mesmo alcançada a maturidade sexual, as características seminais continuaram a melhorar.

Estabeleceu-se que a maturidade sexual deve ser compreendida como a idade e o desenvolvimento sexual e corporal, quando os indivíduos alcançam a capacidade plena para se reproduzirem (SILVA, 2000). Em geral, dependendo da raça e do regime de manejo, os machos caprinos podem ser usados a partir de 6 a 8 meses de idade como doadores de sêmen ou monta natural. Entretanto, cuidados devem ser adotados quanto ao número de fêmeas por macho, nutrição e regime de monta (SIMPLÍCIO et al., 2000).

No macho adulto, a motivação e a eficiência sexual dependem diretamente da secreção hormonal e dos eventos sociais. O início da estação sexual é precedido pela secreção de andrógenos testiculares, verificados pelo aumento da concentração plasmática de testosterona (LUETJENS et al., 2005).

Segundo Tron (1986), a maturidade sexual em caprinos manifesta-se pela melhoria da qualidade espermática, da atividade de monta e fertilidade, havendo diferenças na idade em que a maturidade sexual é atingida, variando de 4 a 8 meses em raças precoces, e de 1 a 4 anos nas raças tardias.

Traldi (1983) sugere, como critério para a determinação da maturidade sexual em caprinos, o momento em que o sêmen dos animais passa a apresentar padrões físicos adequados para a espécie, os quais poderiam ser assim resumidos:

Parâmetros	Variação
Turbilhonamento	4 – 5
Motilidade mínima	60% – 70%
Concentração	1,0 a 3,5 x 10 ⁶ (sptz/mm ³)

Silva (2000), trabalhando com bodes Saanen, criados nas condições de confinamento, verificou que os primeiros espermatozoides móveis foram encontrados no ejaculado aos 4 meses, e a maturidade sexual foi atingida aos 7 meses, sugerindo que os caprinos podem ser utilizados como reprodutores a partir desta idade.

2.6. Características do epidídimo

O epidídimo é um órgão alongado e enovelado revestido por tecido conjuntivo, localizado na superfície medial de cada testículo. Este órgão é essencial tanto para maturação como para o armazenamento dos espermatozoides, contribuindo para a reprodução normal dos mamíferos. Os espermatozoides liberados pelos testículos não são capazes de se deslocarem e penetrarem no oócito, para o fertilizarem, até que tenham passado pelo epidídimo (FRANÇA et al., 2005). À medida que os espermatozoides passam pelo epidídimo, eles sofrem importantes alterações morfofuncionais. A presença de uma proteína de motilidade permite que o espermatozoide se torne móvel. A maturação posterior do acrossoma permite que o espermatozoide penetre no oócito. O metabolismo dos espermatozoides no epidídimo é baixo devido à presença de pequena quantidade de substrato oxidável e às altas concentrações de potássio, inibidores para a motilidade (DUKES, 2004).

Nos caprinos, o epidídimo pode ser dividido em três segmentos bem definidos: cabeça, corpo e cauda. A cabeça constitui a maior parte, recobre o polo dorsal e atinge a pequena porção da superfície dorso-lateral do testículo. A cabeça do epidídimo é o local onde ocorre absorção de quantidades consideráveis de fluidos originados dos túbulos seminíferos e os espermatozoides adquirem motilidade progressiva. O corpo do epidídimo se estende para o polo distal do testículo, onde os espermatozoides passam a apresentar capacidade fecundante. A cauda do epidídimo tem forma cônica, unindo-se, por sua base maior, ao polo distal do testículo. A cauda do epidídimo tem como função básica o armazenamento e a manutenção de espermatozoides maduros (RUSSEL, et al., 1990; FRANÇA et al., 2005; MONTEIRO et al., 2009). Na ausência de ejaculação, o principal destino dos espermatozoides é a descarga espontânea para a uretra e a eliminação na urina (DUKES, 2004)

O ducto epididimário, derivado do ducto mesonéfrico, é delimitado por um epitélio composto de células principais, basais, apicais, desobstruídas, estreitas e do halo. Juntas, estas células exercem diversas funções importantes, como secreção de proteínas; absorção (células principais); endocitose (células desobstruídas); atividades secretoras responsáveis pela acidificação do líquido luminal (células desobstruídas e células estreitas); defesa imunológica; fagocitose; e produção de antioxidantes (células basais). Considerando os diversos segmentos e as múltiplas funções exercidas pelas células que formam o epitélio do ducto, o epidídimo fornece um microambiente altamente especializado responsável pelo transporte, maturação e armazenamento dos espermatozoides produzidos nos testículos, os quais, mediante a passagem pelos ductos eferentes e epididimário, adquirem a habilidade de apresentarem movimento progressivo linear e capacidade de fertilizar. (FRANÇA et al., 2005). Durante esse processo na célula espermática, ocorrem mudanças funcionais, bioquímicas e morfológicas. Também ocorre a reabsorção e intercâmbio de fluidos. Especialmente na cabeça do epidídimo, ocorre a reabsorção de solutos e fluidos. No corpo do epidídimo, acontece a maturação espermática; e na cauda do epidídimo, o armazenamento dos espermatozoides férteis (AMANN e SCHANBACHER, 1983). As modificações que ocorrem durante o processo de maturação são necessárias para os espermatozoides transformarem-se em células competentes para a fertilização e para serem armazenadas com segurança na porção distal do ducto epididimário (FRANÇA et al., 2005).

Várias das funções exercidas pelo epidídimo são reguladas pela diidrotestosterona, que pode ser produzida localmente pelas células principais, que contêm a enzima 5 α redutase. (FRANÇA et al., 2005). Os receptores intracelulares dessas células captam andrógenos, provenientes do compartimento adluminal, e a enzima 5 α -redutase, que converte a testosterona em diidrotestosterona (AMANN e SCHANBACHER, 1983). A ausência de testosterona no epidídimo, causada pela ligadura dos canais eferentes, resulta em degeneração do epidídimo (DUKES, 2004).

Em sua origem, os espermatozoides são incapazes de moverem-se, e o transporte inicial na *rete testis* é dependente do fluido secretado pelas células de Sertoli. Nos ductos eferentes, cabeça e corpo do epidídimo, o transporte é mediado pelo epitélio do epidídimo, especificamente, pelas células ciliadas e

principais, além de promover contrações peristálticas da musculatura lisa dos ductos eferentes, cabeça e corpo do epidídimo, associadas à pressão hidrostática interna (AMANN e SCHANBACHER, 1983).

A maturação espermática no epidídimo depende das secreções epiteliais, do transporte de sódio e potássio, dos andrógenos e da temperatura escrotal. As mudanças estruturais dos espermatozoides devem-se à utilização de fosfolipídeos e de colesterol como substrato, durante a maturação no epidídimo. Nestas mudanças, completa-se o processo de condensação nuclear; os espermatozoides perdem a gota citoplasmática, aumenta a negatividade da carga superficial e ocorrem ligeiras mudanças na morfologia do acrossoma (AMANN e SCHANBACHER, 1983).

2.7. Rendimento Intrínseco da espermatogênese

O rendimento intrínseco da espermatogênese é um indicativo importante da capacidade de produção espermática e pode servir como parâmetro na determinação da idade ideal para a entrada de reprodutores em serviço. Isto porque, durante a maturidade sexual, o rendimento geral da espermatogênese atinge níveis de um animal adulto (FRANÇA, 1987; ASSIS NETO et al., 2003; APONTE et al., 2005). O coeficiente de eficiência do processo espermatogênico pode ser avaliado a partir da cinética da espermatogênese, considerando a população celular e sua evolução ao longo do ciclo (CASTRO et al., 1997), o que permite comparar a proporção do número de células germinativas antes e depois de uma determinada fase de desenvolvimento (FRANÇA e RUSSEL, 1998).

A expressão cinética da espermatogênese designa o conjunto de todos os processos citológicos (multiplicação, diferenciação e metamorfose das células germinativas) e histológicos (evolução dos grupos celulares) que ocorre dentro dos túbulos seminíferos (CLERMONT e HARVEY, 1967). No estudo da cinética da espermatogênese, é necessário o reconhecimento morfológico dos diferentes tipos celulares que compõem o epitélio seminífero, incluindo-se aí tanto células germinativas (espermatogênicas) como células de sustentação somática (célula de Sertoli) (RUSSELL et al., 1990).

A atividade espermatogênica apresenta relação positiva com os parâmetros quantitativos relacionados com os túbulos seminíferos, como diâmetro tubular,

espessura do epitélio seminífero e comprimento total e por grama de testículo. Geralmente, nas investigações envolvendo a função testicular, a mensuração tubular é a abordagem utilizada como indicador da atividade espermatogênica (NAVARRO et al., 2004; SOUZA et al., 2005; SILVA JR. et al., 2006; MASCARENHAS et al., 2006).

Em geral, no desenvolvimento das células germinativas, ocorrem mortes celulares devido ao mecanismo de apoptose (CURTIS e AMANN, 1981; HENINGER et al., 2004). O processo de apoptose desempenha um papel fundamental durante o desenvolvimento normal e a homeostase em organismos multicelulares (JACOBSON et al., 1997), e consiste em um tipo de morte celular programada, induzida por estímulos intra e extracelulares (LEWIN, 2001; SAID, 2004), no qual não há extravasamento do conteúdo citoplasmático, visto que a célula inicia um processo de desestruturação, sem que a resposta inflamatória seja desencadeada (LEWIN, 2001). A apoptose é um fenômeno fisiológico presente no parênquima testicular, responsável pelo controle da maturação de células defeituosas, as quais poderiam sofrer espermição. A apoptose pode ser considerada também um mecanismo limitante em relação ao número de células germinativas capazes de serem suportadas pelas células de Sertoli (HENINGER et al., 2004). Portanto, o equilíbrio entre a proliferação e a apoptose desempenha um papel muito importante na regulação populacional do epitélio seminífero (SHARPE, 1994).

A maioria das perdas celulares ocorre durante a fase de divisão mitótica e pode ser mensurada pelo coeficiente de eficiência das mitoses espermatogoniais. Este índice indica a quantidade de espermatócitos primários formados a partir de cada espermatogônia A_1 , diretamente associada ao número de gerações de espermatogônias de cada espécie. Desta forma, considerando que uma espécie apresente seis gerações espermatogoniais, conforme relatado para a maioria dos mamíferos estudados, pode-se esperar que, em um rendimento de 100% das divisões mitóticas, cada espermatogônia do tipo A_1 origine 64 espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno. No entanto, as perdas relatadas para a maioria dos animais investigados são em torno de 70% a 80% (FRANÇA e RUSSELL, 1998).

2.8. Desenvolvimento testicular

De acordo com Nunes (1982), após 30 a 40 dias do nascimento, o crescimento dos testículos e dos epidídimos do caprino jovem processa-se em ritmo acelerado até a idade de 140 a 150 dias. Quando se compara o crescimento individual dos testículos, percebe-se que os dois órgãos (direito e esquerdo) se desenvolvem na mesma velocidade.

Segundo Bongso et al. (1982), o tamanho testicular em caprinos aumenta do nascimento até a idade de 7 meses aproximadamente, seguido de pequenos aumentos lineares até os 27 meses. Também encontraram uma circunferência escrotal média de $23,7 \pm 3,8$ cm em animais com mais de 23 meses de idade.

De acordo com Notter et al. (1981), o perímetro escrotal e o diâmetro dos testículos auxiliam a estimar o peso testicular. Tais parâmetros têm sido utilizados por Land (1973) como indicadores da função espermatogênica e como critério de seleção para identificação de reprodutores mais prolíficos. Resultados experimentais têm demonstrado que a circunferência testicular ou o peso dos testículos no abate estão positivamente correlacionados com o número de espermatozoides, obtidos pela ejaculação, e com as reservas gonadais (HUANG, 1994). Em touros, Evans et al. (1996) observaram uma correlação significativa entre as concentrações de testosterona e o peso testicular, diâmetro dos túbulos seminíferos e o aparecimento de maior quantidade de células maduras no processo de espermatogênese.

2.9. Estacionalidade reprodutiva em caprinos

A maioria das raças de caprinos tem sua origem em países de clima temperado, existindo, nesses animais, certa influência da estação do ano sobre os padrões reprodutivos. No hemisfério Norte, as cabras têm estação de reprodução definida e devem ser caracterizadas como poliéstricas estacionais, com períodos de estros repetidos no outono.

A taxa de fertilidade do rebanho é, em grande parte, influenciada pela fertilidade do macho. A contribuição dos machos é de grande importância para a eficiência reprodutiva e produtiva do rebanho, uma vez que, além do aporte da metade do seu patrimônio genético, neles a seleção pode ser feita de maneira

mais intensa que nas fêmeas. O decréscimo de horas/luz do dia estimula a secreção de LH pela hipófise, via GnRH do hipotálamo, o que leva ao crescimento testicular e à liberação de testosterona (DELGADILLO e CHEMINEAU, 1992). Entretanto, existem importantes exceções nesse padrão básico. De modo geral, os genótipos que evoluíram nas regiões equatoriais, sendo menos submetidos às variações do fotoperiodismo e temperatura, são menos sujeitos às estações do que aqueles das regiões temperadas (RODRIGUES et al., 1994).

A maioria das cabras leiteiras criadas nas condições de luminosidade presentes na região Centro-Sul do Brasil, onde há variação do fotoperíodo durante o ano, sofre o efeito inibitório do fotoperíodo, apresentando anestro fisiológico nos meses de julho a dezembro. Os ciclos estrais ocorrem nos períodos em que a duração de horas de luz dos dias vai diminuindo, cerca de 2 meses após o dia mais longo do ano (solstício de verão), que ocorre no dia 21 de dezembro no Hemisfério Sul. A estação reprodutiva estende-se nos meses de fevereiro a julho, com maior incidência de estros no mês de abril. (RODRIGUES, 1992).

Rodrigues, et al. (1994) relataram que um dos fatores controladores da periodicidade da função ovariana na cabra é a luz. Isso se deve à relação entre a duração do dia e a função da glândula pineal, que aumenta a secreção de melatonina com a diminuição da luminosidade. O controle fotoperiódico da reprodução atua via secreção de melatonina, pela glândula pineal, que estimula o eixo hipotálamo-hipofisário, desencadeando o ciclo estral. Assim, os caprinos são conhecidos como animais de dias curtos, ou seja, o seu período de atividade sexual ocorre durante os dias de menor intensidade de luminosidade (8 horas/luz), com inibição da atividade reprodutiva durante os dias longos (16 horas/luz). Essa característica foi adquirida de raças provenientes de locais de clima temperado, onde o fotoperíodo é bem caracterizado durante o ano (CHEMINEAU et al., 1992). O tamanho da estação reprodutiva varia inversamente com a latitude, aumentando enquanto a latitude diminui. Em pequenos ruminantes, altas latitudes causam marcada estacionalidade (MIES FILHO, 1987).

A fotopercepção da luz pelo olho desencadeia uma seqüência de eventos que culminam com a estimulação da adeno-hipófise e, conseqüentemente, a produção e liberação de gonadotrofinas. A luz é percebida por fotorreceptores localizados nos olhos e relacionados com um nervo monossináptico no núcleo

supraquiasmático do hipotálamo. Após a recepção no sistema circadiano (controlador da função reprodutiva), a mensagem do fotoperíodo é transmitida através do gânglio superior da glândula pineal. A pineal converte este estímulo neural em sinal hormonal que toma a forma do ritmo circadiano de secreção de melatonina. A duração da secreção elevada de melatonina, que é diretamente proporcional à duração da noite, é interpretada como indutiva ou supressiva. Sinais indutivos de melatonina estimulam o ciclo hormonal reprodutivo e sinais supressivos o inibem, transmitindo informações relativas ao ciclo luz-escuridão para a regulação fisiológica do animal, refletindo-se em um efeito sobre a secreção de GnRH, demonstrado em estacionalidade ou ciclicidade estral. A melatonina é uma substância presente naturalmente no organismo de todos os mamíferos. É sintetizada apenas durante o período noturno, na glândula pineal, a partir do triptofano e da serotonina, e permite a interpretação do ciclo luz-escuridão para a regulação fisiológica do corpo, em relação à sazonalidade e ciclo circadiano (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A receptividade sexual e o aumento da atividade folicular estão concentrados no outono e inverno nos países de clima temperado. Em regiões de clima subtropical, no entanto, existem variações em relação à estacionalidade das cabras, que parece estar associada, além das condições de meio ambiente, com a genética do animal (RODRIGUES et al., 1994). A duração da estação reprodutiva destes animais e, portanto, a intensidade com que o fotoperíodo condiciona a atividade reprodutiva, dependem de variações de raça e de indivíduo. Isto significa que os caprinos de regiões temperadas tendem a mostrar anestro sazonal mais profundo e os de origem tropical exibem estacionalidade menos marcada ou até ausente. Nas condições do Nordeste brasileiro, por exemplo, devido à pequena variação no fotoperíodo durante o ano, as cabras não apresentam manifestação de estacionalidade reprodutiva (RODRIGUES, 1992).

A estratégia reprodutiva dos caprinos, de apresentarem estação reprodutiva no outono, garante o nascimento das crias na primavera, quando é maior a disponibilidade de alimentos. Cabras nascidas na estação natural (primavera) alcançam a puberdade no outono seguinte, com idade de 7 meses e meio (BONDURANT et al., 1981).

O início da puberdade ocorre por uma interação entre a maturidade física e o fotoperíodo, não sendo esta alcançada até haver maturidade corporal suficiente,

independente de o fotoperíodo ser favorável ou não. Em caprinos, foi observado que o requerimento de desenvolvimento físico para a puberdade é menor que o de ovino, que parece ser de 51% a 69% do peso do adulto, enquanto, no caprino, seria de 36% (DEVESON et al., 1992).

Os machos caprinos originários de regiões temperadas também exibem marcada variação sazonal na atividade reprodutiva, com a máxima atividade ocorrendo do outono até o final do inverno. Como no ovino, estas mudanças sazonais devem-se, principalmente, ao fotoperíodo, que altera o padrão de secreção de gonadotrofinas. Períodos de luminosidade baixa ou decrescente estimulam a secreção de hormônio luteinizante (LH) que, por sua vez, induz o crescimento testicular e a produção de testosterona. No período de dias longos ou de luminosidade crescente, ocorre o inverso (DELGADILLO e CHEMINEAU, 1992).

Karagiannidis et al. (2000), estudando as características seminais de bodes Alpinos, Saanen e Damascus, verificaram que a produção de sêmen foi uniformemente afetada pelo fotoperíodo. A qualidade do sêmen foi melhor durante o período de decréscimo da duração do dia (estação reprodutiva) do que no período de aumento da duração de horas/luz do dia (fora da estação).

As estações do ano afetam algumas características sexuais dos bodes, como libido, espermatogênese e qualidade seminal. As variações estacionais causadas pelo fotoperíodo sobre o desempenho sexual, tamanho testicular e produção espermática quantitativa e qualitativa dos animais são mais ou menos marcantes, dependendo da latitude na qual os estudos são conduzidos. Webb et al. (2004) citam que a duração do dia, nas condições de latitudes em clima temperado, é o fator ambiental mais importante para determinar a estação de reprodução dos pequenos ruminantes. A influência na capacidade reprodutiva dos caprinos em latitudes de 40° é marcante, com significativo aumento na produção de sêmen durante o fotoperíodo decrescente. Em latitudes entre 30° e 40°, há também variações estacionais, porém não muito marcantes. A melhor produção de sêmen ocorre no verão e no outono. Em latitudes menores que 30°, os bodes não mostram qualquer variação estacional na produção de sêmen (KARAGIANNIDIS et al., 2000).

O controle do fotoperíodo em pequenos ruminantes foi demonstrado em vários trabalhos envolvendo a manipulação das horas/luz e horas/escurecimento e

utilização de melatonina exógena (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Foi observado, em alguns estudos, que o aumento do fotoperíodo por meio da iluminação artificial, por determinado tempo, quando os dias estão se tornando longos, seguido de sua retirada repentina, antecipa o início da estação de monta e o momento da ovulação nesta espécie (BONDURANT et al., 1981). Isso causa um grande impacto na produção de caprinos, visto que se pode aumentar a produção com duas estações reprodutivas ao ano. Alterações de dias longos (16 horas/luz: 8 horas/escuro) e dias curtos (8 horas/luz: 16 horas/escuro), além da utilização controlada da qualidade da alimentação no período reprodutivo, eliminaram as variações sazonais na qualidade do sêmen de bodes no experimento de Delgadillo et al. (1992). O objetivo do programa de luz é simular a variação do comprimento do dia que ocorre naturalmente. Consiste em fornecer luz artificial, completando um total de 16 a 18 horas diárias com cerca de 10 Watts/m² com lâmpadas colocadas a dois metros de altura dos olhos dos animais, por no mínimo 60 dias. Após esse período, retira-se a luz artificial. Isso acarreta incremento na espermatogênese e estimula a libido dos bodes (RODRIGUES, 1992). Santos et al. (2006), trabalhando com fotoperíodo artificial em bodes, relataram que as alterações morfológicas encontradas no sêmen antes do tratamento com luz artificial foram de 20,05%, reduzindo-se para 16,4% durante o tratamento. Outro método empregado para a manipulação do fotoperíodo seria a utilização da melatonina exógena. A melatonina pode ser produzida, comercialmente, na forma de *pellet* (18 mg), envolvida por uma camada de polímeros, que permite a liberação constante durante 70 dias. Sua introdução no tecido subcutâneo do animal, tem como objetivo mimetizar a condição de ausência de luminosidade ambiente, mesmo quando os animais estão sendo submetidos ao fotoperíodo longo da primavera. Em geral, o efeito da administração da melatonina no hipotálamo pode ser observado por cerca de 40 dias, com incremento da libido nos machos e aumento do rendimento da espermatogênese (RIBEIRO, 1998).

2.10. Características físicas do sêmen

2.10.1. Aspecto

O sêmen dos animais apresenta aspecto variado, podendo apresentar-se cremoso, desde o cremoso espesso ao cremoso fino, ou leitoso; do opalescente ou seroso ao aquoso. Nos ruminantes, pode-se efetuar a avaliação do ejaculado, de forma empírica, quanto à sua riqueza em espermatozoides, simplesmente pela observação visual. O aspecto cremoso (ou marmóreo) deve-se à grande concentração de células espermáticas, que aparecem no sêmen normal em movimentação ativa (MIES FILHO, 1987). O sêmen ejaculado pelo bode tem aspecto que varia do leitoso ao cremoso (NUNES, 2001).

2.10.2. Volume

Segundo Garcia (1978), vários fatores podem alterar o volume de sêmen, como a idade do animal, época do ano, carência alimentar, manejo inadequado, frequência e o método de colheita utilizado. Para Mies Filho (1987), o volume do ejaculado obtido pode variar de acordo com a espécie animal considerada. A variação pode ser ampla, existindo diferença entre as raças e entre os indivíduos, dentro da mesma espécie. Ocorrem diferenças individuais em relação à raça, ao número de ejaculações sucessivas e à alimentação a que o animal está sendo submetido. O volume do ejaculado do bode é relativamente pequeno, em torno de 0,2 a 2,0 ml.

Nunes (1982) considera que o sêmen do bode apresenta algumas analogias ao do carneiro: o volume do ejaculado é relativamente baixo (1,1 ml), e as diferenças entre as raças sempre estão presentes. Cita, por exemplo, o caso de bodes Alpinos que mostram um volume de sêmen significativamente mais elevado ($P < 0,01$) que aqueles das raças Poitevine e Saanen.

Walb et al. (1988), estudando as características seminais nas épocas de verão e primavera, em caprinos de diferentes idades, citam que o volume do sêmen no período considerado revelou os valores extremos de 0,40 a 4,5 ml, tendo como média 0,96 ml, sendo que os adultos apresentaram maiores volumes.

Karagiannidis et al. (2000), estudando o efeito do fotoperíodo na produção de sêmen de bodes Alpinos, Saanen e Damascus, relataram que o volume seminal foi maior durante a estação de reprodução (verão e outono) do que fora da estação (inverno e primavera) nos bodes Alpinos ($1,42 \pm 0,04$ ml e $1,09 \pm 0,04$

ml, respectivamente), Saanen ($1,27 \pm 0,04$ ml e $1,01 \pm 0,04$ ml, respectivamente) e Damascus ($1,18 \pm 0,03$ ml e $1,00 \pm 0,03$ ml, respectivamente).

2.10.3. Turbilhonamento

Segundo Nunes (2001), entende-se por turbilhonamento a atividade espermática que corresponde ao movimento da massa de espermatozoides no plasma seminal. Assemelha-se à formação de “ondas” no campo microscópico. Esta característica depende da motilidade e da concentração espermática.

No que diz respeito ao turbilhonamento, a avaliação macroscópica do sêmen contra a luz poderá fornecer elementos valiosos, quando ele provém de carneiro, de touro ou de bode. Neste caso, num ótimo sêmen, poderão ser vistos flocos que variam dos mais grossos aos quase despercebidos, que se movimentam, recebendo o nome de “nuvens gigantes” ou turbilhões (MIES FILHO, 1987).

Segundo Traldi (1983), a faixa ideal de turbilhonamento para caprinos situa-se entre quatro e cinco, quando se utiliza uma escala de classificação variando de zero a cinco. Esta vai desde a ausência total de motilidade, sem qualquer movimento de onda, até o grau máximo que equivale à movimentação de ondas muito rápidas e densas.

Vinha (1975) verificou, para animais da raça Anglo-Nubiana, um maior turbilhão na primavera (4,8) e um menor no inverno (3,3). Enquanto, Elwisy et al. (1971) encontraram, para animais da raça Damascus, aumento no verão e diminuição no outono.

2.10.4. Motilidade

A motilidade individual progressiva corresponde ao movimento em flecha de cada espermatozoide (NUNES, 2001). Segundo Gomes (1970), a motilidade é um dos testes usados para avaliar a qualidade do sêmen, considerado um bom indicador da viabilidade espermática geral, mas deve ser reconhecido como só um dos fatores para a estimativa da fertilidade.

Eaton e Simmons (1952) verificaram que a motilidade dos espermatozoides é uma característica individual e pode ser afetada pela saúde ou condição do indivíduo no momento da colheita. A técnica utilizada para colheita do sêmen do

bode pode também afetar os resultados. A motilidade apresenta-se bastante baixa nos primeiros ejaculados, devido ao pequeno número de espermatozoides e sua baixa vitalidade (LOW e JOUBERT, 1964; SKINNER, 1970; ELWHISY et al., 1971).

Mies Filho (1987) observou que a determinação da motilidade progressiva dos espermatozoides é uma das principais características para avaliação da capacidade fecundante, que deve ser verificada no exame do sêmen. Os movimentos dos espermatozoides são variados: há elementos que se deslocam para frente em linha reta (movimento progressivo), enquanto outros descrevem uma circunferência (movimento circular) e, finalmente, alguns se limitam a oscilar no campo microscópico (movimento oscilatório ou local). Há um quarto tipo de movimento descrito pelos autores, chamado movimento retrógrado.

A estimativa da motilidade do sêmen é, em geral, feita subjetivamente pela observação ao microscópio de luz (MOSS et al., 1978). Com o aumento da concentração espermática e a diminuição do número de espermatozoides com morfologias alteradas observados após a puberdade, verifica-se a constante melhora na motilidade (LOW e JOUBERT, 1964; ELWISHY e ELSAWAF, 1971).

Karagiannidis et al. (2000) verificaram que a qualidade do sêmen aumenta durante a estação reprodutiva. A percentagem de espermatozoides móveis foi mais elevada durante a estação reprodutiva do que fora da estação de reprodução nas três raças estudadas Alpina ($64,04 \pm 0,70\%$ e $55,11 \pm 0,91\%$, respectivamente), Saanen ($68,73 \pm 0,67\%$ e $59,64 \pm 0,82\%$, respectivamente) e Damascus ($69,04 \pm 0,61\%$ e $61,04 \pm 0,56\%$, respectivamente). A motilidade progressiva é outra característica qualitativa do sêmen, que apresentou aumento significativo durante a estação reprodutiva. A motilidade progressiva foi mais elevada durante a estação reprodutiva do que fora da estação de reprodução nas três raças estudadas Alpina ($4,27 \pm 0,03\%$ e $3,83 \pm 0,06\%$, respectivamente), Saanen ($4,39 \pm 0,02\%$ e $4,13 \pm 0,05\%$, respectivamente) e Damascus ($4,38 \pm 0,02\%$ e $4,27 \pm 0,04\%$, respectivamente).

2.10.5. Concentração espermática

A concentração espermática pode ser definida como a quantidade de espermatozoides em cada mililitro de sêmen. O valor normal para bodes está em

torno de 3 bilhões de espermatozoides/ml (NUNES, 2001). O número total de espermatozoides em um ejaculado depende do volume e da concentração dos espermatozoides (MOSS et al., 1978).

O número de espermatozoides por unidade de volume seminal parece ser uma característica individual, influenciada pela época do ano em que a colheita é realizada. O número total de espermatozoides é o produto do volume e da concentração. Aparentemente, bodes, com ejaculados contendo mais do que 1 bilhão de espermatozoides, são férteis (EATON e SIMMONS, 1952).

Segundo Skinner (1970), tanto a concentração total quanto a motilidade espermática aumentaram após o aparecimento dos primeiros espermatozoides. Em alguns carneiros, os primeiros espermatozoides foram imóveis, mas a motilidade melhorou com o aumento da concentração espermática e com o concomitante decréscimo no número de espermatozoides anormais.

Nunes (1982) cita que a concentração espermática varia de $1,0$ a $3,5 \times 10^6$ espermatozoides/mm³, segundo as raças, zonas geográficas e os períodos do ano. A concentração espermática média de 727 ejaculados, durante os meses de setembro, outubro, novembro e dezembro, foi de $3,3 \times 10^6$ espermatozoides/mm³.

Karagiannidis et al. (2000) avaliaram os sêmens de bodes das raças Alpina, Saanen e Damascus, e demonstraram que a concentração espermática (espermatozoides/mm³) apresenta tendência oposta ao volume do ejaculado, entretanto, as diferenças entre a estação reprodutiva e não reprodutiva não foram marcantes. A concentração espermática obtida foi ligeiramente mais baixa durante a estação de reprodução do que fora da estação nos bodes Alpinos ($3,50 \pm 0,09 \times 10^9$ e $3,77 \pm 0,10 \times 10^9$, respectivamente), Saanen ($3,42 \pm 0,09 \times 10^9$ e $3,82 \pm 0,08 \times 10^9$, respectivamente) e Damascus ($3,54 \pm 0,09 \times 10^9$ e $3,83 \pm 0,09 \times 10^9$, respectivamente). A concentração espermática mais elevada foi obtida durante a primavera e a mais baixa durante o outono. As estações de verão e inverno foram consideradas como períodos de transição. A variação estacional no número total de espermatozoides por ejaculado (Volume X Concentração) também não foi marcante. Entretanto, esse parâmetro apresenta-se maior durante a estação de reprodução do que fora da estação, nos bodes Alpinos ($4,92 \pm 0,18 \times 10^9$ e $4,11 \pm 0,20 \times 10^9$, respectivamente), Saanen ($4,37 \pm 0,20 \times 10^9$ e $3,78 \pm 0,15 \times 10^9$, respectivamente) e Damascus ($4,12 \pm 0,13 \times 10^9$ e $3,73 \pm 0,14 \times 10^9$, respectivamente).

2.11. Características morfológicas

2.11.1. Total de anomalias espermáticas

Segundo Nunes (2001), a morfologia espermática indica a porção de espermatozoides patológicos dentro da população espermática. Moss et al. (1978) citam que todas as amostras de sêmen contêm proporções de células anormais. Essas podem ser classificadas em anormalidades primárias, que se originam durante o desenvolvimento dos espermatozoides nos túbulos seminíferos; e secundárias, quando as alterações ocorrem durante a passagem ou armazenagem dos espermatozoides no epidídimo ou após a sua passagem pelo epidídimo. Tem sido estudado um número de formas anormais que podem ser encontradas em todos os ejaculados.

Memon e Ott (1981) informaram que o sêmen de carneiros e bodes contém alguns espermatozoides anormais, mas isto não está usualmente associado à queda na fertilidade até uma proporção de anormalidades maior do que 20%. Elwisy e Elsayaf (1971), estudando o desenvolvimento da atividade sexual em caprinos machos da raça Damascus, observaram que a maioria das anormalidades detectada foi de caudas dobradas, espermatozoides decapitados e gotas citoplasmáticas. As anormalidades na forma e tamanho da cabeça constituíram uma pequena percentagem do total de deformidades. Saxena e Tripathi (1980), estudando o sêmen de bodes Jamnapari, citam que o maior número de anormalidades espermáticas foi observado na região da peça intermediária.

Segundo Karagiannidis et al. (2000), a proporção de espermatozoides anormais varia grandemente entre os reprodutores. Relataram que a condição física do bode, no momento da colheita, influencia o percentual de espermatozoides anormais encontrados. Os tipos de anormalidade também variaram, embora presentes em todos os sêmens estudados. A percentagem de espermatozoides anormais foi mais baixa durante a estação de reprodução do que fora da estação, nos bodes Alpinos ($8,90 \pm 0,14\%$ e $11,90 \pm 0,20\%$, respectivamente), Saanen ($7,41 \pm 0,25\%$ e $9,50 \pm 0,30\%$, respectivamente) e Damascus ($5,68 \pm 0,26\%$ e $7,21 \pm 0,33\%$, respectivamente).

2.11.2. Anomalias de cabeça

Segundo Mies Filho (1987), nem todas as alterações de morfologia de cabeça são consideradas de mesma importância e sobressaem como de maior significado para a infertilidade. Wilkins (1963), fazendo observações preliminares no sêmen de caprinos jovens, detectou anormalidades de cabeça nas seguintes condições: cabeças isoladas, cabeças com extrusões protoplasmáticas, cabeças com formas anormais, cabeças grandes e pequenas (tamanho de “alfinetes”). Sahni e Roy (1972), pesquisando a influência das variações sazonais no aparecimento de espermatozoides anormais, encontraram, para as alterações de cabeça, 2,2% em março e de 4,7% em abril.

2.11.3 Anomalias de acrossoma

De acordo com Garcia (1978), em touros, as alterações do acrossoma passam facilmente despercebidas se o observador não estiver atento. O acrossoma pode apresentar-se de várias maneiras, isto é, enrugado, condensado, dobrado, solto, vesiculoso, dentre outras. O espermograma de um caso de degeneração testicular pode apresentar um aumento no número de alterações acrossômicas, consequência da autólise verificada na cauda do epidídimo e no ducto deferente. O desprendimento do acrossoma é o tipo mais comum.

Mies Filho (1987) observou que o acrossoma pode apresentar-se enrugado ou com o contorno defeituoso ou, ainda, estar destacado. A destruição do acrossoma bem como suas lesões podem ser causadas por envelhecimento, choque térmico ou manipulação indevida do sêmen durante o procedimento.

