



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI**

**DETERMINAÇÃO DE PUBERDADE EM CUTIAS (Rodentia:
Dasyproctidae) CRIADAS EM CATIVEIRO, ATRAVÉS DA
QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS.**

ANA CÁSSIA SARMENTO FERREIRA

**BELÉM-PA
2002**

ANA CÁSSIA SARMENTO FERREIRA

**DETERMINAÇÃO DE PUBERDADE EM CUTIAS (Rodentia:
Dasyproctidae) CRIADAS EM CATIVEIRO, ATRAVÉS DA
QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Curso de Mestrado, do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Zoologia.

Orientador: Dr. Otávio Mitio Ohashi

**BELÉM-PA
2002**

ANA CÁSSIA SARMENTO FERREIRA

**DETERMINAÇÃO DE PUBERDADE EM CUTIAS (Rodentia
Dasyproctidae) CRIADAS EM CATIVEIRO, ATRAVÉS DA
QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS.**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre no curso de Pós-Graduação em Zoologia do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará , à comissão formada pelos professores:

Orientador:

Prof. Dr. Otávio Mitio Ohashi
Departamento de Biologia, UFPA

Prof. Dr. Luis Renato de França
Departamento de Morfologia, UFMG

Prof. Dr. Rommel Rodriguez Burbano
Departamento de Biologia, UFPA

Prof. Dra. Diva Anélie Guimarães
Centro de Educação, UFPA

Prof. Dra. Hilma Lúcia Tavares Dias (suplente)
Departamento de Biologia, UFPA

“Quando se viaja em direção a um objetivo é muito importante prestar atenção no caminho. O caminho é que sempre nos ensina a melhor maneira de chegar, e nos enriquece, enquanto o estamos cruzando”

“O guerreiro sabe que é livre para escolher o que desejar; suas decisões são tomadas com coragem, desprendimento e as vezes com uma certa dose de loucura.”

“O caminho da sabedoria é não ter medo de errar”

Paulo Coelho

DEDICATÓRIA

À minha família, especialmente,
meus amados pais
.. José Augusto e Ana Maria
À meu grande amor, Augusto.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida

À minha família, pelo apoio e compreensão, especialmente meus pais José Augusto e Ana Maria, meus irmãos, dentre eles, Carlos, o responsável pelo *abstract*, do presente trabalho, e minha sobrinha Jéssica.

À meu amor, Augusto, pelo seu incentivo, força, paciência e acima de tudo seu amor.

Ao prof. Dr. Otávio Ohashi, pela orientação, paciência e gratidão, o qual contribui para a minha formação profissional.

Aos amigos e grande equipe do Laboratório de Reprodução Animal: Prof. Dr. Diva Guimarães; Msc. Rosemar Luz; bolsistas de iniciação científica Patrícia Carvalho e Cleber Batista.

As minhas grandes amigas Msc. Adriana Reis e Angélica Rodrigues, pela força e incentivo e eterna Amizade.

Aos amigos do Laboratório de Fertilização *in vitro*, especialmente Moysés Miranda, pela ajuda nos momentos difíceis.

Aos funcionários do Biotério, especialmente, o técnico agropecuário José Tavares e o Engenheiro agrônomo Jonas, que me auxiliaram no processamento histológico.

Aos meninos que trabalham com os animais, Amarildo, Marcelo, Seu Carlos e especialmente Manoel (irmão), que me ajudaram com os animais.

Ao Laboratório de Citogenética Animal, aos professores Júlio e Cleuza, que cederam seu laboratório, e ao aluno de mestrado Augusto que foi o responsável pela exposição fotográfica desse trabalho.

Ao Colega Msc. Nazareno, que me ensinou no início desse trabalho.

Aos amigos do curso de mestrado do Museu Paraense Emílio Goeldi, Simone, Cláudia, André, Robson, Ricardo, Kemmel, Gabriel e Luciano pela alegre convivência e a união durante o período de stresse das disciplinas.

A todos os meus amigos da graduação que estão longe e aos que ainda estão por aqui em busca do sucesso profissional.

A secretária da pós-graduação do MPEG Ana Cristina, que sempre me auxiliou durante o período do curso.

Ao Museu Paraense Emílio Goeldi e a Universidade Federal do Pará, instituições responsáveis pelo curso de Pós-graduação em Zoologia.

À CAPES pelo suporte financeiro

E finalmente à todos que contribuíram com a realização desse trabalho.

Ana Cássia Sarmiento Ferreira

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS _____	viii
LISTA DE TABELAS _____	xi
RESUMO _____	xii
ABSTRACT _____	xiv
1- INTRODUÇÃO _____	1
1.1- CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ORDEM RODENTIA	4
1.2- FAMÍLIA DASYPROCTIDAE	5
1.3- CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DO GÊNERO <i>Dasyprocta</i> .	5
1.4- CARACTERÍSTICAS GERAIS DO GÊNERO <i>Dasyprocta</i>	6
1.4.1- Morfologia Externa.	8
1.4.2- Corportamento e Reprodução.	9
1.5- SISTEMA GENITAL MASCULINO	9
1.5.1- Morfofisiologia do Sistema Genital Masculino	9
1.6- O CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO E ESPERMATOGÊNESE	11
1.7- CLASSIFICAÇÃO DOS ESTÁDIOS DO CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO.	17
1.8- QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS	20
1.9- FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESTÁDIOS DO CES.	22
1.10- PUBERDADE	24

2- OBJETIVOS	32
2.1- OBJETIVO GERAL	32
2.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
3- MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1- ANIMAIS.	27
3.2- GRUPOS	27
3.3- COLHEITA DE MATERIAL E PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO	28
3.4- QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS	29
3.5- FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESTÁDIOS DO CES	31
3.6- RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DAS CÉLULAS DE SERTOLI	31
3.7- ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
4- RESULTADOS	32
4.1- PESO CORPORAL	32
4.2- BIOMETRIA TESTICULAR	32
4.3- DIÂMETRO DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS	34
4.4- DETERMINAÇÃO DAS FASES DE DESENVOLVIMENTO REPRODU TIVO ATRAVÉS DA QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATO GÊNICAS DE CUTIAS (<i>Dasyprocta sp.</i>)	34
4.5- RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DE CÉLU LAS DE SERTOLI	43
4.6- CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ESTÁDIOS QUE COMPÕEM O CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO DE CUTIAS (<i>Dasyprocta sp.</i>)	45
4.7- DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESTÁDIOS DO CES	52

5- DISCUSSÃO	54
5.1- PESO CORPORAL	54
5.2- BIOMETRIA TESTICULAR	54
5.3- DIÂMETRO DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS	56
5.4- DETERMINAÇÃO DAS FASES DE DESENVOLVIMENTO REPRODU TIVO ATRAVÉS DA QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATO GÊNICAS DE CUTIAS (<i>Dasyprocta sp.</i>)	57
5.5- RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DAS CÉ LULAS DE SERTOLI	59
5.6- CARACTERIZAÇÃO DOS ESTÁDIOS QUE COMPÕEM O CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO E DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA RELA TIVA DOS ESTÁDIOS	61
6- CONCLUSÕES	64
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXOS	78

LISTA DE FIGURAS	Pag.
Figura 1: Mapa de ocorrência das espécies do gênero <i>Dasyprocta</i> no Brasil.	7
Figura 2: Exemplos de duas espécies de cutias, <i>D. prymnolopha</i> e <i>D. leporina</i> , criadas em cativeiro do biotério da UFPA.	8
Figura 3 a e b: Sistema genital masculino em cutias; a) morfologia do pênis, com seta indicando as lâminas córneas no pênis; b) morfologia do aparelho reprodutor, com seta indicando os espículos do pênis.	10
Figura 4: Cirurgia de castração unilateral, em animal previamente sedado, para retirada do testículo.	29
Figura 5: Evolução do diâmetro tubular relação a idade, a seta indica a fase da puberdade.	37
Figura 6: Evolução das células espermatogênicas e de Sertoli em relação a idade, com a seta indicando a fase da puberdade.	38
Figura 7: Evolução das células espermatogênicas e do peso testicular.	39
Figura 8: Fase Impúbere, no interior dos túbulos seminíferos foram observadas espermatogônias do tipo A (A) e células indiferenciadas de suporte (CIS).	42
Figura 9: Fase de pré-puberdade, foram observadas espermatogônias do tipo A (A), espermatócitos em pré-leptóteno/Leptóteno (PI/L) e paquíteno (P) e células indiferenciadas de suporte (CIS).	42
Figura 10: Estádio 1, foram observados espermatogônias do tipo A (A); espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno (PI/L) e paquíteno (P); espermátides arredondadas (Ar) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X.	48

- Figura 11: Estádio 2, espermatogônias do tipo A (A); espermatócitos primários em zigóteno (Z) e em paquíteno (P); espermátides em início de alongamento (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X. 48
- Figura 12: Estádio 3, espermatogônias do tipo A (A); espermatócitos primários em zigóteno (Z) e diplóteno (D); espermátides alongadas se organizando em feixes (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X. 49
- Figura 13: Estádio 4, espermatogônias do tipo A (A) e intermediária (In); espermatócitos primários em paquíteno (P); figuras de meiose (FM); espermatócitos secundários (II); espermátides alongadas em feixes (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X. 49
- Figura 14: Estádio 5, espermatogônias do tipo A (A) e intermediária (In); espermatócitos primários em paquíteno (P); espermátides arredondadas (Ar), espermátides alongadas em feixes (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X. 50
- Figura 15: Estádio 6, espermatogônias do tipo A (A) e intermediária (In); espermatócitos primários em paquíteno (P); espermátides arredondadas (Ar) e alongadas em feixes dissociados (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X. 50
- Figura 16: Estádio 7, espermatogônias do tipo A (A) e B (B); espermatócitos primários em paquíteno (P); espermátides arredondadas (Ar) e alongadas próximas a borda do lúmen tubular (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40x. 51

Figura 17: Estádio 8, espermatogônias do tipo A (A) e B (B); espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno (Pl/L) e paquíteno (P); espermatídes arredondadas (Ar) e alongadas na borda do lúmen tubular (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40x.

51

Figura 18: Frequência conjunta dos estádios do CES.

53

	Pag.
Tabela 1: Frequência relativa (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero de alguns mamíferos, identificados pelo método da morfologia tubular.	23
Tabela 2: Valores referentes a média total e desvio padrão do peso corporal (Kg), peso testicular (g), comprimento testicular (cm) e largura testicular (cm) de cutias nos diferentes grupos.	33
Tabela 3: Coeficiente de correlação (r) entre a idade, peso corporal e biometria testicular em cutias de 4 a 17 meses.	33
Tabela 4: Média geral das fases de desenvolvimento reprodutivo referentes a quantificação das células espermatogênicas, células de Sertoli e o diâmetro tubular em μm .	36
Tabela 5: Razão entre o número de espermátides arredondadas e espermatogônias A em cutias de 8 a 17 meses.	44
Tabela 6: Razão entre o número de células de Sertoli e o número de células espermatogênicas em cutias de 8 a 17 meses.	44
Tabela 7: Frequência relativa (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em cutias nas diferentes idades.	53

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo determinar o período que ocorre a puberdade e a maturidade sexual em cutias (*Dasyprocta sp.*), além da caracterização dos estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES), determinação da frequência relativa dos estádios, e calcular a eficiência da espermatogênese. Foram utilizados 7 grupos, onde os animais foram alocados de acordo com a idade, no G1 (4 e 5 meses, n=4), G2 (6 e 7 meses, n=4), G3 (8 e 9 meses, n=4), G4 (10 e 11 meses, n=3), G5 (12 e 13 meses, n=4), G6 (14 e 15 meses, n=3) e G7 (16 e 17 meses, n=2). As amostras testiculares foram obtidas através de castração, sob anestesia, e após biometria, foram fixadas durante 24 horas e submetidas ao processamento histológico de rotina, para coloração em HE. As fases de desenvolvimento reprodutivo, foram determinadas através da quantificação das células espermatogênicas de 10 secções transversais de túbulos seminíferos/animal com o contorno circular, onde as mesmas se encontravam no estágio 1 do CES, previamente caracterizado pelo método da morfologia tubular, por este método foram identificados oito estádios do CES. Nos animais que não apresentavam a atividade espermatogênica completa foram analisados 20 secções transversais de túbulos seminíferos. Na determinação da frequência relativa, 100 secções transversais de túbulos seminíferos/animal foram analisados, para aqueles a partir da puberdade. Os pesos corporais e testiculares apresentaram correlações significativas com a idade e entre si. Esses parâmetros biométricos aumentaram significativamente ($P < 0,05$) e iniciando estabilização próxima a maturidade sexual. Os grupos analisados foram classificados como impúbere (G1); pré-puberdade (G2); puberdade (G3); Pós-puberdade 1 (G4); Pós-puberdade 2 (G5 e G6) e maturidade sexual (G7). A puberdade foi alcançada por volta dos 8 – 9 meses, sendo que a população celular observada nessa fase foi significativa para as demais ($P < 0,05$), a partir da pós-puberdade 1 observou-se aumento não significativo ($P > 0,05$) até o início da maturidade sexual, por volta dos 16 – 17 meses. As

células espermatogênicas apresentaram correlações significativas com o peso testicular. O diâmetro tubular aumentou significativamente ($P < 0,05$) entre os grupos analisados, correspondendo ao aumento das células em seu interior, esses resultados apresentaram correlações significativas com o peso testicular. Após a análise de 1600 túbulos seminíferos, dos oito estádios caracterizados pelo método da morfologia tubular, o estádio com maior frequência no interior dos túbulos seminíferos foi 5, seguido do 2 e 1 respectivamente, ou seja, esses estádios se encontravam em 21,2 %, 18,8% e 16,8% dos túbulos analisados. Ao agrupar a frequência dos estádios, observou-se que a fase pós-meiótica foi a de maior frequência, não sendo significativa para as demais.

ABSTRACT

The main objective of this work is to determine the period when puberty and sexual maturity occurs, thus classify the stages of seminiferous epithelium cycles (SEC), the relative frequency of the stages and compute the spermatogenesis efficiency. 7 groups with ages ranging from 4 to 17 months old were used, divided in the following way: G1 (4 and 5 months, n = 4), G2 (6 and 7 months, n = 4), G3 (8 and 9 months, n = 4), G4 (10 and 11 months, n = 3), G5 (12 and 13 months, n = 4), G6 (14 and 15 months, n = 3), and G7 (16 and 17 months, n = 2). The testis samples were obtained by castration under anaesthesia and their testis samples, after biometrics, were fixed in ALFAC during 24 hours; after that, the samples were submitted to routine histological processing, the tissues obtained then stained in HE. The phases of reproductive development, were determined by the quantification of spermatogenic cells from 10 cross sections of the seminiferous circular boundary tubules/animal, which were in stage 1 of SEC, previously characterized by the tubule morphology method, and which presented eight SEC stages. From 20 cross sections of the seminiferous tubules/animal that did not present complete spermatogenesis. To determine the relative frequency, 100 cross sections of the seminiferous tubules per animal that had attained puberty were analysed. The body and testis weights presented a high significant correlation with age and correlated significantly between themselves. The body weight and testis biometrics increased significantly ($P < 0.05$) until the phase of beginning of sexual maturity. The analysed groups were classified as pre-pubescent (G1), pre-puberty (G2); puberty (G3); post-pubescent 1 (G4); phase post-pubescent 2 (G5 and G6) and adult (G7). The puberty was reached within 8 – 9 months. Cell population observed in this phase was significant to the others ($P < 0.05$); from the post-pubescent 1 on it was observed a non significant increase ($P > 0.05$) until the beginning of the sexual maturity, nearby 16 – 17 months. The spermatogenic cells presented high significant

correlations with testis weight. The tubule diameter increased significantly ($P < 0.05$) among the groups, corresponding to the enlargement of the cells in its interior. These results presented high significant correlations with testis weight. After 1600 analyses of seminiferous tubules, from eight stages characterized by the tubule morphology method, the most frequent inside the seminiferous tubule was 5, followed by 2 and 1, respectively, namely, these stages were found in 21,2 %, 18,8% and 16,8% of the tubules analysed. After grouping the stage frequencies, the post-meiotic phase had a higher frequency, and it was not significant to the others.

1-INTRODUÇÃO

Atualmente o que se tem observado é uma intensa devastação dos ecossistemas tropicais, com perda irrecuperável dos recursos genéticos. A Amazônia em seus complexos ecossistemas possui uma grande diversidade de espécies animais e vegetais e altos índices de endemismo (BODMER & PENN JR, 1997). Essa imensa floresta tropical vem sendo degradada intensivamente nos últimos anos, interferindo na manutenção de muitas espécies silvestres em seus habitats naturais.

A caça que é uma das atividades básicas da floresta, é utilizada como componente essencial na alimentação das famílias que habitam a área rural, sendo dessa forma uma atividade necessária de subsistência. (REDFORD, 1997). Segundo, HOSKEN (1999), as espécies silvestres sofrem com a caça predatória e a destruição de seus habitats, o que podem levá-las a processos de extinção. Portanto, as atividades de caça se forem realizadas de forma irracional, afetará a capacidade de manutenção e o potencial biótico das populações animais silvestres, reduzindo drasticamente o número desses animais na natureza podendo leva-los à extinção (CARVALHO,1981). Com base nisso, são necessários a criação de projetos de conservação da floresta e dos seres que a compõem, estendendo-se além de programas de preservação em parques e reservas ambientais.