2.11.4 Anomalias de peça intermediária

Mies Filho (1987) descreveu que várias alterações ocorrem neste importante segmento do espermatozoide. Nunes (1982) obteve, em bodes sadios, 3% de espermatozoides com alterações morfológicas, no nível de peça intermediária. Phillips et al. (1948), pesquisando a variação sazonal no sêmen de caprinos, citam que a anormalidade de peça intermediária foi de 0,27% no inverno, 0,80% na primavera, 1,18% no verão e 0,25% no outono. Eaton e Simmons (1952),

estudando o sêmen de caprinos, encontraram um total médio de anormalidades de 8,45%, sendo 2,35% de peça intermediária.

2.11.5. Gotas citoplasmáticas

Segundo Garcia (1978), no touro, a gota citoplasmática, uma sobra de citoplasma da espermátide, normalmente, se desloca ao longo da peça intermediária durante a passagem do espermatozoide através do ducto epididimário. No entanto, esta gota pode persistir tanto nos casos de distúrbios da espermiogênese, como a hipoplasia e a degeneração testicular, como também nos casos de distúrbios do próprio epidídimo. No sêmen normal, a gota nunca ultrapassa a 3%. Em casos de imaturidade sexual, a percentagem de gota pode estar elevada, porém, à medida que o animal vai atingindo a maturidade, esta apresenta uma tendência de queda. Na disfunção epididimária, a gota pode estar presente em alta percentagem, associada ou não aos defeitos de cauda.

Mies Filho (1987) verificou que a presença de gota citoplasmática distal pode ocorrer tanto em casos de fertilidade comprometida, relacionada com disfunção epididimária, como também em amostras de sêmen normais.

Skalet et al. (1988) relataram que a percentagem do total de espermatozoides anormais foi alta na puberdade ($64,6 \pm 14,80\%$), sendo que as gotas proximais atingiram $14,6 \pm 10,5\%$.

Garcia (1978) verificou, em touros, que a maioria dos espermatozoides, coletados diretamente da cauda do epidídimo, apresentou a gota citoplasmática na posição distal. Porém, não se conseguiu ainda dar uma interpretação clínica a estes achados. A presença de gotas citoplasmáticas proximais em animais com idade variando de 4 a 5 meses foi de $8,6 \pm 6,3\%$, num total de anormalidades de $76,5 \pm 9,1\%$ (HIBBERT et al., 1986).

Reddy et al. (1989), pesquisando os efeitos da idade e da estação sazonal sobre o sêmen de bodes, citam que, no inverno, a percentagem de gota citoplasmática proximal e distal foi de 0,125% e 3,45%, respectivamente, enquanto, no verão, foi de 0,095% e 3,48%, respectivamente.

2.11.6. Anomalias de cauda

Borghain et al. (1983), pesquisando anormalidades no sêmen de bodes, citam que as anormalidades da cauda foram de 2,25%; 2,60%; 2,36%; 2,10% nos meses de novembro, dezembro, janeiro e fevereiro, respectivamente.

Para Mies Filho (1987), a cauda pode apresentar-se com diversos desvios de normalidades, a saber: cauda simples dobrada (em “clave de sol”, dos alemães; ou “bent tail”, dos ingleses), cauda simplesmente enrolada ou enrolada na sua extremidade, cauda fortemente dobrada ou fortemente enrolada. A gota citoplasmática distal pode ficar retida na junção entre a peça intermediária e a cauda. Comumente, esta aparece presa no ângulo formado pela dobra da cauda. Finalmente, podem ser encontradas formas teratológicas (mais de uma cauda).

Garcia (1978) cita que, em touros, caudas enroladas e dobradas são alterações mais comuns encontradas no sêmen. Dentre as falhas de técnicas no manuseio de sêmen, pode-se lembrar o choque térmico como responsável por um alto número dessas alterações. Nas alterações testiculares e hipoplasias, pode-se também encontrar uma elevação de sua prevalência. No entanto, disfunções epididimárias são as principais causas dos defeitos de cauda. Nestes casos, quase sempre são encontradas gotas citoplasmáticas proximais ou distais envolvidas pelas caudas.

Eaton e Simmons (1952) encontraram uma percentagem média de 1,67% de anormalidades de cauda, num total de 8,45%, sendo a média mais baixa das anormalidades encontradas.

Reddy et al. (1989), por meio de estudos do efeito da estação sazonal e da idade sobre o sêmen de caprinos, relataram que as porcentagens de anomalias de cauda foram maiores no inverno do que no verão.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais experimentais

Este trabalho foi realizado no Setor de Fisiologia e Biotecnologia do Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro em Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro.

Foram utilizados 47 machos da raça Alpina, desde o nascimento até aproximadamente os 12 meses de idade, provenientes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizado em Viçosa, Estado de Minas Gerais. Constituíram-se 13 grupos experimentais, referentes às idades de zero a 12 meses.

Logo após o nascimento, os animais receberam os cuidados necessários nas instalações do Setor de Caprinocultura da Universidade Federal de Viçosa (cura de umbigo, fornecimento de colostro). Posteriormente, foram aleitados artificialmente em baldes de plástico nas suas próprias baias, durante pelo menos 4 dias. Em seguida, foram transferidos para as instalações localizadas no Colégio Agrícola Antônio Sarlo, Setor de Pesquisa do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal/CCTA/UENF, no Município de Campos dos Goytacazes/RJ. A fase de aleitamento teve duração média de 100 dias e, após este período, os animais foram mantidos em aprisco suspenso.

A alimentação foi fornecida no cocho, duas vezes ao dia, uma pela manhã (8h) e outra à tarde (15h). A fim de garantir um bom desenvolvimento, os animais foram alimentados com forragens picadas capim-elefante picado (*Pennisetum purpureum*) e cana-de-açúcar (*Sacharum spp*), ração balanceada, sal mineral e água à vontade. Os animais eram soltos pela manhã para pastorearem em piquete de capim napier, sendo recolhidos à tarde e suplementados no cocho. No período de escassez de forragem, os animais receberam silagem de sorgo. As dietas fornecidas, desde o nascimento do animal, foram calculadas utilizando-se tabelas de exigência de energia metabolizável para manutenção e ganho de peso vivo (kcal/animal/dia), para caprinos leiteiros em crescimento, segundo Resende (1989).

O controle sanitário dos animais incluiu medidas profiláticas contra doenças infecciosas e controle de endoparasitas, de acordo com a carga parasitária estimada pela técnica de contagem de ovos por grama de fezes, realizada com frequência mensal.

3.2. Avaliação ponderal e biometria escrotal

Os animais foram avaliados quanto ao peso corporal, com o auxílio de balança mecânica, de acordo com o grupo experimental, à medida que atingiam a idade programada. Para a medição do perímetro escrotal, os testículos foram tracionados para a porção distal do escroto, com a palma da mão colocada em contato com a porção cranial dos testículos, de forma a não permitir a separação dos mesmos e evitar a obtenção de uma medida superestimada.

A leitura do perímetro escrotal foi realizada em centímetros, mediante o uso de fita métrica metálica flexível, a qual foi moldada em forma de alça e localizada na porção intermédia do escroto, no ponto de maior dimensão, envolvendo as duas gônadas e a pele escrotal, com frequência mensal, do nascimento até os 12 meses de idade.

O volume escrotal foi medido pelo deslocamento de água, utilizando-se um Bequer plástico de 50, 250 e 600 ml, de acordo com o tamanho dos testículos dos animais. Foi observado também o deslocamento prepucial, colocando-se o animal sentado, empurrando o "S" peniano ao mesmo tempo em que o prepúcio foi puxado na tentativa de expor o pênis do animal.

3.3. Colheita e processamento do testículo

Ao atingirem a idade programada, de acordo com cada grupo experimental, após os procedimentos de mensuração e colheita de sêmen, os animais foram pesados, sedados e submetidos à orquiectomia bilateral, conforme técnica de rotina. O testículo esquerdo foi usado para análise histológica e o direito para mensurar o percentual de albugínea e o peso líquido do testículo.

Imediatamente após a cirurgia, separou-se do testículo o seu respectivo epidídimo. Foram tomados, dos testículos, peso, comprimento, largura e espessura; e do epidídimo, o peso total, da cabeça, corpo e cauda, utilizando-se

balança digital. Nas mensurações da biometria testicular, utilizou-se um paquímetro com divisões em milímetros.

Posteriormente à realização da mensuração do testículo esquerdo, a artéria testicular foi canulada, com o auxílio de uma agulha, para perfusão com solução salina a 0,9%, contendo 5000 UI de heparina sódica (Liquemine[®] - Roche) e 50µg de nitroprussiato de sódio (Merck) por litro de solução, a uma pressão de aproximadamente 80 mmHg, em temperatura ambiente, durante pelo menos 15 minutos, ou até que o líquido saído pela veia testicular se mostrasse claro (SPRANDO, 1990). Para garantir a manutenção da pressão em aproximadamente 80 mmHg, os frascos contendo as soluções a serem perfundidas foram mantidos a uma altura de 120 cm acima do testículo (SILVA, 2000).

Após o procedimento descrito anteriormente, os testículos foram perfundidos com solução fixadora de Karnovsky (Paraformaldeído 4% e aldeído glutárico, Merck[®] 4% em tampão fosfato 0,1 M e pH 7,4), em temperatura ambiente, durante 25 minutos, com a mesma pressão descrita anteriormente. Foram retirados fragmentos de cada região do parênquima testicular, da extremidade capitata, do terço médio e da extremidade caudata do órgão, com dimensões de aproximadamente 3,0 mm de espessura, 5,0 mm de largura e 8,0 mm de comprimento, na superfície próximo a albugínea. Os fragmentos foram fixados por imersão, em solução fixadora de Karnovsky (Paraformaldeído 4% e aldeído glutárico, Merck[®] 4% em tampão fosfato 0,1 M e pH 7,4), por 12 a 24 horas, a 4°C. Posteriormente, a solução fixadora foi substituída por tampão fosfato a 0,05 M e pH 7,2, tendo-se sempre o cuidado de deixar um pouco de fixador no frasco para inibir a proliferação de microrganismo. Os fragmentos permaneceram armazenados a 4°C até o início do processamento histológico, por no máximo 5 dias.

O testículo e epidídimo direitos de cada animal foram identificados, envolvidos em papel alumínio e acondicionados em sacos plásticos. Em seguida, transportados em caixa de isopor com gelo até o Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal - da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, e mantidos em *freezer* à temperatura de -20°C, por aproximadamente 2 horas, até serem utilizados para o cálculo do percentual de albugínea e do peso líquido do parênquima testicular.

3.4. Processamento do material para microscópio de luz

Os fragmentos do parênquima testicular, armazenados em solução-tampão destinados a estudos em microscopia de luz, foram desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico (50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 100%), permanecendo por um período de 30 minutos em cada concentração. Após o banho com álcool absoluto, os fragmentos foram imersos em solução de infiltração (2-hidroxietil-metacrilato) por pelo menos 12 horas, sendo então transferidos para uma solução de infiltração nova por mais 2 horas. Posteriormente, os fragmentos testiculares foram distribuídos em moldes plásticos e incluídos, por adição de endurecedor (dimetilsulfóxido), na solução de infiltração, conforme recomendação do fabricante (Leica Historesin Embedding Kit®), para a polimerização. Após a polimerização, os fragmentos incluídos foram identificados e, em seguida, mantidos em sílica gel até ficarem completamente secos.

Foram realizados cortes seriados de aproximadamente 2 µm de espessura, utilizando-se ultramicrótomo dotado de navalha de vidro. Posteriormente, os cortes foram corados em solução de azul de toluidina-borato de sódio a 1% por 30 segundos, lavados em água corrente e, em seguida, secos. As lâminas foram montadas com lamínulas e Entellan® (Merk), segundo a técnica de rotina. Todo o processamento histológico foi realizado no Laboratório de Biologia Celular e Tecidual/Setor de Microscopia Eletrônica/Preparo de Amostras/CBB da UENF. Os cortes foram analisados em microscópio de luz, em aumentos de 200, 400 ou 1.000X.

3.5. Análises morfométricas

3.5.1. Cálculo do peso líquido do testículo

Os testículos e epidídimos direitos armazenados congelados a -20°C foram dissecados ainda parcialmente congelados. Após dissecação, foram pesados separadamente o testículo e a albugínea, utilizando-se uma balança de precisão 0,01 g.

O peso do parênquima testicular (g) foi estimado, subtraindo-se, do seu peso bruto, o peso da albugínea. Os valores referentes ao peso do mediastino não foram mensurados devido à dificuldade metodológica para padronizar a técnica de sua retirada, em consequência dos diferentes tamanhos dos testículos, nas diversas faixas etárias.

Considerando o valor médio da densidade testicular muito próximo de 1,0 (1,03 a 1,04), o peso do testículo coletado foi considerado igual ao seu volume (JOHNSON et al, 1981). O volume total dos túbulos seminíferos por testículo (ml) foi obtido a partir do volume líquido do testículo e do percentual ocupado pelos túbulos seminíferos no parênquima testicular (COSTA et al., 2004).

3.5.2. Cálculo do índice gonadossomático

O índice gonadossomático (IGS) expressa a relação entre a massa testicular total e o peso corporal, representando a percentagem do peso corporal alocado em testículos. Esse índice é calculado dividindo-se o peso de ambos os testículos pelo peso corporal, e o resultado multiplicado por 100, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{IGS} = \frac{\text{PTB} \times 2}{\text{PC}} \times 100$$

Em que:

IGS = índice gonadossomático

PTB = peso testicular bruto (g)

PC = peso corporal (kg)

3.5.3. Índice tubulossomático

O índice tubulossomático (ITS) é um parâmetro proposto, no sentido de quantificar o investimento percentual corporal em túbulo seminífero, permitindo, dessa forma, realizar comparações intra e interespecíficas em animais de tamanhos corporais diferentes. O índice tubulossomático (ITS) foi obtido a partir dos valores calculados para o índice gonadossomático, sobre o qual, foi inferido o valor percentual ocupado por túbulos seminíferos.

3.5.4. Diâmetro, altura e área da secção transversal dos túbulos seminíferos

A partir de imagens obtidas em câmara digital acoplada ao microscópio de luz, as mensurações foram feitas, utilizando-se o *software* de morfometria “ImageJ 1.34s” (RASBAND, 2005). O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi obtido, a partir da medida do diâmetro de 20 secções transversais de túbulos, o mais circular possível, em cada testículo, independentemente do estágio em que se encontravam.

As análises da altura do epitélio seminífero foram realizadas nos animais que apresentavam o lume formado, considerando-se a distância entre a membrana basal e a borda luminal. Duas anotações foram obtidas de cada secção transversal, considerando-se como medida representativa a média das duas.

A área da secção transversal foi obtida utilizando-se a seguinte fórmula:

$$A = p R^2$$

Em que:

A = Área da secção transversal

p = Constante (3,1415)

R = Raio

3.5.5. Luminação dos túbulos seminíferos

A cronologia e o aspecto do processo de luminação dos túbulos seminíferos foram verificados pela observação panorâmica em pequeno aumento (100 X) e, posteriormente, pela análise em aumentos maiores (400 e 1.000 X).

3.5.6. Proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular

As proporções volumétricas dos componentes do parênquima testicular (%) foram obtidas com auxílio do *software* “ImageJ 1.34s” (RASBAND, 2005), utilizando-se uma grátula com 24 linhas horizontais e 18 linhas verticais, totalizando 432 intersecções equidistantes consideradas como pontos, em aumento de 400 X. Para cada testículo, avaliaram-se dez campos, escolhidos ao acaso, por meio de varredura horizontal dos cortes. As proporções volumétricas,

expressas em percentagem, foram calculadas sobre um total de 4.320 pontos por testículo, para cada animal.

Foram computados os pontos coincidentes sobre os seguintes componentes do parênquima testicular: células de Leydig, túbulo seminífero e estroma (células e fibras do tecido conjuntivo, lume de vaso sanguíneo, parede de vaso sanguíneo, espaço linfático, túnica própria). O aumento utilizado, para esta análise, foi de 400 X.

3.5.7. Comprimento total dos túbulos seminíferos

Após a obtenção dos valores referentes à proporção volumétrica dos túbulos seminíferos (VTb) e o diâmetro tubular médio, a cada faixa etária, pode-se calcular o comprimento total dos túbulos seminíferos (m) por testículo. O comprimento total dos túbulos seminíferos foi calculado, segundo Attal e Courot (1963) e Dorst e Sajonski (1974), com aplicação da seguinte fórmula:

$$CT = \frac{VTb}{pR^2}$$

Em que:

CT= comprimento total dos túbulos

VTb= volume total dos túbulos seminíferos

pR²= área da secção transversal dos túbulos seminíferos

Os valores da área da secção transversal e do volume total dos túbulos seminíferos foram estimados considerando-se um fator de retração linear de 5% (AMANN, 1981). O resultado do comprimento total dos túbulos foi expresso em metros.

A partir da razão entre o comprimento tubular total e o peso do testículo, foi estimado o comprimento de túbulo seminífero por grama de testículo.

3.5.8. População celular dos túbulos seminíferos

A população celular dos túbulos seminíferos foi estimada pela contagem dos núcleos dos diferentes tipos celulares da linhagem espermatogênica, assim como

os nucléolos das células de Sertoli. Em cada animal, cada tipo celular foi contado em dez secções transversais de túbulos de contorno mais circular possível, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero. Os seguintes tipos celulares foram contados:

- 1) Gonócitos primordiais e células indiferenciadas de suporte, em secções transversais de cordões testiculares;
- 2) Espermatogônias do tipo A;
- 3) Espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno;
- 4) Espermatócitos primários em paquíteno;
- 5) Espermátides arredondadas;
- 6) Células de Sertoli.

A contagem obtida, para cada tipo celular, foi corrigida para o diâmetro nuclear médio e a espessura do corte, utilizando-se a fórmula de Abercrombie (1946), modificada por Amann (1962). Pelo fato de a célula de Sertoli apresentar núcleo irregular, a correção do número das mesmas foi realizada a partir do diâmetro nucleolar médio. Neste caso, somente núcleos com nucléolo evidente foram contados. A seguinte fórmula foi utilizada:

$$N^{\circ} \text{ corrigido} = \text{Cont. obtida} \times \frac{\text{Espessura do corte}}{\text{Espessura do corte} + \sqrt{\left(\frac{DNM}{2}\right)^2 - \left(\frac{DNM}{4}\right)^2}}$$

O diâmetro nuclear ou nucleolar médio (DNM), em cada animal, foi obtido pela média das mensurações de dez núcleos de cada tipo de célula germinativa ou dez nucléolos de células de Sertoli, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero. No caso das espermatogônias do tipo A, que possuem núcleos ovoides ou ligeiramente alongados, utilizou-se a média entre o maior e o menor diâmetro nuclear.

A mensuração do diâmetro nuclear, ou nucleolar médio, e a contagem da população celular do epitélio seminífero foram realizadas, utilizando-se imagens microscópicas digitalizadas, com o auxílio do *software* "ImageJ 1.34s" (RASBAND, 2005).

3.5.9. Rendimento intrínseco da espermatogênese

O rendimento intrínseco da espermatogênese, nos diferentes grupos etários, a partir da puberdade, foi determinado baseando-se nas razões encontradas entre os números celulares corrigidos de células germinativas obtidas no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero. As seguintes razões foram calculadas:

- ❖ Coeficiente de eficiência de mitoses espermatogônias: razão entre o número de espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno e o número de espermatogônias do tipo A;
- ❖ Ocorrência de perdas celulares durante a prófase meiótica: razão entre o número de espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno e o número de espermatócitos primários em paquíteno;
- ❖ Rendimento meiótico: razão entre o número de espermátides arredondadas e o número de espermatócitos primários em paquíteno;
- ❖ Rendimento geral da espermatogênese: razão entre o número de espermátides arredondadas e o número de espermatogônias do tipo A.

3.5.10. Índices de células de Sertoli

Com o objetivo de se investigar a capacidade de suporte das células de Sertoli, quanto aos diferentes tipos celulares do epitélio seminífero, nos grupos etários, a partir da puberdade, o índice de células de Sertoli foi determinado a partir das razões encontradas entre os números corrigidos de células germinativas e o número corrigido de células de Sertoli, obtidas no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero. Foram calculadas as seguintes razões:

- ❖ Razão entre o número de espermatogônias do tipo A e o número de células de Sertoli, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.
- ❖ Razão entre o número de espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno e o número células de Sertoli, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.
- ❖ Razão entre o número de espermatócitos primários em paquíteno e o número células de Sertoli, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.

❖ Razão entre o número de espermatídes arredondadas e o número células de Sertoli, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.

❖ Razão entre o número de total de células germinativas e o número células de Sertoli, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.

3.5.11. Cálculo da reserva espermática testicular

A reserva espermática testicular consiste no número de espermatozoides produzidos em um ciclo do epitélio seminífero. Como o número de espermatídes arredondadas não sofre perdas significativas durante a espermatogênese, ou seja, uma espermatíde normalmente vai gerar um espermatozoide (AMANN, 1962), tal valor pode ser considerado como o número de espermatozoides que seriam produzidos ao final do processo espermatogênico.

A estimativa da reserva espermática total e por grama de testículo, baseada na histologia quantitativa, foi calculada, segundo Costa et al. (2004), utilizando-se a fórmula a seguir:

$$RET = \frac{CTT}{\text{Espessura do corte}} \times N^{\circ} Ar$$

Em que:

RET= reserva espermática total.

CTT= comprimento tubular total.

Nº Ar= número corrigido de espermatídes arredondadas por secção transversal.

O cálculo da reserva espermática por grama de testículo foi realizado dividindo-se o valor da reserva espermática total pelo peso do testículo.

3.6. Colheita do sêmen

A partir do momento em que a glândula do pênis não possuía mais aderência à mucosa do prepúcio, os animais foram induzidos a ejacular. Os machos foram conduzidos em direção à fêmea, quando realizou o salto e a colheita do sêmen.

Foram realizadas tentativas de colheita de sêmen, a partir dos 3 meses de idade, utilizando-se vagina artificial modelo IMV Technologies, a uma temperatura

interna entre 38° a 39°C, acoplada a um tubo “Falcon” de 15 ml graduado com fundo cônico.

Uma fêmea do rebanho foi utilizada como manequim, sendo que as colheitas foram realizadas mensalmente, de acordo com o grupo experimental, e o ejaculado examinado em microscópio de luz para avaliação das características físicas. O macho caprino permaneceu durante 10 minutos em liberdade e exposto a uma fêmea em cio natural ou induzido com estrógeno (ECP-Rhodia-Meneux Veterinária Ltda).

A fêmea em cio foi devidamente contida e o tempo de reação do macho registrado. Decorridos os 10 minutos e não se conseguindo obter um ejaculado, o macho foi submetido à eletroejaculação. O animal foi conduzido ao local apropriado e, no momento da colheita do sêmen, o tubo coletor foi envolto numa capa protetora de papel alumínio.

3.7. Avaliação do sêmen

Imediatamente após cada colheita, o ejaculado obtido, seja com vagina artificial ou com eletroejaculador, foi transportado ao laboratório e colocado rapidamente em equilíbrio em banho-maria a 37°C. Em seguida, o ejaculado foi avaliado macroscopicamente, quanto ao volume, cor, aspecto, e analisado microscopicamente quanto ao turbilhonamento, motilidade total, motilidade progressiva, vigor e concentração, em no máximo 5 minutos. As observações foram anotadas em fichas individuais contendo os dados do espermograma dos animais.

O volume do ejaculado foi determinado mediante leitura diretamente no tubo coletor graduado em mililitros, acoplado à vagina artificial, e anotado em ficha individual do animal.

O turbilhonamento ou movimento de massa foi avaliado colocando-se uma gota do sêmen *in natura* sobre uma lâmina de vidro previamente aquecida a 37°C em placa aquecedora, e visualizado em microscópio de luz de campo claro, com aumento de 100 X. A interpretação do resultado foi subjetiva, atribuindo-se valores numa escala de zero a cinco, em que zero significava ausência de turbilhão, e cinco intenso movimento de massa.

A motilidade espermática foi avaliada por um sistema de análise computadorizado (Hamilton Thorn Research modelo Ceros 10,8) usando o programa de análise do sêmen de ovinos (Anexo 5). Para a motilidade espermática foram analisadas a motilidade total e a motilidade progressiva. A motilidade progressiva individual foi visualizada mediante a diluição do sêmen, em função da alta concentração espermática do ejaculado caprino. Assim, uma gota de sêmen (5 μ l) foi retirada com o auxílio de pipeta automática e colocada em lâmina previamente aquecida à temperatura de 37°C e misturada a quatro gotas de citrato de sódio a 2,94% (20 μ l) na proporção de 1:4, a lâmina foi coberta por lamínula. Em seguida, a amostra foi colocada em lâmina termo-estática que mantém a temperatura a 37°C e os cinco melhores campos foram analisados com aumento de 200 X. O resultado foi expresso em percentagem de espermatozoides com movimentos progressivos retilíneos.

O vigor representa a força do movimento que influencia a velocidade com que os espermatozoides se movimentam. O vigor foi avaliado subjetivamente em microscópio de luz, com objetiva de 10 a 40 X, utilizando-se uma gota do sêmen diluído na proporção de 1:1 sobre uma lâmina previamente aquecida e mantida durante a avaliação a 37°C e, em seguida, coberta por lamínula. Ao vigor, foi atribuída classificação numa escala de zero a cinco, em que zero significava ausência de movimento progressivo, com deslocamento de cauda lateral, fraco e inexpressivo; e cinco resulta em movimento vigoroso e veloz dos espermatozoides, geralmente progressivo.

A concentração de espermatozoides foi avaliada fazendo-se a contagem dos espermatozoides em câmara hematocitométrica de Neubauer (Brand German). Para a concentração espermática, 0,5 μ l de sêmen foram colocados com auxílio de pipeta automática em tubo de ensaio, contendo 7,995 ml de formol citrato. Em seguida, a amostra diluída foi homogeneizada e o líquido depositado com o auxílio de uma pipeta automática sob a lamínula até que fosse preenchida toda a superfície de um lado da câmara de Neubauer. Outra alíquota foi utilizada para preenchimento do segundo lado da câmara. Para a contagem dos espermatozoides, foi utilizado um microscópio de luz, de campo claro com objetivas de 10 e 40 X, realizando-se a operação em pelo menos cinco quadrados grandes, em cada lado da câmara, totalizando dez quadrados grandes. Consideraram-se apenas as cabeças dos espermatozoides. Os resultados obtidos

foram expressos em espermatozoides por milímetro (mm^3) ou centímetro cúbico ($\text{cm}^3 = \text{ml}$). A soma das contagens realizadas nos quadrados foi multiplicada por um valor calculado, dependente da diluição utilizada e do número de quadrados contados.

Foram registradas, de cada animal, as idades de obtenção do primeiro ejaculado com espermatozoides móveis, do primeiro ejaculado com características macro e microscópicas, dentro dos parâmetros de normalidade aceitos, para caprinos em monta natural (HENRY e NEVES, 1998), quando o animal era considerado maduro sexualmente.

3.8. Morfologia espermática

A avaliação das características morfológicas dos espermatozoides foi realizada pelo método de preparação úmida, usando-se microscopia de contraste de fase. Para o exame da patologia espermática, foram diluídas gotas de sêmen, em um tubo de ensaio contendo 2 ml de solução de formol-salina tamponada, até que o conteúdo se tornasse turvo e, em seguida, foi armazenado em temperatura ambiente, para posterior análise. Desse tubo, foi retirada uma gota que foi colocada sobre uma lâmina limpa e seca, cobrindo-a de imediato com uma lamínula. Sobre a lâmina e a lamínula, foi colocado um papel de filtro, pressionando-se levemente a lamínula contra a lâmina, com a finalidade de absorver o excesso de líquido. Para os exames, foi utilizada a microscopia de contraste de fase, sob imersão, com objetiva de 100 X, contando-se 200 células espermáticas percorrendo todo o espaço da lâmina sobreposto pela lamínula. Por meio desse exame, foram observadas as anomalias de cabeça, de peça intermediária e de cauda dos espermatozoides, além das gotas citoplasmáticas.

A classificação das anormalidades foi baseada nas normas estabelecidas pelo Ministério da Agricultura (MA/CBRA nº 21/1997) e expressas em percentagem. Os critérios de classificação dos defeitos espermáticos foram os preconizados por Fonseca, et al. (1992), em que os defeitos espermáticos foram contados individualmente, independentemente de estarem presentes no mesmo espermatozoide. Neste sistema percentual, os defeitos espermáticos totais podem chegar a ser maiores que 100%. Segundo Blom (1973), foram contabilizados os seguintes defeitos maiores:

- 1) Cabeça Subdesenvolvida (CabSub);
- 2) Cabeça Isolada Patológica (CabIP);
- 3) Cabeça Estreita na Base (CabEB);
- 4) Cabeça Piriforme (CabP);
- 5) Cabeça Pequena Anormal (CabPAn);
- 6) Cabeça com Contorno Anormal (CabCAn);
- 7) *Pouch Formation (Pouch)*;
- 8) Defeitos de Acrossoma (Acros);
- 9) *Knobbed sperm (Knob)*;
- 10) Gota citoplasmática proximal (GCP);
- 11) Formas Teratológicas (Terat), incluindo microcéfalos (Microc);
- 12) Defeitos de Peça Intermediária (PI);
- 13) Cauda Fortemente Dobrada ou Enrolada (FortD-E);
- 14) Cauda Dobrada com Gota (DG);
- 15) Cauda Enrolada na Cabeça (CenCab).

Os defeitos menores registrados foram:

- 1) Cabeça Delgada (CabDel);
- 2) Cabeça Larga, Gigante ou Pequena Normal (GLPeqN);
- 3) Cabeça Isolada Normal (IsNor);
- 4) Implantação da Cauda Abaxial, Retroaxial ou Oblíqua (Abax);
- 5) Cauda Dobrada Simples (CDob);
- 6) Gota Citoplasmática Distal (GCD).

3.9. Idade da puberdade e da maturidade sexual

Conforme a evolução cronológica do desenvolvimento testicular, os animais foram classificados nas seguintes fases: impúberes, pré-púberes, púberes, pós-púberes e maturidade sexual (MURTA, 2008). Sendo que a puberdade foi considerada como o momento em que apareciam os primeiros espermatozoides, móveis ou não, no ejaculado. A partir daí, o período de evolução qualitativo do sêmen foi considerado como a fase de puberdade. No momento em que os animais passaram a apresentar sêmen com padrões físicos adequados à espécie, estes foram considerados sexualmente maduros (TRALDI, 1983).

3.10. Análise estatística

A análise estatística foi baseada em amostragem de 47 caprinos, machos da raça Alpina. Os resultados obtidos, nesta pesquisa, foram analisados por estatística descritiva, incluindo cálculo de média, análise de variância e correlações, utilizando o delineamento experimental inteiramente ao acaso. As comparações entre as médias das características avaliadas foram realizadas nos diferentes grupos pelo teste Student-Newman-Keuls (teste SNK; comparações múltiplas), sendo processadas empregando o programa denominado Sistema para Análises Estatísticas - SAEG, versão 9,0, admitindo um nível de significância de $p=0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Desenvolvimento corporal

Os dados referentes ao peso corporal, perímetro escrotal, volume escrotal, liberação do prepúcio de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo, estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Peso corporal, perímetro escrotal, volume escrotal, liberação do prepúcio (LP) de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

<i>Idade (meses)</i>	<i>n</i>	<i>Peso Corporal (kg)</i>	<i>Perímetro Escrotal (cm)</i>	<i>Volume Escrotal (ml)</i>	<i>LP (%)</i>
0	4	4,0 ^g	6,3 ^d	7,5 ^c	0,00
1	4	5,9 ^{fg}	7,5 ^d	12,3 ^c	0,00
2	4	8,1 ^{ef}	7,3 ^d	20,3 ^c	0,00
3	4	10,9 ^e	10,8 ^c	26,8 ^c	0,00
4	4	14,0 ^d	11,6 ^c	78,3 ^c	0,75
5	4	18,1 ^c	15,8 ^b	158,0 ^b	1,00
6	4	20,1 ^b	20,8 ^a	230,0 ^{ab}	1,00
7	3	25,8 ^a	22,1 ^a	193,7 ^{ab}	1,00
8	3	20,1 ^b	18,7 ^a	150,0 ^b	1,00
9	3	23,1 ^{ab}	22,0 ^a	223,3 ^{ab}	1,00
10	4	24,5 ^a	19,3 ^a	255,0 ^a	1,00
11	3	25,6 ^a	21,3 ^a	273,3 ^a	1,00
12	3	27,0 ^a	22,0 ^a	213,3 ^{ab}	1,00

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não se diferem estatisticamente ($p=0,05$) pelo teste SNK.

A Figura 1 mostra a evolução do peso corporal desde o nascimento até os 12 meses de idade. O peso corporal aumentou gradualmente do nascimento até os 2 meses de vida, praticamente dobrando, neste período, o seu valor inicial. Neste estudo, entre os 3 e 5 meses, os animais experimentaram crescimento mais acentuado. A partir dos 5 até os 6 meses, observou-se que o desenvolvimento corporal voltou a ser gradual. No entanto, aos 7 meses, os animais experimentaram novamente crescimento mais acentuado, seguido de redução aos 8 meses. Aos 9 meses, os animais voltaram a experimentar aumento de peso. A partir dos 10 meses, o crescimento se manteve constante até os 12 meses.

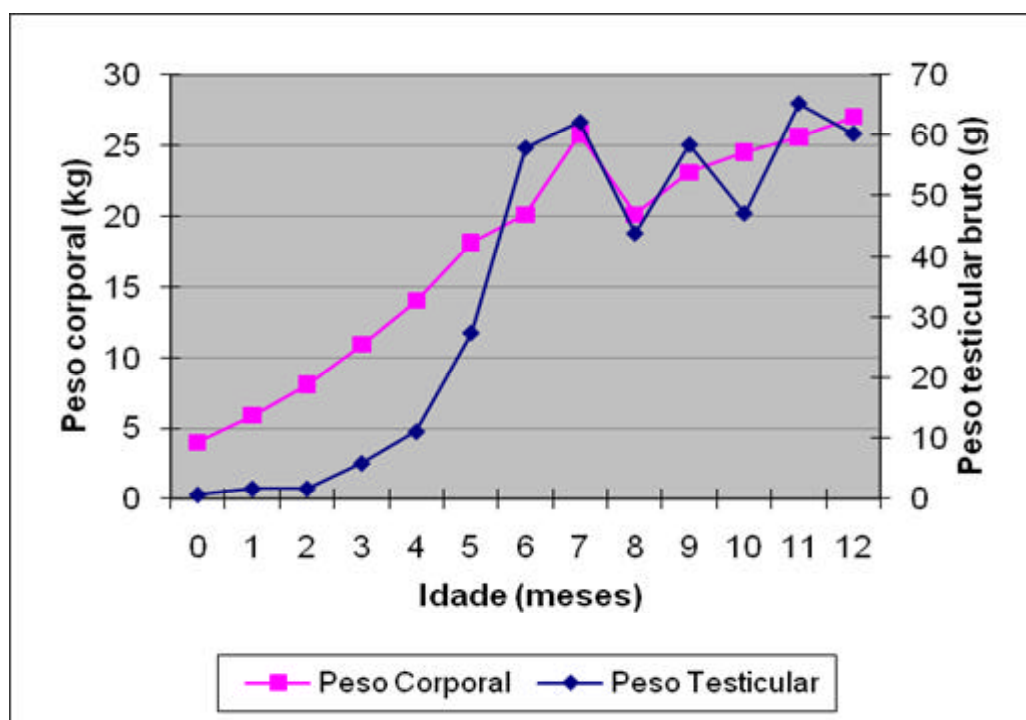


Figura 1 - Peso corporal e peso testicular de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Os valores do peso corporal dos animais, deste estudo, variaram de 4,0 a 27,0 kg. Conforme se observa na Tabela 2, o desenvolvimento do peso corporal apresentou correlação significativa com a peso testicular ($r = 0,8989$).

Tabela 2 - Coeficientes de correlação (r) entre a idade, dados biométricos e morfométricos de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

	<i>PTB</i>	<i>PE</i>	<i>VE</i>	<i>PA</i>	<i>PCEP</i>	<i>IGS</i>	<i>ITS</i>	<i>%Tb</i>
<i>PC</i>	0,89	0,95	0,91	0,83	0,88	0,83	0,87	0,88
<i>PTB</i>		0,96	0,94	0,96	0,91	0,97	0,98	0,81
<i>PE</i>			0,93	0,95	0,91	0,94	0,94	0,94
<i>VE</i>				0,93	0,83	0,92	0,95	0,87
<i>PA</i>					0,87	0,92	0,94	0,86
<i>PCEP</i>						0,80	0,83	0,72
<i>IGS</i>							0,97	0,73
<i>ITS</i>								0,87

* $p=0,05$. PC - peso corporal; PTB - peso testicular bruto; PE - perímetro escrotal; VE - volume escrotal; PA - peso da albugínea; PCEP - peso da cauda do epidídimo; IGS - índice gonadossomático; ITS - índice tubulossomático; %Tb - proporção volumétrica de tecido tubular.

O ritmo de crescimento do peso corporal dos caprinos mostrou curva ascendente gradual em função da idade, apresentando momentos de maior

aceleração e de redução. Um período de ganho de peso gradual ocorreu do nascimento até os 2 meses de idade, referente ao período impúbere. O período de maior desenvolvimento corporal ocorreu entre os 3 e 5 meses, que coincidiu com o início da atividade espermatogênica e com o aparecimento da puberdade, no final do período. Aos 7 meses, observou-se aceleração do crescimento, seguido de redução aos 8 meses, e aumento a partir dos 9 meses, com tendência a estabilidade dos 10 até os 12 meses.

O peso corporal de caprinos da raça Alpina, criados em sistema semi-intensivo, apresentou-se um pouco menor quando comparado com o de caprinos da raça Saanen, em confinamento (3,0 a 35,0 kg), exceto ao nascimento (SILVA, 2000). Isto pode ser atribuído a diferenças no sistema de manejo, à alimentação e à ocorrência, no caso dos animais deste estudo, de distúrbios respiratórios relacionados com as mudanças climáticas. Esta diferença poderia ser creditada também às diferenças no padrão de crescimento das raças estudadas.

Neste estudo, pode-se observar que o desenvolvimento do peso corporal apresenta-se relativamente crescente do nascimento até a maturidade sexual. Assim, o peso corporal aumenta gradualmente em função da idade, com alguns períodos de maior crescimento, tais como, nos três primeiros meses de vida, no período entre os 4 e 5 meses e aos 9 meses de idade. Estes períodos sugerem certa correspondência com as fases de aleitamento, instalação da puberdade e estabelecimento da maturidade sexual.

Dados obtidos por Delgadillo et al. (2007), sobre o desenvolvimento ponderal de machos caprinos, demonstraram que a estação do ano tem forte efeito sobre o peso ao nascimento. O peso corporal dos machos nascidos em outubro foi menor ($2,6 \pm 0,2$) quando comparado ao dos animais nascidos nos meses de janeiro ($3,4 \pm 0,2$) e maio ($3,6 \pm 0,1$). O peso à puberdade também variou com a época de nascimento. O peso à puberdade dos animais que nasceram em outubro foi menor ($15 \pm 0,8$) ao observado em animais que nasceram em janeiro ($20 \pm 0,7$) e maio ($19 \pm 0,6$).

Em cordeiros Santa Inês, alimentados com diferentes níveis de energia, Assis et al. (2008) constataram que a média geral de peso vivo dos animais com dietas com maior energia metabolizável resultou em superior crescimento e desenvolvimento. Os animais que receberam as dietas A e B foram os que apresentaram maior consumo de energia metabolizável ($14,11 \text{ Mcal/PV}^{0,75}$), os

mais pesados (18,89 kg e 17,09 kg, respectivamente) e os de maiores pesos dos testículos (62,54 g e 27,16 g respectivamente), indicando que o desenvolvimento testicular é altamente dependente do desenvolvimento corporal e da quantidade de energia metabolizável consumida.

4.2. Dimensões escrotais e liberação do prepúcio

Os dados do perímetro escrotal, volume escrotal e liberação do prepúcio de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em condições semi-intensivas, estão discriminados na Tabela 1.

Na Figura 2, observa-se que a curva que representa o desenvolvimento do perímetro escrotal foi constante até os 2 meses de idade. O perímetro escrotal exibiu elevação inicial aos 3 meses. A partir deste ponto até os 4 meses, evoluiu quase sempre linearmente, seguido de crescimento mais acentuado aos 5 meses. Aos 6 meses de idade, observou-se que os animais novamente experimentaram um aumento no crescimento do perímetro escrotal. A partir deste ponto, os animais mantiveram o crescimento constante do perímetro escrotal dos 6 até os 12 meses de idade.

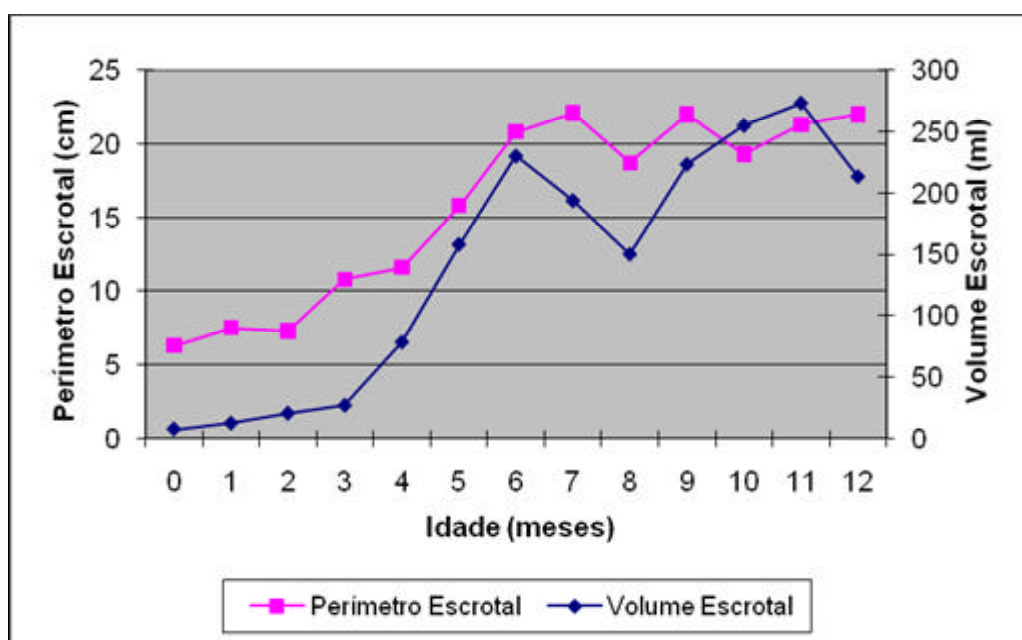


Figura 2 - Perímetro e volume escrotais de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.

Santos, et al., (2006) comparando os parâmetros reprodutivos de bodes das raças Alpina e Saanen, submetidos ao manejo de fotoperíodo artificial, relataram que a correlação da idade com o perímetro escrotal foi de $r = 0,92$ ($P < 0,05$), e os animais jovens da raça Alpina, mesmo sendo 1,4 meses mais velhos que os da raça Saanen, na mesma categoria (jovem), tiveram perímetro escrotal menor ($P < 0,05$). Sugerindo que a influência da idade sobre a raça Alpina pode ser reflexo de um padrão racial ainda não bem definido, em razão de suas diversas variedades e origens.

No presente estudo, o perímetro escrotal de caprinos da raça Alpina foi ligeiramente inferior ao observado nos animais da raça Saanen, criados em confinamento, em idades equivalentes, exceto ao nascimento (6,0 cm), aos 7 e 9 meses de idade (22,0 cm), quando apresentaram valores semelhantes (SILVA, 2000).

A medida do perímetro escrotal constitui bom parâmetro para se avaliar o tamanho dos testículos e a capacidade de produção espermática de caprinos (AMANN e SCHAMBACKER, 1983). Assim, nos caprinos da raça Alpina, encontram-se altos coeficientes de correlação entre o perímetro escrotal, o peso do testículo ($r = 0,9621$) e o volume testicular ($r = 0,9596$). Da mesma forma, o perímetro escrotal, ao longo do desenvolvimento pós-natal, correlaciona-se alta e significativamente com o peso corporal ($r = 0,9534$) dos animais (Tabela 2).

Tal desempenho coincide com os resultados obtidos por Assis et al. (2008), que, comparando as equações de regressão do peso dos testículos, em função do perímetro escrotal, com as equações ajustadas do peso corporal, em função da idade, relataram que a predição do peso testicular, por meio do perímetro escrotal, é mais eficiente do que pela idade e pelo peso corporal. Usando tais equações para predizer o peso dos testículos, obtêm-se valores bastantes confiáveis, uma vez que tais mensurações são altamente correlacionadas. Estas informações são úteis para a avaliação dos animais quanto à sua capacidade reprodutiva.

A Figura 2 demonstra a evolução do desenvolvimento do volume escrotal dos caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade. O desenvolvimento do volume escrotal apresentou-se praticamente constante até o 4º mês de vida. Entre os 4 e 5 meses, no entanto, observou-se notável aceleração do desenvolvimento do volume escrotal, traduzida por incremento de

aproximadamente 100% em seu valor anterior. Entre os 5 e 7 meses, o volume escrotal apresentou aumento gradual. Aos 8 meses, no entanto, verificou-se redução do volume escrotal. Entre os 8 e 9 meses, o volume escrotal aumentou de maneira gradual. A partir dos 10 meses de idade, observou-se novamente um aumento do volume escrotal, que manteve praticamente constante o seu ritmo de crescimento, sendo que, aos 12 meses, verificou-se ligeira redução. Os resultados obtidos neste estudo foram inferiores aos verificados por Silva (2000). Conforme se observa na Tabela 2, o volume escrotal apresentou alta correlação com o peso testicular ($r = 0,9371$).

Foi observado que o aumento rápido do perímetro escrotal e do volume escrotal, aos 5 meses, coincidiu com a idade do surgimento dos primeiros espermatozoides no ejaculado, sugerindo que a função espermatogênica acompanha o aumento do peso testicular. Becker-Silva et al. (2000) avaliaram o peso corporal, o perímetro e o volume escrotal de machos da raça Saanen do nascimento aos 12 meses de idade. O tamanho do testículo aumentou pouco antes de os espermatozoides vivos serem encontrados no ejaculado, tendo maior correlação positiva com o peso corporal ($r = 0,92$) que com a idade ($r = 0,84$).

Aos 4 meses de idade, 75% dos cabritos apresentaram descolamento completo do prepúcio. Aos 5 meses, o descolamento estava presente em 100% dos animais. A idade da separação completa do prepúcio, observada no presente estudo, foi superior à relatada por Silva (2000), em caprinos da raça Saanen, criados em confinamento, constatada aos 4 meses em 100% dos animais.

4.3. Biometria macroscópica dos testículos

Os valores relativos ao peso testicular bruto, peso testicular líquido, índice gonadossomático, índice tubulossomático, peso e valor percentual do testículo ocupado pela albugínea, de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo, encontram-se expressos na Tabela 3.

A Figura 3 mostra que o desenvolvimento do peso testicular bruto caracterizou-se por uma curva de aspecto sigmoide. Assim, o peso testicular evoluiu de forma constante do nascimento até os 2 meses, mas, entre os 2 e 3 meses, apresentou ligeiro aumento. Entre os 4 até os 6 meses de idade,

observou-se maior índice de crescimento do peso testicular bruto, com incremento de aproximadamente cinco vezes o seu valor médio, do início do período. A partir dos 6 meses até os 12 meses, entretanto, o peso testicular demonstrou crescimento constante, com alguns momentos de ligeira queda, observados aos 8 e 10 meses. O peso testicular dos animais desta pesquisa variou de 0,7 a 60,2 g, ao nascimento e aos 12 meses, respectivamente.

Tabela 3 - Peso testicular bruto, peso testicular líquido, índice gonadossomático, índice tubulossomático, peso e valor percentual do testículo ocupado pela albugínea, de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Idade (meses)	n	Peso testicular bruto (g)	Peso testicular líquido (g)	Índice Gonadossomático (%)	Índice Tubulossomático (%)	Percentual albugínea (%)	Peso da albugínea (g)
0	4	0,7 ^d	0,5 ^d	0,04 ^d	0,01 ^c	25,38 ^o	0,18 ^c
1	4	1,7 ^d	1,1 ^d	0,06 ^d	0,02 ^c	35,81 ^a	0,58 ^c
2	4	1,8 ^d	1,4 ^d	0,05 ^d	0,02 ^c	20,30 ^{bc}	0,37 ^c
3	4	5,9 ^{cd}	4,9 ^d	0,11 ^d	0,03 ^c	15,05 ^{bc}	0,88 ^c
4	4	11,1 ^c	9,7 ^{cd}	0,14 ^{cd}	0,05 ^c	14,79 ^{bc}	1,46 ^c
5	4	27,4 ^b	25,2 ^{bc}	0,30 ^{bc}	0,19 ^b	10,88 ^c	3,01 ^b
6	4	57,9 ^a	52,7 ^a	0,58 ^a	0,33 ^a	9,01 ^c	5,18 ^a
7	3	62,1 ^a	56,3 ^a	0,48 ^{ab}	0,29 ^{ab}	9,45 ^c	5,76 ^a
8	3	43,8 ^{ab}	39,3 ^{ab}	0,42 ^{ab}	0,27 ^{ab}	11,71 ^c	4,52 ^a
9	3	58,4 ^a	53,3 ^a	0,50 ^{ab}	0,39 ^a	8,97 ^c	5,15 ^a
10	4	47,1 ^{ab}	42,9 ^{ab}	0,39 ^{ab}	0,31 ^{ab}	12,87 ^c	6,07 ^a
11	3	65,2 ^a	59,7 ^a	0,51 ^{ab}	0,42 ^a	8,52 ^c	5,53 ^a
12	3	60,2 ^a	54,1 ^a	0,45 ^{ab}	0,36 ^a	10,22 ^c	6,06 ^a

*Valores corrigidos, considerando-se um índice de retração linear de 5% (AMANN,1981). Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não se diferem estatisticamente ($p=0,05$) pelo teste SNK.

O peso testicular líquido apresentou crescimento constante do nascimento aos 3 meses de idade, seguido de aumento gradual entre os 4 e 5 meses. A partir dos 6 meses até os 12 meses, entretanto, o peso líquido dos testículos demonstrou crescimento semelhante ao peso testicular bruto.

O crescimento do peso testicular bruto apresentou correlações significativas com o peso corporal ($r = 0,8989$), volume escrotal ($r = 0,9371$) e volume testicular ($r = 0,9993$). Nos mamíferos domésticos, o peso testicular varia entre as espécies e é determinado em função de diversos fatores, como o estabelecimento da atividade espermatogênica, o aumento populacional das

células germinativas e o número de células de Sertoli, apresentando efeito direto na produção espermática.

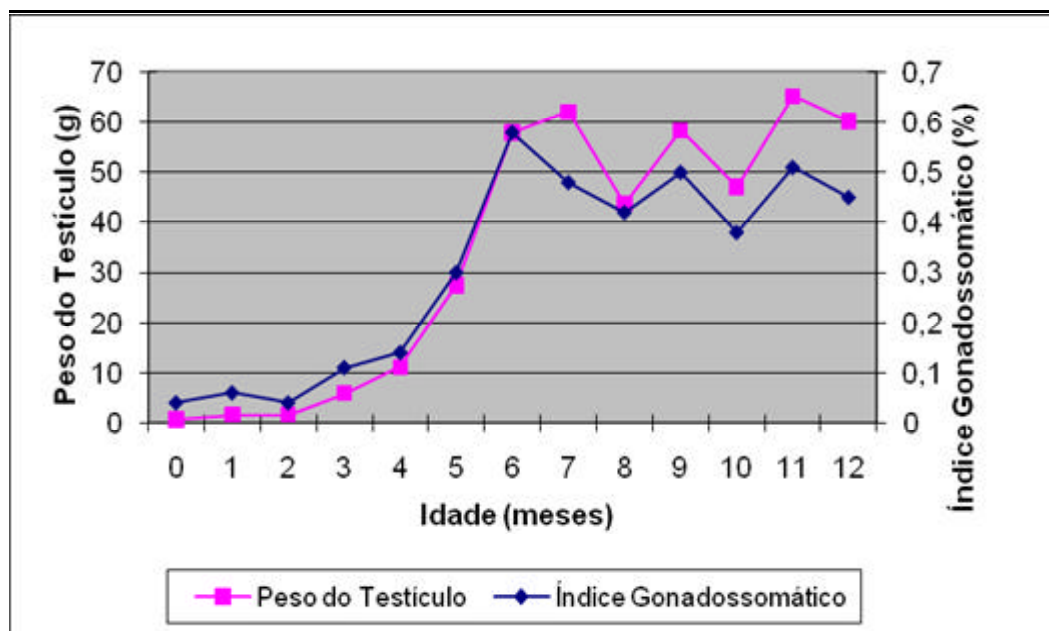


Figura 3 - Peso testicular e índice gonadossomático de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

No presente estudo, o máximo crescimento testicular foi observado entre os 4 e 6 meses de idade, coincidindo com o aparecimento, em todos os animais de 5 meses, de espermátides alongadas no epitélio seminífero; e aos 6 meses, quando todos os animais passaram a apresentar espermatogênese completa no parênquima testicular. Após este período, evoluiu de forma constante, com pequena redução aos 8 meses e aos 10 meses, mostrando ainda, aos 12 meses, tendência de contínuo crescimento.

A elevação demonstrada no peso testicular, entre os 4 e 6 meses, parece ser devido principalmente ao crescimento acelerado do diâmetro e do comprimento tubular e, conseqüentemente, do volume total ocupado pelos túbulos seminíferos no parênquima testicular, considerando que, neste intervalo de tempo, o tecido intertubular cresceu pouco se comparado ao crescimento dos túbulos seminíferos. Após este período, o crescimento testicular constante pode ser creditado especialmente ao aumento do diâmetro tubular, considerando que o comprimento do túbulo seminífero por testículo estabilizou-se a partir dos 5 meses.

Estudos têm demonstrado que o crescimento testicular relaciona-se com as concentrações de hormônios gonadotróficos e de testosterona. Variações do fotoperíodo constituem um dos principais fatores ambientais que influenciam nessa característica (MIES FILHO, 1987). Durante os meses do ano, os caprinos apresentam grandes flutuações no peso testicular e nos índices de atividade espermatogênica. Martins et al. (2003) verificaram que, em pequenos ruminantes, o peso testicular tem o seu valor mínimo na primavera e o máximo no final do verão. Essas variações estão associadas às marcantes mudanças na produção e qualidade espermáticas. Carneiros adultos apresentam um decréscimo acentuado na atividade espermatogênica durante o final do inverno e primavera, produzindo cerca de 40% menos por ejaculado (DELGADILLO e CHEMINEAU, 1992; CHEMINEAU et al., 1992).

O peso testicular de caprinos da raça Alpina mostrou-se ligeiramente mais baixo em relação àqueles registrados nos caprinos da raça Saanen, exceto ao nascimento (0,7 g) e aos 7 meses (62,0 g), que foram iguais, e aos 9 meses (50,0 g), que foi inferior (SILVA 2000). Conforme observado a respeito do peso corporal, o peso testicular mais baixo dos caprinos Alpinos nas demais idades pode ser atribuído, em parte, às características genéticas, às condições ambientais, de alimentação e de manejo em que foram criados.

Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Assis, et al. (2008), que, estudando a evolução do peso testicular de cordeiros da raça Santa Inês, alimentados com diferentes níveis de energia, relataram que, à medida que aumentava a idade dos animais, também aumentava o peso dos testículos, já que o desenvolvimento testicular acompanha o desenvolvimento corporal, como consequência da evolução da idade. Entretanto, o aumento do peso dos testículos em função do consumo de energia metabolizável demonstrou que, nos animais que se alimentavam de dietas com maiores níveis de energia metabolizável, este peso aumentou acentuadamente na fase pré-púbere, o que provavelmente permitiu aos animais dessa dieta serem mais precoces em relação à puberdade.

O índice gonadossomático (IGS) expressa a relação entre a massa testicular total e o peso corporal, representando o percentual de massa corporal alocada em testículo. Os resultados do índice gonadossomático, encontrados neste estudo, variaram entre 0,04% a 0,45%. Do nascimento aos 3 meses, variou

de 0,04% a 0,11% e, entre os 4 e 5 meses, evoluiu de 0,14% a 0,30%. Aos 6 meses, o índice gonadossomático apresentou elevação. Entre os 7 até os 12 meses de idade, no entanto, os animais experimentaram desenvolvimento constante no índice gonadossomático (Figura 3). Este índice apresentou correlações significativas com o peso corporal ($r = 0,8261$), peso testicular bruto ($r = 0,9707$), volume escrotal ($r = 0,9223$), perímetro escrotal ($r = 0,9360$).

A proporção entre a massa testicular total e o peso corporal é variável entre as espécies, e existem diversas teorias que procuram explicar a razão de algumas espécies depositarem maior percentagem da massa corporal nos testículos que outras. A explicação mais aceita e que se relaciona com maior número de espécies, baseia-se no comportamento reprodutivo e na frequência copulatória dos machos (KENAGY e TROMBULACK, 1986). Desta forma, em espécies de mamíferos monogâmicas, em que o macho copula uma única fêmea, ou poligâmicas ao extremo, nas quais um único macho copula todas as fêmeas, verificam-se reprodutores com exclusividade de cobrições. Estes normalmente possuem menores testículos e IGS, quando comparados com os de indivíduos de espécies cujos machos não possuem exclusividade pela cópula e as fêmeas cruzam com diversos machos no decorrer do período fértil do ciclo ovariano (poliândricas). Esta diferença pode ser explicada pela pressão de seleção, relacionada à produção espermática no interior do genital feminino, para garantir maior número de descendentes. Assim, espécies com maior competição espermática, no interior do genital da fêmea, necessitam de produção espermática mais intensa e, conseqüentemente, maiores testículos (HARVEY e HARCOURT, 1984; SHORT, 1997).

Outras características, como o tipo de ovulação ou duração do estro nas fêmeas, também influenciam no peso testicular dos reprodutores e, conseqüentemente, no IGS. No caso das espécies poliândricas, nas quais as fêmeas apresentam ovulação espontânea ou duração do estro mais prolongado, há maior competição espermática e, geralmente, os machos dessas espécies apresentam testículos mais pesados e IGS maior do que os daquelas espécies cuja ovulação é induzida ou apresentam cio mais curto (KENAGY e TROMBULACK, 1986).

O crescimento testicular acompanhou o desenvolvimento corporal e o índice gonadossomático, encontrado neste estudo. A relação entre o índice

gonadossomático com o diâmetro, volume e percentagem de túbulo seminífero pode ser explicada pelo fato de os túbulos seminíferos compreenderem a maior parte do parênquima testicular e, conseqüentemente, serem componentes determinantes para o peso testicular.

O índice tubulossomático (ITS) é um parâmetro que objetiva quantificar o investimento em túbulo seminífero em relação à massa corporal do animal. Este parâmetro permite maior discussão sobre a influência do comportamento reprodutivo na morfologia testicular (CALDEIRA, 2007). Em caprinos, verificou-se que o índice tubulossomático (ITS) teve crescimento relativamente constante do nascimento até os 4 meses de idade, variando de 0,01% a 0,05%, o que pode ser explicado pelo fato de, neste período, verificar crescimento do peso corporal, peso testicular, diâmetro, volume e percentagem de túbulo seminífero, em ritmo semelhante. Após os 4 meses até os 5 meses, observou-se um aumento brusco e acentuado do índice tubulossomático (ITS), sendo seu valor, aos 5 meses, superior ao triplo daquele observado na idade anterior, e, aos 6 meses, atingindo quase o dobro do observado aos 5 meses. O índice tubulossomático (ITS) foi crescente devido ao aumento da percentagem de túbulos seminíferos, à aceleração do diâmetro e ao volume tubular, resultando em maior peso testicular e índice gonadossomático. Dos 6 aos 12 meses, evidenciou-se um crescimento constante dos valores do índice tubulossomático (Figura 4).

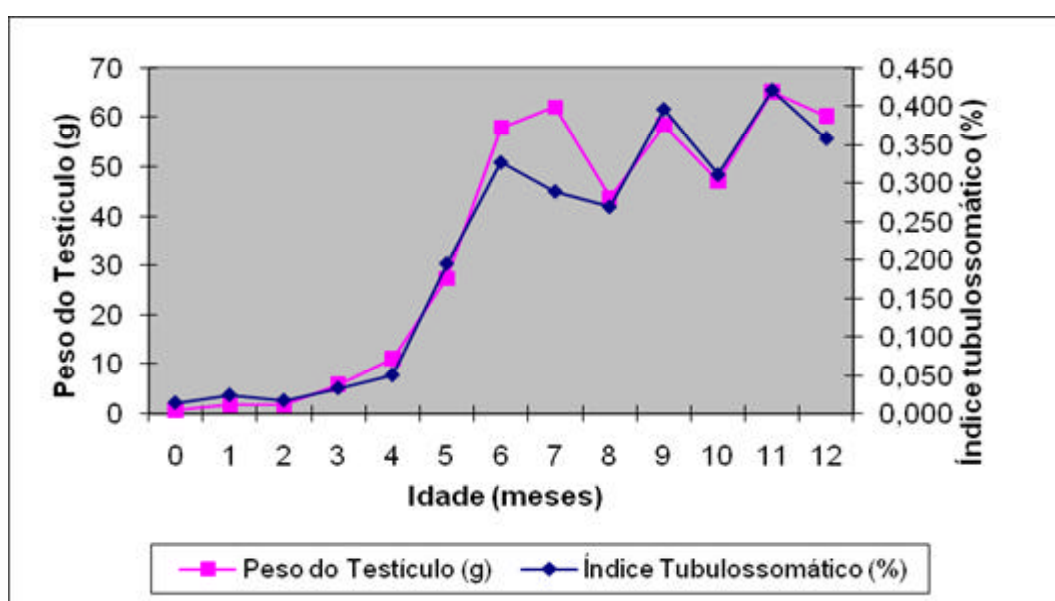


Figura 4 - Peso testicular e índice tubulossomático de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Este parâmetro apresentou coeficiente de correlação significativo com peso corporal ($r = 0,8734$), peso testicular bruto ($r = 0,9774$), índice gonadossomático ($r = 0,9658$), percentual de túbulo seminífero ($r = 0,8677$), perímetro escrotal ($r = 0,9432$) e volume escrotal ($r = 0,9489$).

O peso da albugínea apresentou crescimento semelhante ao do peso testicular, porém em ritmo mais lento. O percentual de albugínea mostrou-se mais alto ao nascimento e no 1º mês de vida, constituindo 25,38% e 35,81% do peso bruto do testículo, respectivamente. Este percentual decresceu e se estabilizou a partir do 2º mês até os 12 meses, com valores de 20,30% a 10,22% (Figura 5).

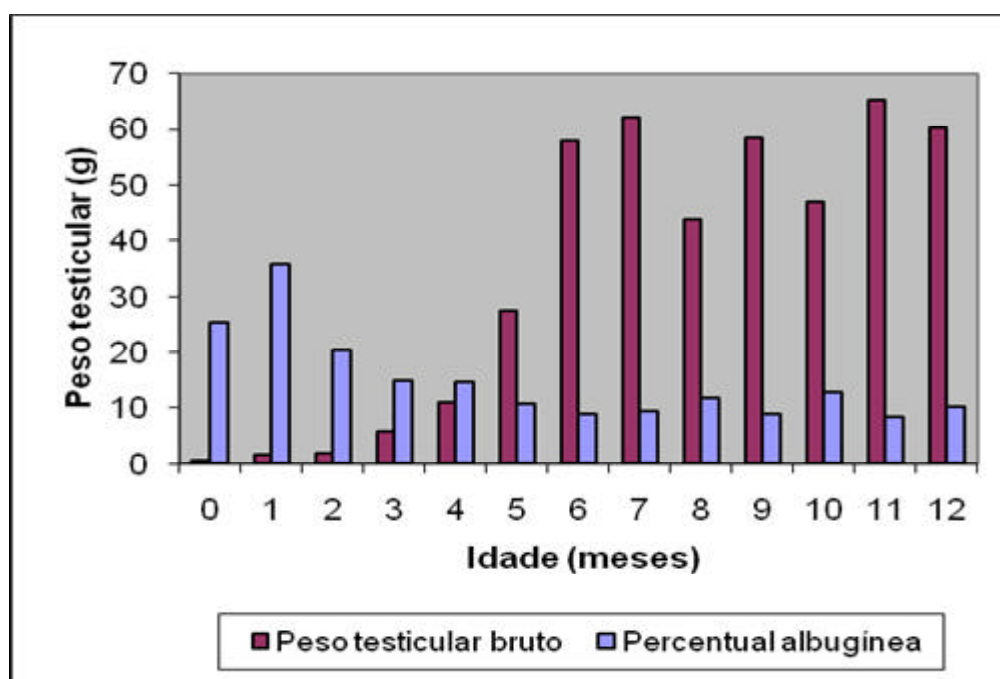


Figura 5 - Peso testicular bruto e percentual da albugínea em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

O peso do parênquima testicular é obtido descontando os valores do peso da albugínea e do mediastino, do peso bruto do testículo (JOHNSON et al., 1981). Na maioria das espécies domésticas, a proporção volumétrica da albugínea e do mediastino testicular é em torno de 10% (FRANÇA e RUSSEL, 1998). Devido às dificuldades metodológicas citadas, os valores referentes ao peso do mediastino não foram mensurados.

O peso da albugínea apresentou crescimento gradual do nascimento aos 12 meses, porém em ritmo mais lento que o crescimento do peso testicular. No entanto, o percentual do testículo ocupado pela albugínea decresceu após o

nascimento, provavelmente, devido ao maior desenvolvimento do tecido tubular. Este percentual decresceu e se estabilizou aos 7 meses de idade em aproximadamente 10%. Aos 12 meses, a proporção do testículo ocupado pela albugínea assemelha-se ao descrito em caprinos da raça Saanen (SILVA, 2000).

Os valores de volume bruto e líquido, comprimento, largura e espessura dos testículos de caprinos da raça Alpina, criados em condições de manejo semi-intensivo, do nascimento aos 12 meses de idade, estão expressos na Tabela 4.

Tabela 4 - Volume bruto e líquido, comprimento, largura e espessura testicular de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Idade (meses)	n	Volume testicular bruto (ml)	Volume testicular líquido (ml)	Comprimento		Largura		Espessura	
				TD (cm)	TE (cm)	TD (cm)	TE (cm)	TD (cm)	TE (cm)
0	4	0,7 ^d	0,5 ^d	1,4 ^e	1,4 ^d	1,0 ^e	1,1 ^d	0,8 ^d	0,8 ^d
1	4	1,7 ^d	1,1 ^d	1,8 ^{de}	1,9 ^d	1,3 ^{de}	1,4 ^d	1,0 ^d	1,1 ^d
2	4	1,7 ^d	1,4 ^d	2,0 ^{de}	2,0 ^d	1,5 ^{de}	1,5 ^d	1,2 ^d	1,2 ^d
3	4	5,9 ^{cd}	5,0 ^d	2,5 ^{cd}	2,4 ^{cd}	1,9 ^{cd}	1,9 ^{cd}	1,7 ^{cd}	1,7 ^{cd}
4	4	11,1 ^c	9,7 ^{cd}	3,2 ^c	3,1 ^c	2,4 ^c	2,4 ^c	2,0 ^c	2,1 ^c
5	4	27,4 ^b	25,2 ^{bc}	4,4 ^b	4,4 ^b	3,5 ^b	3,5 ^b	3,3 ^b	3,1 ^b
6	4	57,9 ^a	52,7 ^a	5,7 ^a	5,7 ^a	4,5 ^a	4,7 ^a	4,4 ^a	4,4 ^a
7	3	62,1 ^a	56,3 ^a	6,1 ^a	6,0 ^a	4,6 ^a	4,6 ^a	4,2 ^{ab}	4,1 ^a
8	3	43,8 ^{ab}	39,3 ^{ab}	5,2 ^a	5,2 ^a	4,0 ^{ab}	4,1 ^{ab}	3,7 ^{ab}	3,9 ^a
9	3	58,4 ^a	53,3 ^a	6,0 ^a	6,1 ^a	4,5 ^a	4,6 ^a	4,2 ^{ab}	4,2 ^a
10	4	47,1 ^{ab}	42,9 ^{ab}	5,5 ^a	5,6 ^a	4,2 ^{ab}	4,3 ^{ab}	4,1 ^{ab}	4,0 ^a
11	3	65,2 ^a	59,7 ^a	6,1 ^a	6,1 ^a	4,7 ^a	4,7 ^a	4,3 ^a	4,3 ^a
12	3	60,2 ^a	54,1 ^a	6,0 ^a	6,0 ^a	4,7 ^a	4,6 ^a	4,4 ^a	4,4 ^a

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não se diferem estatisticamente ($p=0,05$) pelo teste SNK.

Conforme se observa na Tabela 4, o volume bruto e líquido dos testículos, bem como as dimensões (comprimento, largura e espessura) teve crescimento gradual até os 3 meses de idade. Observou-se que o crescimento do volume bruto e líquido dos testículos foi mais acentuado dos 4 aos 6 meses. Aos 8 meses e aos 10 meses, evidenciou-se ligeira redução, sendo que, a partir dos 6 meses de idade, a tendência da curva indicava propensão à estabilidade até os 12 meses (Figura 6). Os valores de volume, comprimento, largura e espessura dos testículos de caprinos da raça Alpina tiveram evolução semelhante ao desenvolvimento do peso corporal e testicular, apresentando pequena redução

aos 8 meses e aos 10 meses de idade. Devido à constância da forma do testículo, estas dimensões apresentaram alta correlação entre si (comprimento/largura $r = 0,9914$; comprimento/espessura $r = 0,9897$; largura/espessura $r = 0,9953$) e também com o peso (comprimento $r = 0,9551$; espessura $r = 0,9448$; largura $r = 0,9534$), volume testicular (comprimento $r = 0,9621$; espessura $r = 0,9636$; largura $r = 0,9629$) e volume escrotal (comprimento $r = 0,9434$; espessura $r = 0,9559$; largura $r = 0,9517$).