Em florestas tropicais várias espécies silvestres apresentam relevada importância na alimentação de populações rurais, devido a fonte de proteína que fornecem (SMITH, 1976). Dentre as espécies silvestres destacam-se, o catitu (*Tayassu tajacu*), o queixada (*Tayassu pecari*), a anta (*Tapirus spp*), o tatu (*Dasyopus novemcinctus*), a cutia (*Dasyprocta sp.*), paca (*Agouti paca*), capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), e o veado (*Mazama sp.*), além de outras espécies (CURTIS & SAAVEDRA, 1991). Por representarem fonte de consumo proteico, a permanência em quantidade e qualidade desses recursos naturais necessita de manejo adequado.

Os conservacionistas atuais afirmam que a criação de animais silvestres com finalidade comercial contribui significativamente para a conservação de algumas espécies da fauna brasileira, especialmente as que possuem potencial zootécnico (HOSKEN,2001). A criação em cativeiro de espécies silvestres pode ser uma das soluções para o aproveitamento de áreas improdutivas de propriedades rurais hoje consideradas marginais (NOGUEIRA-FILHO, 1997).

Entre as espécies da fauna amazônica, os roedores de porte médio, especialmente a *Agouti paca* e *Dasyprocta sp.* ocupam lugar de destaque, em virtude de sua carne ser bastante apreciada e consumida pelas comunidades rurais.

O estudo da função reprodutiva é uma ferramenta que deve ser implementado, pois se torna eficiente na utilização de sistemas apropriados de manejo, onde possibilita o conhecimento da biologia do animal. Diversos estudos com animais domésticos foram realizados com machos nos últimos anos principalmente o que diz respeito ao conhecimento da sua morfologia testicular e aspectos relacionados a sua espermatogênese, onde a determinação da taxa de produção espermática possibilita o melhor manejo e exploração dos reprodutores com alto potencial genético (AMANN & SCHANBACHER, 1983).

O processo espermatogênico é definido como a sequência de eventos citológicos que resultam na formação do espermatozóide maduro a partir de células precursoras (KRETZER & KERR, 1994), sendo considerado um dos mais produtivos sistemas de auto-renovação do corpo (FRANÇA *et al.*, 1998). Segundo JOHNSON (1995) & JOHNSON *et al.* (2000), a espermatogênese é o processo de divisão e diferenciação celular, onde os espermatozóides são produzidos nos testículos. Para FRANÇA *et al.* (1999), é um processo cíclico e altamente coordenado, onde a espermatogônia diplóide divide-se e diferencia-se para formar o espermatozóide, que é uma célula haplóide, e esse

processo abrange diferentes associações celulares, denominado estádios (LEBLOND & CLERMONT, 1952).

O estudo quantitativo das células que compõem o epitélio seminífero é essencial para o entendimento do processo espermatogênico, estando correlacionado com achados fisiológicos e bioquímicos (WING & CHRISTENSEN, 1982), contribui também para a determinação da produção espermática diária (AMANN, 1970). Através da quantificação das células do epitélio seminífero pode-se determinar as fases de desenvolvimento reprodutivo de qualquer espécie sob estudo.

O conhecimento dos ciclos reprodutivo, de machos e de fêmeas, contribuirá para a formação de sistemas de criação de animais silvestres em cativeiro na Amazônia, onde o produtor rural poderá formar o seu próprio criatório e utilizar os recursos que essas espécies possam lhe oferecer, sem a necessidade de retirar os animais que se encontram na natureza, contribuindo para o equilíbrio e a preservação da floresta Amazônica, ao mesmo tempo em que abastece sua necessidade de subsistência.

1.1- CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ORDEM RODENTIA

Segundo SCHAUB (1953), os roedores mais primitivos conhecidos pertenciam ao gênero *Paramys* e foram encontrados em sedimentos da América do Norte da era Cenozóica, entre as épocas Paleoceno e Eoceno. Os *Paramys* pertenciam à subordem Protogomorpha e seriam os possíveis ancestrais de todos os membros da ordem, sendo o gênero mais representativo do Eoceno. Estes animais eram morfologicamente parecidos com os ratos atuais, apresentavam a seguinte fórmula dentária I 1/1, C 0/0, P 2/1 e M 3/3 (WOOD, 1955). A fórmula dentária atual na maioria dos roedores, incluindo a família Dasyproctidae é I 1/1, C 0/0, P 1/1, M 3/3 (EISENBERG, 1989; EMMONS, 1990)

Segundo NOWAK (1991), a ordem Rodentia é o maior grupo entre os mamíferos, apresentando 29 famílias, 426 gêneros e aproximadamente 1.814 espécies atuais. EMMONS (1990) comenta a existência de pelo menos 2.050 espécies. Estão distribuídos por todo o mundo, exceto na Antártica, Oceania e na Nova Zelândia (EISENBERG, 1989).

SIMPSON (1945) dividiu a ordem Rodentia em apenas três subordens: Sciurimorpha, Myomorpha e Hystricomorpha. EISENBERG (1981) cita os problemas da classificação dos roedores em subordens, argumentando que a radiação inicial dos roedores foi explosiva durante o Eoceno, no entanto, faltam registros fósseis para se fazer um adequado encaixe dos grupos naturais das famílias nas diferentes subordens. A sub-ordem Caviomorpha foi proposta pela primeira vez por WOOD (1955) e WOOD & PATTERSON (1959), esses autores propuseram oito subordens: Sciurimorpha, Myomorpha, Hystricomorpha, Caviomorpha, Castorimorpha, Bathyergomorpha, Theridomyorpha e Protogomorpha. Segundo EISENBERG (1989) a subordem Caviomorpha está dividida em quatro Superfamílias: Erethizontoidea, Chinchiloidea, Octodontoidea e Caviodea. Esta última contendo quatro famílias: Caviidae,

Hydrochaeridae, Dasyproctidae e Agoutidae. A divisão da subordem Caviomorpha em nível de família está mostrada na tabela 1.

Quadro 1- Divisão da Subordem Caviomorpha em nível de família.

SUPER-FAMÍLIA	FAMÍLIA
ERETHIZONTOIDEA	Erethizontidae; Dinomyidae
CAVIOIDEA	Agoutidae; Caviidae Dasyproctidae; Hydrochaeridae
CHINCHILLOIDEA	Chinchillidae
OCTODONTOIDEA	Abracomidae; Capromyidae Ctenomyidae; Echimyidae; Octodontidae

1.2- FAMÍLIA DASYPROCTIDAE

SIMPSON (1945), descreveu a família apresentando três gêneros: *Agouti* (pacas), *Dasyprocta* (cutias) e *Myoprocta* (cutiaras). No entanto, REIG (1981, 1984) e WOODS (1982), consideraram o gênero *Agouti*, pertencente à família Agoutidae, e a família Dasyproctidae constituída apenas por dois gêneros *Dasyprocta* e *Myoprocta*.

1.3- CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DO GÊNERO *Dasyprocta*, segundo SIMPSON (1945)

Reino: Animalia Sub-reino: Metazoa

Filo: Chordata Sub-filo: Vertebrata

Super-classe: Tetrapoda Classe: Mammalia Sub-classe: Theria

Infra-classe: Eutheria

Ordem: Rodentia Sub-ordem: Histicomorfa

Super-família: Cavioidea Família: Dasyproctidae

Sub-família: Dasyproctinae

Gênero: *Dasyprocta*

O gênero *Dasyprocta* compreende doze espécies e 33 subespécies (MOREIRA & MACDONALD, 1997).

1.4- CARACTERÍSTICAS GERAIS DO GÊNERO *Dasyprocta*

O gênero *Dasyprocta*, possuem ampla variabilidade geográfica e não possuem revisão taxonômica moderna, dessa forma apresentando várias espécies, porém acredita-se que existam formas intermediárias (EMONNS, 1990).

As espécies do gênero *Dasyprocta* se distribuem do sul do México ao norte da Argentina e sul do Brasil, sendo no último apresentando-se amplamente distribuída (Figura 1). Estão presentes em diversos habitats como floresta de terra firme, várzea, mata ciliar, savana úmida, savana arbustiva, florestas secundárias e em áreas cultivadas (MOREIRA & MACDONALD, 1997). Segundo os autores, as principais atividades da cutia são o forrageamento, enterro de alimentos e patrulha de território, são animais diurnos, porém, MERITT (1983) descreveu que as mesmas podem tornar-se crepusculares ou noturnas quando expostas à interferência humana ou a predação. A cutia é exclusivamente terrestre e sua sociabilidade esta relacionada à disponibilidade de alimentos encontrada no ambiente. A cutia tem como dieta principal os frutos das palmeiras neotropicais, a qual possibilita a dispersão das sementes e contribuem para o reflorestamento natural (MOREIRA & MACDONALD, 1997).

Estudos citogenéticos foram realizados em algumas espécies do gênero *Dasyprocta*, especificamente nas espécies encontradas na Amazônia, onde a *D. prymnolopha*, *D. leporina*, *D. fuliginosa* e *Dasyprocta sp.*, apresentaram o cariótipo $2n=64/65$ cromossomos (LUZ-RAMOS, 1998).

A cutia possui alto valor econômico e pode ser domesticada facilmente, sendo apreciada para o consumo em populações que vivem no campo, sua carne possui um alto valor nutricional, sendo rica em proteínas (27,7%), com baixo teor em lipídeos (2,4%), carboidratos (1,6%), fibras (0,3%) e resíduos (2,9%). (ROMAN, 1997).

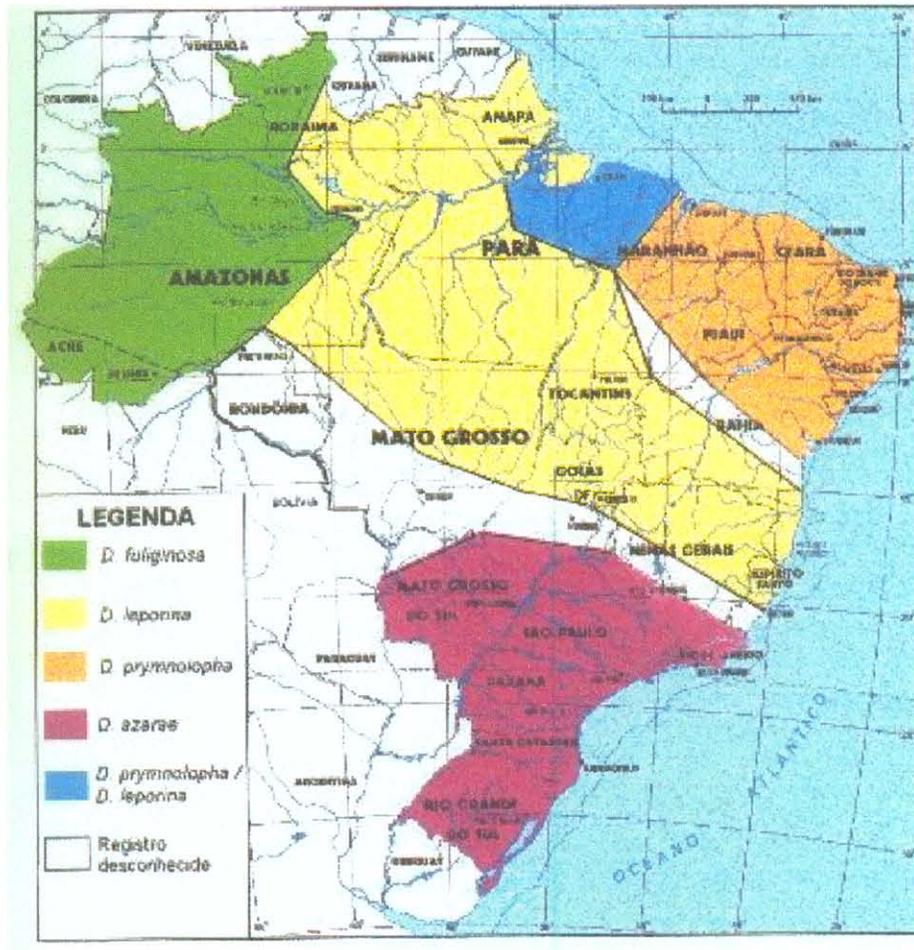


Figura 1: Mapa de ocorrência das espécies do gênero *Dasyprocta* no Brasil (LUZ-RAMOS, 1998)

1.4.1- Morfologia Externa.

O tamanho corporal é variável entre as espécies, podendo medir de 41,5 a 62 cm de comprimento e o peso corporal de 1,3 a 4 Kg, no cativeiro medem em média 39 cm de comprimento e pesam 2,4 Kg. As fêmeas sempre são maiores que os machos. EMMONS (1990), descreveu o gênero com o corpo comprido, pelagem longa no dorso e ancas, orelhas pequenas e cauda curta ou ausente. Segundo EISENBERG (1989), as patas dianteiras apresentam quatro artelhos funcionais e um polegar vestigial, e nas patas posteriores três artelhos. A cor da pelagem varia entre as espécies, de marrom avermelhado a preto no dorso posterior, e nas partes anteriores branco, amarelo ou cinza. A *D. prymnolopha*, apresenta pelagem marrom amarelada com a primna escura no dorso e a *D. leporina*, pelagem marrom, se destacando na parte posterior vermelho intenso (Figura 2).



Figura 2: Exemplos de duas espécies de cutias, a *D. prymnolopha* e *D. leporina*, criadas em cativeiro do biotério da UFPA.

1.4.2- Comportamento e Reprodução.

A competição intra e interespecífica são evitadas pela cutia por meio da dispersão e enterro dos alimentos disponíveis, os quais são enterrados até 50 metros do local de origem, no período de escassez a mesma desenterra os alimentos que são localizados pelo odor e sinais visuais (SMYTHE, 1978; MOREIRA & MACDONALD, 1997). Vivem aos pares ou em número de quatro indivíduos, possuem território estável, próximo a córregos e árvores frutíferas, defendendo-o contra outros adultos do mesmo sexo, a agressividade desses animais varia de acordo com a disponibilidade de alimentos presente em seu território. Quando se sente perseguida a cutia arrepia o pêlo do lombo e com as patas posteriores golpeia o solo (ROMAN,1997), o território de um macho geralmente sobrepõe ao de uma única fêmea, o que leva a formação de pares monogâmicos, raramente sobrepõe mais de uma fêmea. O casal ocupa o território de aproximadamente 3,9 hectare (MOREIRA & MACDONALD, 1997).

Segundo GUIMARÃES (1993; 2000), o período de gestação é em média $104,04 \pm 1,31$ dias e a duração média do seu ciclo estral é em torno de $32,05 \pm 4,17$ dias, a puberdade nas fêmeas ocorre em média aos 9 meses, a mesma autora afirma que em cativeiro, a cutia se reproduz o ano inteiro, onde apresenta reprodução do tipo poliéstral continua, dessa forma é um animal que se adapta bem ao cativeiro. Estudos em machos, ainda não foram realizados, sendo, portanto desconhecidos para o gênero *Dasyprocta*.

1.5- SISTEMA GENITAL MASCULINO

1.5.1-Morfofisiologia do sistema genital masculino em mamíferos.

Os testículos em quase todos os vertebrados são órgãos ovóides encapsulados constituídos por túbulos seminíferos separados por tecido intersticial (SETCHELL *et al*, 1994), localiza-se no interior do escroto. Os espermatozóides saem do

testículo através dos ductos eferentes penetrando no ducto tortuoso do epidídimo, continuando no ducto deferente. As glândulas acessórias liberam suas secreções para o interior dos ductos deferentes ou na porção pélvica da uretra. As glândulas acessórias são constituídas pela próstata, glândulas vesiculares e as glândulas bulbouretrais, que emitem suas secreções para dentro da uretra, onde através da ejaculação, são misturadas com a suspensão fluida de espermatozóides e com as secreções ampolares dos dutos deferentes, sendo o sêmen liberado pelo pênis no momento da cópula (HAFEZ, 1995).

Nos histricomorfos, os testículos estão retidos no canal inguinal ou abdome, o pênis é direcionado posteriormente e tem forma dobrada em Sigmóide (WEIR, 1974). JONES (1834) foi o primeiro a descrever o pênis do gênero *Dasyprocta*, o pênis desses animais chama atenção devido a seu formato anatômico, o qual possui dois espículos na glânde, que é revestida externamente por várias cerdas e lateralmente por duas lâminas córneas (Figura 3 a,b).

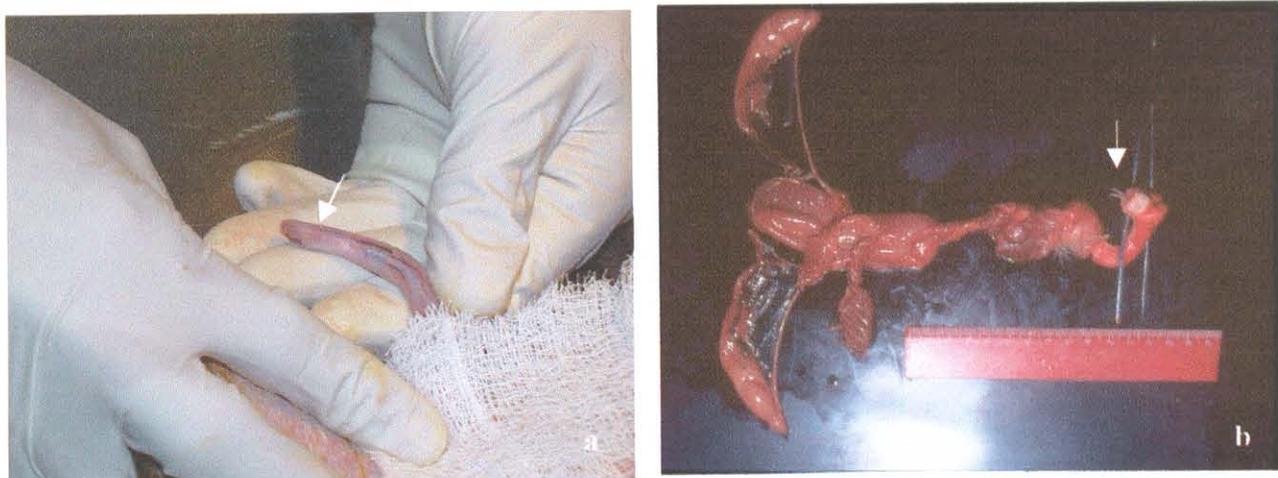


Figura 3 a e b: Sistema genital masculino em cutias; a) morfologia do pênis, com seta indicando as lâminas córneas no pênis; b) morfologia do aparelho reprodutor, com seta indicando os espículos no pênis.