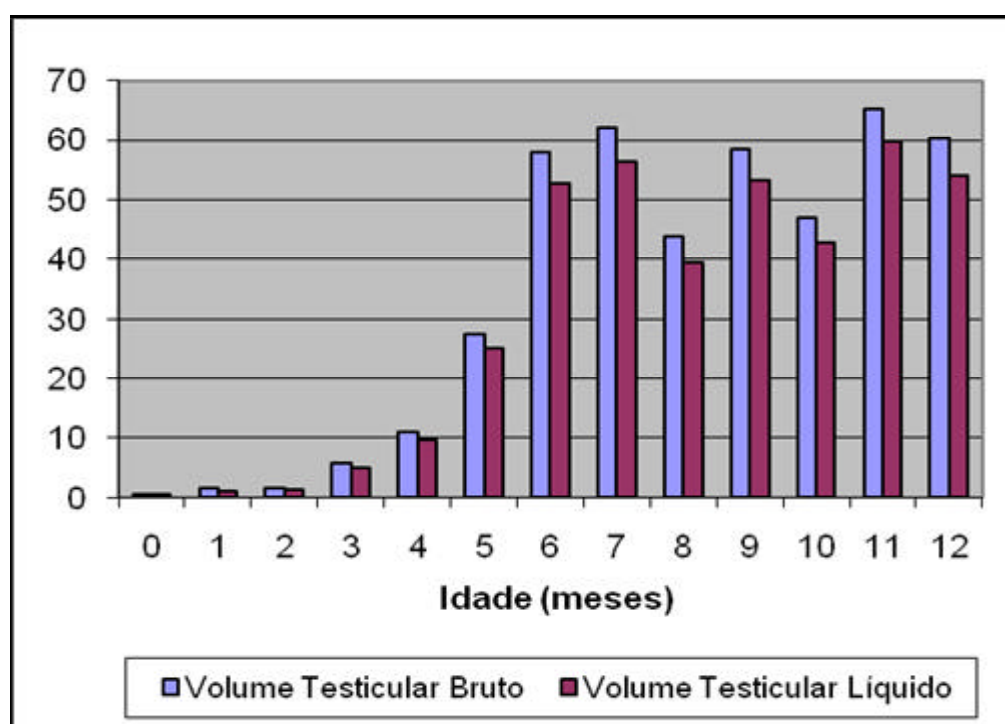


Figura 6 - Volume testicular bruto e volume testicular líquido em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.

O comprimento, largura e espessura testicular são parâmetros que sofrem variações entre as espécies e com a evolução da idade (Figura 7). A avaliação destas medidas testiculares é importante na seleção de reprodutores, tendo em vista que uma vez aferida, pode fornecer indicações confiáveis do desempenho reprodutivo do animal (YARNEY e SANFORD, 1993). Portanto, a largura testicular apresenta grande relação com o peso, comprimento e volume escrotal, e pode ser usada como indicador para as demais características biométricas testiculares (MARTINS, 2006). O volume testicular relaciona-se ao peso dos testículos e é uma variável importante para a avaliação da capacidade de produção espermática (AMANN, 1970). Em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12

meses, os valores de volume testicular, comprimento, largura e espessura dos testículos seguiram tendência de desenvolvimento semelhante ao observado para o peso corporal e testicular, verificando-se que, entre os 4 e 6 meses de idade, a evolução foi mais intensa (Figura 7). Este crescimento mais intenso foi coincidente com a consolidação da fase de puberdade, conforme descrito em outros mamíferos (FRANÇA, 1988; ASSIS NETO et al., 2003).

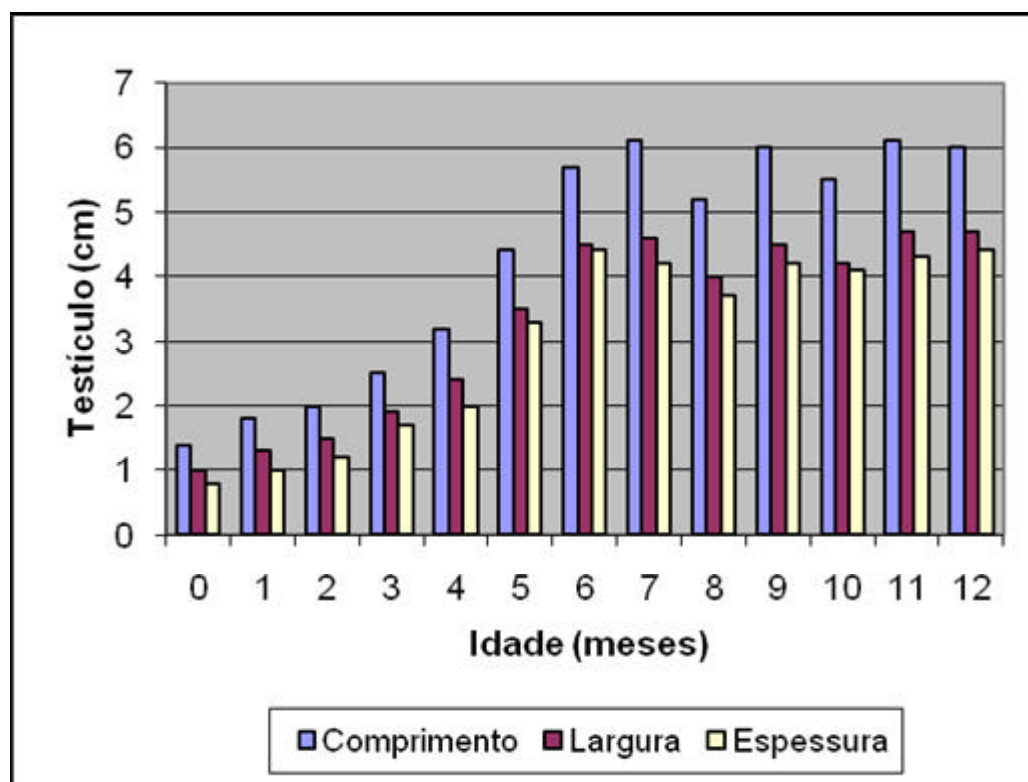


Figura 7 - Comprimento, largura e espessura do testículo de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.

Os resultados do peso total, peso da cabeça, corpo e cauda de ambos os epidídimos, direito e esquerdo, de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo, estão demonstrados na Tabela 5.

O peso total dos epidídimos mostrou crescimento gradual com a idade até os 4 meses. A partir dos 4 meses, os animais experimentaram aceleração do desenvolvimento do epidídimo até os 7 meses. Aos 8 meses, evidenciou-se redução do crescimento, seguido de aumento em ritmo gradual a partir dos 9 meses, com tendência à estabilização até os 12 meses. (Figura 8).

A curva de desenvolvimento da cauda do epidídimo direito demonstrou crescimento semelhante quando comparado com o crescimento do testículo direito (Figura 9). O peso da cauda do epidídimo seguiu o padrão de crescimento do testículo e teve alta correlação com a produção espermática diária.

Tabela 5 - Peso total, peso da cabeça, corpo e cauda de ambos os epidídimos, direito e esquerdo, de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Idade (meses)	n	Peso Epidídimo Esquerdo (g)				Peso Epidídimo Direito (g)			
		Total	Cabeça	Corpo	Cauda	Total	Cabeça	Corpo	Cauda
0	4	0,40 ^e	0,17 ^d	0,12 ^e	0,09 ^d	0,44 ^f	0,18 ^c	0,15 ^d	0,08 ^d
1	4	0,83 ^e	0,29 ^d	0,18 ^e	0,33 ^d	0,95 ^{ef}	0,35 ^c	0,18 ^d	0,40 ^d
2	4	1,63 ^{de}	0,78 ^d	0,63 ^{cde}	0,48 ^d	1,68 ^{ef}	0,68 ^c	0,53 ^{cd}	0,48 ^d
3	4	1,77 ^{de}	0,58 ^d	0,15 ^e	0,95 ^d	1,78 ^{ef}	0,58 ^c	0,14 ^d	0,95 ^d
4	4	1,92 ^{de}	0,71 ^d	0,63 ^{cde}	0,53 ^d	1,93 ^{ef}	0,70 ^c	0,65 ^{cd}	0,57 ^d
5	4	3,65 ^d	1,94 ^c	0,55 ^{de}	1,08 ^d	3,37 ^e	1,48 ^c	0,69 ^{cd}	0,79 ^d
6	4	7,22 ^c	3,61 ^b	1,14 ^{cd}	2,44 ^c	7,29 ^{cd}	3,96 ^{ab}	1,14 ^{bc}	2,09 ^c
7	3	12,22 ^a	5,05 ^a	2,67 ^a	4,46 ^a	12,45 ^a	5,23 ^a	2,79 ^a	4,31 ^a
8	3	6,82 ^c	3,44 ^b	1,24 ^{cd}	2,11 ^c	6,44 ^d	3,20 ^b	1,07 ^{bc}	2,20 ^c
9	3	8,84 ^{bc}	4,69 ^{ab}	1,15 ^{bcd}	2,87 ^{bc}	8,20 ^{bcd}	4,50 ^{ab}	1,21 ^{bc}	2,42 ^{bc}
10	4	9,37 ^{bc}	5,96 ^a	1,24 ^{bcd}	2,44 ^c	8,82 ^{bcd}	5,51 ^a	1,18 ^{bc}	2,35 ^{bc}
11	3	10,17 ^{ab}	5,17 ^a	1,44 ^{bc}	3,54 ^b	9,67 ^{bc}	5,02 ^a	1,41 ^b	3,23 ^b
12	3	9,96 ^{ab}	5,22 ^a	1,96 ^b	2,75 ^{bc}	10,27 ^b	5,64 ^a	1,80 ^b	2,82 ^{bc}

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não se diferem estatisticamente ($p=0,05$) pelo teste SNK.

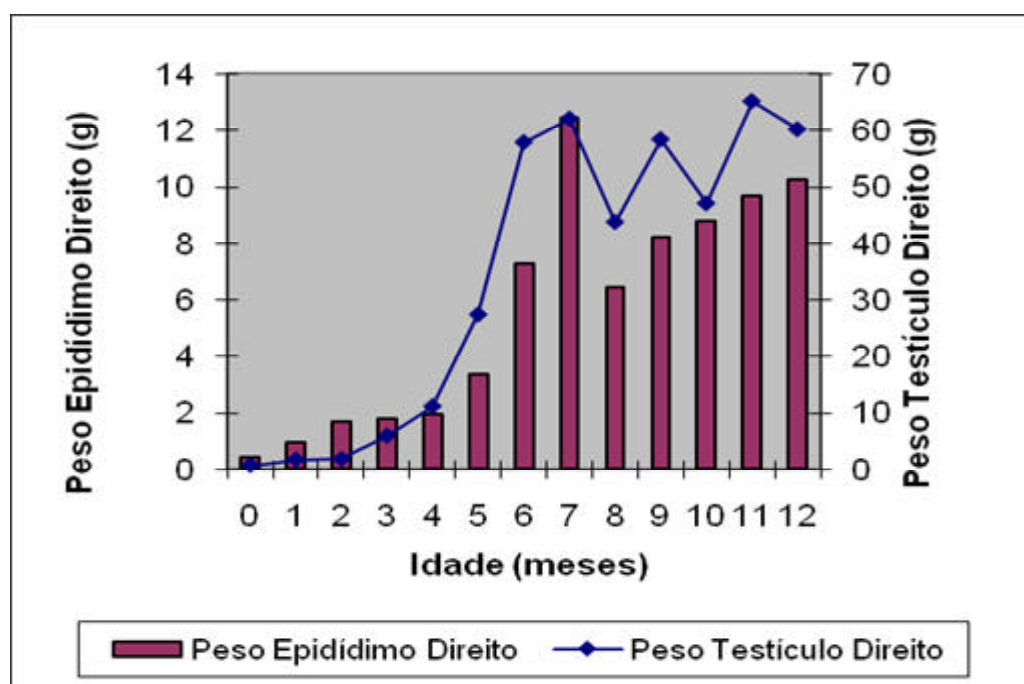


Figura 8 - Pesos do testículo direito e do epidídimo direito de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Foi observada correlação mais alta do peso da cauda do epidídimo com o perímetro escrotal ($r = 0,8861$) do que com o volume escrotal ($r = 0,7931$). Silva (2000), estudando o peso da cauda do epidídimo de caprinos da raça Saanen, relatou que este refletiu de perto o crescimento do testículo. Foram encontradas altas correlações entre peso da cauda do epidídimo, o peso testicular.

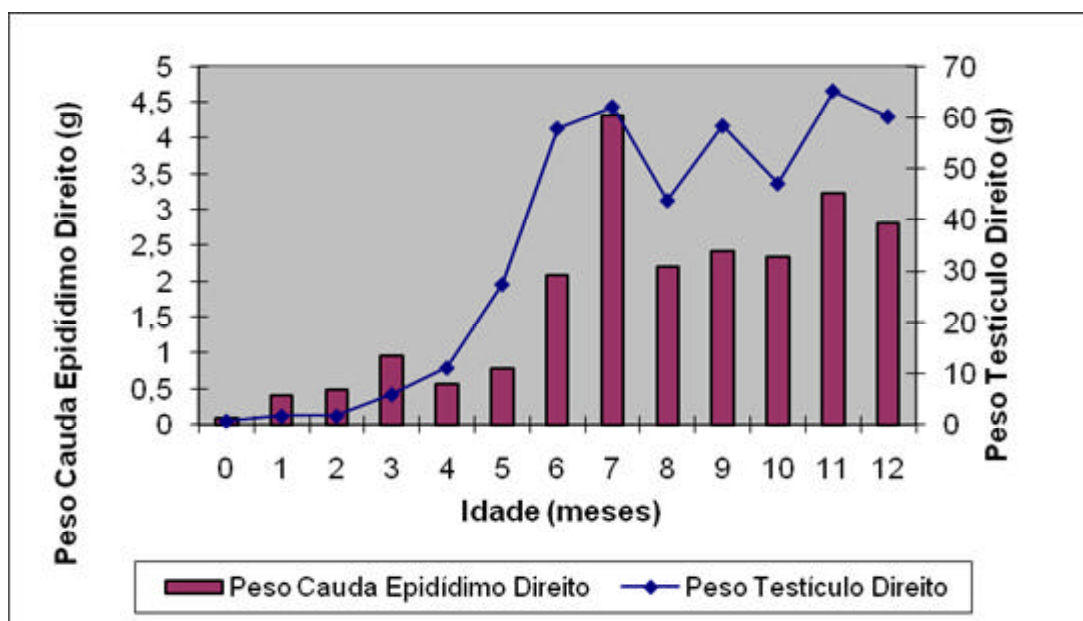


Figura 9 - Pesos da cauda do epidídimo direito e do testículo direito de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

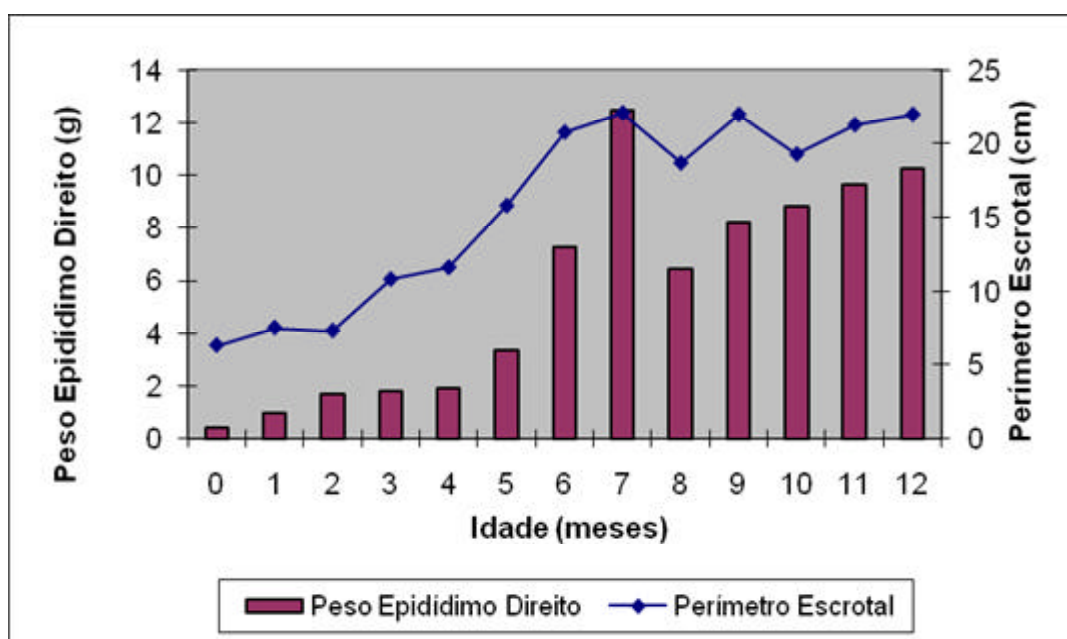


Figura 10 - Pesos do epidídimo direito e perímetro escrotal de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Na Figura 10, observa-se que a curva que representa o peso do epidídimo exibiu comportamento semelhante ao da curva do perímetro escrotal

4.4. Diâmetro, altura, comprimento e volume dos túbulos seminíferos

Na Tabela 6, estão apresentados os valores, dos animais desta pesquisa, referentes ao desenvolvimento do diâmetro tubular (cordões testiculares ou túbulos seminíferos), da altura do epitélio seminífero, do comprimento tubular por testículo e por grama de testículo, do volume tubular. Para fins de cálculo, considerou-se como sendo de 5% o fator de retração linear dos túbulos seminíferos devido ao processamento histológico (AMANN, 1981).

Tabela 6 - Diâmetro, altura, comprimento tubular por testículo, comprimento tubular por grama de testículo e volume tubular de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

<i>Idade (meses)</i>	<i>n</i>	<i>Diâmetro tubular (μm)*</i>	<i>Altura do epitélio seminífero (μm)</i>	<i>Comprimento tubular/testículo (m)*</i>	<i>Comprimento tubular/grama de testículo (m)*</i>	<i>Volume tubular (ml)*</i>
0	15	45,9 ⁱ		69,7 ^d	98,1 ^a	0,7 ^d
1	15	55,8 ^f		287,1 ^a	170,8 ^b	1,7 ^d
2	15	56,3 ^f		196,0 ^a	120,4 ^c	1,7 ^d
3	15	83,7 ^e		335,6 ^b	57,7 ^d	5,9 ^{cd}
4	15	118,7 ^d		446,8 ^b	39,3 ^e	11,1 ^c
5	15	126,8 ^d	46,1 ^c	1.669,8 ^c	55,4 ^e	27,4 ^b
6	15	189,6 ^c	44,3 ^c	1.399,9 ^c	24,1 ^e	57,9 ^a
7	15	208,6 ^b	56,7 ^b	1.111,5 ^c	18,2 ^e	62,1 ^a
8	13	210,2 ^b	58,8 ^b	668,2 ^c	16,5 ^e	43,8 ^{ab}
9	15	229,7 ^a	65,3 ^a	1.120,5 ^c	19,5 ^e	58,4 ^a
10	15	226,7 ^a	66,6 ^a	829,7 ^c	17,6 ^e	47,1 ^{ab}
11	14	225,6 ^a	67,7 ^a	1.079,5 ^c	17,1 ^e	65,2 ^a
12	14	228,9 ^a	69,2 ^a	1.199,7 ^c	20,4 ^e	60,2 ^a

*Valores corrigidos, considerando-se um índice de retração linear de 5% (AMANN, 1981)
Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não se diferem estatisticamente ($p=0,05$) pelo teste SNK.

Conforme exposto na Tabela 6 e na Figura 11, o diâmetro médio dos túbulos seminíferos apresentou desenvolvimento constante do nascimento aos 2 meses de idade. Entre os 2 e 4 meses, observou-se aumento expressivo, representando, aos 4 meses, mais do dobro daquele observado na idade de 2

meses. Aos 5 meses, o desenvolvimento do diâmetro dos túbulos seminíferos apresentou-se constante. Após os 5 meses, o diâmetro tubular dos animais continuou a crescer, até os 7 meses. Aos 8 meses, os animais experimentaram desenvolvimento constante no diâmetro tubular. A partir dos 9 meses, o diâmetro tubular voltou a crescer, porém com tendência a estabilizar-se até os 12 meses de idade.

A curva de crescimento da altura do epitélio seminífero está ilustrada na Figura 11. A altura do epitélio seminífero passou a ser mensurada nos túbulos a partir dos 5 meses de idade. O padrão da curva de crescimento da altura do epitélio seminífero foi constante entre os 5 e 6 meses, porém, apresentando aceleração do crescimento entre os 6 e 7 meses e entre os 8 e 9 meses de idade. Após os 9 meses, a altura do epitélio seminífero seguiu o mesmo padrão da curva de crescimento do diâmetro tubular. O diâmetro tubular correlacionou-se significativamente com o peso corporal ($r = 0,8480$), com o peso testicular ($r = 0,8961$), com o índice gonadossomático ($r = 0,8769$) e com o índice tubulossomático ($r = 0,7769$).

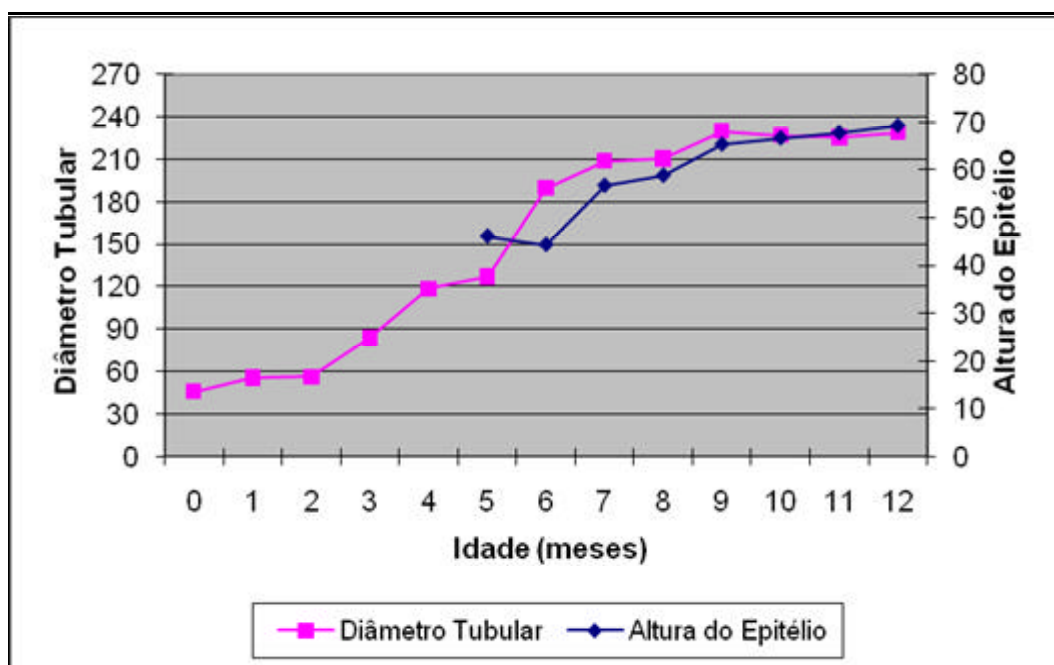


Figura 11 - Diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

O comprimento tubular por testículo desenvolveu-se de maneira constante, do nascimento aos 2 meses de idade. Entre os 2 e 3 meses, revelou um crescimento expressivo, seguido de desenvolvimento constante aos 4 meses.

Entre os 4 e 5 meses, observou-se novamente aumento acentuado, seguido de crescimento constante com tendência à estabilidade até os 12 meses (Figura 12). Os valores médios do comprimento de túbulo seminífero por testículo apresentaram correlações significativas com o peso corporal ($r = 0,4805$), com o peso testicular ($r = 0,4926$), com o índice gonadossomático ($r = 0,4982$), com o índice tubulossomático ($r = 0,6224$) e com volume tubular ($r = 0,6171$).

O comprimento tubular por grama de testículo demonstrou elevação do crescimento do nascimento ao 1º mês de vida. A partir deste ponto, observou-se redução do comprimento tubular por grama de testículo. Este decréscimo foi mais intenso a partir do 1º mês até os 4 meses de idade, com tendência para estabilizar o crescimento até os 12 meses.

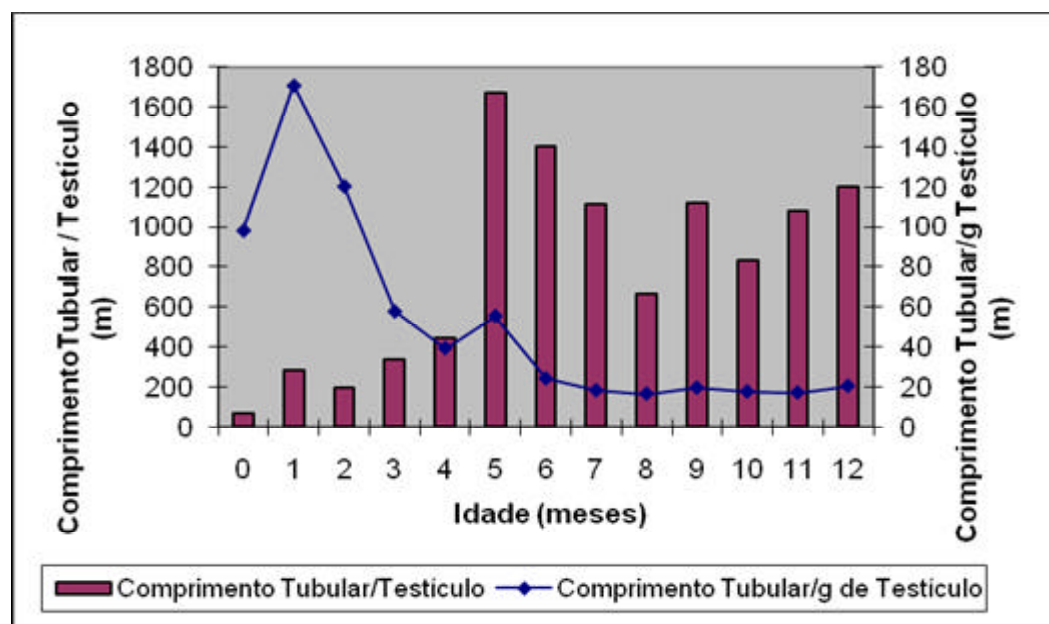


Figura 12 - Comprimento tubular (m) por testículo e por grama de testículo em caprinos da raça Alpina, o nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

O desenvolvimento do volume tubular mostrou-se constante do nascimento aos 2 meses de idade. Entre os 3 e 6 meses, evidenciou-se crescimento mais acentuado. A partir daí, o ritmo de crescimento tornou-se mais moderado, embora constante, até os 7 meses. Aos 8 meses, os animais experimentaram redução no desenvolvimento, seguida de uma elevação aos 9 meses. Aos 10 meses, observou-se novamente uma redução do crescimento e, a partir deste ponto, evidenciou-se crescimento em ritmo gradual, com tendência a estabilizar-se até os 12 meses de idade.

Nos estudos da função testicular, o valor médio do diâmetro tubular pode ser empregado como indicador da atividade espermatogênica e auxílio na determinação do período de puberdade e maturidade sexual (FRANÇA e RUSSEL, 1998; FRANÇA et al., 2000).

Na puberdade, os valores médios dos diâmetros dos cordões testiculares e dos túbulos seminíferos apresentam crescimento mais acelerado devido à evolução do processo espermatogênico. Nesta fase, evidencia-se o aumento do peso testicular, resultado da formação do lume tubular, do aumento da população do epitélio seminífero, principalmente relacionado ao aumento do número de espermatócitos primários e espermátides arredondadas (EVANS et al., 1996; FRANÇA et al., 2000; ASSIS NETO et al., 2003). Tal característica foi identificada em caprinos da raça Alpina, nos quais se pôde verificar, após uma evolução gradual, nos primeiros 2 meses de vida, uma curva com aspecto mais acelerado entre os 3 e 7 meses, coincidindo com o observado no peso testicular, na pré-puberdade, na puberdade e no período pós-puberdade. Após os 7 meses, o crescimento torna-se gradual, apresentando tendência a estabilizar-se a partir dos 9 meses até os 12 meses.

Ao nascimento, o diâmetro cordonal de caprinos da raça Alpina, do presente estudo, apresentou valor médio (45,9 μm), ligeiramente inferior ao observado em caprinos da raça Saanen (53,40 μm). Normalmente, o diâmetro dos túbulos seminíferos é constante em animais sexualmente maduros, embora possa ocorrer diferenças entre as espécies e entre os animais de diferentes linhagens ou raças de uma mesma espécie. No entanto, geralmente, varia entre os mamíferos eutérios adultos de 180 μm a 300 μm (FRANÇA e RUSSEL, 1998), conforme descrito em caprinos (NISHIMURA et al., 2000; SILVA, 2000). Nos caprinos do presente estudo, o diâmetro tubular médio encontrado aos 6 meses (189,6 μm) e 12 meses (228,9 μm) apresentou-se dentro da amplitude citada anteriormente. Entretanto, esses valores encontrados foram ligeiramente inferiores aos valores observados por Silva (2000), na mesma faixa etária.

A altura do epitélio revela o grau de funcionalidade do túbulo seminífero (COUROT et al., 1970). O crescimento a partir dos 5 meses, verificado neste estudo, foi semelhante ao descrito em caprinos da raça Saanen após a puberdade (SILVA, 2000). O valor médio da altura do epitélio seminífero, em caprinos do presente estudo, apresentou-se inserido no intervalo de 60 a 100 μm ,

relatado para a maioria dos animais domésticos (FRANÇA e RUSSEL, 1998). A altura do epitélio seminífero passou a ser mensurada em túbulos, após os 5 meses de idade, e seguiu o mesmo padrão da curva de crescimento do diâmetro tubular.

O comprimento total dos túbulos seminíferos por testículo é influenciado principalmente pelo peso do testículo e, conseqüentemente, dependente do volume tubular, do diâmetro tubular e da proporção volumétrica dos túbulos seminíferos (AMANN, 1970). Portanto, é mais difícil comparar espécies devido às variações de peso testicular e dos parâmetros citados, sendo necessário que indivíduos de uma mesma espécie apresentem valores próximos, para possíveis comparações. Neste caso, a conversão do comprimento tubular total, por testículo, em comprimento tubular por grama de testículo, permite comparações entre as diferentes espécies, independentemente do tamanho do testículo e do animal (SILVA, 2000; COSTA et al., 2006; COSTA e SILVA, 2006; COSTA et al., 2007). A utilização de uma unidade de peso, como valor de grama por testículo, pode variar entre os mamíferos domésticos de 10 a 15 m de túbulos seminíferos por grama de testículo (FRANÇA e RUSSEL, 1998).

Os valores do comprimento tubular por grama de testículo reduziram do nascimento até os 12 meses, apresentando um momento de elevação, do nascimento ao 1º mês. Estes resultados foram encontrados, provavelmente, devido ao maior desenvolvimento proporcional dos testículos em relação aos componentes do epitélio seminífero. É esperado que, em uma determinada espécie, um maior diâmetro tubular implique um menor comprimento tubular por grama de testículo (ALMEIDA et al., 2006). Portanto, a redução do comprimento tubular por grama de testículo foi mais intensa do final da fase pré-púbere até o início da puberdade, paralelamente ao aumento das dimensões do diâmetro tubular. Em caprinos, aos 12 meses, os valores deste parâmetro foram de 20,4 m de túbulos seminíferos por grama de testículo, enquadrando-se entre as espécies com os maiores valores e aproximando-se ao observado em animais sexualmente adultos (ALMEIDA et al., 2006; COSTA e SILVA 2006).

O volume tubular está diretamente relacionado com o volume testicular e, conseqüentemente, com peso testicular (COSTA et al., 2007). Desta forma, o crescimento do volume tubular mais intenso, entre os 4 e 6 meses, pode estar

relacionado ao maior ganho de peso corporal, à evolução do peso testicular na puberdade e à elevação do diâmetro tubular.

4.5. Proporção volumétrica dos componentes testiculares

A proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular varia consideravelmente entre as diferentes espécies, o que reflete diretamente sobre a eficiência da produção espermática de cada uma (FRANÇA e RUSSELL, 1998). Em relação à proporção volumétrica ocupada pelos túbulos seminíferos, normalmente, os valores estão compreendidos entre 60% e 90% na maioria das espécies (SETCHELL, 1982).

Na Tabela 7, estão discriminadas as proporções volumétricas encontradas para os componentes do parênquima testicular dos caprinos desta pesquisa, nas diferentes idades.

Tabela 7 - Proporção volumétrica entre os componentes do parênquima testicular de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

<i>Idade (meses)</i>	<i>n</i>	<i>Tecido tubular (%)</i>	<i>Tecido Intertubular (%)*</i>	<i>Células de Leydig (%)</i>	<i>Estroma ** (%)</i>
0	15	38,21 ^c	61,79 ^a	12,94 ^a	48,85 ^{ab}
1	15	42,15 ^c	57,85 ^a	6,63 ^b	51,23 ^{ab}
2	15	40,32 ^c	59,68 ^a	5,29 ^c	54,38 ^{ab}
3	15	41,52 ^c	58,48 ^a	1,51 ^d	52,27 ^{ab}
4	15	46,49 ^c	53,50 ^a	1,23 ^d	56,97 ^a
5	15	62,83 ^b	37,18 ^b	1,09 ^d	36,08 ^c
6	15	56,01 ^b	43,99 ^b	1,25 ^d	42,74 ^{bc}
7	15	60,23 ^b	39,77 ^b	1,31 ^d	38,46 ^c
8	15	64,07 ^b	35,94 ^b	1,42 ^d	19,87 ^c
9	15	79,07 ^a	20,93 ^c	1,06 ^d	34,51 ^d
10	15	80,89 ^a	19,11 ^c	1,39 ^d	17,71 ^d
11	15	82,36 ^a	17,64 ^c	0,99 ^d	16,65 ^d
12	15	79,81 ^a	20,19 ^c	1,22 ^d	18,96 ^d

*Tecido intertubular = Células de Leydig + Estroma.

**Estroma = células e fibras de tecido conjuntivo, nervos, vasos sanguíneos e linfáticos.

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não se diferem estatisticamente ($p=0,05$) pelo teste SNK.