1.6- O EPITÉLIO SEMINÍFERO E ESPERMATOGÊNESE.

O testículo é dividido em dois compartimentos, o intersticial e o compartimento dos túbulos seminíferos (RUSSELL *et al.*, 1990a). No compartimento intersticial se encontram as células Leydig, macrófagos, vasos sanguíneos e linfáticos e fibroblastos. No compartimento dos túbulos seminíferos, o qual é delimitado pelas células mióides, é composto pelas células de Sertoli e células germinativas que incluem espermatogônias, espermátocitos primários e secundários e espermátides (CASTRO, 1995).

No interior dos túbulos seminíferos encontra-se o complexo juncional (junções de oclusão), formado pela zona de contato entre as células de Sertoli que separam as células germinativas em dois compartimentos: o basal, composto pelas células localizadas na base do túbulo, espermatogônias e espermátocitos primários em leptóteno e zigóteno; e o adluminal, composto pelas células próximas ao lúmen, espermátocitos primários em paquíteno e diplóteno, espermátocitos secundários e espermátides. O compartimento intermediário é formado pela transição das células do compartimento basal para o adluminal (RUSSELL, 1976).

O processo espermatogênico envolve multiplicações celulares que conduzem a mudanças na estrutura do testículo, onde ocorre aumento do diâmetro, comprimento e volume tubular. A espermatogênese é o processo onde as células germinativas desenvolvem-se ou diferenciam-se, originando os espermatozóides, inicia-se no período embrionário sendo completo a partir da puberdade persistindo por toda a vida do animal (COURROT *et al.*, 1970).

A espermatogênese é dividida em três fases: 1) fase espermatogonial, onde ocorre proliferação das espermatogônias, o qual dividem-se originando os espermátocitos primários que vão prosseguir na espermatogênese e as espermatogônias tronco (Stem cells)

que irão manter a população necessária para dar continuidade ao processo; 2) a fase meiótica dos espermatócitos, onde ocorre o processo reducional ou divisão meiótica para a formação de células haplóides, as espermátides; 3) a fase de diferenciação das espermátides, a espermiogênese, processo que envolve uma série complexa de transformações citoplasmáticas que resultarão na produção de células altamente especializadas, os espermatozóides (CLERMONT, 1972). O mesmo autor afirma que a primeira e a terceira fase apresentam características morfológicas que são espécie-específicas, e a fase meiótica apresenta aspectos morfológicos comuns entre as espécies de mamíferos.

No geral, a organização da espermatogênese é a mesma em todos os mamíferos, podendo ser dividida em fases completas de desenvolvimento pelo qual passam as células germinativas durante sua vida (SHARPE, 1994; PAULA *et al.*, 1999). Para FRANÇA *et al.*, (1998), a alta produtividade da espermatogênese é caracterizada pela renovável manutenção das associações celulares entre as células germinativas a cada estágio de diferenciação.

A diferenciação da espermatogônia em espermatozóide maduro não ocorre ao acaso dentro do epitélio seminífero, mas sim em bem definidas associações celulares ou estádios em ordem definida, desde a sua formação até o reaparecimento das mesmas em uma determinada área do epitélio seminífero que se sucedem no tempo, esse processo é denominado ciclo do epitélio seminífero (LEBLOND & CLERMONT, 1952). Essas associações contêm espermatogônias, espermatócitos e espermátides em vários estágios de desenvolvimento (BERNDTSON & DESJARDINS, 1974), portanto as células espermatogênicas formam camadas da membrana basal ao lume tubular (CASTRO *et al.*, 1997). O conhecimento do ciclo do epitélio seminífero é fundamental para o total

entendimento das técnicas usadas para a quantificação da espermatogênese (BERNDTSON, 1977; FRANÇA *et al.*, 1999).

A classificação dos tipos celulares encontrados no interior dos túbulos seminíferos será descrita abaixo, baseada na classificação feita por COUROT *et al.* (1970); CLERMONT (1972) e KRETZER & KERR (1994).

Gonócitos: apresentam núcleo com forma regular apresentando cromatina poeirenta levemente granular, e nucléolo evidente. Possuem atividade mitótica que permite a formação de grandes reservas celulares e a formação a espermatogônia iniciando a espermatogênese. Estão presentes nos cordões sexuais.

Células indiferenciadas de suporte: são células somáticas com núcleo em forma arredondada arranjados em uma densa camada na periferia dos cordões sexuais, sua cromatina apresenta-se densa.

As espermatogônias indiferenciadas são subdivididas de acordo com seus arranjos topográficos na membrana basal, são elas, a A_{single} ou isolada (A_s) considerada a espermatogônia tronco; a A_{paired} ou pareada (A_{pr}), originam-se a partir da A_s e são conectadas por pontes intercelulares e a $A_{aligned}$ alinhada (A_{al}), originada após a divisão da A_{pr} . A A_{al} se divide e da origem a espermatogônia A_1 , sendo a última a primeira geração das espermatogônias diferenciadas. A espermatogônia diferenciada entrará em uma série completa de seis divisões passando pela A_2 , A_3 , A_4 , intermediária e B, até a origem do espermatócito primário (ROOIJ, 1998).

No interior de túbulos seminíferos de animais adultos, através de microscopia de luz, são observados três tipos básicos de espermatogônias (COUROT, *et al.*, 1970).

Espermatogônia tipo A: são células com núcleo ovóide achatado contendo grânulos finos de cromatina, apresentando aspecto poeirento, essas células localizam-se

adjacente à membrana basal. Dividem-se originando outras espermatogônias do tipo A, o qual irão manter seus estoques e espermatogônias intermediárias.

Espermatogônia Intermediária: Apresenta característica nuclear intermediária do tipo A e B, pode ser identificada pela presença de finas placas de cromatina, o tamanho do núcleo diminui progressivamente. Divide-se e originam espermatogônias do tipo B.

Espermatogônias tipo B: são menores que as espermatogônias A, com núcleo ovóide, sua cromatina apresenta-se com grânulos grossos, possui coloração escura, originam espermátocitos primários.

Os espermátocitos provenientes das espermatogônias B iniciam a divisão meiótica podendo ser classificados em espermátocitos primários e secundários. Os espermátocitos primários sofrem a primeira divisão meiótica, onde a prófase nessa divisão é caracteristicamente de longa duração, e as células nessa fase demonstram aspecto nuclear baseado na aparência e morfologia de seus cromossomos, divide-se em:

Pré-leptóteno/Leptóteno: são conhecidos como espermátocitos jovens, onde os finos filamentos de cromatina apresentam-se individualizados no núcleo, iniciando o processo de condensação dos cromossomos. Ocorre síntese de DNA na fase de pré-leptóteno.

Zigóteno: Ocorre a compactação e pareamento dos pares de cromossomos homólogos processo conhecido como sinapse, assumem forma de “bouquet”, o volume nuclear aumenta os cromossomos ficam mais curtos e grossos.

Paquíteno: Nessa fase inicia-se a troca de material genético entre os cromossomos homólogos materno e paternos através do crossing-over. A condensação cromossômica é intensa nessa fase e o núcleo aumenta ainda mais de tamanho, os cromossomos localizam-se na porção central ocupando todo o núcleo das células.

Diplóteno: O tamanho nuclear é máximo nessa fase, ocorre a migração dos cromossomos para a periferia do núcleo, porém os cromossomos permanecem ligados entre si através dos quiasmas.

A diacinese é rapidamente seguida pela dissociação da membrana nuclear, as células entram subseqüentemente na metáfase, anáfase e telófase, originando os espermatócitos secundários.

Os espermatócitos secundários são visíveis apenas no estágio 4 do ciclo do epitélio seminífero juntamente com as figuras de meiose. Possuem vida curta e são pouco observados no túbulo seminífero. Possuem número haplóide de cromossomo com conteúdo de DNA 2C, ao sofrer a meiose II originam as espermátides que possuem cromossomos haplóides com conteúdo de DNA 1C.

Espermátides: são células haplóides, derivadas da segunda divisão meiótica, que sofrem complexas transformações morfológicas resultando na formação dos espermatozóides, sendo esse processo conhecido como espermiogênese. Apresentam-se com núcleo arredondado e/ou alongado no epitélio seminífero.

Células de Sertoli: São células somáticas que apresentam núcleo com forma irregular e nucléolo bastante evidente. Divide-se intensamente durante o período de pré-adolescência, iniciando sua estabilização a partir da puberdade, onde na fase adulta encontra-se totalmente estabilizada. São células de suporte, com várias funções. RUSSELL *et al.* (1990a), atribuíram as seguintes funções para as células de Sertoli:

a) Manutenção da integridade do epitélio seminífero, sustentam células germinativas através de junções de oclusão (complexo juncional);

b) Compartimentalização do epitélio seminífero, as Sertoli mantêm dois compartimentos permanentes (basal e adluminal) e um transiente (intermediário), no compartimento basal se encontram as espermatogônias e os espermatócitos em fase de pré-

leptóteno/leptóteno, o compartimento intermediário é formado durante a transição dos espermatócitos em zigóteno do compartimento basal até o adluminal;

c) Espermiogênese, as Sertoli desprendem os espermatozóides para que possam ser liberados no lúmen tubular;

d) Fagocitose, as Sertoli fagocitam as células germinativas que normalmente degeneram durante o processo a espermatogênese e os restos citoplasmáticos na espermiogênese, remodelando o tecido;

e) Liberação de nutrientes para as células germinativas;

f) Esteroidogênese: Há possibilidade de que as células de Sertoli estejam envolvidas na biosíntese de esteróides, onde estudos de microscopia eletrônica mostraram que as Sertoli possuem organelas citoplasmáticas típicas de glândulas endócrinas secretoras de esteróides, no caso, o retículo endoplasmático liso. As células de sertoli metabolizam e convertem hormônios, onde essas conversões são estimuladas pelo FSH que ocorrem nas mesmas. O esteróide mais bem estudado é a testosterona (BARDIN *et al*, 1994).

g) Movimentação de células no interior do epitélio seminífero, translocação de células germinativas do compartimento basal, intermediário e adluminal;

h) Secreção de proteínas: principalmente a proteína ligadora de andrógeno (ABP), que se liga à testosterona e a mantém no epitélio seminífero e a inibina induzindo a um feed-back inibindo a produção do hormônio folículo estimulante (FSH);

i) Regulação do ciclo espermatogênico, evento sincronizado que acontece no interior do túbulo seminífero, as Sertoli participam na formação de junções de comunicação entre si e com as células germinativas.

j) Alvo de hormônios no testículo e mediadora dos efeitos hormonais, as sertoli possuem receptores para FSH e testosterona, onde a maioria do controle do

desenvolvimento das células germinativas é mediada via hormônios agindo nas células de sertoli. A partir de estudos *in vitro*, ficou claro que as células de sertoli são o principal local de ação desses hormônios (BARDIN *et al*, 1994).

1.7- CLASSIFICAÇÃO DOS ESTÁDIOS DO CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO.

A possibilidade de se dividir o CES em estádios identificáveis é fundamental para investigações quantitativas sobre a espermatogênese (BERNDTSON, 1977). Segundo RUSSELL *et al.*, (1990b) e PAULA *et al.*, (1999), o principal critério de identificação dos estádios é baseado nas características morfológicas das espermátides. Os estádios do ciclo do epitélio seminífero em várias espécies podem ser identificados através de dois métodos.

O método através do sistema acrossômico é baseado nas mudanças ocorridas no sistema acrossômico e na morfologia das espermátides em desenvolvimento (LEBLOND & CLERMONT, 1952), esse método exige métodos especiais de coloração, dentre eles, PAS, azul de toluidina, dessa forma proporciona maior refinamento e acuracidade, pois permite a identificação de um maior número de estádios que variam de 10 a 16. Entretanto, este método apresenta algumas desvantagens, pois necessita de um tempo relativamente maior na identificação dos estádios, por requerer exames cautelosos na citologia das espermátides (CASTRO *et al.*, 1997). Adicionalmente, devido ao grande número de estádios identificados por esse método, a frequência relativa de um determinado estágio pode ser reduzida, sendo necessário, aumentar o número de túbulos seminíferos analisados (CASTRO, 1995).

O método da morfologia tubular, no qual são observadas as alterações da forma dos núcleos das espermátides, ocorrência de divisões meióticas, e os arranjos das espermátides no epitélio seminífero (COUROT *et al.*, 1970; ORTAVANT *et al.*, 1977;

CASTRO *et al.*, 1997), é o método mais empregado na identificação dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em mamíferos, por ser simples, rápido e eficaz na observação das associações celulares presentes nos túbulo seminífero, por esse método classificam-se oito estádios do CES na maioria das espécies de mamíferos. (CASTRO *et al.*, 1997).

Embora a organização geral da espermatogênese seja essencialmente a mesma em todos os mamíferos, existem algumas características a respeito dos tipos e números de gerações de espermatogônias e os aspectos morfológicos de células germinativas presentes em vários estádios, entre diferentes espécies (FRANÇA *et al.*, 1999).

O método da morfologia tubular é amplamente utilizado na caracterização dos estádios do ciclo do epitélio seminífero de algumas espécies domésticas como em *Bos sondaicus* (MCCOOL *et al.*, 1989), em *Bos taurus* (AMANN, 1962), em *Bos indicus* x *Bos taurus* (CARDOSO & GODINHO, 1983), em *Bubalus bubalis* (SHARMA & GUPTA, 1980), em búfalos mestiços (MELO, 1991) e (OHASHI, 1993), em caprinos (BECKER-SILVA, 2000). Foi também utilizado na caracterização de algumas espécies silvestres como a paca (PASHOV & MATAMOROS, 1984), capivara (PAULA *et al.*, 1999), e em *Bolomys lasiurus* (PARREIRA & CARDOSO, 1991).

Estudos sobre parâmetros reprodutivos relacionados à espermatogênese em cutias ainda é escasso. Portanto, o conhecimento do ciclo do epitélio seminífero nessa espécie se torna necessário, para posterior aplicação da técnica de quantificação celular na determinação das fases de desenvolvimento reprodutivo, observando o momento em que ocorre a puberdade.

Classificação do ciclo do epitélio seminífero com base no método da morfologia tubular previamente descrito por ROOSEN-RUNGE & GIESEL-JR (1950) e COUROT *et al.* (1970).

Estádio 1: Do fim da liberação dos espermatozóides no lume até o início do alongamento dos núcleos espermáticos. É caracterizado pela presença de espermátides com núcleo arredondado.

Estádio 2: Do início do processo de alongamento dos núcleos espermáticos até organização em feixes de espermátides alongadas. Esta fase é caracterizada como o início do alongamento dos núcleos das espermátides.

Estádio 3: Do início da organização em feixes de espermátides alongadas até o início da primeira divisão meiótica.

Estádio 4: Do início da primeira divisão meiótica ao fim da segunda divisão meiótica, caracterizando-se pela presença de espermatócitos secundários.

Estádio 5: Do fim da segunda divisão meiótica e aparecimento de novas espermátides arredondadas e feixes de espermátides alongadas situadas próximas ao núcleo de células de sertoli.

Estádio 6: Do início do afastamento e dissociação dos feixes de espermátides alongadas dos núcleos das células de sertoli ao início da migração dos feixes em direção ao lume.

Estádio 7: Do início ao fim da migração centrípeta das espermátides alongadas em direção à luz do túbulo seminífero, com a formação de camadas próximas a borda do lúmen tubular.

Estádio 8: Do fim do deslocamento centrípeta das espermátides alongadas ao fim da liberação dos espermatozóides do lume.

Nos estádios de 1 a 3, são caracterizados pela presença de uma simples geração de espermátides, e nos estádios de 5 a 8 por duas gerações de espermátides.

1.8- QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS

O método de quantificação histológica é um instrumento acurado para se avaliar a capacidade espermatogênica dos animais, em condições normais, patológicas ou experimentais (CASTRO *et al.*, 1997; BECKER-SILVA, 2000). Segundo FRANÇA (1991), na quantificação da espermatogênese, são fundamentais o conhecimento do ciclo do epitélio seminífero, a caracterização dos estádios que o compõem e a determinação da frequência relativa desses estádios. Através da quantificação das células do epitélio seminífero e com auxílio da biometria testicular, as fases de desenvolvimento reprodutivo de qualquer espécie sob estudo, podem ser determinadas.

Na quantificação são contados os núcleos das células germinativas e o nucléolo das células de Sertoli, além de fragmentos de todos os tipos celulares, em túbulos seminíferos seccionado transversalmente e com contorno circular. Através da contagem direta se obtém os números brutos que devem ser corrigidos para a espessura do corte histológico, devido aos fragmentos nucleares presentes na secção transversal. A correção é feita pela fórmula descrita por ABERCOMBRIE (1946), onde os números brutos serão convertidos em números reais. O segundo fator de correção, o índice de células de Sertoli, é utilizado para compensar erros potenciais de contagem devido alterações nas dimensões dos túbulos seminíferos, em consequência dos processamentos histológicos ou tratamentos experimentais, dessa forma, o número de células de Sertoli serve como referencial para alterações nos números das células germinativas (CASTRO *et al.*, 1997).

A estabilidade das células de sertoli esta relacionada ao fato que essas células possuem capacidade limitada de suporte para as células germinativas (FRANÇA *et al.*, 2000), essa capacidade é definida a partir da puberdade, onde todas as células germinativas já estão formadas no interior dos túbulos seminíferos.

A capacidade de suporte das células de Sertoli irá determinar o tamanho testicular final e o número de espermatozóides produzidos em animais sexualmente maduros (BERNDTSON, *et al.*, 1977; FRANÇA *et al.*, 2000). Portanto, durante o desenvolvimento puberal, as células de sertoli param de se dividir e no decorrer da vida adulta do animal permanece relativamente estável (RUSSELL *et al.*, 1990a).

O tamanho final das populações das células de Sertoli atua como principal regulador da produção espermática no adulto. Portanto, a regulação das células de Sertoli parece ser o principal determinante do tamanho testicular entre espécies raças e indivíduos da mesma raça ou espécies (SHARPE, 1994).

A razão numérica observada entre as células de Sertoli e células germinativas são constantes em camundongos, a partir do momento em que cessa a proliferação das células de Sertoli. Portanto, a população de células germinativas em um animal adulto é dependente do número de células de Sertoli (BARDIN *et al.*, 1994). Essas observações reforçam a importância fundamental das células de Sertoli na regulação da espermatogênese (KRETSER & KERR, 1994).

Para CASTRO *et al.* (1997), as razões numéricas entre as espermatogônias A e os demais tipos celulares, por secção transversal de túbulo são utilizados para se estimar o coeficiente de eficiência da espermatogênese. Ao comparar a razão, obtida pela contagem direta dos núcleos celulares, com as razões teóricas esperada das divisões celulares se estima o rendimento da espermatogênese.

Degenerações celulares são comuns durante a espermatogênese em mamíferos. Segundo FRANÇA *et al.* (1998) essas degenerações em mamíferos durante a fase de divisão meiótica das células germinativas ficam em torno de 30%. Para esses autores, cerca de três espermátides arredondadas são produzidas a partir de um espermatócito primário. KERR (1992) descreveu que o número de espermátides

produzidas durante a espermatogênese é sempre menor que o número que poderia ser produzido se nada fosse perdido durante a multiplicação espermatogonial. As degenerações que ocorrem com as espermatogônias, espermatócitos e espermátides arredondadas são identificadas no corte histológico através de corpos picnóticos.

1.9- FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESTÁDIOS DO CES.

A frequência relativa dos estádios que compõem o CES é um parâmetro essencial em estudos da espermatogênese, onde o conhecimento da frequência dos estádios, além de ser essencial para se estimar a duração do CES é útil para se monitorar a duração de eventos após tratamentos experimentais do testículo (CASTRO *et al*, 1997). Através desse parâmetro é possível determinar a frequência em que cada estádio aparece no interior dos túbulos seminíferos.

Segundo COUROT *et al.* (1970), a proporção relativa da primeira, meio e segunda parte do ciclo do epitélio seminífero, pode ser utilizada na comparação de espécies. A primeira parte ou fase pré-meiótica (uma única geração de espermátides) é relativamente curta correspondendo a 20-30% do ciclo. A segunda parte ou fase pós-meiótica (duas gerações de espermátides) é longa compreendendo 60% do ciclo. A metade do ciclo ou fase meiótica (contendo células em meiose I e II) é a fase mais curta correspondendo à 10% do ciclo (CASTRO, 1995).

A frequência relativa dos estádios do CES em algumas espécies de mamíferos será demonstrada na tabela 1:

Tabela 1: Frequência relativa (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero de alguns mamíferos, identificados pelo método da morfologia tubular.

Estádios do CES									
Animais	1	2	3	4	5	6	7	8	Autores
Bovino	10,1	10,5	7,9	10,4	6,7	10,4	14,7	29,3	Amann, 1962
Bubalino	26,2	13,2	19,8	11,2	2,6	7,0	9,0	11	Guraya & Bilaspuri, 1976
Caprino	15,8	12,8	20,5	10,7	11,6	9,3	7,6	11,7	França <i>et al.</i> , 1999
Carneiro	25,4	6,6	16,2	8,2	6,6	16,7	8,4	12,2	Ortavant, 1956, <i>apud</i> , Guerra, 1983
Roedores									
Rato	3,7	4,8	14,5	4,8	9,4	33,6	11,6	17,6	Roosen Runge & Giesel, 1950
Coelho	27,7	13,4	7,3	11,0	4,1	15,7	12,2	8,6	Swierstra & Foote, 1965, <i>apud</i> , Guerra, 1983
<i>Microtus agrestis</i>	13,2	10,6	5,2	9,2	9,6	15,2	12,9	24,1	Grocock & Clarke, 1976, <i>apud</i> , Guerra, 1983.
<i>Bolomys lasiurus</i>	13,8	7,2	15,2	3,7	15,7	10,6	11,1	22,0	Parreira & Cardoso, 1991
Esquilo	10,1	10,5	7,9	10,4	6,7	10,4	14,7	29,1	Tait & Johnson, 1982, <i>apud</i> , Guerra, 1983
Paca	18,7	19,8	9,7	9,8	9,9	8,5	8,9	14,8	Pashov & Matamoros, 1984
Capivara	14,0	15,1	15,7	14,6	8,7	7,0	9,4	15,5	Paula <i>et al.</i> , 1999

1.10- PUBERDADE

O processo de desenvolvimento testicular envolve aumento de tamanho do órgão, proliferação coordenada das células que o constituem e o amadurecimento das funções diferenciadas dessas células. A puberdade é o período que ocorre o amadurecimento do conjunto das funções testiculares, que pode ser julgado pela grande produção do androgênio mais importante, a testosterona, pelo início da espermatogênese e a produção de espermatozóides maduros (NITTA & COOKE, 1997).

A testosterona é um hormônio esteróide que atua em diversas fases do processo reprodutivo dos machos, iniciando com a diferenciação sexual até o desenvolvimento das características sexuais secundárias, esta também relacionada com o desejo e comportamento sexual (OHASHI, 1993). É um hormônio secretado pelas células de Leydig sob estímulo do LH (hormônio luteinizante) agindo diretamente no processo da espermatogênese (MCLACHLAN *et al.*, 1995).

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

BATH *et al.* (1999), caracterizaram a puberdade como o desenvolvimento das características sexuais e a preparação do indivíduo para a capacidade reprodutiva, juntamente com mudanças psicológicas.

O crescimento testicular é representado por uma curva sigmóide, com uma zona média de rápido crescimento testicular, esta zona corresponde ao período do

estabelecimento da espermatogênese, precedendo a puberdade até a fase adulta, onde ocorre a segunda zona de lento crescimento testicular (COUROT *et al.*, 1970). Portanto, nos primeiros meses após o nascimento ocorre crescimento lento, no período do início da espermatogênese ocorre um crescimento acelerado e no final desse período o crescimento testicular se mostra novamente lento, parando de crescer quando o animal se torna adulto (COUROT *et al.*, 1970; ORTAVANT *et al.*, 1977).

O crescimento testicular máximo é observado em mamíferos domésticos no período de estabelecimento da atividade espermatogênica. Foi observado no nono mês em bovinos, quinto em ovinos (ORTAVANT *et al.*, 1977), em suíno no quarto e quinto mês (FRANÇA, 1987), em caprinos (MADANI E & RAHAL, 1988) e em caprinos Saanen no segundo e terceiro mês (BECKER-SILVA, 2000).

Durante a primeira fase do desenvolvimento testicular, dois tipos celulares estão presentes, os gonócitos, com núcleo grande e pouco corado encontrados na parte central dos cordões testiculares e as células indiferenciadas de suporte, com núcleo pequeno e fortemente corado, localizado em uma monocamada ao longo da membrana basal, essas células se diferenciaram para células de sertoli no decorrer do desenvolvimento (COUROT *et al.*, 1970)

O estabelecimento da espermatogênese em mamíferos foi primeiramente descrito por COUROT *et al.* (1970), o qual foi dividido nas seguintes fases: fase impúbere, onde predominam os gonócitos; fase pré-púbere ou de diferenciação celular; fase púbere, onde o animal atinge a puberdade, com a liberação do primeiro espermatozóide; fase pós-púbere 1, onde aumenta a produção espermática; fase pós-pubere 2, observa-se uma produção espermática de adulto, porém o testículo continua em crescimento; fase adulta, quando o testículo cessa seu crescimento.

2. OBJETIVOS

2.1- OBJETIVO GERAL.

-Estudar o desenvolvimento reprodutivo de cutias *Dasyprocta sp.*, criadas em cativeiro, através da análise da atividade espermatogênica.

2.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- 1) Determinar a puberdade através da quantificação das células espermatogênicas;
- 2) Caracterizar os estádios que o compõem o ciclo do epitélio seminífero;
- 3) Determinar a frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero;
- 4) Avaliar a evolução do diâmetro tubular em relação à idade;
- 5) Avaliar o rendimento geral da espermatogênese e avaliar a capacidade de suporte das células de Sertoli;
- 6) Correlacionar idade com o peso corporal e parâmetros testiculares.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1-ANIMAIS.

Foram utilizadas amostras testiculares de 23 cutias (*Dasyprocta sp.*), nascidas e criadas em cativeiro. Os machos foram agrupados de acordo com a idade que variou de 4 a 17 meses. Os animais presentes no biotério foram mantidos isolados de outros machos desde o desmame, em jaulas de 70 x 60 x 80 cm, permanecendo em iluminação diária natural entre 6:00 às 18:00 e temperatura ambiente (28-35°C).

A alimentação foi feita a base de farelo de milho (*Zea mays*), farelo de soja (*Glycine hispida*), castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*), abóbora (*Curcubita pepo*), macaxeira (*Manihot utilissima*), tucumã (*Astrocaryum tucuma*). Os alimentos foram fornecidos duas vezes ao dia e a água *ad libitum*, a suplementação alimentar foi feita com o polivitamínico Potenay¹ em dose de 0,5 ml/animal.

O controle sanitário foi realizado diariamente com a lavagem das jaulas e retirada das sobras alimentares e dejetos. O controle de endoparasitas foi feito duas vezes ao ano, onde os animais foram tratados com Ivomec² em dose de 0,5ml/Kg.

3.2- GRUPOS.

Os animais foram agrupados de acordo com a faixa etária. Os grupos formados foram denominados G1 (4 - 5 meses, n=4), G2 (6 - 7 meses, n=4), G3 (8 - 9 meses, n=4), G4 (10 - 11 meses, n=3), G5 (12 - 13 meses, n=4), G6 (14 - 15 meses, n=3) e G7 (16 - 17 meses, n=2), totalizando 7 grupos experimentais.

¹ Potenay (Fort Dodge)

² Ivomec (Merck Sharp e Dohme)

3.3- COLHEITA DE MATERIAL E PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO.

Ao atingirem a idade programada os animais foram submetidos à cirurgia, onde foram previamente anestesiados com 0,3 ml de Vetanarcol/Kg¹ e 0,1 ml de Rompum/Kg², depois de sedados foram castrados unilateralmente (Figura 4), onde foi realizada a biometria do testículo retirado.

Os dados biométricos do testículo, ou seja, comprimento e largura (cm) foram obtidos com auxílio de paquímetro³ e o peso (g) com balança analítica de precisão⁴. Após biometria, os fragmentos testiculares foram imediatamente fixados em solução ALFAC (anexo 1) por 24 horas, e após esse período foram submetidos ao processamento histológico de desidratação, diafanização (clarificação) e inclusão em blocos de parafina. Após emblocamento, foram feitos cortes histológicos de 5µm de espessura em serie no micrótomo, sendo posteriormente corados em Hematoxilina-Eosina (anexo 1). As lâminas depois de coradas e montadas foram analisadas onde se efetuou a caracterização dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, as frequências relativas com que cada estágio aparece no túbulo seminífero, a quantificação e mensuração das células espermatozóides e mensuração dos túbulos seminíferos.

¹ Vetanarcol (Konig)

² Rompum (Bayer)

³ Paquímetro (Somet Inox)

⁴ Balança (Sartorius)

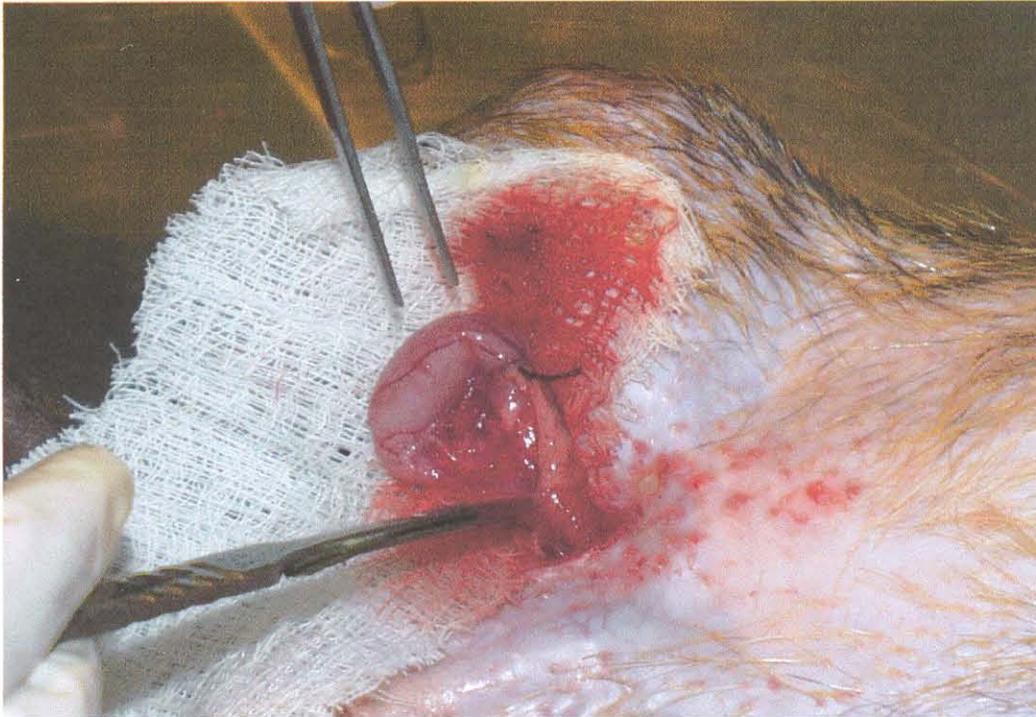


Figura 4: Cirurgia de castração unilateral, em animal previamente sedado, para retirada do testículo.

3.4- QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS.

Na quantificação das células espermatozóides foram analisados 10 secções transversais de túbulos seminíferos com contorno circular em cada animal com atividade espermatozóide completa, as secções transversais analisadas encontravam-se no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, baseado no método da morfologia tubular, descrito por COUROT *et al.* (1970). Nos animais que ainda não haviam estabelecido sua atividade espermatozóide e por apresentarem populações variadas de células, foram analisados 20 secções transversais de túbulos seminíferos em cada animal.

No interior das secções transversais dos túbulos seminíferos, foram quantificados os núcleos das células espermatozóides com contorno circular, e o nucléolo das células de sertoli, já que as mesmas não apresentam núcleos esféricos. Foram também

tomados o diâmetro nuclear/nucleolar médio, onde seus diâmetros foram obtidos pela média entre seus diâmetros maior e menor. Para isso, foram medidos 10 núcleos/nucléolos das células germinativas e células de sertoli, respectivamente, para aqueles animais a partir da puberdade e 20 núcleos/nucléolo para os animais impúberes e pré-púberes. Todas as análises foram feitas na objetiva de 40X do microscópio óptico com auxílio de uma ocular micrométrica (15 X), com tambor giratório.

Os diâmetros de 10 secções transversais de túbulos seminíferos/animal foram tomados, para os animais com a atividade espermatogênica completa e 20 secções transversais de túbulos seminíferos/animal para aqueles com espermatogênese não estabelecida. As medidas foram feitas com a ocular micrométrica acoplada na objetiva de 10X do microscópio óptico.

Para todas as medidas foi feito um fator de correção, conforme a objetiva utilizada no microscópio óptico (Olympus CHK2F).

O fator de correção é utilizado devido ao fato que a quantificação dos números brutos incluem não só núcleos ou nucléolos inteiros como também fragmentos nucleares presentes na secção transversal em decorrência da espessura do corte histológico. Portanto, mesmo que diferentes tipos celulares possam estar presentes em números iguais, seus números brutos podem diferir devido ao seu diâmetro nuclear (CASTRO *et al.*, 1997). Entretanto, deve-se obter o número celular corrigido (NCR), ou seja, o número real das células espermatogênicas, para corrigir esta distorção, através da fórmula descrita por ABERCROMBIE (1946), modificada por AMANN (1962).

$$\text{NCR} = \text{Contagem obtida} \times \frac{\text{Espessura do corte}}{\text{Espessura do corte} + \sqrt{(\text{DM}/2)^2 - (\text{DM}/4)^2}}$$

DM = diâmetro nuclear/ nucléolar médio. Representa a média dos diâmetros de dez núcleos de cada tipo celular presente no Estádio I do CES, por animal.

3.5- FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESTÁDIOS DO CES

Após a caracterização dos estádios do epitélio seminífero, foi determinada a frequência relativa com que cada estágio aparece no túbulo seminífero, para isso foram analisados 100 secções transversais de túbulos seminíferos por animal, somente nos animais que já apresentavam o ciclo espermatogênico completo, onde todos os estádios já se encontravam presentes. Essa análise foi feita segundo a metodologia utilizada por COUROT *et. al.*, (1970).