Ao nascimento, os animais apresentaram 38,21% de cordões testiculares e 61,79% de tecido intercordonal. Entre o nascimento e os 4 meses de vida, notou-

se o desenvolvimento do tecido tubular em ritmo constante. A partir dos 4 aos 5 meses, observou-se aumento da proporção de túbulos seminíferos no parênquima testicular. Mantendo o desenvolvimento constante entre os 5 e os 8 meses de idade. Aos 9 meses, o valor voltou a crescer, porém, até os 12 meses, verificou-se tendência à estabilidade, quando os seus valores aproximaram-se do relatado para caprinos adultos. O percentual ocupado pelos túbulos seminíferos, aos 12 meses, aproximou-se ao descrito para caprinos Saanen adultos (SILVA, 2000), enquadrando-se ao percentual ocupado na maioria dos mamíferos sexualmente maduros, que varia de 60% a 90% (SETCHELL, 1982).

Os valores referentes à proporção volumétrica dos túbulos seminíferos apresentaram coeficiente de correlação altamente significativa, com a idade ($r = 0,3910$), com o peso corporal ($r = 0,8898$), com o peso testicular ($r = 0,8061$), com o índice gonadossomático ($r = 0,7343$), com o índice tubulossomático ($r = 0,8677$), com diâmetro tubular ($r = 0,4424$) e com volume tubular ($r = 0,7157$).

Os valores da proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular de caprinos da raça Alpina encontram-se apresentados na Figura 13. A proporção volumétrica do tecido intertubular apresentou valor máximo de 61,79%, ao nascimento.

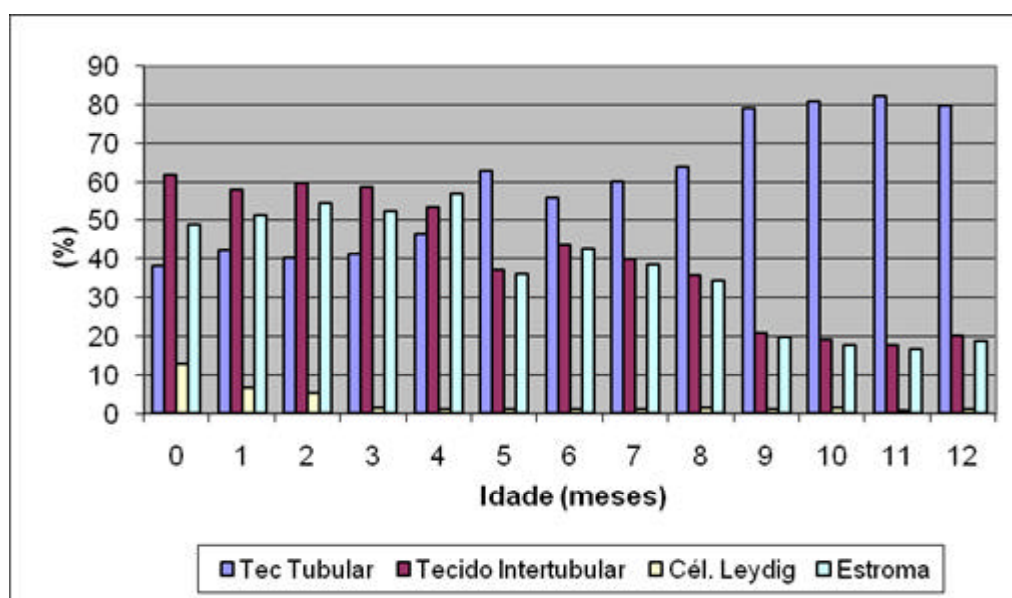


Figura 13 - Proporções volumétricas dos componentes do parênquima testicular (%) de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Observou-se que ocorreu desenvolvimento constante da proporção de tecido intertubular do nascimento aos 4 meses. Entre os 4 e 5 meses, evidenciou-

se decréscimo na proporção de tecido intertubular, que manteve seu desenvolvimento constante dos 5 aos 8 meses. A partir dos 9 meses, verificou-se novamente redução da proporção de tecido intertubular, que continuou em desenvolvimento constante até os 12 meses, quando atingiu o valor de 20,19%.

A evolução da proporção volumétrica das células intersticiais de Leydig apresentou-se de maneira inversa à encontrada para o tecido tubular. Assim, o percentual de células de Leydig no parênquima testicular apresentou-se mais elevado ao nascimento (12,94%), decrescendo com o avançar da idade em ritmo mais acentuado, do nascimento ao 1º mês de vida. Entre o 1º e os 2 meses, o percentual de células de Leydig continuou a decrescer porém em ritmo gradual. Entre os 2 e 3 meses, observou-se decréscimo na proporção volumétrica das células de Leydig. A partir dos 3 meses, o percentual de células de Leydig demonstrou desenvolvimento constante até os 12 meses, quando um dos valores mínimos foi atingido (1,22%).

A proporção volumétrica dos compartimentos tubulares e intertubulares variam entre as espécies e é considerada um dos principais fatores responsáveis pelas diferenças da eficiência da espermatogênese nos mamíferos (RUSSELL et al., 1990; FRANÇA e RUSSELL, 1998; JOHNSON et al., 2000; FRANÇA, 2005). O compartimento tubular é o principal componente do testículo, na maioria dos mamíferos sexualmente maduros, e sua proporção reflete sobre a produção espermática e o peso testicular (AMANN, 1970).

Os cordões testiculares, em caprinos Alpinos ao nascimento, ocuparam volume semelhante quando comparados com os dos caprinos Saanen (SILVA, 2000). O aumento da proporção ocupada pelo tecido tubular no parênquima testicular, após o início da fase pré-púbere, pode estar relacionado principalmente com o aumento do peso testicular, evolução populacional dos tipos celulares presentes no epitélio seminífero, formação do lume e expansão do diâmetro tubular e do volume tubular (FRANÇA et al., 2000).

Observou-se que a proporção volumétrica do tecido intertubular manteve-se praticamente constante do nascimento aos 4 meses, seguida de decréscimo entre os 5 e 8 meses. A partir dos 8 meses até os 9 meses, o volume ocupado pelo tecido intertubular apresentou-se reduzido; continuando em desenvolvimento constante até os 12 meses, devido à diminuição da proporção das células de Leydig e do estroma.

No presente estudo, o percentual de células de Leydig no parênquima testicular apresentou-se elevado ao nascimento, decrescendo com o avançar da idade. Provavelmente, o principal fator responsável pelo aumento percentual do componente intertubular foi a elevação dos níveis séricos de hormônio luteinizante (LH) que ocorre imediatamente antes do crescimento substancial das células de Leydig.

Segundo Setchell (1978), em geral, nos mamíferos durante a fase impúbere, verificam-se os valores mais elevados das proporções das células de Leydig no parênquima testicular, seguido de uma regressão até a puberdade, estabilizando-se em seguida (FRANÇA 2000). Aos 12 meses, a proporção volumétrica das células de Leydig assemelhou-se ao descrito em caprinos sexualmente maduros (SILVA, 2000).

As células de Leydig secretam esteroides e feromônios, importantes para as funções reprodutivas dos machos, tais como, comportamento sexual, manutenção funcional das glândulas acessórias e evolução da espermatogênese, favorecendo o crescimento do diâmetro dos túbulos seminíferos, já que este estimula a multiplicação das células germinativas, diferenciação das células de Sertoli e formação do lume dos túbulos seminíferos (BRESSLER, 1978; SHARPE, 1994; EVANS et al., 1996).

Em caprinos da raça Alpina, a proporção volumétrica do tecido intertubular reduziu-se após o nascimento, estabilizando ao final da fase pós-púbere, quando os animais atingiram a maturidade sexual. Nesta idade, o volume ocupado pelo tecido intertubular foi próximo ao descrito em caprinos Saanen, sexualmente maduros (SILVA, 2000), e ao relatado para outros mamíferos (GODINHO e CARDOSO, 1979).

4.6. Processo de luminação e cronologia da espermatogênese

O processo de espermatogênese compreende um conjunto de eventos progressivos que permitem classificar os mamíferos quanto à fase de desenvolvimento testicular nos seguintes períodos pós-natal: impúbere, pré-púbere, púbere, pós-púbere e maduro sexualmente (COURROT et al., 1970; APONTE et al., 2005).

Em caprinos, as características do parênquima testicular ao nascimento foram semelhantes ao descrito em outras espécies, sendo este formado por cordões testiculares e tecido intercordonal. Os tipos celulares presentes nos cordões testiculares, neste momento, foram as células indiferenciadas de suporte e os gonócitos (COUROT et al., 1970; FRANÇA e CARDOSO, 1998; ASSIS NETO et al., 2003; APONTE et al., 2005).

Ao nascerem, os caprinos estudados apresentaram o parênquima testicular composto basicamente de cordões testiculares sólidos e tecido intercordonal. A porção central dos cordões testiculares era preenchida pelo citoplasma das células indiferenciadas de suporte e dos gonócitos primordiais. Os gonócitos, nesta idade, localizavam-se próximo à membrana basal ou, às vezes, mais ao centro dos cordões, com núcleos grandes arredondados a ovoides, com cromatina frouxa, nucléolo destacado, citoplasma claro e pouco volumoso (Figuras 14).

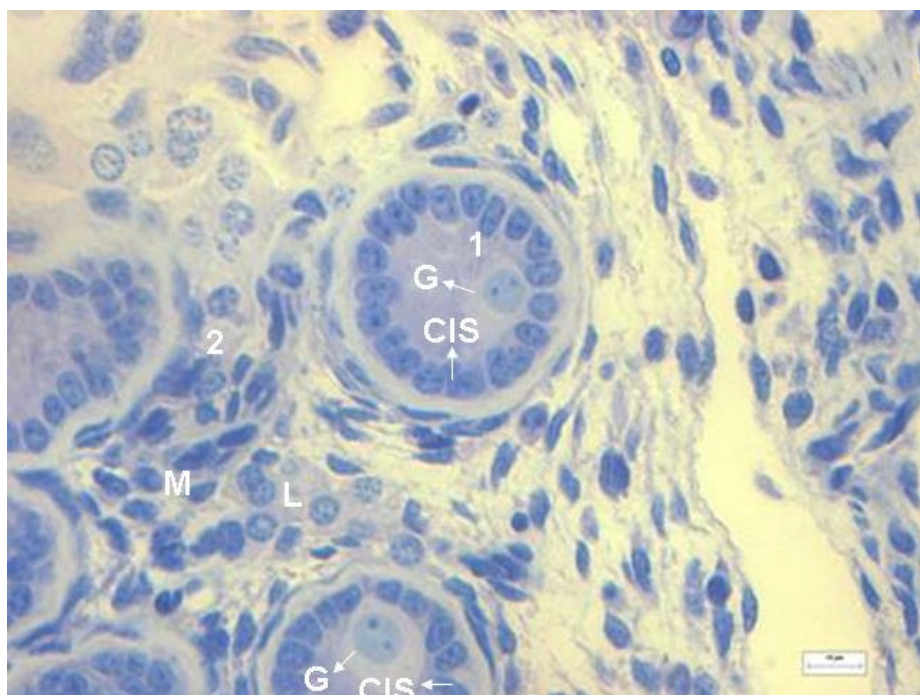


Figura 14. Parênquima testicular de caprinos ao nascimento (fase impúbere). (1) Cordões testiculares sólidos compostos por gonócitos (G) e células indiferenciadas de suporte (CIS); (2) No compartimento intercordonal, observam-se as células intersticiais de Leydig (L) e as células mesenquimais (M) (Azul de toluidina - Borato de sódio).

As células indiferenciadas de suporte apresentavam núcleo menor, mais corado, de formato irregular, ovoide ou alongado, dispondo-se em fileiras laterais, formando uma monocamada próximo à membrana basal. O citoplasma das

células indiferenciadas de suporte apresentava-se pouco corado e com limites pouco evidentes. No tecido intercordonal, foram identificadas células de Leydig e células mesenquimais indiferenciadas. As células de Leydig se mostravam com citoplasma poliédrico e núcleo arredondado com nucléolo bem destacado. O limite do citoplasma destas células não era bem definido. As células mesenquimais apresentavam núcleo alongado e citoplasma escasso, semelhantes aos fibroblastos (Figura 14).

A fase impúbere do desenvolvimento caracteriza-se, em geral, do nascimento ao início da espermatogênese, e o período necessário para o fim desta fase é variável entre as espécies (COUROT et al., 1970). Desta forma, os caprinos da raça Alpina, criados em condições semi-intensivas, praticadas neste estudo, podem ser classificados como impúberes do nascimento aos 2 meses de idade. O parênquima testicular dos caprinos com 1 mês de idade era composto de cordões testiculares, em que se observa a presença de gonócitos e células indiferenciadas de suporte (Figura 15).

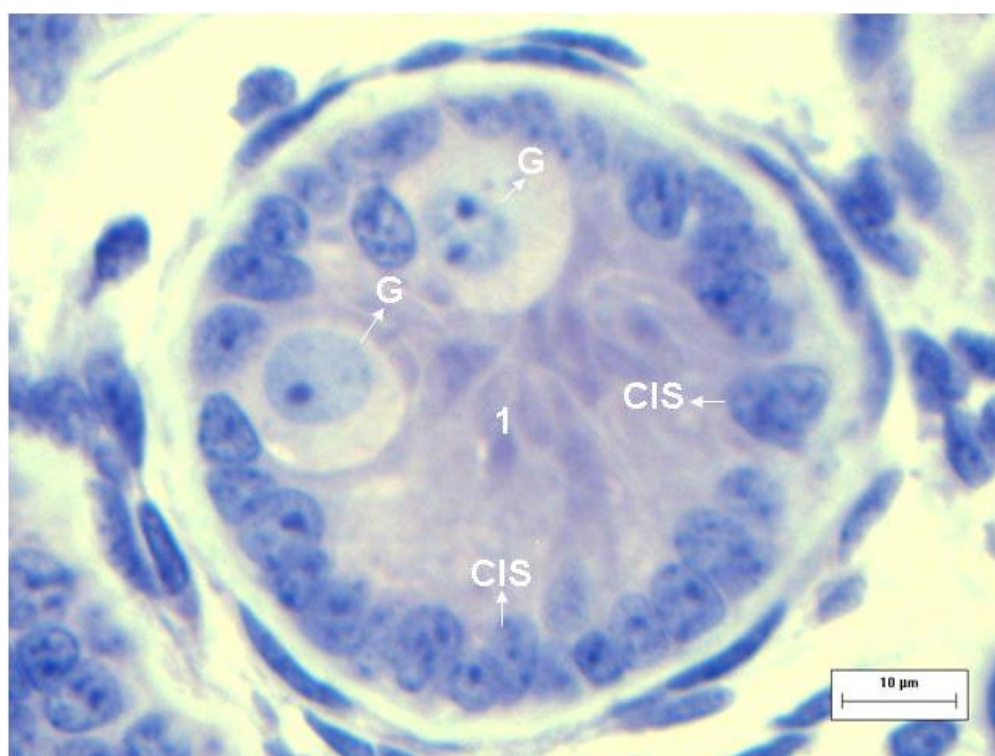


Figura 15. Parênquima testicular de caprinos com 1 mês de idade (fase impúbere). (1) No cordão testicular, a presença de gonócitos (G) e células indiferenciadas de suporte (CIS) (Azul de toluidina - Borato de sódio).

Aos 2 meses de idade, observou-se que o parênquima testicular dos caprinos, deste estudo, apresentava cordões testiculares com a presença de gonócitos e células indiferenciadas de suporte, caracterizando a fase impúbere. No compartimento intercordonal, verificou-se a presença de células intersticiais de Leydig e células mesenquimais (Figura 16).

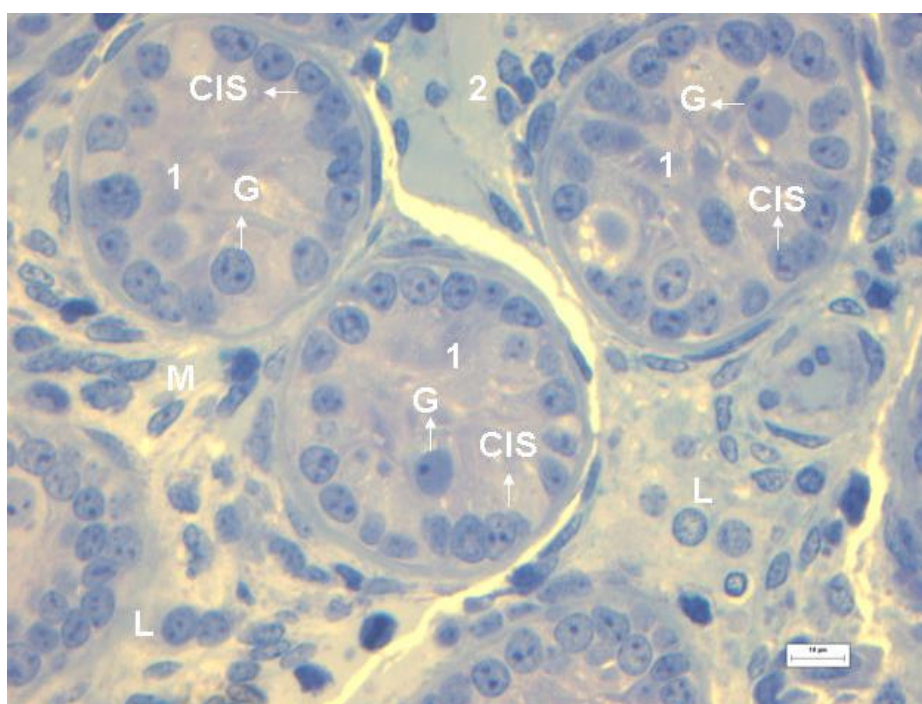


Figura 16. Parênquima testicular de caprinos aos 2 meses de idade (fase impúbere). (1) Nos cordões testiculares, a presença de gonócitos (G) e células indiferenciadas de suporte (CIS); (2) No compartimento intercordonal, observam-se células intersticiais de Leydig (L) e células mesenquimais (M) (Azul de toluidina - Borato de sódio).

O processo de luminação dos cordões testiculares passou a ser observado quando os animais atingiram os 3 meses de idade. No desenvolvimento da luminação, observou-se inicialmente uma vacuolização na massa citoplasmática central, de aspecto filamentoso, dos cordões testiculares (Figura 17). Os vacúolos tornavam-se cada vez maiores, confluíam e acabavam formando lacunas de tamanho e forma bastante variáveis. A luminação dos cordões testiculares não ocorreu de maneira homogênea e sincrônica em todo o testículo, observando-se conjuntos de cordões em diferentes estádios de luminação, entremeados a outros ainda inteiramente sólidos. Por meio da microscopia óptica, observa-se que o aspecto morfológico do processo de luminação é caracterizado por vacuolização e formação de fendas do material citoplasmático filamentoso, situado na porção central dos cordões testiculares (Figura 17). Nos caprinos, o processo de luminação coincide com a proliferação dos primeiros espermátocitos primários e o

aparecimento das primeiras espermátides arredondadas. Coincidindo também com importantes eventos morfofisiológicos que ocorrem no testículo, tais como, a formação da barreira hematotesticular, o início da secreção de fluidos pelo epitélio seminífero e o início de maturação das células de Sertoli (APONTE et al., 2005).

Conforme a análise cronológica da evolução celular do epitélio seminífero, em caprinos, verificou-se que a localização dos tipos celulares, as características citoplasmáticas e nucleares, observadas do nascimento aos 12 meses, foram semelhantes ao descrito em outros mamíferos, em fases correspondentes do desenvolvimento do parênquima testicular (ASSIS NETO et al., 2003; APONTE et al., 2005).

A fase pré-púbere caracteriza-se por diversas alterações populacionais no epitélio seminífero e pela formação do lume tubular (ASSIS NETO et al., 2003; APONTE et al., 2005). Em caprinos da raça Alpina, nas condições do presente estudo, aos 3 meses de idade, observaram-se a formação de vacúolos e o início da atividade mitótica (Figura 17). A identificação das primeiras espermátogônias no epitélio seminífero ocorreu em fase mais tardia que o descrito em caprinos Saanen (SILVA, 2000).

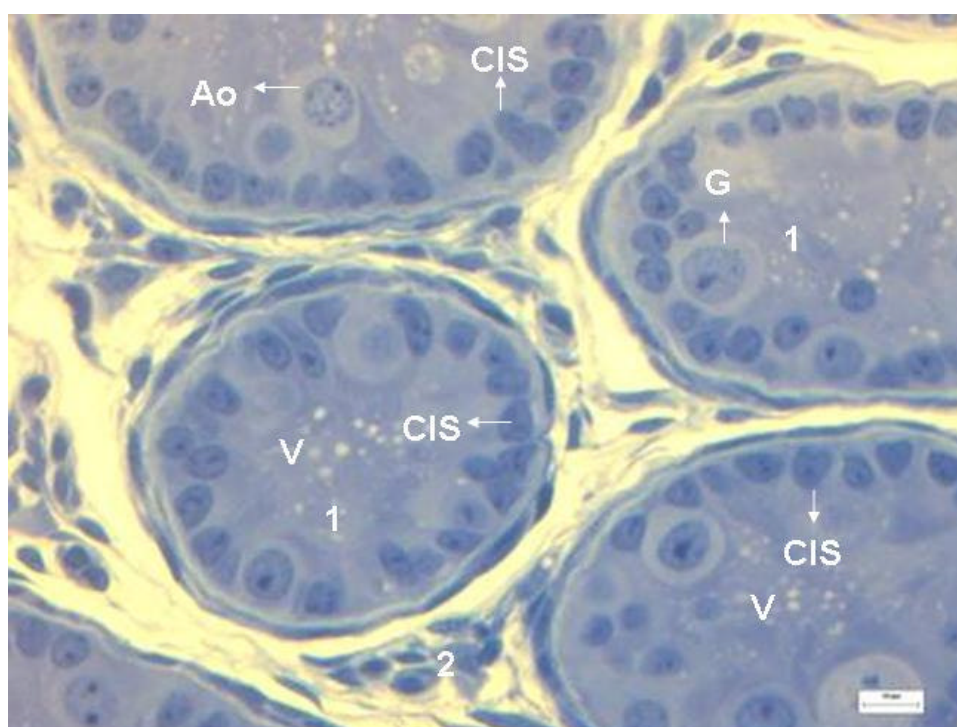


Figura 17. Parênquima testicular de caprinos aos 3 meses de idade (fase pré-púbere). (1) Cordões testiculares com presença de vacúolos (V), células indiferenciadas de suporte (CIS), gonócitos (G) e pré-espermátogônias ou espermátogônias Ao (Ao), indicando início da atividade espermagênica, (2) compartimento intercordonal (Azul de toluidina - Borato de sódio)

Em mamíferos, o processo de luminação inicia-se na fase pré-púbere e caracteriza-se pela crescente vacuolização da massa citoplasmática central dos cordões testiculares (Figura 18). Porém estes eventos não ocorrem de forma sincrônica no parênquima testicular (ASSIS NETO et al., 2003; APONTE et al., 2005).

No parênquima testicular de caprinos da raça Alpina aos 4 meses de idade (fase pré-púbere), observou-se os cordões testiculares com presença de vacúolos, células indiferenciadas de suporte, e pré-espermatogônias ou espermatogônias A_o (A_o), indicando o início da atividade espermagênica. No compartimento intercordonal, verificou-se a presença de células de Leydig e células mesenquimais.

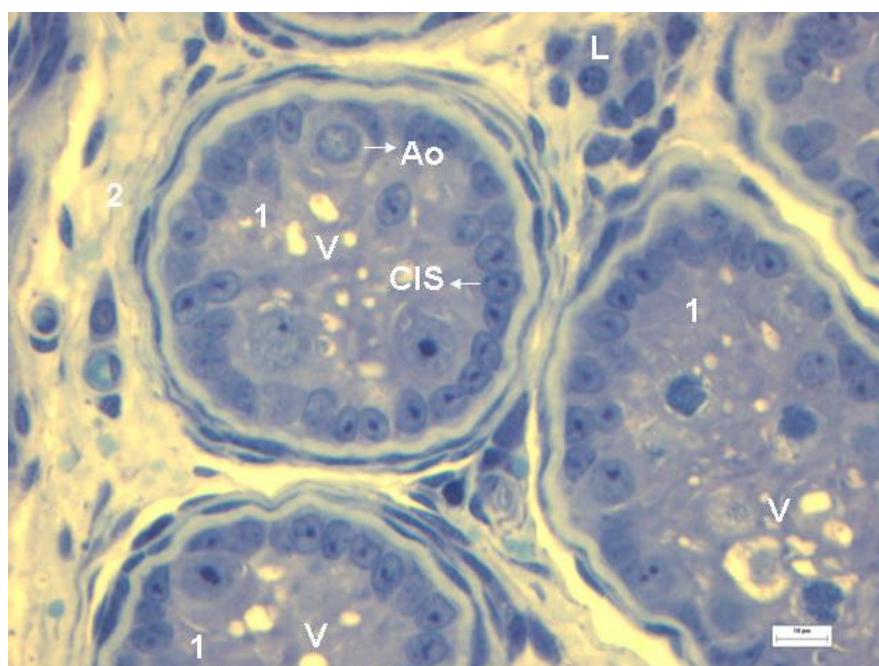


Figura 18. Parênquima testicular de caprinos aos 4 meses de idade (fase pré-púbere). (1) Cordões testiculares com presença de vacúolos (V), células indiferenciadas de suporte (CIS), e pré-espermatogônias ou espermatogônias A_o (A_o), indicando início da atividade espermagênica, (2) compartimento intercordonal (Azul de toluidina - Borato de sódio).

Aos 5 meses de idade e daí em diante, em todos os animais do presente estudo, os túbulos seminíferos apresentavam-se com lumes amplos, característicos da fase adulta (Figura 19). O desaparecimento dos gonócitos nos cordões testiculares aos 5 meses, observado neste experimento, foi mais tardio em relação ao verificado em bodes Saanen (SILVA, 2000).

A identificação de túbulos seminíferos com lumes amplos e espermatócitos primários ocorreu aos 5 meses nos caprinos da raça Alpina, deste estudo, (Figura

20) sendo um pouco mais tardio que em caprinos da raça Saanen, nos quais estes eventos foram verificados a partir dos 4 meses (SILVA, 2000).

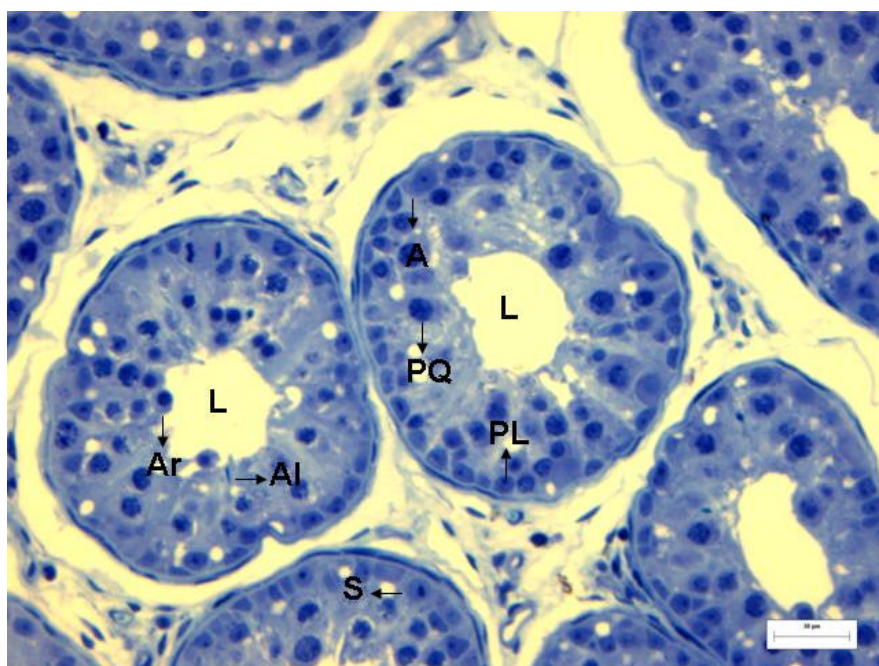


Figura 19. Túbulos seminíferos de caprinos aos 5 meses (puberdade), apresentando lume formado (L) e epitélio seminífero com diversos tipos celulares. Próximo à membrana, encontra-se os espermatócitos em pré-leptoteno (PL) e os núcleos das células de Sertoli (S); mais ao centro, observam-se os espermatócitos primários em paquíteno (PQ) e as espermatídes arredondadas (Ar); próximo à borda luminal estão dispostas as espermatídes alongadas (AI) (Azul de toluidina - Borato de sódio).

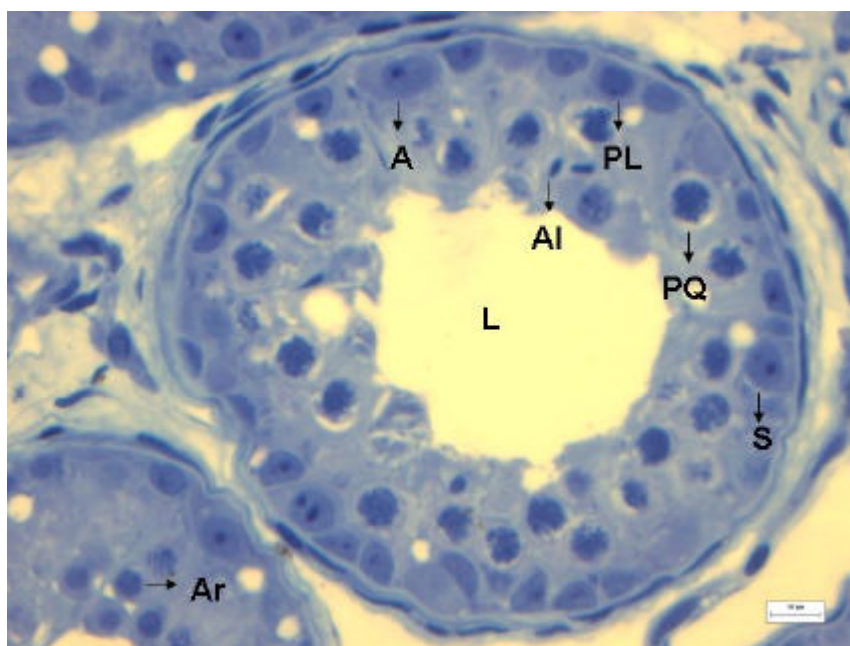


Figura 20. Túbulos seminíferos de caprinos aos 5 meses (puberdade), apresentando lume formado (L) e epitélio seminífero com diversos tipos celulares. Próximo à membrana, encontram-se os espermatócitos em pré-leptoteno (PL) e os núcleos das células de Sertoli (S); mais ao centro, observam-se os espermatócitos primários em paquíteno (PQ) e as espermatídes arredondadas (Ar); próximo à borda luminal, estão dispostas as espermatídes alongadas (AI) (Azul de toluidina - Borato de sódio).

A completa luminação dos túbulos seminíferos é descrita como fenômeno paralelo à maturação das células de Sertoli, à secreção de fluido do epitélio seminífero, à formação da barreira hematotesticular e à proliferação dos espermatócitos primários (CURTIS e AMANN, 1981; OKWUN et al., 1996).

A puberdade pode ser determinada, em uma espécie, com a identificação dos primeiros espermatozoides no lume tubular, caracterizando o processo espermatogênico completo (COUROT et al., 1970). No presente estudo, foi identificado, aos 5 meses, túbulos seminíferos, tanto em secções transversais como longitudinais, contendo associações celulares características dos oito diferentes estádios do ciclo do epitélio seminífero. Também pode ser verificada a presença de lume amplo de células de suporte diferenciadas em células de Sertoli, de espermatócitos primários em diferentes fases de divisão meiótica e de espermátides arredondadas e alongadas, conforme descrito em caprinos Saanen, de 3 para 4 meses (SILVA, 2000). Estas características morfológicas assemelham-se às descritas em outras espécies (COUROT et al., 1970; ASSIS NETO et al., 2003; FERREIRA et al., 2004; APONTE et al., 2005).

As causas apontadas como responsáveis pela variação do período púbere, entre as raças de caprinos domésticos, podem ser atribuídas, principalmente, às diferenças de programas de seleção e melhoramento genético, aos diferentes planos nutricionais e de manejo, aos efeitos ambientais, às ações hormonais, às diferenças de peso corporal e testicular (SCHINCKEL et al., 1983).

Neste estudo, verificou-se que os caprinos da raça Alpina, aos 9 meses de idade (pós-púbere), apresentavam túbulos seminíferos com lume amplo, epitélio seminífero com grande população celular e a altura do epitélio foi superior à verificada em idade anteriores (Figura 21). Os tipos celulares observados caracterizaram o estágio 8 do ciclo da epitélio seminífero. Próximo à membrana, estavam presentes as espermatogônias, espermatócitos em pré-leptoteno e os núcleos das células de Sertoli; mais ao centro, observou-se os espermatócitos primários em paquíteno e as espermátides arredondadas; próximo à borda luminal, estavam dispostas as espermátides alongadas (Figura 22).

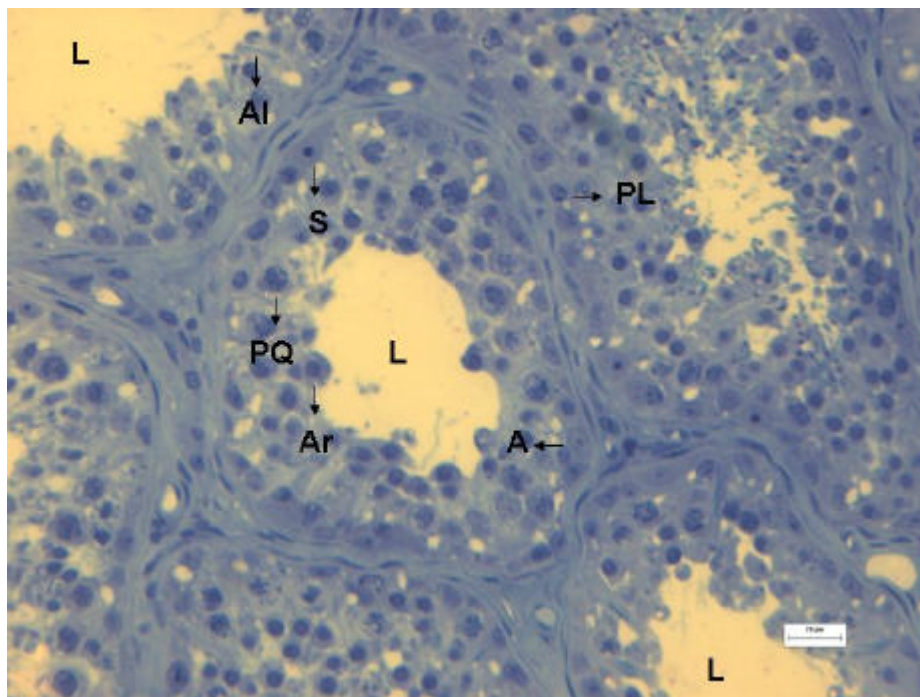


Figura 21. Túbulos seminíferos de caprinos aos 9 meses (pós-púbere), apresentando lume amplo (L), espermatogônias (A), espermatócitos em pré-leptoteno (PL), núcleos das células de Sertoli (S), espermatócitos primários em paquíteno (PQ), espermátides arredondadas (Ar), espermátides alongadas (Al) (Azul de toluidina - Borato de sódio).