3.6- RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DE CÉLULAS DE SERTOLI

Para o cálculo geral do rendimento da espermatogênese, as razões entre as espermatogônias do tipo A presentes no estágio 1 do CES e as espermátides arredondadas foram tomadas. Para o índice das células de sertoli, objetivando o conhecimento da capacidade de suporte das células de sertoli em relação às células germinativas a partir da puberdade, avaliou-se a razão entre o número das células de Sertoli e o número total das células germinativas no estágio 1 do CES.

3.7- ANÁLISE ESTATÍSTICA.

O teste qui-quadrado (χ^2) foi utilizado para análise das frequências relativas de cada estágio, e a ANOVA (one-way) e o pós-teste de Newman-Keuls foi aplicado para os dados de quantificação das células espermatogênicas e o diâmetro tubular, para se observar se houve diferença significativa entre os grupos analisados ($P < 0,05$). A análise de correlação de Pearson e regressão linear entre a idade e peso corporal, e biometria testicular, e peso testicular com as células espermatogênicas e diâmetro tubular foram tomadas. Todas as análises foram feitas através do software BIOSTAT 2.0 (AYRES *et al.*, 2000).

4- RESULTADOS

4.1- PESO CORPORAL

Os dados biométricos dos animais nos diferentes grupos estão sumarizados na tabela 2. O peso corporal em relação à idade apresentou um crescimento linear e contínuo, onde no G1, G2 e G3 não foi observado diferença significativa ($P>0,05$) entre si, o peso corporal observados nos animais desses grupos, com exceção do G3, foram significativos para o G4 ao G7 ($P<0,05$). A partir do G3 até o G7 foi observado um aumento contínuo não significativo, com pequeno decréscimo no G5. O peso corporal em cutias correlacionou-se significativamente ($r=0,98; P<0,05$) com a idade (anexo 2).

4.2- BIOMETRIA TESTICULAR

Os dados de biometria testicular em relação à idade apresentaram correlação significativa, (PT; $r=0,97$; CT; $r=0,97$; LT; $r=0,88$). O Peso testicular manteve-se constante nos G1 e G2 ($P>0,05$), a partir desse grupo houve um aumento no peso testicular dobrado e significativo ($P<0,05$), permanecendo até o G7, com pequeno decréscimo (anexo 3). Os dados de comprimento e largura testicular, no G1 e G2 não foram significativos ($P>0,05$), porém foram significativos para o G3 ao G7 ($P<0,05$), onde esses parâmetros testiculares cresceram progressivamente com o avançar da idade. Do G4 ao G7, as medidas testiculares não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$).

O peso testicular apresentou correlação significativa com o peso corporal (PT; $r=0,98$; $P<0,05$). Portanto, o peso testicular apresentou crescimento linear com o peso corporal (anexo 4). O comprimento e largura testicular se correlacionaram significativamente ($r= 0,93$; $p<0,05$). As correlações entre os parâmetros corporais, testiculares e idade estão representados na tabela 3.

Tabela 2: Valores referentes a média total e desvio padrão do peso corporal (Kg), Peso testicular (g), comprimento testicular (cm) e largura testicular (cm) de cutias nos diferentes grupos.

	Grupos (idade-meses)						
	G1 (4 - 5)	G2 (6 - 7)	G3 (8 - 9)	G4 (10 - 11)	G5 (12 - 13)	G6 (14 - 15)	G7 (16 - 17)
PC (Kg)	1,3 ± 0,4 ^a	1,6 ± 0,5 ^a	1,9 ± 0,6 ^{a,b}	2,4 ± 0,3 ^b	2,3 ± 0,4 ^b	2,6 ± 0,2 ^b	2,8 ± 0,1 ^b
PT (g)	0,4 ± 0,4 ^a	0,4 ± 0,1 ^a	1,8 ± 1,4 ^{a,b}	3,9 ± 0,9 ^c	3,8 ± 2,2 ^c	4,8 ± 1,3 ^c	6,1 ± 0,4 ^c
CT (cm)	1,9 ± 0,6 ^a	1,8 ± 0,5 ^a	2,6 ± 1,0 ^{a,b}	3,1 ± 1,4 ^b	3,4 ± 0,96 ^b	3,6 ± 0,5 ^b	4,1 ± 1,1 ^b
LT (cm)	0,3 ± 0,1 ^a	0,5 ± 0,2 ^a	1,2 ± 0,3 ^b	1,5 ± 0,1 ^b	1,4 ± 0,1 ^b	1,5 ± 0,2 ^b	1,5 ± 0,2 ^b

^{a,b,c} Valores com diferentes letras superescritas na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$)

Tabela 3: Coeficiente de correlação (r) entre a idade, peso corporal e biometria testicular em cutias de 4 a 17 meses.

	Idade	PC	PT	CT	LT
Idade (meses)	-				
PC (Kg)	0,98*	-			
PT (g)	0,97*	0,98*	-		
CT (cm)	0,97*	0,99*	0,98*	-	
LT (cm)	0,88*	0,91*	0,81*	0,93*	-

*Significativos ($P < 0,05$)

PC – Peso Corporal

CT – Comprimento testicular

PT – Peso testicular

LT – Largura Testicular

4.3- DIÂMETRO DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS

O diâmetro tubular aumentou significativamente ($P < 0,05$) partir dos 4 meses de idade foi $109,5 \pm 4,6 \mu\text{m}$, com aumento acelerado a partir dos 6 meses até os 11 meses, onde apresentou a média de $240,9 \pm 14,1 \mu\text{m}$, a partir dessa idade ocorreu um decréscimo não significativo no diâmetro tubular ($P > 0,05$) até os 15 meses com média de $221,4 \pm 7,9 \mu\text{m}$, aumentando novamente até os 17 meses, onde a média na idade adulta foi $258,1 \pm 55,3 \mu\text{m}$. O crescimento do diâmetro tubular nos animais a partir dos 4 meses de idade está representado em gráfico (figura 5). O diâmetro tubular correlacionou-se significativamente com o peso testicular ($r = 0,91$; $P < 0,05$), (anexo 5). Na tabela 4 estão apresentados os valores referentes às médias gerais e os desvios padrões do diâmetro tubular em μm .

4.4- DETERMINAÇÃO DAS FASES DE DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO ATRAVÉS DE QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS DE CUTIAS (*Dasyprocta sp.*)

O número médio das células espermatozóides dos animais impúberes e pré-púberes não apresentou diferença significativa entre si ($P > 0,05$), porém, a partir da puberdade foram diferentes significativamente ($P < 0,05$). O grupo da puberdade foi significativo quando comparado aos grupos da pós-Puberdade 1 e 2 e ao grupo da maturidade sexual. A partir da pós-puberdade 1 até a maturidade sexual não foram observadas diferenças significativas no número médio das células espermatozóides, apesar do aumento contínuo no número dessas células (Figura 6). As médias encontradas nas células espermatozóides e células de Sertoli estão representadas na tabela 4.

Na figura 6, foi observado junto com o desenvolvimento das células germinativas, o desenvolvimento das células de Sertoli. Onde foi observado um

decréscimo significativo ($P < 0.05$) no número das células indiferenciadas de suporte do G1 ao G3, onde os animais atingiram a puberdade. A partir da puberdade foram observadas células de Sertoli totalmente diferenciadas no interior dos túbulos seminíferos, onde então o número médio dessas células começou a estabilizar, não observando diferença significativa ($P > 0.05$) até a maturidade sexual. O decréscimo das células de Sertoli a partir da puberdade ocorre devido ao crescimento testicular, onde os túbulos seminíferos se alongam e as células de Sertoli vão se distribuindo ao longo dos mesmos, portanto, ao analisar as seções transversais desses túbulos seminíferos, observa-se um número médio menor em relação aos animais impúberes.

As células espermatogênicas apresentaram correlação significativa com o peso testicular ($r = 1.0$; $p < 0.05$), indicando uma evolução com o avançar da idade (anexo 6). Portanto, à medida que o animal avança em idade o peso testicular e as células espermatogênicas evoluem conjuntamente (Figura 7).

As fases de desenvolvimento reprodutivo de machos de cutia, incluindo a determinação de puberdade foram determinadas com bases nas análises estatísticas e observações morfológicas dos túbulos seminíferos de acordo com a idade. As fases foram determinadas de acordo com classificação pré-estabelecida por COUROT *et al.*, (1970).

Tabela 4: Média geral das fases de desenvolvimento reprodutivo referentes a quantificação das células espermatogênicas e células de Sertoli e o diâmetro tubular em μm .

	Fases						Adulto
	Imp	Pré-pub	Pub	Pós-pub 1	Pós-pub 2		
CE	13,2 $\pm 1,6^a$	7,1 $\pm 1,7^a$	93,8 $\pm 58,7^b$	164,0 $\pm 10,03^c$	173,8 $\pm 10,5^c$	185,9 $\pm 1,5^c$	238,8 $\pm 72,6^c$
CS	21,7 $\pm 3,5^a$	18,1 $\pm 1,3^a$	9,7 $\pm 4,2^b$	7,6 $\pm 0,7^b$	9,6 $\pm 1,2^b$	8,0 $\pm 2,0^b$	9,0 $\pm 0,01^b$
DT	109,5 $\pm 4,6^a$	119,7 $\pm 10^a$	174,6 $\pm 24,1^b$	240,9 $\pm 14,1^c$	219,6 $\pm 9,8^c$	221,1 $\pm 7,9^c$	258,1 $\pm 55,3^c$

^{a,b,c} Valores com diferentes letras superescritas na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0.05$)

CE – Célula Espermatogênica

CS – Célula de Sertoli

DT – Diâmetro Tubular

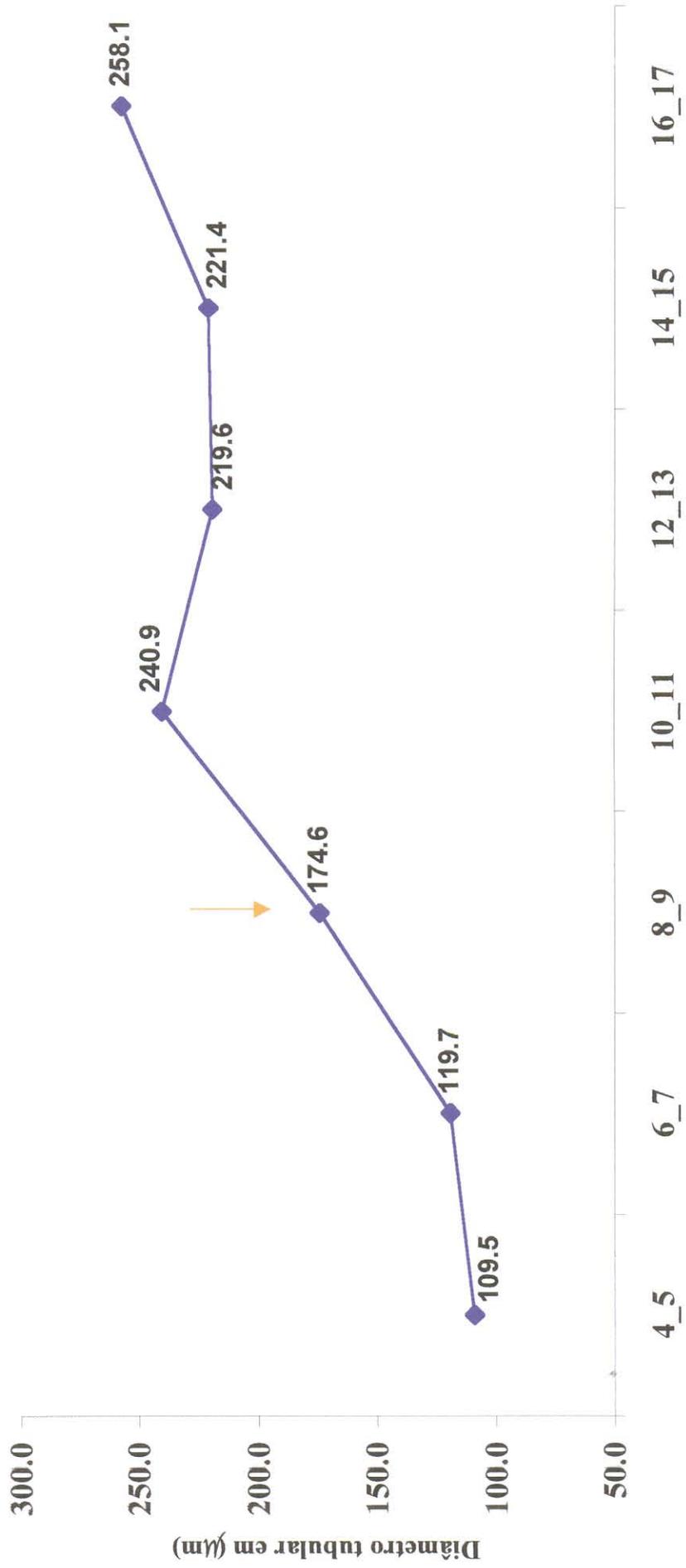


Figura 5: Evolução do diâmetro tubular em relação a idade, a seta indica a fase da puberdade.

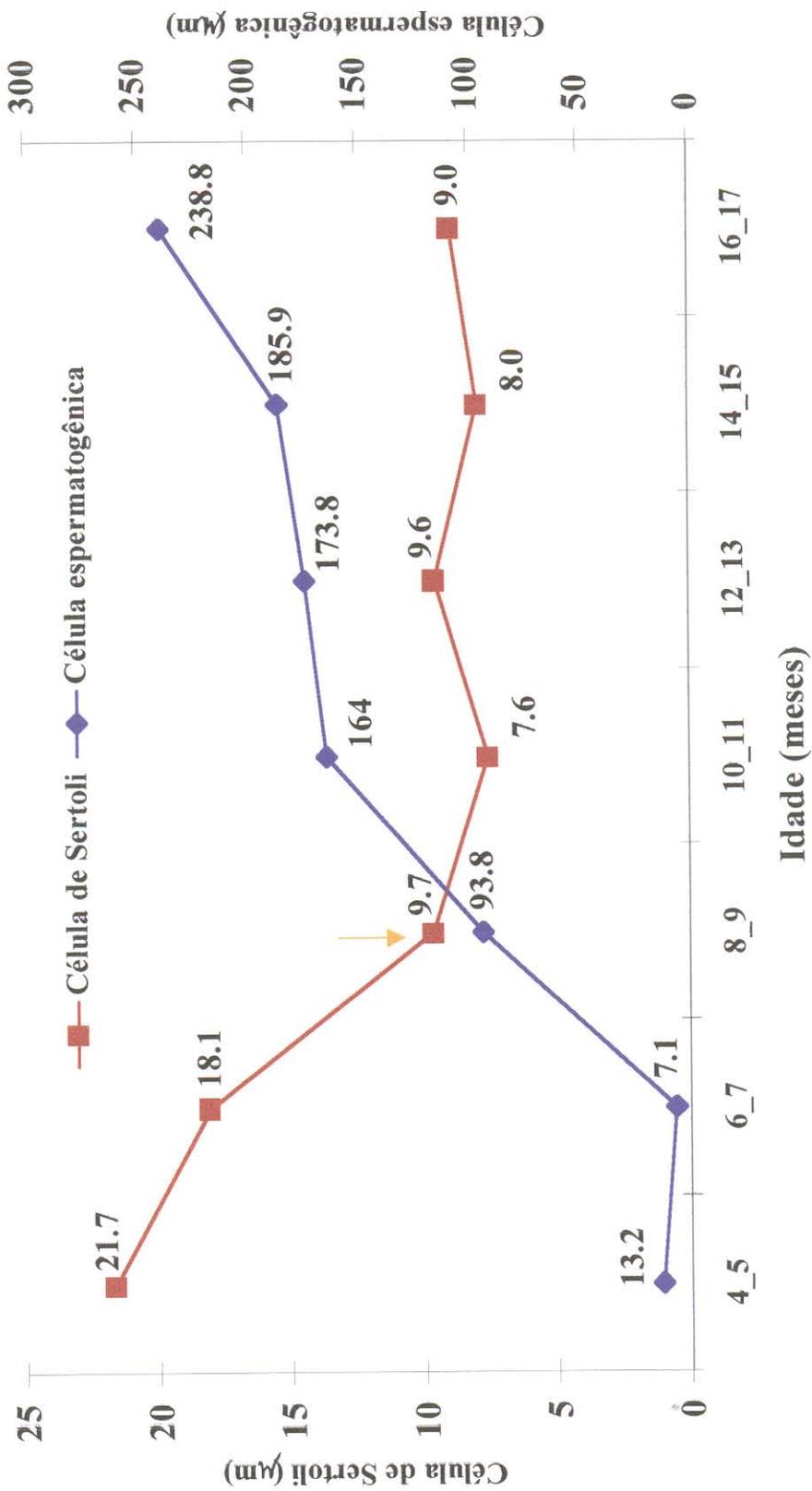


Figura 6: Evolução das células espermatogênicas e de Sertoli em relação a idade, com a seta indicando a fase de puberdade.

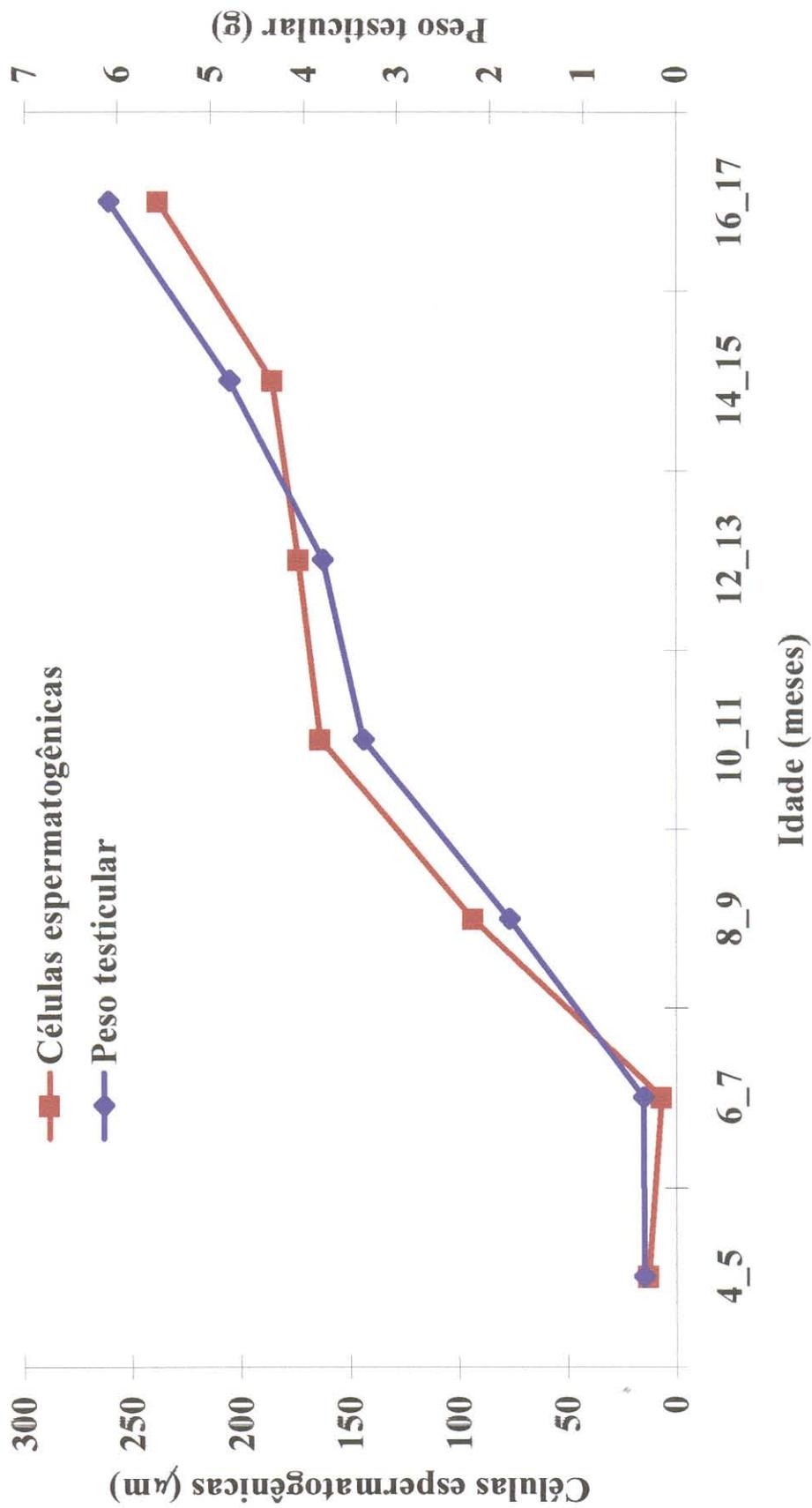


Figura 7: Evolução das células espermatogênicas e do peso testicular

- Fase Impúbere (4 - 5 meses): Grupo 1

No interior dos túbulos seminíferos desses animais não se observaram gonócitos, e sim as primeiras espermatogônias do tipo A com nucléolo bastante visível, núcleo ovalado localizado no compartimento basal do túbulo seminífero. As células indiferenciadas de suporte estavam presentes em grandes quantidades, os cordões seminíferos ainda não se apresentavam luminados (Figura 8).

-Fase Pré-puberdade (6 - 7 meses): Grupo 2

Nesta fase foi observada intensa multiplicação celular, onde no interior dos túbulos seminíferos foram encontradas somente espermatogônias do tipo A, e pela primeira vez espermatócitos primários em fase de pré-leptóteno/leptóteno, zigótenos e paquítenos sendo estes, os tipos celulares mais avançados no interior dos túbulos seminíferos.

Aos 6 meses de idade, foram observados espermatócitos em pré-leptóteno/leptóteno próximos à membrana basal e alguns espermatócitos em zigótenos, raramente foram observados paquítenos.

Aos 7 meses de idade, em alguns túbulos seminíferos o processo de luminação apresentava-se discreto, enquanto que a maioria já se encontravam bastante luminados. A presença de espermatócitos primários nos túbulos seminíferos aumentou progressivamente ao mesmo tempo em que passavam pelas diferentes fases da prófase meiótica. As espermátides arredondadas raramente foram observadas no interior dos túbulos seminíferos. (Figura 9).

-Fase de Puberdade (8 – 9 meses): Grupo 3

A fase da puberdade foi caracterizada pela presença de todas as células da linhagem espermatogênica, sendo elas, espermatogônias do tipo A, In, B, espermatócitos primários e secundários, espermátides arredondadas e alongadas e a liberação dos primeiros de espermatozóides no lúmen tubular. Os túbulos seminíferos encontravam-se

totalmente luminados e todos os estádios do ciclo do epitélio seminífero já estavam definidos onde se apresentavam como associações celulares ordenadas.

As células indiferenciadas de suporte se diferenciaram para células de Sertoli, que apresentavam o contorno do núcleo irregular e nucléolo bem evidente, o citoplasma dessas células se direcionava para o lúmen do túbulo, onde atuam sustentando as células germinativas.

-Fase de Pós-puberdade 1 (10 – 11 meses): Grupo 4

Nessa fase a eficiência celular aumentou, fato observado pelo maior número de células germinativas no interior dos túbulos seminíferos, que aumentaram diâmetro, as células de Sertoli a partir da puberdade iniciaram o processo de estabilização, com pequenas variações até a fase de maturidade sexual.

-Fase de Pós-puberdade 2 (12 – 15 meses): Grupo 5 e 6

Na fase de pós-puberdade 2 a média celular geral no grupo foi $179,9 \pm 8,6$ μm . O número celular observado apesar de pequenas variações tendeu a estabilização, mantendo constata a população celular nas secções transversais dos túbulos seminíferos, porém o crescimento testicular nessa fase permaneceu progressivo mas de forma lenta e gradual.

-Fase Adulta (16 – 17 meses): Grupo 7

Nessa fase, os animais atingiram a fase adulta, que é caracterizada pela estagnação do crescimento testicular, e no lúmen tubular foram observados espermatozóides em grande quantidade prontos para serem liberados. Porém, os animais analisados iniciavam a maturidade sexual, não sendo observada a curva sigmóide do crescimento testicular proposta por COUROT *et al.* (1970).

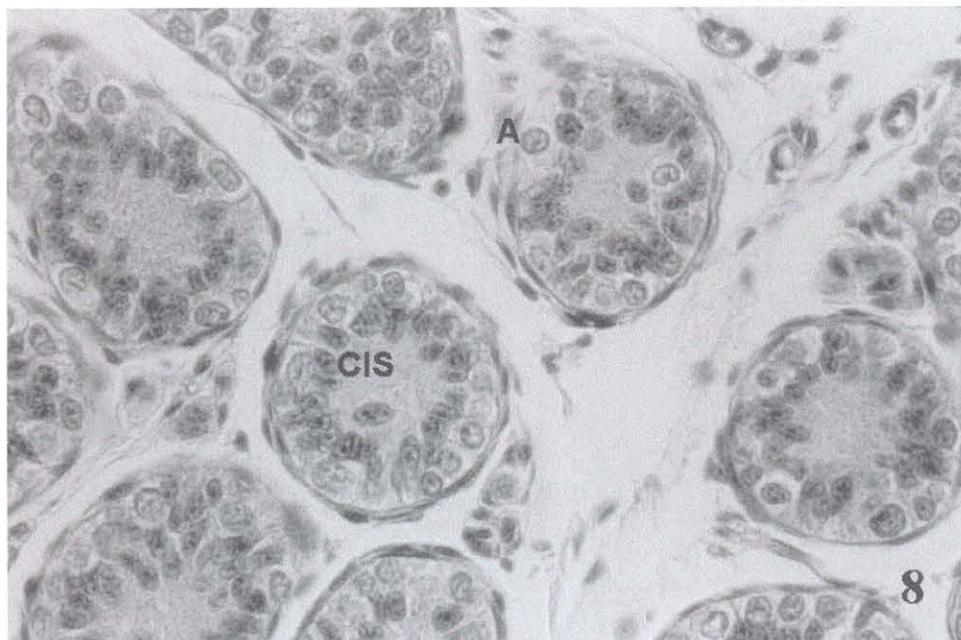


Figura 8: Fase Impúbere, no interior dos túbulos seminíferos foram observadas espermatogônias do tipo A (A) e células indiferenciadas de suporte (CIS).

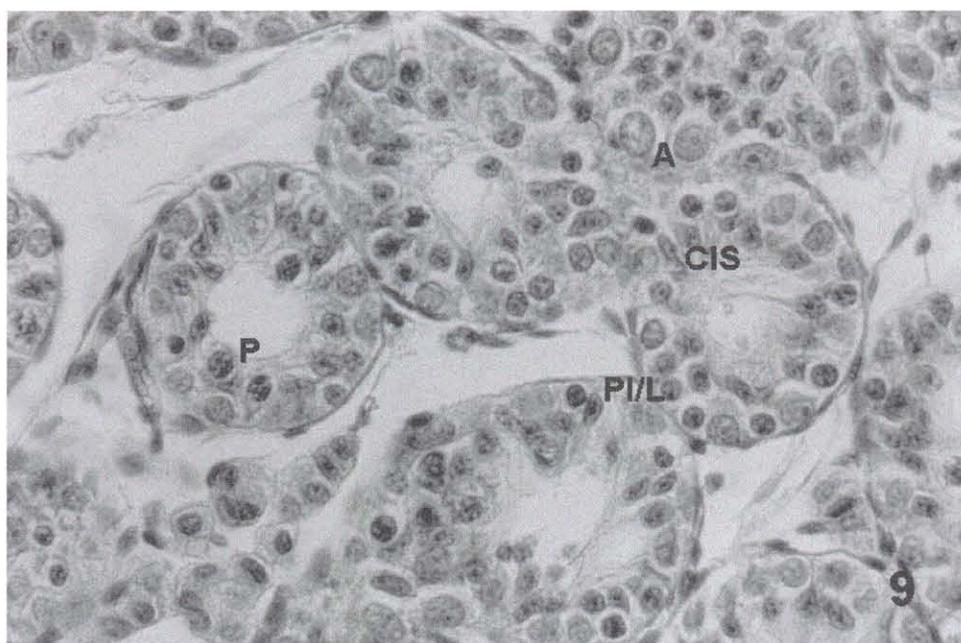


Figura 9: Fase de pré-puberdade, foram observadas espermatogônias do tipo A (A), espermatócitos em pré-leptóteno-leptóteno (PI/L) e paquíteno (P) e células indiferenciadas de suporte (CIS).

4.5- RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DAS CÉLULAS DE SERTOLI.

O rendimento geral da espermatogênese foi calculado através da razão entre as espermátides arredondadas e espermátogônias do tipo A presentes no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, em animais a partir da puberdade, a razão foi obtida a partir do número corrigido das células dos animais de cada grupo. Observou-se um aumento significativo ($P < 0,05$), na razão entre as espermátides arredondadas: espermátogônia do tipo A do G1 (8 - 9 meses) ao G2 (10 - 11 meses), o G1 foi significativo ($P < 0,05$) para os G3, G4 e G5. A partir dos 10 meses observou-se um aumento não significativo ($P > 0,05$) entre os grupos, indicando uma tendência a estabilização entre essas células. O rendimento geral da espermatogênese encontra-se representado na tabela 5.

O índice das células de células de Sertoli foi calculado através da razão entre número corrigido dessas células e das células espermátogênicas do estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, em animais a partir da puberdade. Apesar de ter sido observado aumento nas razões entre as células de Sertoli e células espermátogênicas, não houve diferença significativa entre os grupos ($P > 0,05$), já que os animais analisados já haviam atingido a puberdade, portanto este índice apresentou tendência a estabilização. A razão entre as células de Sertoli e células espermátogênicas estão representados na tabela 6.

Tabela 5: Razão entre o número de espermátides arredondadas e espermatogônias A, em cutias de 8 a 17 meses.

Grupos	Idade (meses)	Razões SPGA:SPDar
01	8 - 9	1: 12,0 ± 1,7 ^a
02	10 - 11	1: 18,3 ± 1,1 ^b
03	12 - 13	1: 18,4 ± 2,6 ^b
04	14 - 15	1: 18,3 ± 4,1 ^b
05	16 - 17	1: 27,4 ± 16,0 ^b

^{a,b} Valores com diferentes letras superescritas na mesma coluna indicam diferença significativa (P<0.05)

Tabela 6: Razão entre o número de células de Sertoli e o número de células espermatogênicas de cutias de 8 a 17 meses.

Grupos	Idade (meses)	Razão CS:CE
01	8 - 9	1: 3,4 ± 0,9
02	10 - 11	1: 5,2 ± 0,7
03	12 - 13	1: 4,4 ± 0,9
04	14 - 15	1: 6,0 ± 2,2
05	16 - 17	1: 6,4 ± 2,0

4.6 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ESTÁDIOS QUE COMPÕEM O CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO DE CUTIAS (*Dasyprocta sp.*)

Foram identificados oito estádios compondo o ciclo do epitélio seminífero em cutias, pelo método da morfologia tubular (COUROT *et al.*, 1970). As associações celulares características de cada estágio serão descritas a seguir:

Estádio 1: Espermatogônias do tipo A encontravam-se presentes junto a membrana basal, apresentando núcleos esféricos ou alongados com cromatina de aspecto poeirento. Presença de espermatócitos nas fases de pré-leptóteno/leptóteno e paquíteno, onde os espermatócitos jovens (pré-leptóteno) situavam-se próximo à membrana basal apresentando forte condensação da cromatina, enquanto que os espermatócitos velhos (paquíteno) localizavam-se mais na região média do epitélio. Uma única geração de espermátides com núcleo arredondado, estava presente formando cerca de 4 a 5 camadas no túbulo (Figura 10).

Estádio 2: Foram observadas espermatogônias do tipo A, a geração mais nova de espermatócito alcançou a fase de zigóteno, localizados mais distante da membrana basal, caracterizados pelo aumento do volume nuclear e por uma maior condensação da cromatina. Os espermatócitos mais avançados permaneceram em paquíteno, e o núcleo das espermátides iniciou o seu processo de alongamento e condensação da cromatina, porém ainda não se encontram organizadas em feixes. Os núcleos das células de Sertoli encontravam-se próximo à membrana basal (Figura 11).

Estádio 3: O mesmo tipo de espermatogônia do estágio anterior foi observado. Os espermatócitos jovens permaneceram em zigóteno, e os espermatócitos em paquíteno alcançaram a fase de diplóteno, apresentando tamanho nuclear máximo e grânulos densos de cromatina dispostos preferencialmente na periferia do núcleo. Os

núcleos das espermatídes alongadas, nesse estágio iniciavam a sua formação em feixes, que se direcionavam para os núcleos das células de Sertoli. (Figura 12).

Estádio 4: Aparecimento das primeiras espermatogônias In, juntamente com as espermatogônias A. Os espermatócitos em zigótenos alcançaram a fase de paquíteno, enquanto os diplótenos que estavam presentes sofreram a primeira divisão meiótica, originando os espermatócitos secundários, que juntamente com as figuras de meiose caracterizam o estágio, os espermatócitos secundários presentes rapidamente entram na segunda divisão meiótica. Os núcleos das espermatídes alongadas permaneceram em feixes (Figura 13).

Estádio 5: Nesse estágio observou-se espermatogônias do tipo A e In. Uma única geração de espermatócitos primários em paquíteno foi encontrada, e duas gerações de espermatídes, a mais jovem com núcleo arredondado resultante das divisões meióticas dos espermatócitos secundários e as espermatídes com núcleo alongado organizados em feixes, que se apresentavam direcionadas para as células de Sertoli, estas por sua vez se encontravam mais afastadas da membrana basal (Figura 14).

Estádio 6: Do estágio 5 ao 7, as mesmas associações celulares são encontradas, sendo diferenciados apenas pela organização da espermatídes alongadas. Nesse estágio, observou-se o início da dissociação dos feixes das espermatídes alongadas e a movimentação das mesmas em direção ao lúmen tubular. No final desse estágio algumas espermatogônias do tipo B foram observadas em alguns túbulos seminíferos, o núcleo das células de Sertoli apresentavam-se grande e com nucléolo bastante evidente (Figura 15).

Estádio 7: Os núcleos das espermatídes alongadas da fase anterior apresentavam-se mais dissociados e localizados mais próximos ao lúmen do túbulo e com os flagelos nitidamente se projetando para o lúmen, observou-se o surgimento de corpos residuais remanescentes do citoplasma das espermatídes alongadas, presença de

espermátides arredondadas. Algumas espermatogônias do tipo B foram, além de espermatócitos em pré-leptótenos (Figura 16).

Estádio 8: As espermatogônias do tipo B dividiram-se e deram origem a novos espermatócitos em pré-leptóteno, que foram encontrados na base epitélio juntamente com as espermatogônias do tipo A. Esse estágio é caracterizado pela disposição regular em que se encontram as espermátides alongadas com seus núcleos paralelos entre si na borda do lume, prontas para serem liberadas. Em alguns túbulos é possível se observar a presença de espermatozóides. Corpos residuais bem maiores e em maior quantidade foram encontrados. Espermatócitos em paquítenos também estavam presentes (Figura 17).