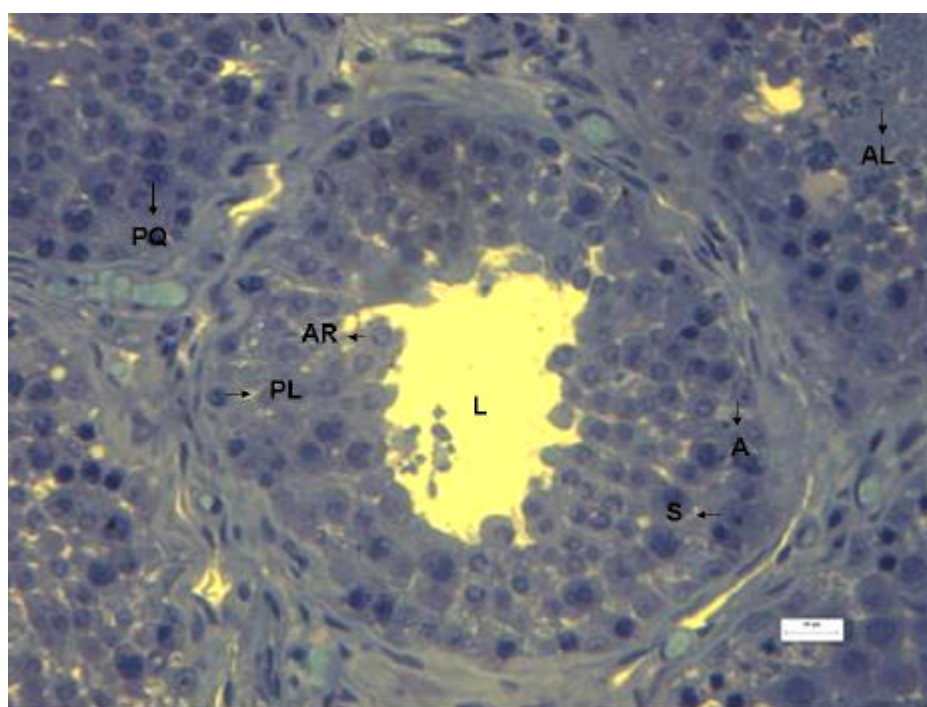


Figura 22. Túbulos seminíferos de caprinos aos 9 meses (pós-púbere), apresentando lume amplo (L) e epitélio seminífero com grande população celular e altura do epitélio superior ao verificado em idade anteriores. Os tipos celulares verificados caracterizam o estágio 8 do ciclo da epitélio seminífero. Próximo à membrana, encontram-se as espermatogônias (A), espermatócitos em pré-leptoteno (PL) e os núcleos das células de Sertoli (S); mais ao centro, observam-se os espermatócitos primários em paquíteno (PQ) e as espermátides arredondadas (Ar); próximo à borda luminal, estão dispostas as espermátides alongadas (Al) (Azul de toluidina - Borato de sódio).

4.7. População celular no epitélio seminífero

Os resultados do número médio de células espermatogênicas e células de suporte por secção transversal de cordões testiculares ou túbulos seminíferos, de caprinos da raça Alpina do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo, estão descritos na Tabela 8. A evolução destas populações, de acordo com as faixas etárias, está representada na Figura 23. As células espermatogênicas dos caprinos foram caracterizadas com base na morfologia nuclear e na posição topográfica em relação a outras células e à lâmina basal.

Tabela 8 - População dos diferentes tipos celulares nos cordões testiculares ou nos túbulos seminíferos, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo*.

Idade(meses)	n	G	CIS	CS	A	PL/L	PQ	Ar
0	9	1,55 ^a	12,47 ^a					
1	10	1,24 ^{ab}	11,74 ^a					
2	10	0,90 ^{bc}	9,83 ^b					
3	10	0,78 ^c	7,28 ^c					
4	10	0,66 ^c	5,28 ^d					
5	11			2,47 ^a	0,45 ^d	17,44 ^c	17,31 ^d	34,25 ^d
6	11			2,31 ^a	0,55 ^d	17,20 ^c	17,46 ^d	34,85 ^d
7	10			2,47 ^a	0,85 ^c	19,24 ^b	19,38 ^c	38,99 ^c
8	10			2,69 ^a	1,06 ^b	19,06 ^b	19,11 ^c	42,13 ^b
9	12			2,44 ^a	1,69 ^a	21,14 ^a	21,30 ^b	52,86 ^a
10	11			2,58 ^a	1,59 ^a	21,03 ^a	21,84 ^{ab}	55,17 ^a
11	10			2,51 ^a	1,65 ^a	22,23 ^a	22,09 ^{ab}	54,22 ^a
12	12			2,47 ^a	1,70 ^a	22,12 ^a	22,36 ^a	54,73 ^a

G = gonócito; CIS = célula indiferenciada de suporte; CS = células de Sertoli; A = espermatogônias A; PL/L = espermatócitos I em pré-leptóteno/leptóteno; PQ = espermatócitos I em paquíteno; Ar = espermátides arredondadas. * Valores corrigidos segundo Amann (1962). Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não se diferem estatisticamente ($p=0,05$) pelo teste SNK.

A população corrigida de gonócitos primordiais por secção transversal dos cordões testiculares foi identificada ao nascimento em seu número máximo. A partir desta idade, a população deste tipo celular apresentou discreta redução. Este decréscimo manteve-se até os 2 meses de idade. Entre os 3 meses e 4 meses, observou-se que a população de gonócitos ficou estável, até que, aos 5 meses, não foi mais identificada no epitélio seminífero (Figura 23).

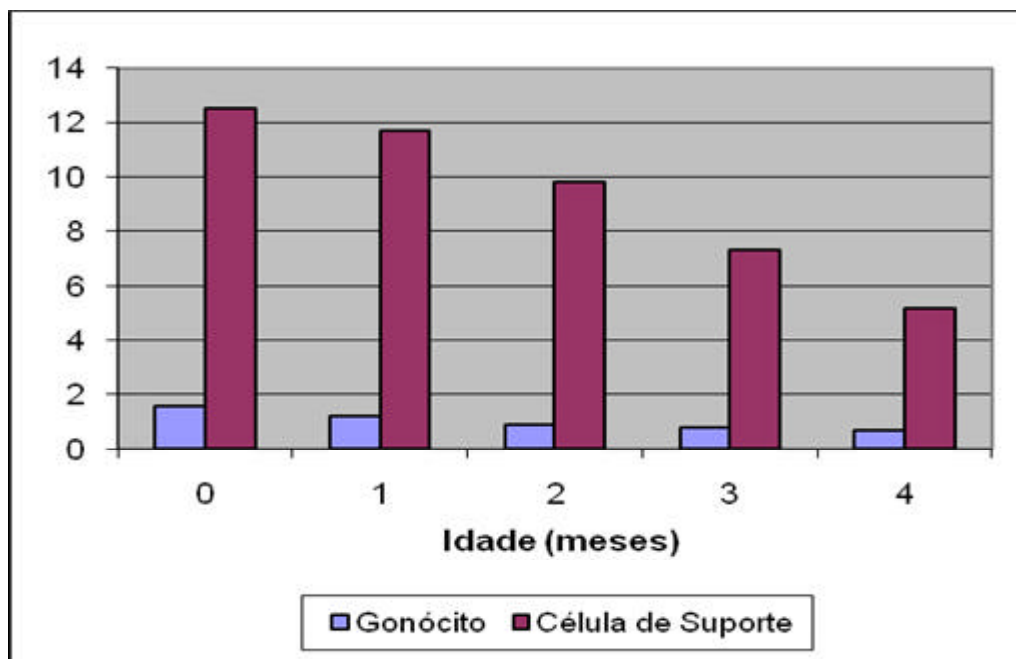


Figura 23 - Número corrigido de gonócitos e células de suporte, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Paralelamente ao baixo número de gonócitos, verificou-se o aumento populacional das espermatogônias A. A população de espermatogônias A típicas foram identificadas pela primeira vez, aos 5 meses de idade, coincidindo com a redução drástica do número de gonócitos. Após esta idade, a população de espermatogônia A (7,85 μm diâmetro nuclear médio) manteve-se constante até os 6 meses. Entre os 6 e 9 meses, observou-se aumento na população de espermatogônias A. Porém, nas idades seguintes, o número de espermatogônias A estabilizou-se até os 12 meses, quando atingiu o valor de 1,70 (Figura 24).

Aos 5 meses, foram observados, os primeiros espermatócitos primários. O número médio de espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno (7,86 μm diâmetro nuclear médio) foi constante a partir dos 5 até os 6 meses de idade. Entre os 6 e 7 meses, houve uma elevação da população desta célula. Aos 7 meses e 8 meses, observou-se o número constante da população de espermatócitos primários em pré-leptóteno e leptóteno. A partir dos 8 meses, observou-se ainda um crescimento na população de espermatócitos primários até os 9 meses, com tendência para manutenção dos valores constantes até os 12 meses (Figura 24). A população de espermatócitos primários em paquíteno (8,65 μm diâmetro nuclear médio) foi identificada inicialmente aos 5 meses, apresentando número constante até os 6 meses, seguida de elevação entre os 6

e 7 meses. No entanto, dos 7 para os 8 meses, observou-se que o crescimento se manteve constante. Entre os 8 e 9 meses, observou-se novamente tendência para elevação do crescimento. A partir dos 9 meses até os 10 meses, o número médio destas células voltou crescer de maneira gradual. Entre os 10 e 11 meses, a população deste tipo celular voltou a estabilizar-se. Até que aos 12 meses de idade, observou-se aumento da população de espermatócitos primários em paquíteno, quando esta atingiu o seu maior valor, 22,36 (Figura 24).

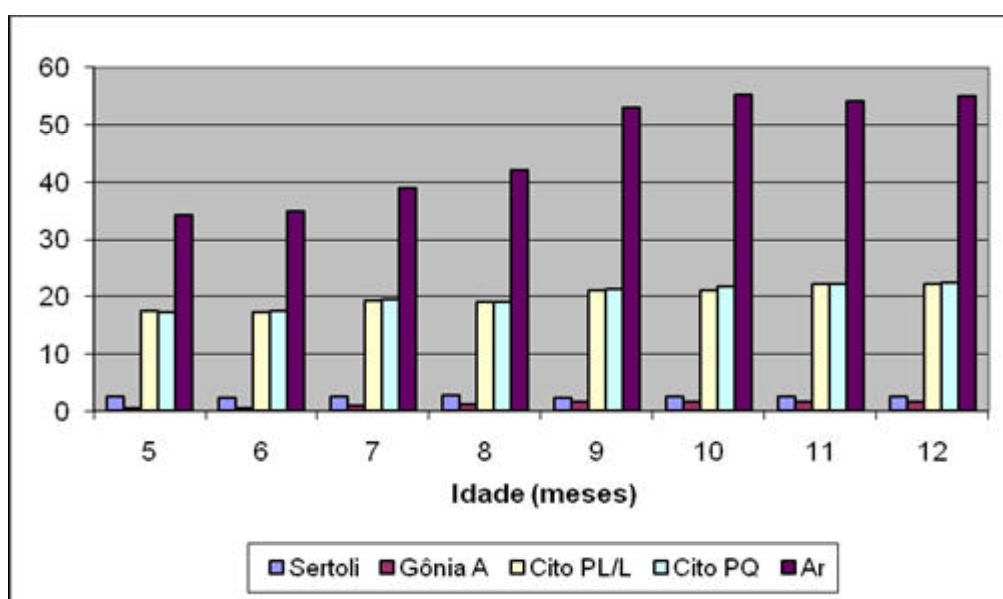


Figura 24 - Número corrigido de células espermatogênicas e células de Sertoli, por seção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

O número médio de espermátides arredondadas ($5,54 \mu\text{m}$ diâmetro nuclear médio), contadas pela primeira vez aos 5 meses de idade, mantendo-se constante até os 6 meses. A partir desta idade até os 9 meses, verificou-se aumento na população de espermátides arredondadas. O número espermátides arredondadas manteve-se constante dos 9 aos 12 meses (Figura 24).

Considerando-se a população total de células espermatogênicas por seção transversal de túbulo seminífero, verificou-se que esta população manteve-se extremamente baixa até os 4 meses de idade. Entre os 4 e 5 meses, experimentou um aumento, que se manteve até os 9 meses. A partir daí, o número total de células espermatogênicas tendeu a estabilizar-se.

Quanto às células de suporte, seu número médio por seção de túbulo seminífero manteve constante entre o nascimento e o primeiro meses de idade,

quando ocorreu em valores máximos. A partir do primeiro mês, verificou-se redução do número de células de suporte até os 4 meses de idade. A partir desta idade, observaram-se redução da população e diferenciação destas células em células de Sertoli maduras. Aos 5 meses, com morfologia típica de células de Sertoli adultas (3,85 μm diâmetro nucleolar médio), seu número apresentou-se reduzido em cerca de metade do número observado aos 4 meses. A partir de 5 meses, sua população apresentou tendência à estabilização de seus valores médios, observada até os 12 meses.

Os números médios de espermatogônia A, espermatócitos primários, espermatídes arredondadas e o número total de células espermatogênicas, por secção transversal de túbulo, correlacionaram-se alta e significativamente com idade, peso corporal, dimensões escrotais, peso, volume e dimensões testiculares e ainda com o diâmetro tubular. Com a proporção volumétrica dos túbulos seminíferos, estas correlações, embora significativas, foram bem discretas. Da mesma forma, correlações baixas foram encontradas entre o número de espermatogônias A e os parâmetros acima mencionados.

Os diâmetros médios nucleolares das células de Sertoli e nucleares das espermatogônias A, espermatócitos I em pré-leptóteno/leptóteno (PL/L), espermatócitos I em paquíteno (PQ) e espermatídes arredondadas (Ar) de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, encontram-se descritos na Tabela 9.

Tabela 9 - Diâmetros médios nucleolares das células de Sertoli e nucleares dos diferentes tipos celulares nos túbulos seminíferos de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

	CS	A	PL/L	PQ	Ar
Média	3,86	7,85	7,86	8,65	5,54
Desvio Padrão	0,59	1,78	0,56	0,65	0,42
Nº Mínimo	2,91	5,35	7,17	7,28	4,85
Nº Máximo	4,89	10,29	8,84	9,42	6,15

CS = células de Sertoli; A = espermatogônia do tipo A; PL/L = espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno; PQ = espermatócitos primários em paquíteno; Ar = espermatídes arredondadas.

O padrão de proliferação das células do epitélio seminífero auxilia na classificação dos animais quanto às fases de desenvolvimento da espermatogênese: impúbere, pré-púbere, púbere, pós-púbere e maturidade sexual (COUROT et al., 1970; APONTE et al., 2005).

Ao nascimento até os 2 meses de idade, a população corrigida de gonócitos, por secção transversal dos cordões testiculares, apresentou valor máximo e reduziu-se nas idades seguintes. Aos 5 meses, não foram mais observados gonócitos nos cordões testiculares de caprinos, assemelhando-se ao relatado para a idade de 3 meses, em caprinos da raça Saanen (SILVA, 2000). Esta redução de células primordiais deveu-se, provavelmente, às degenerações e divisões mitóticas responsáveis pela origem das espermatogônias (THOMAS e RAJA, 1980).

Segundo Courot et al. (1970) e Aponte et al. (2005), a fase do desenvolvimento testicular denominada impúbere é caracterizada, em geral, do nascimento ao início da espermatogênese, sendo que o período necessário para o evento é variável entre as espécies. Nesta fase, os cordões testiculares contêm somente os gonócitos como exemplares de células germinativas, além das células indiferenciadas de suporte (FRANÇA et al., 1988; APONTE et al., 2005). Em caprinos da raça Alpina, esta fase estendeu-se até o 3º mês, sendo pouco mais longa que em caprinos da raça Saanen, descrita aos 2 meses de idade (SILVA, 2000).

Em sincronia com a redução do número de gonócitos, aos 4 meses, ocorreu o surgimento das primeiras espermatogônias no epitélio dos cordões testiculares, iniciando o processo espermatogênico, que caracteriza o período pré-púbere. Os fenômenos referentes ao início da atividade espermatogênica ocorreram em idade mais precoce em caprinos da raça Saanen, assim como o aumento da população de espermatogônias no 1º mês, após sua observação no epitélio seminífero (SILVA, 2000). Ainda na fase pré-púbere, observa-se que o crescimento populacional de espermatogônias apresentou-se contínuo até os 4 meses. Em seguida, apresentou elevação até os 12 meses, com tendência à estabilização. No entanto, esta estabilização em caprinos da raça Saanen ocorreu mais precocemente do que em caprinos da raça Alpina do presente estudo, o que provavelmente indica que o estoque deste tipo celular mantém-se crescente até próximo à puberdade.

Aos 5 meses, foram identificados, em pequena quantidade, os primeiros espermatócitos primários em pré-leptóteno e leptóteno e, entre os 5 e 6 meses, observou-se estabilidade da população destas células. Os espermatócitos primários em paquíteno e as espermatídes arredondadas surgiram pela primeira

vez aos 5 meses e apresentaram crescimento gradual. Ao final da fase pré-púbere, no epitélio seminífero, coexistiam espermatogônias, espermatócitos primários, espermatídes arredondadas e alongadas, apresentando-se intensa proliferação celular semelhante ao descrito em outros mamíferos. Ainda nesta fase, verificou-se o aumento das células indiferenciadas de suporte, devido a divisões mitóticas, conforme descrito por outros autores (FRANÇA et al., 1988; ASSIS NETO et al., 2003; FERREIRA et al., 2004; APONTE et al., 2005). Antes da puberdade, aos 4 meses, as células de suporte imaturas não mais se dividiam e apresentaram população máxima e, em seguida, diferenciaram-se em células de Sertoli adultas. Esta estabilização da proliferação e a completa diferenciação destas células ocorrem, geralmente, em torno de 40 e 80 dias antes da idade púbere (COUROT et al., 1970). Este fenômeno coincide com o surgimento de espermatócitos primários e a luminação dos cordões testiculares, fundamentais para a formação da barreira hematotesticular (COUROT et al., 1970; ORTAVANT et al., 1977).

A fase púbere em caprinos foi descrita aos 5 meses de idade, quando foram identificados túbulos seminíferos, contendo associações celulares características dos oito estádios do ciclo do epitélio seminífero, tanto em secções transversais como longitudinais, e foram observados espermatozoides no lume tubular, conforme descrito por Courot et al. (1970). As células germinativas presentes no epitélio foram semelhantes às observadas ao final da fase anterior, e apresentaram proliferação celular mais intensa, conforme descrito em outros mamíferos (FRANÇA et al., 1988; FRANÇA et al., 2000; ASSIS NETO et al., 2003; FERREIRA et al., 2004; APONTE et al., 2005). No entanto, estes fenômenos observados nesta fase, em caprinos da raça Alpina, foram mais tardios que em caprinos da raça Saanen, descritos entre os 2 e 3 meses (SILVA, 2000).

Tanto os espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno e paquíteno, quanto as espermatídes arredondadas, apresentaram crescimento gradual após a puberdade, semelhante ao descrito na fase pós-púbere em caprinos da raça Saanen (SILVA, 2000). Nesta fase, verificou-se aumento da população celular nos túbulos seminíferos, sem o surgimento de novos tipos celulares, conforme relatado em outros mamíferos (COUROT et al., 1970; ASSIS NETO et al., 2003; APONTE et al., 2005).

O número de células da linhagem espermatogênica, por secção transversal do cordão ou túbulo seminífero, apresentou-se baixo até o final da fase pré-púbere, semelhante ao descrito em caprinos da raça Saanen (SILVA, 2000). Com o desenvolvimento da puberdade, aos 5 meses, ocorreu um crescimento acelerado das células espermatogênicas, devido principalmente à proliferação de espermatócitos primários e espermátides arredondadas. Este crescimento foi semelhante ao observado em caprinos da raça Saanen (SILVA, 2000).

Após a puberdade, as populações das células presentes nos túbulos seminíferos sofreram variações características da fase pós-púbere, tendendo à estabilização próximo aos 9 meses (Figuras 24), como indício de maturidade sexual, apresentando valores populacionais próximos aos descritos em indivíduos adultos, porém, inferiores aos encontrados em caprinos da raça Saanen (SILVA, 2000).

4.8. Rendimento intrínseco da espermatogênese

O valores do rendimento intrínseco da espermatogênese estão descritos na Tabela 10 e Figura 25.

Tabela 10 - Rendimento intrínseco da espermatogênese, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero e estação do ano em que foram realizadas as coletas dos testículos (orquiectomia), de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

<i>Idade (meses)</i>	<i>n</i>	<i>PL/L:A</i>	<i>PQ:PL/L</i>	<i>Ar:PQ</i>	<i>Ar:A</i>	<i>Estação do ano</i>
5	11	46,89 ^a	0,99 ^a	1,98 ^c	92,22 ^a	Inverno/Primavera
6	11	32,66 ^b	1,02 ^a	1,99 ^c	66,18 ^b	Primavera
7	10	22,93 ^c	1,01 ^a	2,02 ^c	46,44 ^c	Outono
8	10	18,64 ^c	1,01 ^a	2,21 ^b	41,03 ^c	Primavera
9	12	12,59 ^c	1,01 ^a	2,49 ^a	31,58 ^c	Primavera
10	11	13,29 ^c	1,04 ^a	2,53 ^a	34,93 ^c	Primavera/Verão
11	10	13,61 ^c	0,99 ^a	2,46 ^a	33,22 ^c	Primavera
12	12	13,05 ^c	1,01 ^a	2,45 ^a	32,26 ^c	Primavera

A = espermatogônia do tipo A no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero (CES); PL/L = espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno estágio 1 do CES; PQ = espermatócitos primários em paquíteno no estágio 1 do CES; Ar = espermátides arredondadas no estágio 1 do CES. Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não se diferem estatisticamente ($p=0,05$) pelo teste SNK.

Estas razões foram calculadas, nos animais com espermatogênese completa, a partir dos 5 meses de idade, com base em números celulares médios constatados nos estádios 1 do ciclo do epitélio seminífero.

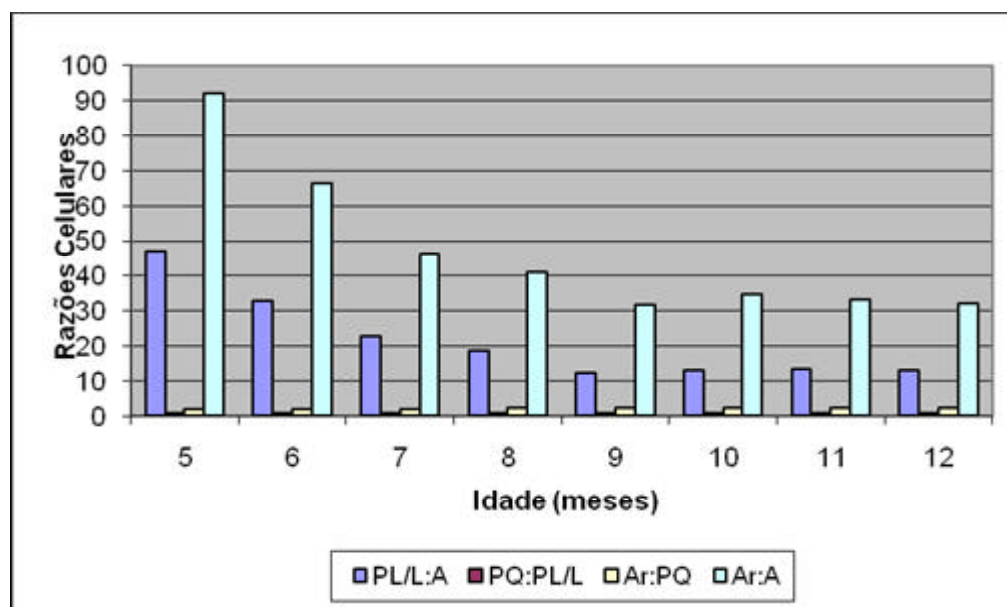


Figura 25 - Razões entre os números corrigidos de células espermatogênicas, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo. A = espermatogônia A; PL/L = espermatócito I em pré-leptóteno/leptóteno PQ = espermatócito I em paquíteno; Ar = espermátide arredondada.

O cálculo do rendimento intrínseco da espermatogênese mostrou que o coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais, representado pela razão entre o número de espermatogônias A e espermatócito primário em pré-leptóteno/leptóteno, passou de 46,89, aos 5 meses, para 32,66, aos 6 meses; e para 22,93 aos 7 meses, mas, a partir desta idade, apresentou nítida tendência à estabilidade. O coeficiente de eficiência das mitoses espermatogoniais foi decrescente, em caprinos da raça Alpina, a partir dos 5 meses, referente à idade púbere, diferente ao observado em caprinos da raça Saanen (SILVA, 2000). Aos 7 meses, o coeficiente de eficiência de mitose atingiu índice próximo ao observado em animais aos 12 meses. Este coeficiente indica a quantidade de espermatócitos primários formados a partir de cada espermatogônia, diretamente associada ao número de gerações de espermatogônias para cada espécie. Uma vez cessada a replicação das células de Sertoli, a produção espermática depende do número total de espermatogônias e do número de gerações entre a primeira geração das espermatogônias e a formação dos espermatócitos primários

(COUROT et al., 1970). Nos caprinos, reconhecem-se seis gerações de espermatogônias, sendo três do tipo A (A_1 , A_2 , A_3), uma intermediária (In) e duas do tipo B (B_1 e B_2). Partindo do princípio que segue o padrão observado na maioria dos mamíferos (seis gerações), espera-se que, em um rendimento de 100% das divisões mitóticas, uma espermatogônia tipo A_1 se divida a cada 10,4 dias, e poderiam gerar, em teoria, 8 dias depois, 64 espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, cuja prófase tem duração de aproximadamente 14 dias.

O presente estudo mostrou que, aos 5 meses, as perdas celulares durante as divisões espermatogoniais foram de 26,73%, ou seja, uma espermatogônia A, em vez de 64, produziu 46,89 espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno. Aos 7 meses, as perdas celulares, durante as divisões espermatogoniais, foram maiores de 64,17%, ou seja, uma espermatogônia A, em vez de 64, produziu 22,93 espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno. Aos 12 meses as perdas celulares se aproximaram aos 80%. Estas perdas estão de acordo ao percentual de perdas relatado para a maioria das espécies estudadas até o momento, que varia de 70% a 80% nesta fase (FRANÇA e RUSSEL, 1998) e foram superiores às descritas em caprinos da raça Saanen (SILVA, 2000).

O índice de eficiência da prófase meiótica, representado pela razão entre o número de espermatócito primário em pré-leptóteno/leptóteno e o número de espermatócito primário em paquíteno, foi de 0,99 aos 5 meses e estabilizou-se a partir desta idade até os 12 meses, quando atingiu o valor de 1,01. Estudos indicam que esta proporção deveria ser próximo à relação de 1:1, indicando que cada espermatócito primário em pré-leptóteno/leptóteno deveria diferenciar em um espermatócito primário em paquíteno (COUROT et al., 1970). Os índices de ocorrência de perdas celulares durante a prófase meiótica, neste estudo, nas diferentes idades, estão de acordo com este valor teoricamente esperado e assemelham-se ao observado em caprinos Saanen (SILVA, 2000).

O rendimento meiótico, representado pela razão entre o número de espermátides arredondadas e o número de espermatócitos primários em paquíteno, foi de 1,98 aos 5 meses, indicando a quantidade de espermátides arredondadas geradas a partir de um espermatócito primário. Aos 8 meses, passou para 2,21 espermátides/paquíteno e estabilizou-se em 2,49 a partir dos 9 meses até os 12 meses, quando alcançou o valor de 2,45. Teoricamente, caso a

eficiência da espermatogênese fosse de 100%, cada espermatócito primário deveria dar origem a quatro espermátides arredondadas, porém, mesmo que as perdas celulares sejam pequenas na prófase meiótica, raramente esta razão teórica é observada na prática (COUROT et al., 1970). Em mamíferos domésticos, a perda de células germinativas durante a meiose varia de 5% a 30%. Neste estudo, verificou-se um aumento do índice de eficiência da meiose após a puberdade, dos 7 aos 9 meses, devido ao crescimento mais intenso da população de espermátides arredondadas em relação aos espermatócitos em paquíteno. A partir dos 9 meses de idade, observa-se que o rendimento meiótico apresentou clara tendência à estabilidade. Esse fato indica que os prováveis mecanismos de regulação desta fase da espermatogênese foram parcialmente preservados nos caprinos da raça Alpina deste estudo. O valor da porcentagem de perdas observado aos 12 meses foi superior ao descrito por Silva (2000), trabalhando com caprinos da raça Saanen aos 12 meses, os quais alcançaram os valores mais baixos, apenas 11% de perdas, sendo este resultado inferior ao relatado para a maioria dos caprinos, com perdas de aproximadamente 25%.

O rendimento geral da espermatogênese, calculado a partir da razão entre o número de espermátides arredondadas produzidas e o número de espermatogônias A, passou de 92,22, aos 5 meses, para 66,18, aos 6 meses; e 46,44, aos 7 meses. Os valores desta proporção foram decrescentes dos 5 aos 7 meses. A partir dos 7 meses, os valores do rendimento geral da espermatogênese apresentaram tendência à estabilidade. Aos 9 meses, notou-se que cada espermatogônia produziu 31,58 espermátides arredondadas, contrastando com o número de 256 espermátides, caso não existissem perdas durante o processo normal de espermatogênese. Estas espermátides dariam origem, após 14 dias, a igual número de espermatozoides. Este índice foi menor ao encontrado para a maioria das espécies (FRANÇA et al., 1988; FRANÇA e RUSSEL, 1998) e ao descrito em caprinos da raça Saanen, nos quais 59 espermátides arredondadas são originárias a partir de cada espermatogônia (SILVA, 2000). No caso do bode da raça Alpina, as razões encontradas reforçam o fato de que o rendimento da espermatogênese, após o incremento da pós-puberdade, atinge níveis adultos aos 9 meses de idade.

Durante o desenvolvimento das células germinativas em mamíferos, é comum a ocorrência de mortes celulares, devido ao mecanismo de apoptose

(BLANCO-RODRÍGUEZ e MARTÍNEZ-GARCIA 1998; HENINGER et al., 2004). A apoptose é um fenômeno fundamental, durante o desenvolvimento normal, e a homeostase, em organismos multicelulares (JACOBSON et al., 1997), afetando principalmente a transformação de gonócitos em espermatogônias e a primeira geração de espermátócitos primários e espermátides arredondadas (COUROT, 1970). Este fenômeno fisiológico presente no parênquima testicular é responsável pelo controle da maturação de células defeituosas, passíveis de espermiação. É considerado também um mecanismo limitante do número de células germinativas capazes de serem suportadas pelas células de Sertoli (YIN et al., 1998; HENINGER et al., 2004). As perdas celulares por apoptose influenciam diretamente a eficiência da espermatogênese (JOHNSON et al., 2000), o que permite comparar a proporção do número de células germinativas antes e depois de um determinado processo espermatogênico (FRANÇA e RUSSEL, 1998). Nos caprinos, estas perdas relacionam-se principalmente com as flutuações hormonais decorrentes de alterações do fotoperíodo, sendo as mudanças na secreção de FSH as mais importantes. Assim, o equilíbrio entre a proliferação e a apoptose desempenha importante papel na regulação da população celular do epitélio seminífero (SHARPE, 1994).

A espermatogênese ocorre nos testículos, de modo permanente e contínuo, a partir da puberdade, quando os níveis hormonais de FSH e LH elevam-se e ocorre o amadurecimento do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, sob o controle fisiológico do sistema neuroendócrino (SANTOS e SIMPLÍCIO, 2000; HAFEZ e HAFEZ, 2004). A puberdade, no macho, pode ser definida como a época em que o animal atinge a capacidade de fertilizar uma fêmea. Ocorre entre os 5 a 7 meses nos caprinos. Essa idade é afetada por vários fatores como níveis de testosterona e gonadotrofinas circulantes, raça, nível nutricional e meio ambiente. Nessa fase, os testículos passam a responder de forma mais eficiente aos estímulos das gonadotrofinas, hormônio do crescimento e prolactina, induzindo a esteroidogênese. Sendo que o principal estímulo endócrino da espermatogênese é o andrógeno. Esta dependência de esteroides é proporcionada pela produção de andrógenos, por meio das células intersticiais de Leydig, adjacentes aos túbulos seminíferos. Para realizarem a secreção de andrógenos, as células de Leydig são estimuladas pelo LH. Os andrógenos produzidos pelas células de Leydig atuam no hipotálamo e na hipófise para

controlar a produção de LH, enquanto a gonadotrofina, FSH, estimula a produção da proteína fixadora de andrógenos (ABP) pelas células de Sertoli. A proteína fixadora de andrógenos é secretada na luz do túbulo seminífero com a finalidade de manter alto nível de andrógenos no túbulo, pela formação de um complexo com os hormônios esteroides. As duas gonadotrofinas (LH e FSH) funcionam em conjunto para concentrar testosterona e diidrotestosterona no interior dos túbulos seminíferos, onde estimulam o desenvolvimento das células germinativas (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O ciclo espermatogênico é o tempo gasto na divisão da espermatogônia. O ciclo espermatogênico dos caprinos ocorre em média a cada 10 a 11,5 dias. Nos caprinos, o processo espermatogênico, que tem início na espermatogônia A₁ até a liberação do espermatozoide maduro na luz do túbulo, tem duração de 47,7 dias (FRANÇA et al., 1999). A regulação da espermatogênese envolve mecanismos parácrinos e endócrinos, quando a estimulação endócrina dá-se pela liberação dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH), além da ação da testosterona produzida pelas células de Leydig. Altas concentrações intracelulares de testosterona são necessárias para a espermatogênese normal. Os caprinos são animais sazonais de dia curto e, nos períodos de luminosidade baixa ou decrescente, ocorre, nestes animais, um aumento abrupto na secreção pulsátil do hormônio luteinizante (LH), que induz o crescimento testicular e a produção de testosterona. Durante 1,5 mês, apenas a amplitude do pulso de LH sobe e, após este intervalo de tempo, há um aumento na liberação de testosterona, que é concomitante com um declínio do LH. Estes resultados sugerem que o decréscimo no fotoperíodo é o fator mais importante na estimulação da liberação de LH (HAFEZ e HAFEZ, 2004). No período de dias longos ou de luminosidade crescente, ocorre uma inversão neste padrão reprodutivo. Cheminenau et al. (1992), trabalhando com caprinos, relatou que, quando o animal nascia em boas condições nutricionais, no outono ou no final do inverno, demonstrava rápido crescimento testicular mas, em seguida, interrompia o seu desenvolvimento sexual, da mesma forma que ocorre com os machos adultos no final do inverno. Conseqüentemente, seus testículos paravam de crescer até o início da próxima estação reprodutiva, no final do verão seguinte.