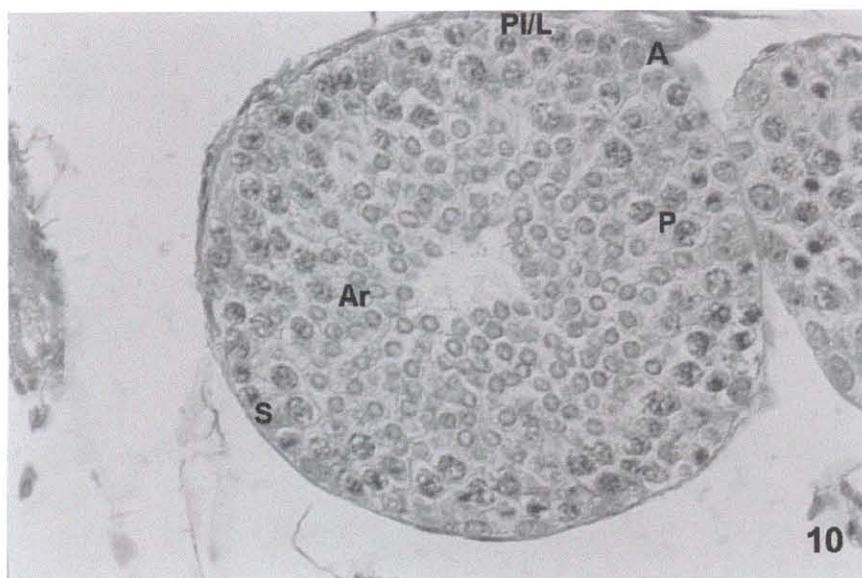


Figura 10: Estádio 1, foram observados espermatogônias A (A); espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno (P/L) e paquíteno (P); espermátides arredondadas (Ar) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X.

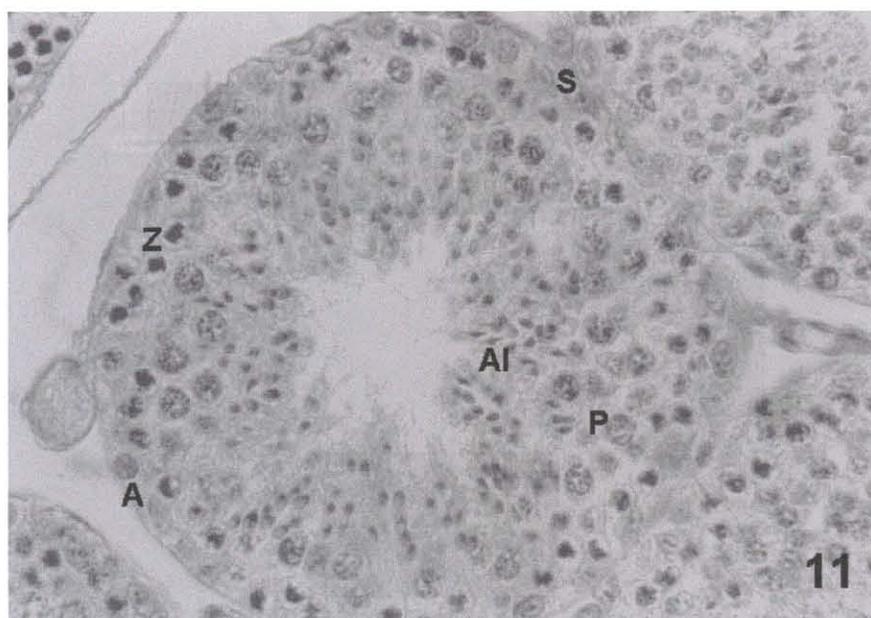


Figura 11: Estádio 2, Espermatogônias do tipo A (A); espermatócitos primários em zigóteno (Z) e em paquíteno (P); espermátides em início de alongamento (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X.

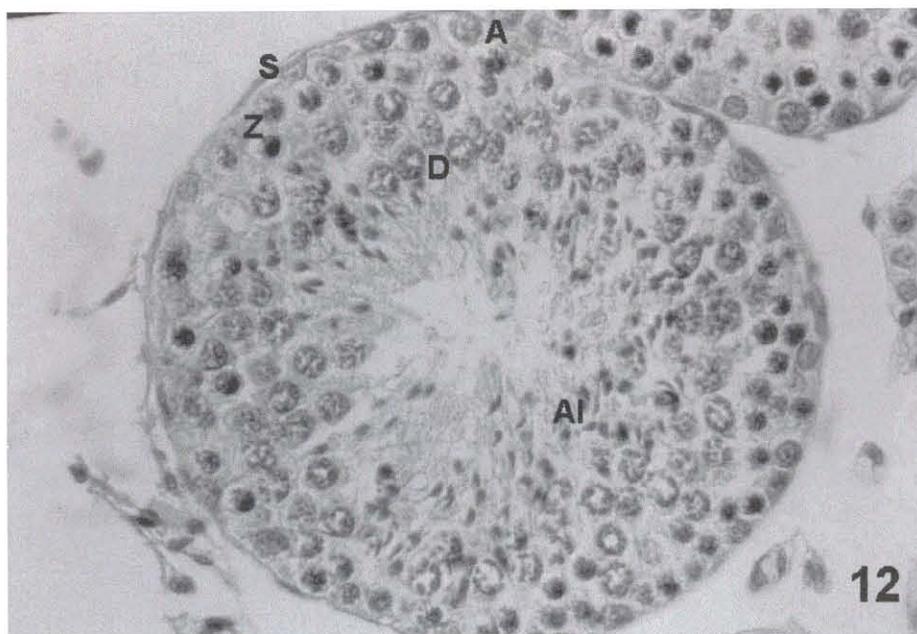


Figura 12: Estádio 3, espermatogônias do tipo A (A); espermatócitos primários em zigóteno (Z) e diplóteno (D); espermátides alongadas se organizando em feixes (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X.

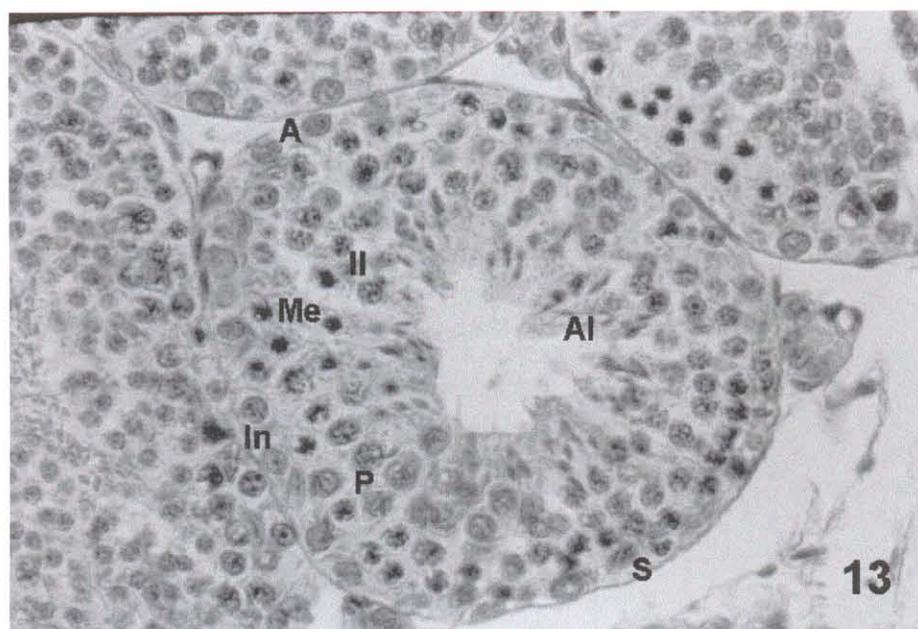


Figura 13: Estádio 4, espermatogônia do tipo A (A) e intermediária (In); espermatócitos primários em paquíteno (P); figuras de meiose (FM); espermatócitos secundários (II); espermátides alongadas (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X.

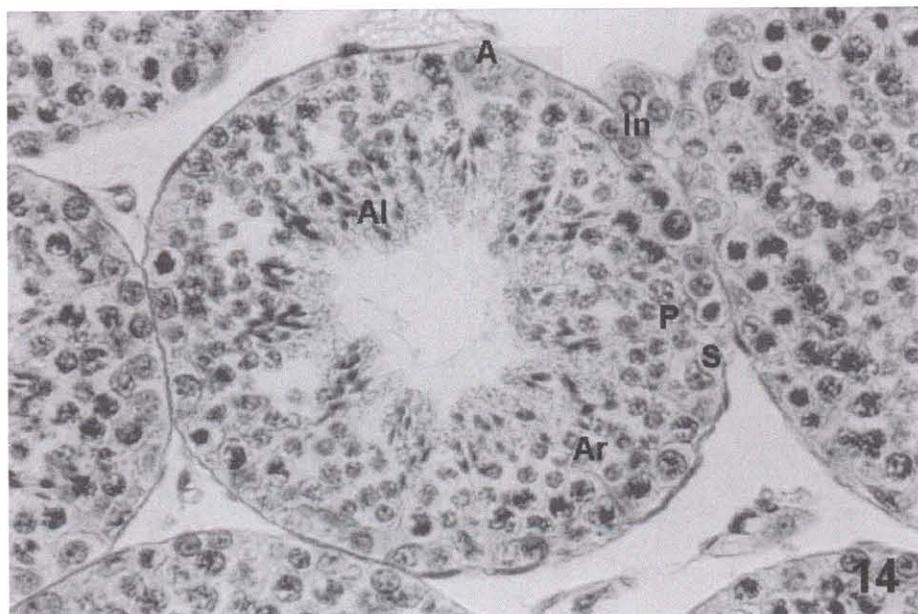


Figura 14: Estádio 5, espermatogônias intermediária (In); espermatócitos primários em paquíteno (P); espermatídes arredondadas (Ar), espermatídes alongadas em feixes (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X.

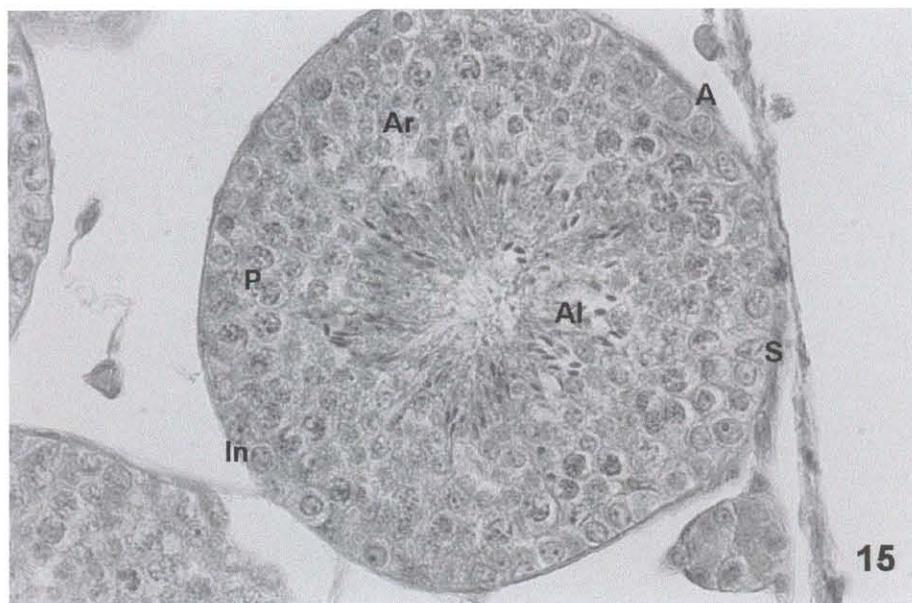


Figura 15: Estádio 6, espermatogônias A (A) e (In); espermatócitos primários em paquíteno (P); espermatídes arredondadas (Ar) e alongadas em feixes dissociados (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X.

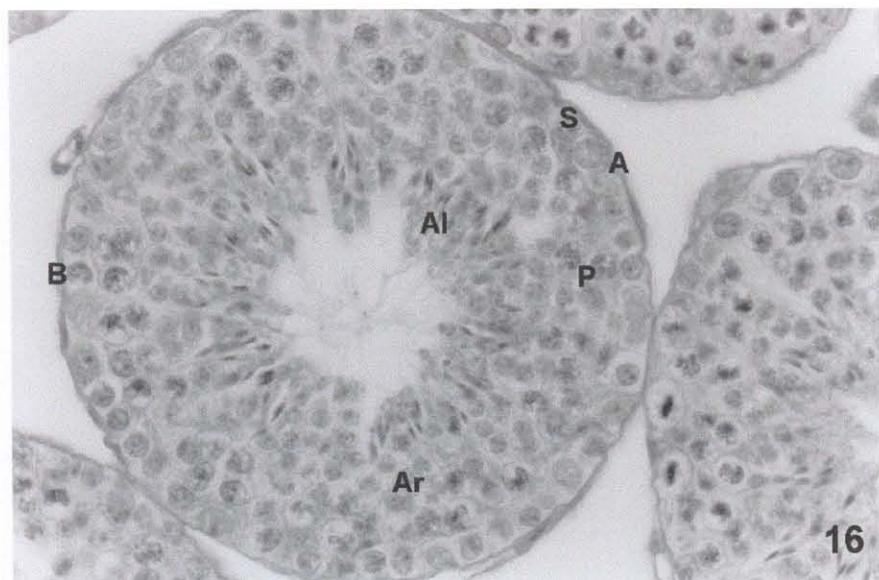


Figura 16: Estádio 7, espermatogônias A (A) e B (B); espermatócitos primários em paquíteno (P); espermatídes arredondadas (Ar) e alongadas próximas a borda do lúmen tubular (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X.



Figura 17: Estádio 8, espermatogônias A (A) e B (B); espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno (PI/L) e paquíteno (P); espermatídes arredondadas (Ar) e alongadas na borda do lúmen tubular (Al) e células de Sertoli (S). Fotomicrografia em aumento de 40X.

4.7- DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESTÁDIOS DO CES

A determinação da frequência relativa dos oito estádios que compõem o ciclo do epitélio seminífero foi obtida após a análise de 1500 secções transversais de túbulos seminíferos, em animais a partir dos 8 meses de idade. As médias gerais das frequências relativas de cada estádio foram: estádio 1 ($16,8 \pm 2,3\%$); estádio 2 ($18,8 \pm 3,4\%$); estádio 3 ($7,6 \pm 1,3\%$); estádio 4 ($11,1 \pm 1,2\%$); estádio 5 ($21,1 \pm 4,2\%$); estádio 6 ($10,4 \pm 3,4\%$); estádio 7 ($7,9 \pm 2,4\%$); estádio 8 ($6,4 \pm 1,4\%$). O estádio mais frequente analisado pela morfologia tubular foi o 5, porém o estádio 1 e 2 também apresentaram altas frequências no CES. Os estádios com menor frequência foram o 7 e 8.

Ao analisar a frequência conjunta dos estádios, não foram observadas grandes variações como o encontrado nas frequências individuais de cada estádio. Portanto a frequência conjunta da fase pré-meiótica foi 43,2%, na fase meiótica 11,1% e na fase pós-meiótica 45,8% (figura 18). A frequência relativa dos oito estádios do CES de cada animal está representada na tabela 7 e em figura (anexo 7).

Tabela 7: Frequência relativa (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em cutias nas diferentes idades

Idade (meses)	Estádios							
	1	2	3	4	5	6	7	8
8 – 9	14,3	19,0	7,7	10,0	21,7	13,7	8,0	5,7
10 – 11	15,0	15,8	9,0	11,8	19,3	10,8	10,8	7,8
12 – 13	20,0	15,8	6,0	12,8	22,8	8,8	8,5	5,5
14 – 15	17,3	19,3	8,7	10,0	15,3	13,3	8,0	8,0
16 – 17	17,5	24	6,5	11,0	26,5	5,5	4,0	5,0
Média	16,8	18,8	7,6	11,1	21,1	10,4	7,9	6,4
± DP	± 2,3	± 3,4	± 1,3	± 1,2	± 4,2	± 3,4	± 2,4	± 1,4

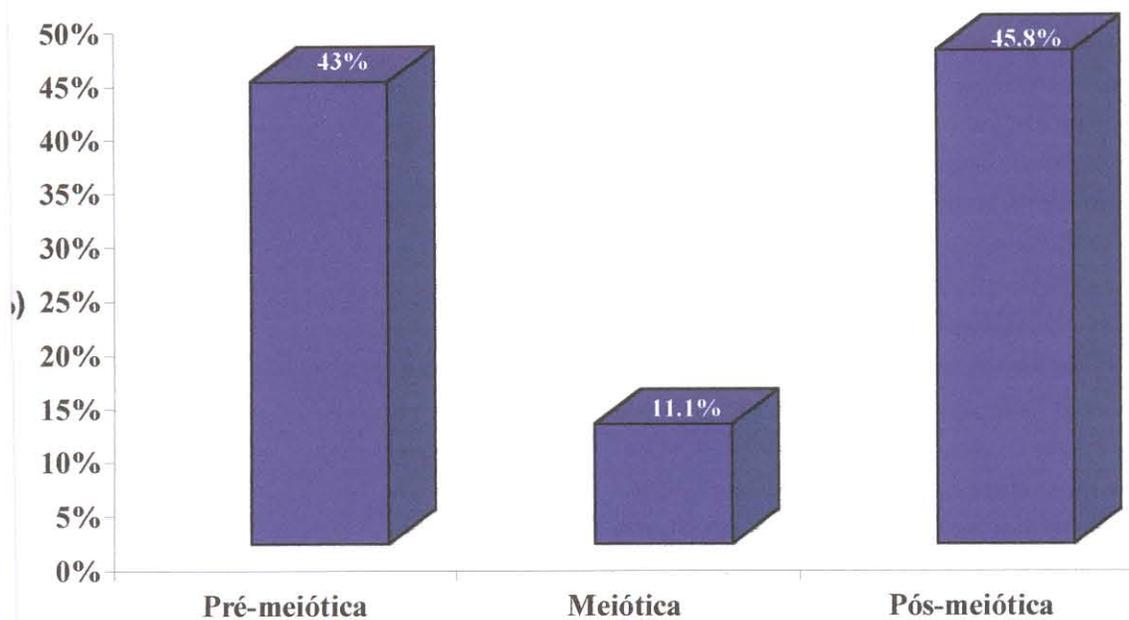


Figura 18: Frequência conjunta dos estádios do CES.