Uma provável explicação para o declínio no coeficiente de eficiência da mitose, nos caprinos da raça Alpina, no presente estudo, seria atribuída a uma

possível diminuição na concentração plasmática de testosterona ocorrida durante a realização das coletas de material, as quais foram mais concentradas no período da primavera (setembro a dezembro), induzida provavelmente pelo aumento na duração de horas/luz do dia (fotoperíodo crescente). Assim, as mitoses espermatogoniais, provavelmente, seriam afetadas por mudanças hormonais induzidas pelo fotoperíodo crescente, aos quais foram submetidos principalmente nos animais de 6, 8, 9, 11 e 12 meses de idade (Tabela 10). Eventos semelhantes aos observados, no presente estudo, relacionados à variação sazonal na eficiência da espermatogênese, foram relatados em ovinos por Ortavant et al. (1977), que obtiveram um coeficiente de eficiência de mitose de 16, durante a estação reprodutiva, e fora da estação esse coeficiente caiu para aproximadamente 10. O estabelecimento da puberdade em caprinos é dependente do peso corporal, da época do ano em que o animal nasceu e do fotoperíodo por ele experimentado (SILVA, 2000). Estudos realizados por Deveson et al. (1992) detectaram sensibilidade intrauterina de fetos caprinos aos estímulos luminosos recebidos durante a gestação, sendo a puberdade retardada nos fetos machos e fêmeas de cabras expostos a fotoperíodo de dias longos nos últimos dois meses de gestação. Silva (2000), trabalhando com caprinos Saanen, observou que os animais submetidos à orquiectomia aos 7 e 12 meses de idade, durante a estação reprodutiva, apresentaram rendimento mitótico de 26 espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno:espermatogônia A. Os animais submetidos à orquiectomia aos 9 meses, fora da estação, apresentaram um rendimento mitótico de apenas 18, representando uma queda de 30,8% entre a estação de reprodução e a não reprodutiva.

O crescimento testicular está altamente relacionado com as concentrações de hormônios gonadotróficos e de testosterona circulantes, sendo o fotoperíodo um dos principais fatores ambientais que exercem marcante influência sobre esse órgão (MIES FILHO, 1987). Verifica-se que existem grandes flutuações no peso testicular e nos índices de atividade espermatogênica, durante os meses do ano. Carneiros adultos apresentam decréscimo acentuado na atividade espermatogênica no final do inverno e primavera, com cerca de 40% menos espermatozóides por ejaculado (CHEMINEAU et al., 1992; DELGADILLO e CHEMINEAU, 1992). Martins et al. (2003) verificaram, em pequenos ruminantes, que o peso testicular tem seu valor mínimo na primavera e máximo no verão.

Essas variações estão associadas às mudanças acentuadas na produção espermáticas e na qualidade do sêmen.

4.9. Índice de células de Sertoli

Na Tabela 11, estão demonstradas as razões obtidas entre o número de células de Sertoli e o número de células espermatogênicas, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero de caprinos da raça Alpina, criados em condições de manejo semi-intensivo. Observa-se que a razão entre a população corrigida de espermatogônia A e as células de Sertoli, em caprinos da raça Alpina, demonstrou-se constante entre os 5 e 8 meses de idade. Entre os 8 e 9 meses, no entanto, a relação entre o número de espermatogônia A e o de células de Sertoli apresentou crescimento. A partir dos 9 meses, entretanto, verificou-se que novamente essa razão manteve-se constante, com tendência à estabilidade até os 12 meses (Figura 26).

Tabela 11 - Razão entre os números de células de Sertoli e células espermatogênicas, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

<i>Idade(meses)</i>	<i>n</i>	<i>A:CS</i>	<i>PL/L:CS</i>	<i>PQ:CS</i>	<i>Ar:CS</i>	<i>TCG:CS</i>
5	11	0,21 ^b	7,64 ^a	7,57 ^a	14,99 ^a	30,41 ^a
6	11	0,27 ^b	8,68 ^a	8,87 ^a	17,71 ^a	35,52 ^a
7	10	0,37 ^b	8,49 ^a	8,58 ^a	17,19 ^a	34,63 ^a
8	10	0,42 ^b	7,55 ^a	7,58 ^a	16,67 ^a	32,23 ^a
9	12	0,73 ^a	9,06 ^a	9,15 ^a	22,87 ^a	41,81 ^a
10	11	0,68 ^a	9,16 ^a	9,56 ^a	24,45 ^a	43,85 ^a
11	10	0,75 ^a	10,10 ^a	10,04 ^a	24,37 ^a	45,26 ^a
12	12	0,75 ^a	9,82 ^a	9,98 ^a	24,43 ^a	44,98 ^a

CS = célula de Sertoli; A = espermatogônia do tipo A no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero (CES); PL/L = espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno no estágio 1 do CES; PQ = espermatócitos primários em paquíteno no estágio 1 do CES; Ar = espermátides arredondadas no estágio 1 do CES; TCG = total de células germinativas. Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna, não se diferem estatisticamente ($p=0,05$) pelo teste SNK.

As relações quantitativas entre as células de Sertoli e as células da linhagem espermatogênica são conhecidas como índice de célula de Sertoli. Este índice representa o parâmetro indicativo da capacidade funcional das células de Sertoli em suportar as células germinativas e da eficiência de produção

espermática. O cálculo dos índices de célula de Sertoli para cada tipo de célula germinativa está embasado no pressuposto de que a população de células de Sertoli caracteriza-se por sua estabilidade numérica após a puberdade e ao longo dos diferentes estádios do ciclo do epitélio seminífero. Esta baixa variação numérica das células de Sertoli, próximo à puberdade, é esperada na maioria dos mamíferos (COUROT et al., 1970). Devido a esta estabilidade, as células de Sertoli têm sido utilizadas como ponto de referência numérica, para a quantificação de sua população em relação às células germinativas, como índice para se avaliar a eficiência da espermatogênese (RUSSEL e PERTERSON, 1984; FRANÇA, 1987). Desta forma, a capacidade funcional das células de suporte é considerada um indicador importante de produção espermática. Embora o número máximo de células germinativas sustentadas por uma célula de Sertoli varie consideravelmente entre as espécies, cada célula de Sertoli é capaz de apoiar um número relativamente constante de células germinativas, numa determinada espécie (RUSSEL et al., 1990; SHARPE et al., 1994; FRANÇA e RUSSEL, 1998; FRANÇA et al., 2005). Assim, espera-se que quanto maior for a capacidade de suporte, maior será a produção espermática diária (FRANÇA e RUSSEL, 1998; COSTA, 2001).

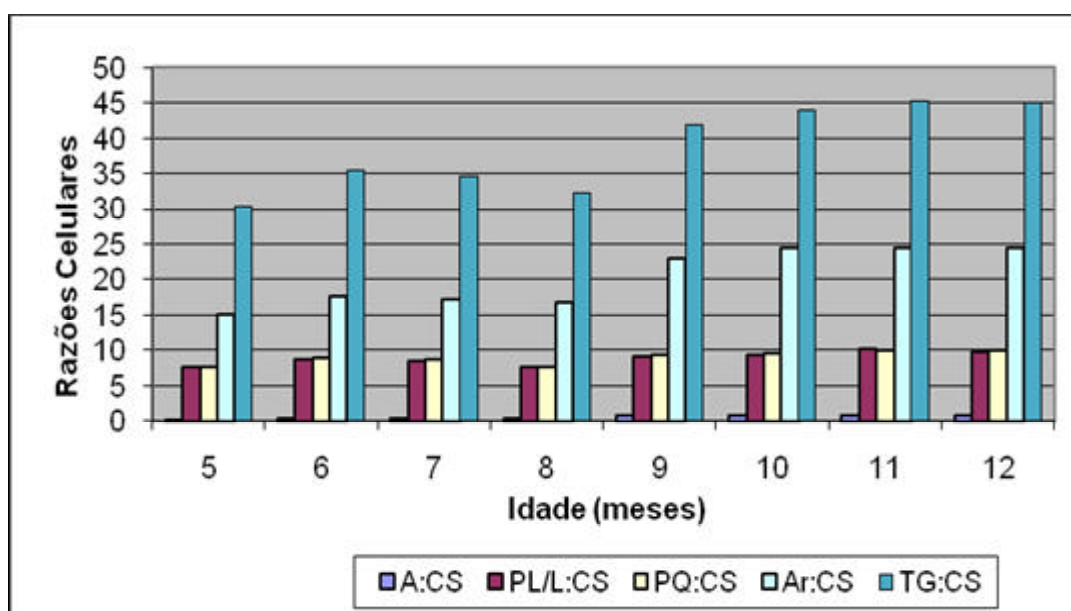


Figura 26 - Razões entre os números corrigidos de células espermatogênicas e células de Sertoli, por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

A = espermatogônia A; PL/L = espermatócito I em pré-leptóteno/leptóteno;

PQ = espermatócito I em paquíteno; Ar = espermatíde arredondada; CS = Célula de Sertoli

Nos animais do presente estudo, a capacidade de suporte de células germinativas totais, apresentadas pelas células de Sertoli, apresentou-se constante dos 5 aos 12 meses. O número de espermatídes arredondadas por célula de Sertoli, que constitui o dado mais representativo em relação à produção final de gametas, demonstrou-se constante entre os 5 e 12 meses. A razão entre os espermátócitos e as células de Sertoli, em caprinos da raça Alpina entre os 5 e 12 meses de idade, seguiu padrão de desenvolvimento constante (Figura 26). Os valores observados foram superiores ao verificado em caprinos da raça Saanen (SILVA, 2000). O número de espermatídes arredondadas por célula de Sertoli nos bodes da raça Saanen chegou a 10 Ar:CS aos 12 meses, enquanto, nos bodes da raça Alpina, foi de 24,43 na mesma idade. Nos bodes da raça Saanen, Silva (2000) verificou que o número de células germinativas por célula de Sertoli mostrou seu maior incremento entre os 3 e 4 meses, coincidindo com o aumento abrupto do número de células germinativas totais no período de estabelecimento da puberdade. Este mesmo autor relatou que o número de células de Sertoli por testículo aumentou rapidamente nos animais até os 2 meses de idade. Aos 4 meses, sua população era 8,25 vezes maior do que o número observado por ocasião do nascimento. Sua população por grama, entretanto, demonstrou-se máxima nos animais recém-nascidos, decrescendo com o avançar da idade, com o decréscimo mais acentuado observado entre os animais de 2 e 3 meses de idade. Uma provável explicação se deve ao fato de que, entre os 2 e 3 meses, sua proliferação era pequena, não acompanhando o rápido crescimento do peso do parênquima testicular neste período e, a partir dos 4 meses, as células de Sertoli se tornaram maduras e não mais proliferaram. Assim, com o crescimento dos outros componentes do parênquima testicular, seu número por grama teve tendência a diminuir. O maior índice verificado em caprinos da raça Alpina pode estar relacionado com as características evolutivas, estabelecidas durante a diferenciação desta raça e com o processo de seleção intenso, quando comparado com o de caprinos da raça Saanen. Além disso, este índice pode estar relacionado com as diferenças de manejo, alimentação, condições ambientais em cada criatório, o que provavelmente resultou em menor eficiência das células de Sertoli nos bodes da raça Saanen.

4.10. Reserva espermática testicular

A reserva espermática testicular consiste na estimativa do número de espermatozoides contidos no testículo. O método mais utilizado, para determinação da reserva espermática, é o da homogeneização e hemocitometria dos núcleos das espermátides alongadas e das cabeças de espermatozoides (FRANÇA, 1991). Segundo Amann (1970), isso é possível, uma vez que os núcleos das espermátides arredondadas possuem cromatina nuclear altamente condensada, sendo extremamente resistentes ao processo de homogeneização e à destruição física. Entretanto, esta metodologia apresenta alguns pontos críticos, como a falta de padronização do homogeneizador que, por não apresentar padronização da velocidade de trituração, pode produzir homogeneizados diferentes, alterando o resultado final das análises (MENEZES, 2006).

Para a determinação da reserva espermática testicular, optou-se, neste estudo, pelo método da histologia quantitativa dos testículos, preconizada por Costa (2004). A estimativa deste parâmetro baseia-se na multiplicação do número de células, por secção transversal, pelo comprimento total dos túbulos seminíferos, dividido pela espessura de corte histológico utilizado. Em geral, os resultados obtidos com a metodologia histométrica são 25% mais altos que os obtidos com a homogeneização (AMANN, 1970; FRANÇA, 1991).

Como o número de espermátides arredondadas não sofre perdas significativas durante a espermatogênese, ou seja, uma espermátide normalmente gera um espermatozoide (AMANN, 1962), tal valor pode ser considerado o número total de espermatozoides que seria produzido no testículo ao final do processo espermatogênico. As comparações entre as espécies devem ser realizadas baseando-se em grama de parênquima testicular, devido à grande variação existente entre as mesmas.

Os valores da reserva espermática testicular e por grama de testículo, em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo, estão expostos na Tabela 12 e Figura 27.

A reserva espermática testicular dos animais, do presente estudo, aos 5 meses foi em média de $27,29 \times 10^9$, reduzindo gradualmente até os 8 meses, quando atingiu o valor de $14,05 \times 10^9$. Aos 9 meses, os animais apresentaram elevação na reserva espermática testicular com o valor de $29,67 \times 10^9$

espermatozoides por testículo. A partir desta idade, os animais experimentaram tendência à estabilidade, alcançando, aos 12 meses, o valor $30,74 \times 10^9$.

Tabela 12 - Reserva espermática testicular e por grama de testículo em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

<i>Idade (meses)</i>	<i>n</i>	<i>Reserva espermática testicular (10^6)</i>	<i>Reserva espermática testicular/grama de testículo (10^6)</i>
5	4	27.296,69	919,55
6	4	24.335,79	417,42
7	3	20.759,98	338,70
8	3	14.045,95	349,70
9	3	29.163,48	517,82
10	4	22.671,71	480,89
11	3	30.092,65	479,13
12	3	30.744,04	519,11

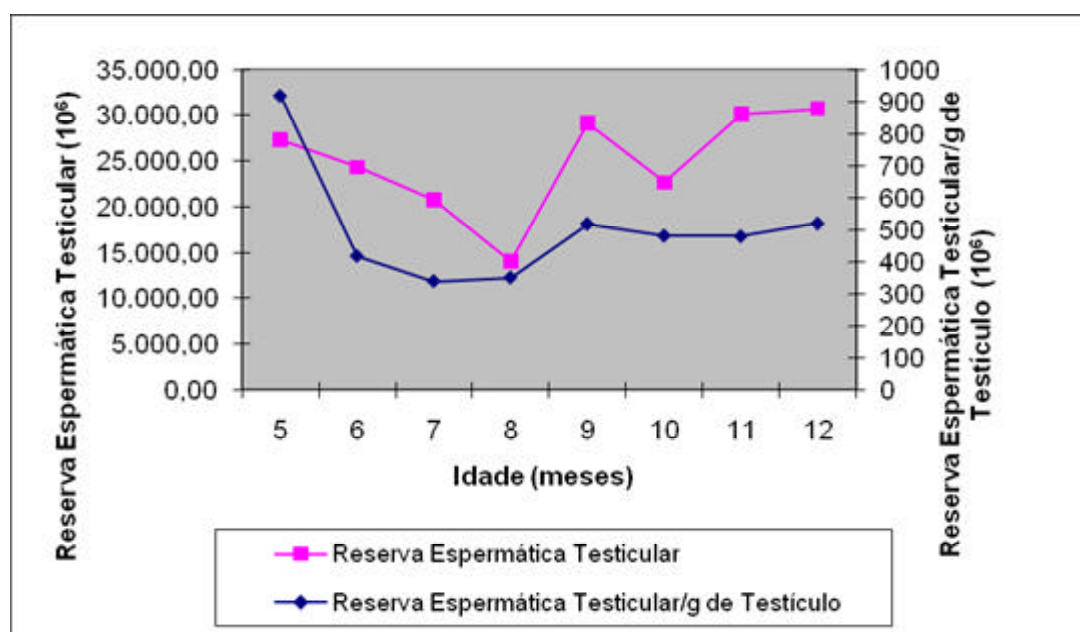


Figura 27 - Reserva espermática testicular e por grama de testículo de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

4.11. Avaliação seminal

Os valores do volume, concentração, motilidade total, motilidade progressiva e turbilhonamento do sêmen de caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, estão expostos na Tabela 13.

Tabela 13 - Volume, concentração, motilidade total, motilidade progressiva, turbilhonamento do sêmen de caprinos da raça Alpina, estação do ano em que foram realizadas as coletas dos testículos (orquiectomia), do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Idade (meses)	n	Volume (ml)	Concentração (10^9)	Motilidade total (%)	Motilidade Progressiva (%)	Turbilhonamento (1-5)	Estação do ano
5	4	0,30	0,69	24,33	6,00	1,66	Inverno(2)/Primavera(2)
6	4	0,32	1,34	48,25	15,25	2,25	Primavera(4)
7	3	0,51	1,63	67,71	39,28	3,78	Outono(3)
8	3	0,36	0,59	56,00	25,33	1,66	Primavera(3)
9	3	0,50	2,39	74,00	42,33	4,00	Primavera(3)
10	4	0,60	3,13	91,25	23,25	3,87	Primavera(2)/Verão(2)
11	3	0,45	2,33	82,75	47,25	3,26	Primavera(3)
12	3	0,47	2,34	89,20	30,80	4,30	Primavera(3)

Aos 4 meses, nenhum dos animais testados apresentou espermatozoides no ejaculado, que variou de límpido incolor a aquoso amarelado ou ligeiramente turvo. O aspecto do sêmen variou muito entre os animais e entre as colheitas do mesmo animal. Aos 5 meses, todos os animais apresentaram ejaculados com espermatozoides com cerca de 8% de motilidade total. Aos 6 meses, todos os animais apresentaram espermatozoides com motilidade total em um percentual que variou de 17% a 63%. A partir dos 7 meses, não houve diferença estatística entre os grupos etários ($p > 0,05$) quanto à motilidade total (Figura 28).

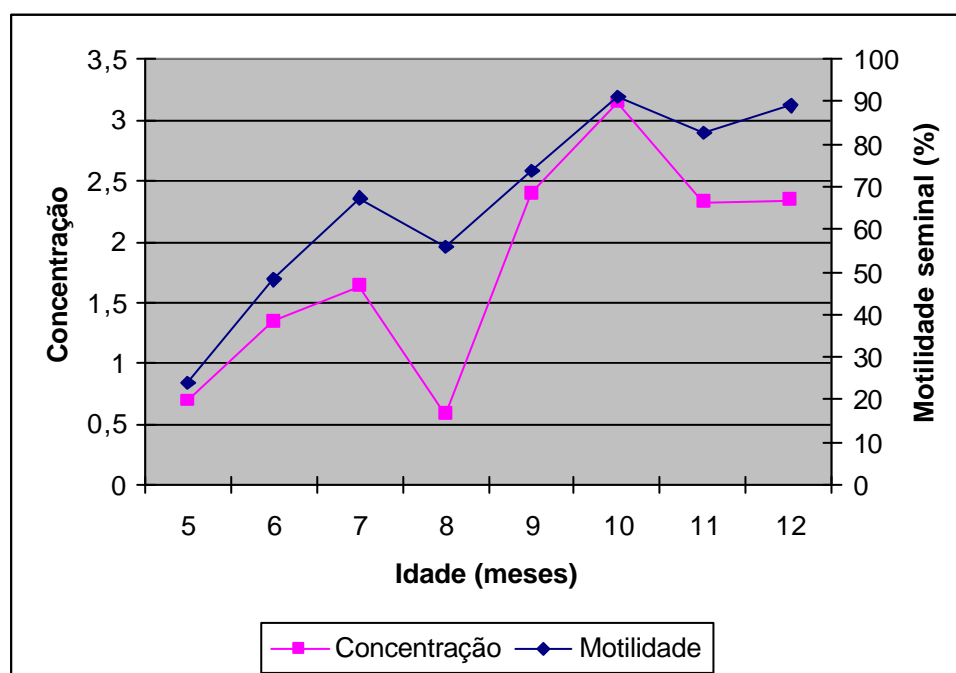


Figura 28 - Concentração e motilidade total do sêmen de caprinos da raça Alpina, dos 5 aos 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.

Todos os animais testados, a partir dos 6 meses, apresentaram ejaculados com motilidade total acima de 48%. A variação individual foi muito grande. O turbilhonamento e a concentração espermática, a partir dos 7 meses, não apresentaram diferenças estatísticas ($p>0,05$) entre os grupos.

O gráfico do aumento do perímetro escrotal e da motilidade seminal mostrou um crescimento acelerado entre os 5 e 7 meses, seguido de redução aos 8 meses. A partir deste ponto, voltou a crescer até os 10 meses, com redução aos 11 meses e discreto crescimento aos 12 meses (Figura 29).

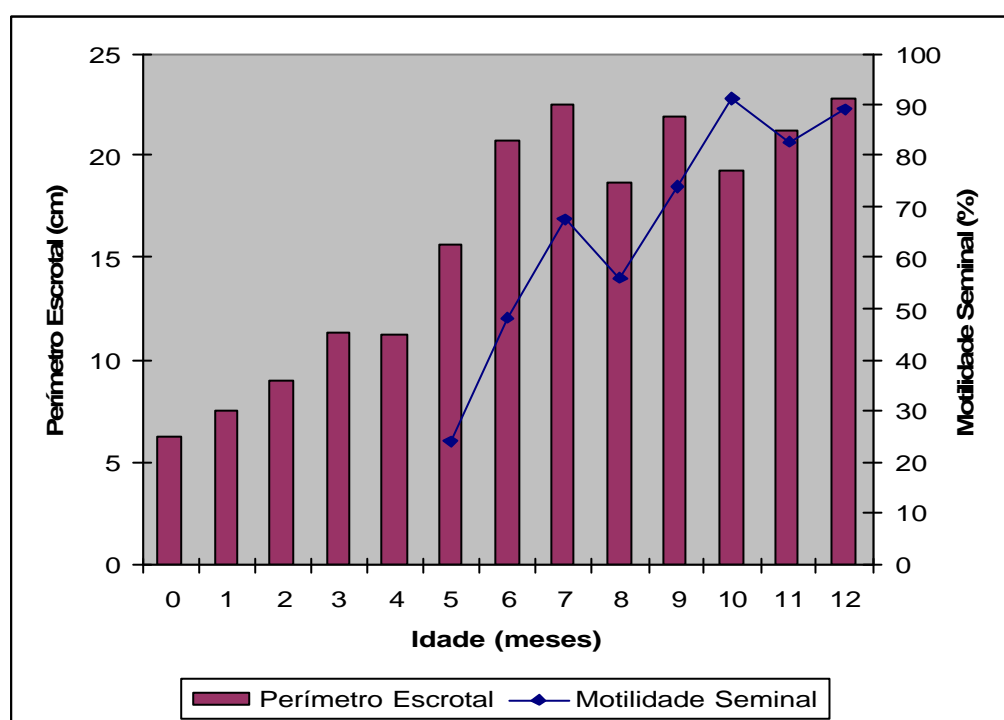


Figura 29 - Aumento do perímetro escrotal e motilidade seminal em caprinos da raça Alpina, do nascimento aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

No presente estudo, o surgimento dos primeiros espermatozoides colhidos ocorreu mais tarde que em trabalho similar que utilizou caprinos da raça Saanen (SILVA, 2000). Estas diferenças podem ser creditadas às diferenças raciais, de nutrição, de manejo, estação do ano. Os animais, do presente experimento, eram de linhagem da raça Alpina pura por cruzamento, criados em sistema semi-intensivo, sujeitos às variações de manejo alimentar, em função das condições climáticas nas diferentes estações do ano, sendo submetidos à umidade excessiva no período chuvoso e a variações na qualidade da forragem no período seco, o que influenciou diretamente os resultados obtidos. Além disso, as coletas

de sêmen foram mais concentradas no período de luminosidade crescente (primavera), com exceção dos animais aos 7 meses que tiveram suas coletas realizadas no outono (Tabela 13).

Tendo como referência os resultados de colheita de sêmen, quando, aos 5 meses, os animais já apresentavam espermatozoides móveis no ejaculado e que, aos 4 meses, 75% dos cabritos apresentavam liberação do pênis do prepúcio, recomenda-se, para a raça Alpina, que a separação dos machos e das fêmeas seja realizada a partir dos 3 meses de idade, para evitar que aconteçam cobrições indesejáveis.

A diferença estatística observada entre a motilidade do sêmen de 7 e de 12 meses indica que, apesar de os animais aos 7 meses terem apresentado valores próximos aos de caprinos adultos, ainda não poderiam ser considerados maduros quanto à característica de motilidade. Os resultados de desempenho dos animais, aos 8 meses, foram inferiores aos dos animais que pertenciam ao grupo de 7 meses, sendo que, a partir de 9 meses, o valor da motilidade foi similar entre os grupos.

Os resultados de concentração, turbilhonamento e vigor espermático dos animais, a partir de 9 meses, foram similares aos dos animais de 12 meses de idade. Isso demonstra que machos da raça Alpina, criados em sistema semi-intensivo nas condições deste estudo, alcançaram a maturidade sexual quanto às características seminais aos 9 meses, em média, tomando-se como base os parâmetros de 70% de motilidade mínima, escore de três como mínimos para vigor e turbilhonamento e 20% de defeitos espermáticos totais.

As características físicas e morfológicas do sêmen entre as fases púbere e pós-púbere exibiram uma melhoria da qualidade e quantidade de espermatozoides, desde o aparecimento da puberdade até os 12 meses. A percentagem de defeitos maiores no ejaculado de caprinos da raça Alpina diminuiu acentuadamente entre os 5 e 7 meses. Aos 8 meses, os animais apresentaram um aumento no número de defeitos maiores. Porém, a partir desta idade, observou-se, até os 12 meses de idade, redução gradual do percentual de defeitos maiores. Observou-se um decréscimo na percentagem de defeitos menores no sêmen dos caprinos, a partir da puberdade, com exceção dos animais com 8 meses de idade, que demonstraram um aumento do percentual de defeitos menores. Com estes resultados, sugere-se que, no período pós-púbere,

ocorre diminuição, principalmente dos defeitos maiores que causam importantes prejuízos à fertilidade.

Os defeitos espermáticos maiores mais frequentes (Tabela 14), encontrados no sêmen, de caprinos da raça Alpina, na puberdade, foram Cabeça Isolada Patológica (CabIP), defeitos de acrossoma (Acros), Gota Citoplasmática Proximal (GCP), Formas Teratológicas, incluindo microcéfalos (Terat), Defeitos de Peça Intermediária (PI); Cauda Fortemente Dobrada ou Enrolada (FortD-E). Um mês após o surgimento dos primeiros espermatozoides, o percentual de defeitos maiores reduziu de 58,4% para 24%.

Tabela 14 - Percentual de defeitos espermáticos maiores em caprinos da raça Alpina de 5 a 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.

Idade mes	Cab Sub	CabI P	Cab EB	Cab P	Cab PAn	Cab CAn	<i>Pouch</i>	<i>Acros</i>	<i>Knob</i>	GCP	Terat	PI	Fort D-E	DG	Cen Cab
5	0,9	6,4	0,8	0,7	0,8	0,5	0,2	4,6	0,6	5,2	12,5	6,8	15,3	1,4	1,7
6	0,3	1,2	0,5	0,5	0,3	0,6	0,3	0,9	0,7	1,2	4,7	3,6	7,3	1,6	0,3
7	0,2	0,3	0,2	0,3	0,1	0,3	0,1	0,3	0,2	0,8	1,2	0,6	0,7	0,7	0,2
8	0,4	0,7	0,3	0,5	0,3	0,5	0,4	1,2	0,4	1,7	0,9	0,9	2,6	0,9	0,6
9	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0	0,3	0,3	0,6	0,1	0,3	0,8	0,5	0
10	0,3	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,2	0,5	0,4	0,4	0	0,6	1,2	0,3	0,2
11	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,2	0,2	0,1	0,4	0,1	0,3	0,4	0,5	0
12	0,1	0	0	0	0	0,1	0,1	0,2	0,1	0,5	0	0,4	0,3	0,3	0

CabSub = Cabeça Subdesenvolvida; CabIP = Cabeça Isolada Patológica; CabEB = Cabeça Estreita na Base; CabP = Cabeça Piriforme; CabPAn = Cabeça Pequena Anormal; CabCAn = Cabeça com Contorno Anormal; *Pouch* = *Pouch Formation*; *Acros* = Defeitos de Acrossoma; *Knob* = *Knobbed sperm*; GCP = Gota citoplasmática proximal; Terat = Formas Teratológicas, incluindo microcéfalos; PI = Defeitos de Peça Intermediária; FortD-E = Cauda Fortemente Dobrada ou Enrolada; DG = Cauda Dobrada com Gota; CenCab = Cauda Enrolada na Cabeça.

Os defeitos menores de maior ocorrência no sêmen (Tabela 15) foram Cabeça Isolada Normal (IsNor), Gota Citoplasmática Distal (GCD).

Tabela 15 - Percentual de defeitos espermáticos menores em caprinos da raça Alpina de 5 a 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.

Idade (meses)	<i>n</i>	<i>CabDel</i>	<i>GLPeqN</i>	<i>IsNor</i>	<i>Abax</i>	<i>CDob</i>	<i>GCD</i>
5	4	0,5	1,2	6,3	0,8	0,5	5,3
6	4	0,3	0,7	5,7	0,7	0,4	4,7
7	3	0,1	0,3	3,5	0,5	0,4	2,3
8	3	0,7	0,8	4,4	1,4	0,9	3,7
9	3	0,5	0,2	2,3	0,3	0,3	1,4
10	4	0,9	0,1	1,7	0,4	0,5	0,5
11	3	0,3	0,2	0,7	0,3	0,3	0,8
12	3	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,4

CabDel = Cabeça Delgada; GLPeqN = Cabeça Larga, Gigante ou Pequena Normal; IsNor = Cabeça Isolada Normal; Abax = Implantação da Cauda Abaxial, Retroaxial ou Oblíqua; CDob = Cauda Dobrada Simples; GCD = Gota Citoplasmática Distal.

O percentual de defeitos totais do sêmen de caprinos da raça Alpina reduziu de 73% na puberdade para 3,3%, aos 12 meses de idade (Tabela 16 e Figura 30).

Tabela 16 - Percentual de defeitos espermáticos maiores e menores, defeitos totais e espermatozoides normais em caprinos da raça Alpina de 5 a 12 meses, criados em sistema semi-intensivo.

<i>Idade (meses)</i>	<i>n</i>	<i>Defeitos Maiores (%)</i>	<i>Defeitos Menores (%)</i>	<i>Defeitos Totais (%)</i>	<i>Espermatozoides Normais (%)</i>
5	4	58,4	14,6	73	27
6	4	24	6,8	30,8	69,2
7	3	6,2	7,1	13,3	86,7
8	3	12,3	11,9	24,2	75,8
9	3	4,1	5	9,1	90,9
10	4	5,1	4,1	9,2	90,8
11	3	2,5	2,6	5,1	94,9
12	3	2,1	1,2	3,3	96,7

A atividade sexual em caprinos pode ser influenciada pela estação do ano e está relacionada às mudanças no fotoperíodo. A tendência à estacionalidade reprodutiva, detectada nos machos caprinos, foi relatada por alguns autores que citam uma variação estacional no que se refere às características de libido e na qualidade seminal. Estes autores indicam que melhores resultados são observados nos animais em períodos de luminosidade decrescentes, especialmente no final do verão e outono. Delgadillo e Chemineau (1992) verificaram que a sazonalidade nos machos é expressa por meio de mudanças marcantes no tamanho testicular, na concentração do hormônio luteinizante (LH) e de andrógenos.

Silva (2000), estudando o desenvolvimento sexual de caprinos Saanen, criados em sistema intensivo, observou uma tendência à estacionalidade de libido dos animais. Trabalhos desenvolvidos por Santos et al. (2006) com machos caprinos das raças Alpina e Saanen, submetidos ao manejo de fotoperíodo artificial, relataram que estes animais foram sensíveis às variações sazonais ao longo do ano e apresentaram variações nas características reprodutivas (comportamento sexual, perímetro escrotal e aspectos quantitativos e qualitativos seminais), mais pronunciados nos adultos. Estes concluíram que o manejo de

fotoperíodo foi eficiente para eliminar ou minimizar estes efeitos, possibilitando a contínua utilização destes animais ao longo do ano e, desta forma, melhorar o aproveitamento do seu potencial genético.

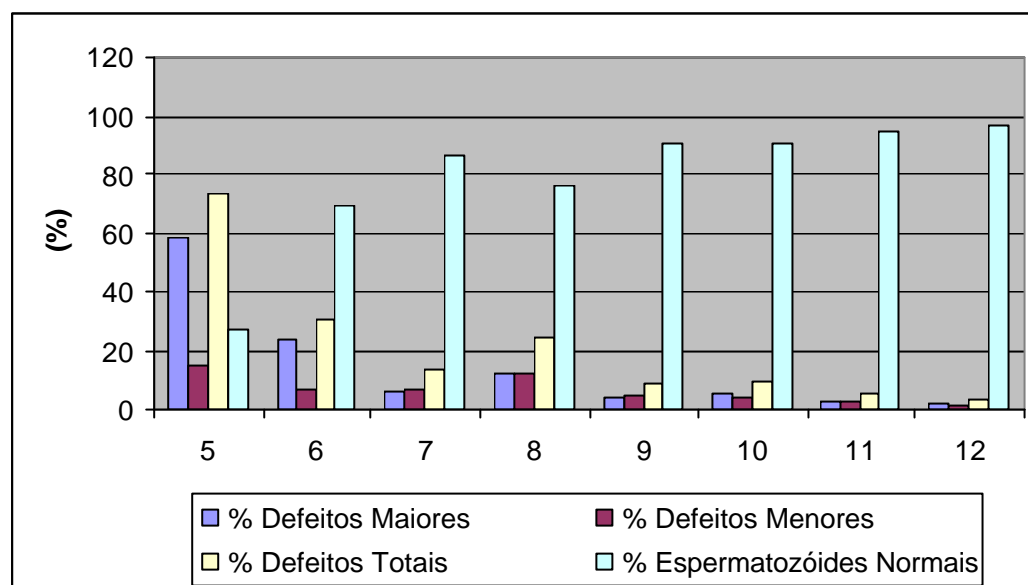


Figura 30 - Percentual de defeitos maiores, defeitos menores, defeitos totais e espermatozoides normais no ejaculado de caprinos da raça Alpina, dos 5 aos 12 meses de idade, criados em sistema semi-intensivo.

Os resultados obtidos sugerem que bodes Alpinos, criados nas condições semi-intensivas praticadas no presente experimento, podem começar a ser utilizados como reprodutores a partir dos 9 meses, evitando-se, entretanto, o desgaste excessivo destes animais até que alcancem a produção espermática compatível com o animal adulto. É importante destacar que a grande variação individual observada quanto à idade, em que as características seminais se mostraram satisfatórias, indica a necessidade de realização de exames andrológicos detalhados, como rotina, antes da colocação do bode em reprodução. Adotando esse procedimento, poderá ser reduzida tanto a subutilização de animais jovens e precoces, quanto o uso impróprio de animais não tão jovens, porém mais tardios que ainda não estejam maduros sexualmente, especialmente em relação à estação do ano.

5. CONCLUSÕES

Conclui-se com esta pesquisa que o perímetro e o volume escrotais apresentam crescimento mais acelerado próximo ao 5º mês de vida, quando surgem os primeiros espermatozoides no ejaculado. O aumento do perímetro escrotal e do peso testicular está fortemente correlacionado com o aumento do peso corporal e com a idade. Os primeiros espermatozoides móveis são encontrados, aos 5 meses, no ejaculado de caprinos Alpinos. Os caprinos Alpinos atingem a maturidade sexual aos 9 meses e podem ser usados como reprodutores a partir desta idade. O desenvolvimento corporal, a biometria testicular, o índice gonadossomático, o diâmetro e volume cordonal ou tubular tiveram crescimento mais acelerado aos 5 meses, indicando a idade púber. Aos 9 meses, os valores de diâmetro tubular, da altura do epitélio seminífero e do comprimento testicular, por grama de testículo, foram característicos de caprinos sexualmente maduros. Os caprinos podem ser classificados, quanto à fase de desenvolvimento testicular, como impúberes, do nascimento aos 2 meses; como pré-púberes, entre os 3 e 4 meses; como púberes, aos 5 meses; como pós-púberes, entre os 6 e 8 meses; e, aos 9 meses, apresentaram características de animais sexualmente maduros. O rendimento geral da espermatogênese foi decrescente até os 7 meses, em função do avanço da idade, devido provavelmente à influência do fotoperíodo. O índice de células de Sertoli cresceu gradualmente desde a puberdade até os 7 meses, apresentando tendência à estabilidade a partir desta idade até os 12 meses. Os machos caprinos são sensíveis às variações sazonais ao longo do ano e apresentam variações no rendimento da espermatogênese. Com as diferenças climáticas existentes nas diversas regiões brasileiras, a estacionalidade reprodutiva dos caprinos é uma realidade. O manejo adequado pode eliminar ou minimizar estes efeitos, possibilitando a utilização contínua destes animais ao longo do ano. Sugere-se que, para melhorar o aproveitamento do potencial genético, visando à produção uniforme de sêmen ao longo do ano, os protocolos de manejo reprodutivo devem ser analisados individualmente e adaptados à latitude, condições climáticas e ao fotoperíodo de cada região.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABDEL-RAOUF, M. The postnatal development of the reproductive organs in bulls with special reference to puberty. *Acta Endocrinologica* v.49, n.34, p.1-100, 1960.

ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear populations from microtome sections. *Anatomy Records*, v.94, p.238-248, 1946.

ABI-SAAB, S.; SLEIMAN, F. T.; NASSAR, K. H. et al. Implication of low and high protein levels on puberty and sexual maturity of growing male goat kids. *Small Ruminant Research*, v.25, n.1, p.17-22, 1997.

AISEN, E. G.; BICUDO, S.D. *Reprodução Ovina e Caprina*. 1.ed. São Paulo MedVet, 203 p., 2008.

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 bulls. VII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. *Journal of Dairy Science*, v.45, p.774-781, 1962.

AMANN, R. P. Sperm production rates. In: JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; VANDEMARK, N. L. (ed) *The Testis*. New York, Academic Press. v.1, cap.7, p.433-482, 1970.

AMANN, R. P. A critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. *Journal of Andrology*, v.2, p.37-58, 1981.

AMANN, R. P.; SCHANBACHER, B. D. Physiology of male reproduction. *Journal of Animal Science*, v.57, n.1, p.380-403 (Supplement), 1983.

APONTE, P. M.; ROOIJ, D. G.; BASTIDAS, P. Testicular development in Brahman bulls. *Theriogenology*, v.64, p.1440-1455, 2005.

ASDELL, S. A. Patterns of mammalian reproduction. Comstock Publishing Co., Ithaca, 437p., 1946.

ASSIS NETO, A. C.; CARVALHO, M. A. M.; MELO, M. I. V.; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F.; 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*, v.40, p.71-79 (suppl.1), 2003.

ASSIS, R. M.; PÉREZ, J. R. O.; BARRETO FILHO, J. B.; PAULA, O. J. de; ALMEIDA, T. R. V.; MACHADO JUNIOR, G. L.; FRANÇA, P. M. Evolução do peso testicular de cordeiros da raça Santa Inês alimentados com diferentes níveis de energia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.5, p.1219-1226, 2008.

ATTAL, J.; COUROT, M. Développement testiculaire et établissement de la spermatogénèse chez le taureau. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* v.3, n.1, p.219-241, 1963.

BACHA, W. J.; BACHA, M. L. *Atlas Colorido de Histologia Veterinária*. 2 ed. São Paulo SP, Roca, 457 p., 2003.

BAKER, J. F.; STEWART, T. S.; LONG, C. R.; CARTWRIGTH, T. C. Multiple regression and principle components analysis of puberty and growth in cattle. *Journal of Animal Science*, v.66, n.9, p.2147-2158, 1988.

BECKER-SILVA, S. C.; MARQUES JÚNIOR, A. P.; ANDRADE, J. S. Peso corporal, biometria escrotal e características seminais de caprinos Saanen do nascimento aos 11 meses de idade. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.23, p.228-230, 1999.

BILASPURI, G. S.; GURAYA, S. S. The seminiferous epithelial cycle and spermatogenesis in goats (*Capra hircus*). *Journal of Agricultural Science Cambridge*, v.103, n.2, p.359-368, 1984.

BLANCO-RODRIGUEZ, J.; MARTÍNEZ-GARCIA, C. Apoptosis pattern elicited by several apoptogenic agents on the seminiferous epithelium of the adult rat testis. *Journal of Andrology*, v.19, n.4, p.487-497, 1998.

BLOM, E. The ultrastructure of some characteristics sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. *Nordisk Veterinær Medicine*, v.25, n.7-8, p.383-391, 1973.

BONDURANT, R. H.; DARIEN, B. J.; MUNRO, C. J.; STABENFELDT, G. H.; WANG, P. Photoperiod induction of fertile oestrus and changes in LH and progesterone concentrations in yearling dairy goats (*Capra hircus*). *Journal of Reproduction and Fertility*, v.63, n.1, p.1-9, 1981.

BORGOHAIN, B. N.; BENJAMIN, B. R.; BARUAH, B. The testicular consistency and scrotal circumference in relation to the seminal characteristics among goats (*Capra hircus*). *Indian Journal Animal Science*. v.53, n.11, p.1233-1235, 1983.

BRESSLER, F. M. Hormonal control of post-natal maturation of the seminiferous cord. *An. Biol. Bioch. Biophys.*, v.8, p.535-540, 1978.

BONGSO, T. A.; JAINUDEEN, M. R.; ZAHRAH, A. S. Relationship of scrotal circumference to age, body weight and onset of spermatogenesis in goats (*Capra Hircus*). *Theriogenology*, v.18, n.5, p.513-524, 1982.

CALDEIRA, B. C. Avaliação morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) adulto. 56p. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007.

CASTRO. A. C. S.; BERNDTSON, W. E.; CARDOSO. F. M. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em estudos de produção de mamíferos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.21, n.1, p.25-34, 1997.

CHAKRABORTY. P. K.; STUART, L. D.; BROWN, J. L. Puberty in the male Nubian goat: serum concentrations of LH, FSH and testosterone from birth through puberty and semen characteristics at sexual maturity. *Animal Reproduction Science*, v.20, n.2, p.91-101, 1989.

CHEMINEAU, P.; MALPAUX, B.; DELGADILLO, J. A.; GUÉRIN, Y.; RAVAUULT, J. P.; THIMONIER, J.; PELLETIER, J. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science*, v.30, n.1, p.157-184, 1992.

CLERMONT, Y.; PEREY, B. The stages of the cycle of the seminiferous epithelium of the rat: practical definitions in PAS-chiff-hematoxylin and hematoxylin-eosin stained sections. *Rev. Can. Biol.* v.16, p.451-462, 1957.

CLERMONT, Y.; HARVEY, S. C. Effects of hormones on spermatogenesis in the rat. Ciba Found, Colloq. *Endocrinology*, v.16, p.173, 1967.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL *Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal*. 2. ed. Belo Horizonte, MG, 1998.

COSTA, D. S. Análise morfofuncional da Espermatogênese e características seminais de Catetos (*Tayassu tajacu*). Tese (Doutorado em Ciências Animal). Belo Horizonte - MG, Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais UFMG, 61p., 2001.

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

COSTA, D. S.; HENRY, M.; PAULA, T. A. R. Espermatogênese de Catetos (*Tayassu tajacu*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, 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, D. S.; MENEZES, C. M.C.; PAULA, T. A. R. Spermatogenesis in white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*). *Animal Reproduction Science*, v.98, p.322-334, 2007.

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

COUROT, M. Prepubertal development and puberty: comparative aspects. *International Journal of Andrology*, v.2, n.1, p. 11-20, 1978.

CURTIS, S. K.; AMANN, R. P. Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. *Journal of Animal Science*, v.53, n.6, p.1645-1657, 1981.

DELGADILLO, J. A.; CHEMINEAU, P. Abolition of the seasonal release of luteinizing hormone and testosterone in Alpine male goats (*Capra hircus*) by short photoperiodic cycles. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.94, n.1, p.45-55, 1992.

DELGADILLO, J.A.; LEBOEUF, B.; CHEMINEAU, P. Abolition of seasonal variations in sêmen quality and maintenance of sperm fertilizing ability by phoyoperiodic cycles in goat bucks. *Small Ruminant Research*, v.9, p.47-59, 1992.

DELGADILLO, J. A.; SANTIAGO-MIRAMONTES, M. A. DE; CARRILLO, E. Season of birth modifies puberty in female and male goats raised under subtropical conditions. *Animal*, v.1, n.6, p.858-864, 2007.

DEVESON, S.; FORSYTH, I. A.; ARENDT, J. Retardation of pubertal development by prenatal long days in goat kids born in autumn. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.95, n.3, p.629-637, 1992.

DORST, V. J.; SAJONSKI, H. Morphometrische untersuchunhen am tubulussystem des schweinehodens während der postnatalen entwicklug. *Monotsh. Ver. Med.* v.29, p.650-652, 1974.

DUKES' Physiology of Domestic Animals, Conell University Press, 856p., 2004.

DUN, R. B. Puberty, in Merino rams. *Australian Veterinary Journal*, v.31, n.4, p.104-106, 1955.

EATON, O. N.; SIMMONS, V. L. A. semen study of goats. *Amererican Journal of Veterinary Research*, v.4, n.11, p.537-544, 1952.

ELWHISY, A. B.; ELSAWAF, F.; OMAR, A. A. Monthly and season variation in sexual activity of male Damascus goats. *Indian Journal of Animal Science*, v.41, n.7, p.562-569, 1971.

ELWHISY, A. B.; ELSAWAF, S. A. Development of sexual activity in male Damascus goats. *Indian Journal of Animal Science*, v.41, n.5, p.350-356, 1971.

EVANS, A. C. O.; PIERSON, R. A.; GARCIA, A.; MACDOUGALL, L. M.; HRUDKA, F., RAWLINGS, N. C. Changes in circulating hormone

concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls. *Theriogenology*, v.46, n.2, p.345-357, 1996.

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, n.2, p.500-532, 1973.

FERREIRA, A. C. S.; GUIMARÃES, D. A. A.; LUZ-RAMOS, R. S.; SOUZA P. C.; BATISTA, C. R.; OHASHI, O. M. Reproductive developmental of male agouti (*Dasyprocta sp*) raised in captivity determined by quantitative analysis of spermatogenic cells. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.28, n.4, p.196-201, 2004.

FONSECA, V. O.; VALE FILHO, V. R.; MIES FILHO, A. *Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal*. Belo Horizonte: CBRA, 79p., 1992.

FOOTE, W. C.; SIMPLÍCIO, A. A. Some factors affecting the reproduction of goats in the semiarid tropics. In: W. L. JOHNSON, W. L.; OLIVEIRA, E. R. *Improving meat goat production in the semiarid tropics*. Davis, University of Califórnia, p. 75-83, 1988.

FRANÇA, L. R. *Desenvolvimento testicular de suínos da raça Piau, do nascimento aos 12 meses de idade*. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas). Belo Horizonte - MG Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais UFMG, 79p., 1987.

FRANÇA, L. R.; CASTRO, A. C. S.; CARDOSO, F. M. Desenvolvimento testicular de suínos Piau. IV. População celular dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.40, n.5, p.339-353, 1988.

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

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

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, n.89, p.274-280, 1999.

FRANÇA, L. R.; SILVA JR., V. A.; GARCIA, H. C.; 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.; 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.

GARCIA, O. de S. *Aspectos patológicos do sêmen de touros*. Belo Horizonte. Escola de Veterinária, UFMG, p.31-48, 1978.

GARCIA, J. M.; PINHEIRO, L. E. L., OKUDA, H. T.. Body development and semen physical and morphological characteristics of young Guzera bulls. *Ars. Vet.*, v.3, n.1, p.47-53, 1987.

GIRÃO, R. N. *et al.* Puberdade de machos caprinos da raça Marota e de mestiços da raça Anglo-Nubiana, no estado do Piauí. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. REUNIÃO ANUAL, 33, 1996, Fortaleza. Anais. Fortaleza: *Sociedade Brasileira de Zootecnia*, p.557-559, 1996.

GODINHO, H. P.; CARDOSO, F. M. Desenvolvimento sexual de porcos Yorkshire. II. Estabelecimento e evolução da espermatogênese. *Arquivo da Escola de Veterinária*. UFMG . v.31, n.3, p.351-361, 1979.

GOMES, W. R. Artificial insemination. In: JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; VAN DENMARK, N. L. eds. *The Testis*. New York, Academic Press, v.1, p.257-279, 1970.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. *Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal*. 2.ed. São Paulo SP, Roca, 395 p., 2008.

GRISWOLD, M. D. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Cell Development Biology*, v.9, p. 411-416, 1998.

HAFEZ, E. S. E., HAFEZ, B. *Reprodução Animal*. 7.ed. Barueri SP, Manole, 513p. 2004.

HALES, D. B. Testicular macrophage modulation of Leydig cell steroidogenesis. *Journal of Reproductive Immunology*, v. 57, p. 3 – 18, 2002.

HARDIN, D. J.; GODFREY, R. W.; HARRISSON, L. M.; RANDEL, R. D. Partial characterization of the pubertal development in Brahman bulls. *Journal of Animal Science*, v.55, n.1, p.20 (Supplement), 1982.

HARVEY, P. H., HARCOURT, A. H. Sperm competition, testes size and breeding systems in primates. In SMITH, R. L. (ed). *Sperm competition and the evolution of animal mating systems*. New York: Academic Press. p.589-600, 1984.

HENINGER, N. L.; STAUB, C.; BLANCHARD, T. L.; JOHNSON, L.; VARNER, D. D.; FORREST, D. W. Germ cell apoptosis in the testes of normal stallions. *Theriogenology*, v.62, p.283-297, 2004.

HENRY, M., NEVES, J. P. *Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal*, 2ed., Belo Horizonte CBRA, 49p., 1998.

HIBBERT, L. M.; RODRIGUES, H. D.; NOBLE, R. C.; VIG, M. M.; GOYAL, H. O. Effects of age and season on sperm abnormalities in Nubian goats. *Anatom. Histol. Embryol.*, v.15, n.2, p.73, 1986.

HUANG, Y. T. Semen quality and genetic correlations with testes size. *Taiwan Sugar*, v.41, n.6, p.20-27, 1994.

JACOBSON, M. D.; WEIL, M.; RAFF, M. C. Programmed cell death in animal development. *Cell*, v.88, p.347-354, 1997.

JOHNSON, L.; NEAVES, W. B. Age-related changes in the leydig cell population, seminiferous tubules, and sperm population in stallions. *Biology of Reproduction*, v.24, p.703-712, 1981.

JOHNSON, L.; NGUYEN, H. B. Annual cycle of the sertoli cell population in adult stallions. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.76, n.2, p.311-316, 1986.

JOHNSON, L. Spermatogenesis. In: *Reproduction in Domestic Animals*. 4 ed. New York Academic Press, p.173-219, 1991.

JOHNSON, L.; VARNER, D. D.; ROBERTS, M. E.; SMITH, T. L. KEILLOR, G. E. SCRUTCHFELD, W. L. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. *Animal Reproduction Science*, v.60-61, p.471-480, 2000.

KARAGIANNIDIS, A.; VARSAKELI, S.; KARATZAS, G. Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology*, v.52, p.1285-1293. 2000.

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.

KILGOUR R. J.; BLOCKEY, M. A. Selection for fertility in rams and bulls. Animal Production in Australia. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* v.13, p.56, 1980.

LAND, R. G. Expression of female sex-limited characters in the male. *Nature*, v.241, n.1, p.208-209, 1973.

LEVASSEUR, W. C.; THIBAUT, C. Ciclos reprodutivos vitais. In: Hafez. E. S. *E Reprodução Animal*. São Paulo, Manole, 4 ed., p.145-167, 1982.

LEWIN, B. (ed) *Genes VII* Porto Alegre: Artes Médicas, 1247p., 2001.

LOW, D. F. J.; JOUBERT, D. M. Puberty in the male Dorper sheep and Boer goat. *Journal of Agricultural Science*, v.7, p.509-520, 1964.

LUETJENS, C. M.; WEINBAUER, G. F.; WISTUBA, J. Primate spermatogenesis: new insights into comparative testicular organisation, spermatogenic efficiency and endocrine control. *Biological Reviews*, v.80, n.3, p.475-488, 2005.

MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A. A.; PINHEIRO, A. Testes objetivos do comportamento sexual do bode. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.18, n.1-2, p.19-20, 1994.

MAIA, M.; VIEIRA, R. J. Comportamento sexual do caprino. II. Aspectos quanti-qualitativos do sêmen do caprino do período pós-púbere. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.16, n.1-2, p.23-32, 1992.

MARTINS, J. A. M. Avaliação da biometria testicular, epididimal e das glândulas sexuais acessórias e correlações entre características biométricas e histológicas em carneiros deslanados sem padrão racial definido (sprd). Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 56p , 2006.

MARTINS, R. D.; MCMANUS, C.; CARVALHÊDO, A. S.; BORGES, H. V.; SILVA, A. E. D. F.; SANTOS, N. R. Avaliação da Sazonalidade Reprodutiva de Carneiros Santa Inês Criados no Distrito Federal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.6, p.1594-1603, 2003.

MASCARENHAS, R. M.; PAULA, T. A. R., MATTA, S. L. P.; LANNA, L. L.; FONSECA, C. C.; NEVES, M. T. D. Morfometria macro e microscópica e índices somáticos dos componentes testiculares de cães sem raça definida, da puberdade à senilidade. *Revista CERES*, v.53, n.305, p.106-112, 2006.

MELO, M. I. V. Desenvolvimento testicular e dinâmica da espermatogênese de búfalos mestiços de 10 a 24 meses de idade. Tese (Mestrado) Belo Horizonte - MG, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. 66p.,1991.

MEMON, M. A., OTT, R. S. Methods of semen preservation and artificial insemination in sheep and goats. *Word Rev. Anim. Prod.*, v.17, n.1, p.19-25, 1981.

MENEZES, C. M. C. Análise morfofuncional da espermatogênese de queixadas (*Tayassu pecari* LINK, 1795). Tese (Mestrado em Produção Animal) Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro-UENF, 65p, 2006.

MIES FILHO, A.; *Reprodução dos Animais e Inseminação Artificial*, 6. ed., Porto Alegre,1987.

MONTEIRO, G. A.; GUASTI, P. N.; PAPA, F. D. Colheita e preservação de células espermáticas de garanhões recuperadas da cauda do epidídimo. *Veterinária e Zootecnia*, v.16, n.3, p.450-460, 2009.

MOSS, J. A.; MELROSE, D. R.; REED, H. C. B.; VANDERPLASCHE, M. Spermatozoa, semen and artificial insemination. In: *Fertility in domestic animals*, p.50-106, 1978.

MRUK, D. D.; CHENG, C. Y. Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocrine Reviews*, v.28, n.6, p.747-806, 2004.

MURTA, D. V. F. Cronologia do desenvolvimento testicular pós-natal em Javalis (*Sus scrofa scrofa*). Tese (Mestrado em Ciência Animal) Campo Grande-MS, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul-UFMS, 107p., 2008.

NAVARRO, R. D., PAULA, T. A. R., MATTA, S. L. P., FONSECA, C. C., NEVES, M. T. D. Efeito da exposição pré e pós-natal ao ultra-som de baixa intensidade sobre a célula de Leydig e demais componentes do espaço intertubular do testículo de camundongos adultos. *Revista CERES*, v. 296, n.51, p.445-455, 2004.

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

NOTTER, D. R.; LUCAS, J. R.; MCLAUGHERTY, F. D. Accuracy of estimation of testis measures in ram lambs. *Theriogenology*, v.15, n.2, p.227-234, 1981.

NUNES, J. F. *Fisiologia sexual do macho caprino*. Sobral Embrapa-CNPC Circular Técnica, n.5, 41p., 1982.

NUNES, J. F. *Inseminação em Caprinos*. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. *Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal*. São Paulo. Varela, 340p., 2001.

ORTAVANT, R., COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M. T. *Spermatogenesis in domestic mammals*. In: COLE, H. H.; CUPPS, P. T. (eds.) *Reproduction in domestic animals*. 3 ed. New York: Academic Press. n.8, p.203-227, 1977.

OKWUN, O. E.; IGBOELI, G.; FORD, J. J.; LUSNTRA, 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, p.137-149, 1996.

PIMENTA FILHO, E. C.; SIMPLÍCIO, A. A. Caprinocultura no Brasil: estágio da arte e perspectivas. *In Anais da I Semana da Caprinocultura e da Ovinocultura Tropical Brasileira*, Sobral, 47-76. (EMBRAPA - CNPC.Documentos, 23), 1994.

PHILLIPS, R. M.; SCHOTT, R. G.; EATON, O. N.; SIMMONS, V. L. Season variation in the semen of sheep and goats. *Corn. Vet.*, v.3, n.3, p.117-124, 1948.

RASBAND, W. National Institute of Health, USA,. 2005 Software disponível em <http://rsb.info.nih.gov/ij/>

REDDY, K. K.; RAO, A .O.; RAO, P. N.; KHISHNAMACHARYULU .Effects of season and age on the seminal attributes of local bucks. *Indian Journal of Animal Science*, v.59, n.1, p.107-109, 1989.

RESENDE K. T. *Métodos de estimativa da composição corporal e exigências nutricionais de proteínas, energia e microelementos inorgânicos de caprinos em crescimento*. Tese (Doutorado) Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa-UFV, 130p., 1989.

RIBEIRO, S. D. A. *Caprinocultura: Criação racional de caprinos*. São Paulo: Nobel, 328p., 1998.

RODRIGUES, M. H. *Efeito da manipulação do fotoperíodo na indução do estro em cabras leiteiras mestiças*. Tese (Mestrado) Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa-UFV, 64 p., 1992.

RODRIGUES, M. H.; FONSECA, F. A.; ESPESCHIT, C. J. B.; RODRIGUES, M. T. Efeito da manipulação do fotoperíodo na indução do estro em cabras leiteiras mestiças. *Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia*, v.23, n.6, p.909-915, 1994.

RUSSELL, L. D.; PETERSON, R. N. Determination of the elongate spermatid. Sertoli cell ratio in various mammals. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.70, n.2, p.635-641, 1984.

RUSSELL, L. D.; ETLIN, R. A.; SINHA HIKIM, A. P.; CLEGG, E. D. (ed.) *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Cache River Press, Clearwater, Florida, 286p., 1990.

SAID. T. M.; PAASCH, U.; GLANDER, H. J.; AGARWAL, A. Role of caspases in male infertility. *Human Reproduction Update*, v.10, p.39-51, 2004.

SAHNI, K. L., ROY. A note on seasonal variation in the occurrence of abnormal spermatozoa in different breeds of sheep and goat under tropical conditions. *Ind. Anim. Sci.*, v.42, n.7, p.501-504, 1972.

SANTOS D. O.; SIMPLÍCIO, A. A. Parâmetros escroto-testiculares e de sêmen em caprinos adultos submetidos à insulação escrotal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.35, n.9, p.1835-1841, 2000.

SANTOS A. D. F.; TORRES, C. A. A.; FONSECA, J. F.; BORGES, A. M.; COSTA, E. P.; GUIMARÃES, J. D.; ROVAY, H. Parâmetros reprodutivos de bodes submetidos ao manejo de fotoperíodo artificial. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.5, p.1926-1933, 2006.

SAXENA, V. B.; TRIPATHI, S. S. Physico-chemical and morphological attributes of semen of Jamnapari bucks. *Indian Journal of Animal Science*, v.50, n. 9, p.775-777, 1980.

SCHINCKEL, A. P.; JOHNSON, R. K.; PUMFREY, R. J.; ZIMMERMAN, D. R. Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive performance. *Journal of Animal Science*, v.56, n.5, p.1065- 1076, 1983.

SCHINCKEL, A. P.; JOHNSON, R. K.; KITOK, R. J. Relationships among measures of testicular development and endocrine functions in boars. *Journal of Animal Science*, v.58, n.5, p.1255-1261, 1984.

SETCHELL, B. P. Male reproductive organs and semen. In: CUPPS, P. T. (ed). *Reproduction of domestic animals*. New York: Academic Press, p.221-249, 1991.

SETCHELL, B. P. Spermatogenesis and spermatozoa. In: AUSTIN, C. R.; SHORT, RV (ed). *Reproduction in mammalian*. London: Elek, v.1, p.63-101, 1982.

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

SHORT, R. V. The testis: the witness of the mating system, the site of mutation and the engine of desire. *Acta Paediatric.*, New York, v.422, p.3-7 (Suppl), 1997.

SILVA JR, V. A.; VIEIRA C. F. P.; PAULA T. A. R.; PALMA, M. B.; AMORIM, A. A.; MANHÃES, T.C. Neonatal treatment with naloxone increases the population of Sertoli cells and sperm production in adult rats. *Reproduction Nutrition Development*, v.46, p.157-166, 2006.

SILVA, S.C.B. *Caracterização histológica e seminal do desenvolvimento sexual de caprinos Saanen, criados em sistema intensivo*. Tese (Mestrado) Belo Horizonte - MG Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, 117p, 2000.

SIMPLÍCIO, A. A.; SANTOS, D. O.; SALLES, H. O. Manejo de caprinos para produção de leite em regiões tropicais, *Ciência Animal*, v.10, n.1, p.13-27, 2000.

SKALET, L. H.; RODRIGUES, H. D.; GOYAL, H. O.; MALONEY, M. A.; DUNN, Effects of age and season on the type and occurrence of sperm abnormalities in Nubian bucks. *Journal of Animal Science*, v.49, n.8, p.86-94, 1988.

SKINNER, J. D. Pos-natal development of the reproductive tract of the male Boer goat. *Agroanimalia*, v.2, p.177-180, 1970.

SKINNER, J. D. Pos-natal development of the reproductive tract in Dorper ram. *Agroanimalia*, v.3, p.7-12, 1971.

SMITH, M. C. The reproductive anatomy and physiology of the male goat. In: MORROW, D. A. (ed) *Current Therapy in Theriogenology*. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders. p.616-618, 1986.

SOUZA, P. C.; PAULA T. A. R.; NATALI, A. J.; MATTA, S. L. P.; COSTA, D. S., FONSECA, C. C.; SARTI, P. Efeito do exercício crônico voluntário e do sedentarismo, com e sem o uso do esteroide anabólico nandrolona, sobre os componentes do parênquima testicular de ratos adultos. *Revista CERES* v.53, n.300, p.305-316, 2005.

SPRANDO, R. L. Perfusion of the rat testis through the heart using heparin. In: *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*, ed. RUSSEL, L. D.; ETTLIN R.; SINHA HIKIM A. P.; CLEGG E. D. Cache River Press, Clearwater, p. 277-280, 1990.

SUIRE, S.; FONTAINE, I.; GUILLOU, F. Follicle stimulating hormone (FSH) stimulates transferrin gene transcription in rat Sertoli cells: cis and trans-acting

elements involved in FSH action via cyclic adenosine 3', 5' - monophosphate on the transferrin gene. *Molecular Endocrinology*, v.9, p.756-766, 1995.

SUN, EL. L.; GONDOS, B.; LONG, D. Tubular lumen formation in the postnatal rat testis. *Biology of Reproduction*, v.32, n.1, p.218, 1985.

SYLVESTER S. R.; GRISWOLD M. D. The testicular iron shuttle: a "nurse" function of the Sertoli Cells. *Journal of Andrology*, v.15, n.5, p.381-385, 1994.

THOMAS, U. P.; RAJA, C. K .S. V. Histological changes of testis during postnatal maturity in pigs. *Journal of Veterinary Science* v.22, n.2, p.296-310, 1980.

TRALDI, A. S. *Aspectos físicos e morfológicos do sêmen de caprinos da raça Moxotó, da puberdade à maturidade sexual*. Tese (Mestrado) Belo Horizonte - MG, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, 92p.,1983.

TREJO, G. A.; MARQUEZ, M. Ma. D.; SALAZAR, C. E. Testis growth, seminal quality, sperm reserves and testosterone production in Alpin kids treated hormonally around puberty. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 11, Dublin; Brief communications...Dublin University College, v. 3, p.386, 1988.

TRON, J. L. Reproducción. In: AGUIRRE, S.I.A., Produccion de caprinos. México. D.C., A.G.T. p.183-234, 1986.

VINHA, N. A. Variação estacional na produção e qualidade do sêmen de *Capra hircus*. Arquivo da Escola de Veterinária UFMG, v.27, n.1, p.23-28, 1975.

WALB, V. B.; JOBIM, M.; OBERST, E. R. Produção espermática em caprinos: influência etária e sazonal. *A Hora Veterinária*, v.42 , p.45-48, 1988.

WALKER, W. H.; CHENG, J. FSH and testosterone signaling in Sertoli cells. *Reproduction*, v.130, p.15-28, 2005.

WATSON, R. H.; SAPSFORD, C. S.; McCANCE, I. The development of testis, epididymis, and penis in the young Merino ram. *Austr. J. Agric. Res.*, v.7, n.6, p.576-590, 1956.

WEBB, E. C.; DOMBO, M. H.; ROETS, M. Seasonal variation in semen quality of Gorno Altai cashmere goats and South African indigenous goats. *South African Journal of Animal Science*, v.34, n.1, p.240-243, 2004.

WILKINS, L. Preliminary observations on the semen of goats. *Royal Army Vet. Corps*, v.34, p.20-27, 1963.

WOLF, F. R.; ALMQUIST, J. O.; HALE, E. B.. Prepubertal behavior and pubertal characteristics of beef bulls on high nutrient allowance. *Journal of Animal Science*, v.24, n.3, p.761-765, 1965.

YARNEY, T. A., SANFORD, L. M. Pubertal development of ram lambs: physical and endocrinological traits in combination as indices of postpubertal reproductive function. *Theriogenology*, v.40, p.735-744, 1993.

YIN, Y. Z.; STAHL, B. C.; DeWOLF, W. C.; MORGENTALER, A. P53-mediated germ cell quality control in spermatogenesis. *Developmental Biology*, v.204, p.165-171, 1998.

7 ANEXOS

7.1. ANEXO1

SOLUÇÃO FORMOL-SALINA (Hancock, 1957) (Técnica de preparação)

Solução estoque de NaCl

NaCl.....9,01g
Água destilada.....500ml

Solução estoque-tampão

Solução 1

Na₂HPO₄.....21,68g
Água destilada q.s.p.....500ml

Solução 2

KH₂PO₄.....11,13g
Água destilada q.s.p.....500ml

Solução tampão final

Adicionar 200ml da solução 1 em 80ml da solução 2

Solução formol-salina

Solução estoque de NaCl.....150ml
Solução estoque -tampão.....100ml
Formaldeído 40%.....62,5%
Água destilada.....500ml

7.2. ANEXO 2

COLORAÇÃO DE SÊMEN PELO VERMELHO CONGO (Cerovsky, 1976)

- 1- Preparar 100ml de solução aquosa saturada de vermelho congo;
- 2- Preparar 100ml de solução aquosa a 0,5% de violeta de genciana;
 - Fazer esfregaço delgado com sêmen fresco e secar ao ar;
 - Imergir a lâmina na solução de vermelho congo por um minuto;
 - Lavar em água corrente suavemente;
 - Secar ao ar;
 - Imergir na solução de violeta genciana por 30 segundos;
 - Lavar suavemente em água corrente
 - Secar ao ar.

7.3. ANEXO 3

SOLUÇÃO FIXADORA DE GLUTARALDEÍDO 4% EM TAMPÃO FOSFATO A
0,05M

Tampão fosfato

Solução A (fosfato de sódio monobásico a 0,2M)NaH₂PO₄H₂O.....2,76g/100mlH₂Oq.s.p.NaH₂PO₄2H₂O.....3,12g/100mlH₂Oq.s.p.Solução B (fosfato de sódio dibásico a 0,2M)HPO₄(anidro).....2,48g/100mlH₂Oq.s.p.HPO₄2H₂O.....3,56g/100mlH₂Oq.s.p.HPO₄7H₂O.....5,37g/100mlH₂Oq.s.p.HPO₄12H₂O.....7,17g/100mlH₂Oq.s.p.

Preparar cerca de 23ml da solução A e 77ml da solução B para obter um pH de
7,2

Preparo da solução fixadora de glutaraldeído a 4%

Tampão fosfato a 0,2 M.....25ml

Glutaraldeído a 25%.....16ml

H₂O q.s.p.....100ml

7.4. ANEXO 4

COLORAÇÃO PELO AZUL DE TOLUIDINA-BORATO DE SÓDIO

Solução corante

Azul de toluidina.....0,5g

Borato de sódio.....1g

Água destilada.....99ml

Dissolver 1g de borato de sódio em 99ml de água destilada e, em seguida, acrescentar 0,5g de azul de toluidina. Agitar e filtrar em papel de filtro. Conservar em vidro escuro.

Coloração

Lavar em água corrente.....2 minutos

Corar com azul de toluidina-borato.....15 segundos a 1 minuto

Lavar em água corrente até diferenciação e retirada do excesso de corante ou resina

Secar à temperatura ambiente

Montar a lâmina

7.5. ANEXO 5

Parâmetros de configuração utilizados para análise do sêmen ovino no Hamilton Thorn Research modelo Ceros 10.8

Frames acquired	30
Minimum contrast	56
Minimum cell size	5 pixel
Threshold straightness	80%
Medium VAP cut-off	60
Low VAP cut-off	10
Low VSL cut-off	0
Non-motile head size	2
Non-motile head intensity	80
Frame rate	60 Hz
Static size limits	0,43 a 10
Static intensity limits	0,63 a 1,35
Static elongation limits	10 a 80
Magnification	2,04
Chamber	20 µm