5- DISCUSSÃO

5.1- PESO CORPORAL

O peso corporal de cutias apresentou um crescimento linear progressivo em animais dos 4 aos 11 meses, sendo que a partir da puberdade esse crescimento não se mostrou significativo ($P>0,05$). Entretanto, apesar de não significativo, o peso corporal aumentou gradativamente até aos 17 meses, quando os animais atingiram a maturidade sexual. Esses dados corroboram com o proposto de COUROT (1978) apud FRANÇA (1987), que afirmam que o peso corporal mantém um crescimento linear até o alcance da maturidade sexual.

Os dados observados em cutias mostram que o peso corporal apresentou uma correlação significativa com a idade (0,98) e com o peso testicular (0,98). Esses parâmetros também se mostraram significativos para a espécie silvestre, a capivara, (MOREIRA *et al.*, 1997), e em algumas espécies domésticas, como o suíno da raça piau (FRANÇA, 1987); o búfalo mestiço (MELO, 1991; OHASHI, 1993); em caprinos (BECKER-SILVA, 2000) e o *Bos indicus* (AIRE & AKPOKODJE, 1975).

Dados biométricos auxiliam em estudos relacionados ao desenvolvimento reprodutivo de um animal, onde COUROT *et al.* (1970), afirmam que o início da atividade testicular esta mais relacionada com o desenvolvimento do indivíduo (peso corporal) do que a idade.

5.2- BIOMETRIA TESTICULAR

Os dados de biometria testicular em cutias apresentaram um crescimento contínuo e gradual na fase impúbere (G1) até a pré-puberdade (G2), a partir desse grupo o crescimento testicular foi acelerado passando pela fase de puberdade (G3) até a fase de maturidade sexual (G7).

A curva de crescimento testicular em cutias correspondeu à zona média de rápido aumento que corresponde ao período de estabelecimento da espermatogênese na puberdade até maturidade sexual da curva sigmóide apresentada por COUROT *et al.* (1970). Esses são semelhantes ao observado para algumas espécies domésticas as quais apresentaram o ritmo de crescimento testicular máximo na puberdade, dentre elas, o caprino Saanen (BECKER-SILVA, 2000), o suíno piau (FRANÇA, 1987), búfalos mestiços (MELO, 1991) e bovinos e ovinos (ORTAVANT *et al.*, 1977)

A correlação observada entre os dados biométricos testiculares de cutias e a idade foi significativa, onde os coeficientes de correlação linear foram peso (0,97), comprimento (0,97) e largura testicular (0,88). O peso testicular também se correlacionou significativamente com o comprimento testicular (0,99) e a largura testicular (0,91). No suíno da raça piau os dados biométricos testiculares também apresentaram correlações significativas entre si e com a idade (FRANÇA, 1987). Em búfalos mestiços OHASHI (1993) encontrou dados biométricos significativamente correlacionados com a idade, o mesmo autor observou que a biometria testicular apresentou maior correlação com o peso corporal que com a idade, apesar da mesma ter sido significativa.

No presente trabalho o crescimento testicular de cutias se apresentou de forma linear em todos os grupos analisados, inclusive o da maturidade sexual, portanto a curva do crescimento testicular não apresentou aspecto sigmóide proposto por COUROT *et al.* (1970), porém é possível que a partir dos 17 meses, idade em que os animais atingiram a maturidade sexual, o crescimento testicular estabilize e a curva apresente aspecto sigmóide.

Com base nos resultados encontrados em cutias e em algumas espécies domésticas, pode-se afirmar que o peso corporal e a biometria testicular relacionados com a idade são parâmetros importantes nos estudos do desenvolvimento reprodutivo,

principalmente no que diz respeito a determinação de puberdade. Segundo AMANN & SCHANBACHER (1983), a biometria testicular é fundamental em exames andrológicos ou de experimentos que envolvam funções reprodutivas masculinas, o qual possibilita verificar a normalidade dos testículos e estabelecer o potencial de produção dos espermatozoides.

5.3- DIÂMETRO DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS.

A evolução do diâmetro tubular em relação à idade acompanhou o aumento da população espermatogênica em seu interior, e aumentou de acordo com o crescimento testicular, onde apresentou correlação significativa (0,95). O diâmetro dos túbulos seminíferos aumentou significativamente até a puberdade ($P < 0,05$), a partir dessa fase o aumento se apresentou de forma gradual, mas sem diferenças significativas ($P > 0,05$). Em outro roedor da sub-ordem Caviomorfa, a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), o diâmetro tubular apresentou correlação negativa (-0,33) com a idade (MOREIRA *et al.*, 1997). No suíno piau, o diâmetro dos túbulos seminíferos aumentou de acordo com o peso corporal e testicular no decorrer da idade, o número celular também apresentou correlação significativa com o diâmetro tubular (FRANÇA *et al.*, 2000). No *Bos indicus*, o diâmetro tubular apresentou correlação significativa com o peso testicular (AIRE & AKPOKODJE, 1975).

A luminação dos túbulos seminíferos em cutias foi primeiramente observado no grupo da pré-puberdade, sendo mais evidenciados aos 7 meses de idade.

5.4- DETERMINAÇÃO DAS FASES DE DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO ATRAVÉS DA QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMATOGÊNICAS DE CUTIAS (*Dasyprocta sp.*).

O início do processo espermatogênico é caracterizado pelo aumento de divisões de células germinativas e mudanças na estrutura do testículo (COUROT *et al.*, 1970). Em cutias este período é caracterizado pelo rápido aumento do peso testicular, o qual apresentou correlação significativa com as células espermatogênicas (0,99) e com o diâmetro dos túbulos seminíferos (0,96).

Nas cutias a puberdade em machos foi observada em torno de 8 - 9 meses, sendo que em fêmeas, a puberdade foi observada em período similar, em torno de 9 meses (GUIMARÃES, 2000). Na fase de puberdade em machos todos os estádios do ciclo do epitélio seminífero estavam caracterizados e definidos, e através da quantificação das células espermatogênicas em animais de diferentes idades, as médias observadas das células espermatogênicas e das células de Sertoli foram significativas ($P < 0,05$) para todos os grupos analisados antes e após a puberdade.

O número de células espermatogênicas no interior dos túbulos seminíferos aumentou significativamente ($P < 0,05$) com o avançar da idade, enquanto que as células de Sertoli em animais a partir da puberdade foram menos observadas que em animais pré-púberes. Em relação ao aumento no número de células espermatogênicas, a produção dessas células para a formação dos espermatozóides, é consideravelmente maior a partir da puberdade se estabilizando na fase adulta. As células de Sertoli, por sua vez, se distribuem ao longo dos túbulos seminíferos, para dar suporte as células germinativas, através da expansão de seus citoplasmas, caracterizando o decréscimo no número observado nas secções transversais dos túbulos seminíferos.

Além da população celular, a puberdade em cutias foi determinada através da observação dos espermatozóides no lúmen dos túbulos seminíferos, corroborando o proposto de OKWUN *et al.* (1996).

A fase da pós-puberdade em cutias, observada no presente experimento foi longa, com início por volta dos 10 meses terminando em torno dos 15 meses de idade. Nesse período, o aumento da população de células espermatogênicas nas secções transversais analisadas não foi significativo, indicando uma tendência de estabilização dessa população, porém, o crescimento testicular ainda foi observado. Essa característica observada em cutias corroborou com o proposto de COUROT *et al.* (1970), o qual classificou duas fases de pós-puberdade de acordo com o crescimento testicular.

A maturidade sexual em cutias foi alcançada em torno de 16 - 17 meses de idade, onde foi observado um aumento no número de células espermatogênicas e no peso testicular a partir da pós-puberdade 2.

Portanto, os resultados encontrados em cutias no presente trabalho, contradizem a hipótese proposta por WEIR (1971), onde sugeriu que a puberdade nesses animais não é alcançada antes dos dois anos de idade, baseado na análise de dois machos com idade variando de dois a dois anos e meio que ainda não haviam iniciado o processo da espermatogênese.

O fator nutricional tem influência direta no período de estabelecimento da puberdade. O desenvolvimento sexual parece ser mais relacionado com o peso do corpo que com a idade cronológica (WIDDOWSON, 1981), conseqüentemente, a puberdade pode iniciar cedo ou tarde, dependendo do crescimento do animal relacionado a sua alimentação, independente da idade. Em cutias, dois animais analisados em idade de 8 e 10 meses respectivamente, apresentavam problemas na sua espermatogênese, com túbulos seminíferos apresentando características pré-púberes e sem luminação e peso corporal

testicular e corporal inferior ao observado em animais em puberdade nessa idade. Esse fato foi relacionado, a época em que o experimento foi realizado sob condições de deficiência alimentar.

Esse fato também foi observado em algumas espécies domésticas como, o búfalo Carabal, onde a puberdade ocorreu em torno dos 24 meses e maturidade sexual aos 30 meses de idade (MCCOOL & ENTWISTLE, 1989). Os mesmos autores afirmaram que uma suplementação alimentar eficiente nesses animais reduziriam consideravelmente o tempo de alcance da puberdade e maturidade sexual.

A influência positiva de um nível nutricional mais elevado sobre o crescimento testicular, como consequência o maior ganho de peso, foi também constatado em cabritos da raça caxemira (WOLDE-MICHEAL, 1989, *apud*, BECKER-SILVA, 2000).

Portanto a deficiência alimentar pode afetar o desenvolvimento corporal e testicular de um animal refletindo diretamente em seu processo espermatogênico, aumentando o tempo de alcance da puberdade e conseqüentemente da maturidade sexual.

5.5- RENDIMENTO GERAL DA ESPERMATOGÊNESE E ÍNDICE DAS CÉLULAS DE SERTOLI.

A eficiência ou rendimento da espermatogênese é traduzido pelas razões encontradas entre os números celulares obtidos. Na teoria, em cada divisão o número celular é dobrado, mas na prática isso não é observado. A razão real é sempre menor que a razão teórica, já que a última não considera as degenerações celulares normais que ocorrem durante a espermatogênese (CASTRO *et al*, 1997).

Em cutias, no presente experimento, o rendimento geral da espermatogênese foi estimado, com base nas razões encontradas entre a espermatogônia A e espermátides arredondadas em animais a partir da puberdade. Observou-se um aumento significativo

($P < 0,05$) das razões entre SPGA e SPDar nos animais a partir dos 8 meses de idade como consequência a diminuição de degenerações celulares, sendo que durante a pré-puberdade essas razões foram constantes. Portanto, a partir da puberdade observou-se uma melhor eficiência na espermatogênese em cutias.

OKWUN *et al.* (1996) observaram as razões entre SPGA e SPDar em três raças de porcos, Whitecross (1: 17,6); Meishan (1: 31,7) e West African (1: 21,2), e dentre as três raças, a melhor eficiência observada foi na raça Meishan, onde as razões entre SPGA e SPDar foram maiores. Em suínos da raça piau, o aumento da razão entre essas células foi maior a partir dos 6 meses de idade (FRANÇA, 1987).

O cálculo do índice de célula de Sertoli para cada tipo de célula germinativa parte da premissa de que o número de células de Sertoli estabilizou a partir da puberdade (COUROT *et al.*, 1970), essas células são extremamente resistentes a injúrias drásticas capazes de afetar os demais tipos celulares do epitélio seminífero (CASTRO *et al.*, 1997).

Em cutias, a razão entre as células de sertoli e as células espermatogênicas não se mostrou significativa ($P > 0,05$) entre 8 - 9 meses quando atingiram a puberdade (1: 3,40) até o início da maturidade sexual entre 16 - 17 meses (1: 6,36). Portanto os resultados indicam um aumento progressivo na capacidade de suporte das células de sertoli em relação as células germinativas, o que melhora a eficiência da espermatogênese, já que diminui os índices de degeneração celular.

5.6- CARACTERIZAÇÃO DOS ESTÁDIOS QUE COMPÕEM O CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO E DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESTÁDIOS.

A habilidade de classificar o ciclo do epitélio em estádios identificáveis é um importante pré-requisito nas investigações sobre a espermatogênese, onde os estádios são determinados baseados nos tipos e arranjos celulares observados nos túbulos seminíferos (BERNDTSON, 1977). Em cutias (*Dasyprocta sp.*), observou-se oito estádios compondo o ciclo do epitélio seminífero, pelo método da morfologia tubular, onde a características das células espermatogênicas no interior do testículo desses animais foi semelhante ao observado em outros roedores e em mamíferos em geral.

Dentre os roedores, vários trabalhos vem sendo desenvolvidos, para se determinar o ciclo do epitélio seminífero entre as espécies. GUERRA (1983), apresentou dados de diversos autores, onde os estádios mais frequentes foram o 7, 8 e 1, no rato, esquilo e coelho, respectivamente. No *Bolomys lasiurus* (PARREIRA & CARDOSO, 1991) encontraram resultados semelhantes aos observados no rato e no esquilo, com maior frequência no estágio 8.

Nos Caviomorfos, dentre eles as pacas (*Agouti paca*), os estádios mais frequentes foram o 1 e o 2 (PASHOV & MATAMOROS, 1984). No presente trabalho com cutias (*Dasyprocta sp.*), os estádios não apresentaram diferenças significativas entre si ($P > 0,05$), com ligeira predominância dos estádios 5, 1 e 2. Em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), os estádios mais frequentes foram do 1 ao 4 (PAULA *et al.*, 1999). Entre as três espécies de caviomorfos descritas acima, observa-se uma semelhança na frequência relativa entre os estádios, levando em consideração os padrões filogenéticos dessas espécies.

Dentre os roedores, quando diferentes espécies são comparadas utilizando a mesma classificação, sugere-se que alguns componentes filogenéticos são importantes na

determinação do desenvolvimento das células germinativas durante o processo espermatogênico (FRANÇA *et al.*, 1999). Portanto, em espécies próximas filogeneticamente, as frequências relativas dos estádios de ciclo do epitélio seminífero são semelhantes, ou seja, os estádios apresentam-se de forma constante entre diferentes espécies. Essa afirmação pode ser constatada entre alguns roedores Caviomorfos, como cutias e pacas, sendo as frequências relativas semelhantes na maioria dos estádios. De acordo com estudos filogenéticos, essas duas espécies são próximas e já foram agrupados em uma mesma família, a Dasyproctidae (SIMPSON, 1945), porém atualmente as pacas estão agrupadas na família Agoutidae (WOODS, 1982).

Entretanto, a frequência relativa entre os estádios pode variar entre as espécies como foi demonstrado entre os roedores e animais domésticos. Contudo, HESS *et al.* (1990) afirmaram que essa variabilidade pode existir inclusive entre indivíduos de uma mesma espécie, o que foi observado por ao examinarem 645 túbulos seminíferos/animal de ratos Sprague Dawley, onde se observaram diferenças significativas nas frequências relativas dos estádios (HESS *et al.*, 1990; CASTRO *et al.*, 1997).

A frequência conjunta dos estádios do ciclo do epitélio seminífero foi determinada, onde a fase de maior frequência foi a pós-meiótica (45,8%), que corresponde o estágio 5 ao 8. Em outros roedores, a fase pós-meiótica também foi mais frequente, dentre eles, o *Bolomys lasiurus* (60%) (PARREIRA & CARDOSO, 1991); rato (70,6%) (CLERMONT & HARVEY, 1965); em camundongo (68,9%) (CLERMONT & TROTT, 1969); em hamster (77,4%) (VAN HAASTER & De ROOIJ, 1993) e na cavia (48,1%) (NOLLER *et al.*, 1977).

Em capivaras, PAULA, *et al.* (1999), determinaram a frequência conjunta dos estádios, onde a fase pré-meiótica apresentou-se com maior frequência (44,8%), porém a mesma apresentou-se equilibrada com a fase pós-meiótica (40,6%), ou seja, os estádios

isolados apresentam frequências distintas, mas quando agrupados, equivalem-se no interior dos túbulos seminíferos. Em cutias, outro roedor Caviomorfa, apesar da fase pós-meiótica ter apresentado maior frequência (45,8%), equiparou-se com a fase pré-meiótica (43,2%), apresentando um equilíbrio na disposição dos estádios no interior dos túbulos seminíferos.

6- CONCLUSÕES

Nas condições do presente experimento, podemos concluir que em cutias (*Dasyprocta sp.*).

1) A puberdade foi observada em torno de 8 - 9 meses de idade obtida através da quantificação das células espermatogênicas. O peso corporal na puberdade foi em torno de 1,9 Kg.

2) O início da maturidade sexual foi observada em torno dos 16 - 17 meses. Os animais nessa idade apresentavam o peso corporal em torno de 2.8 Kg.

3) A frequência dos oito estádios compondo o ciclo do epitélio seminífero caracterizados pelo método da morfologia tubular foi determinada, onde o estágio 5 (21.1%) e o 2 (18.8%) apresentaram maior frequência. Ao agrupar os estádios, a fase pós-meiótica, apesar de ter apresentado maior frequência (45.8%), equiparou-se com a fase pré-meiótica (43,2%).

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear population from microtome sections. **Anatomical Records**. V.49 (1), pg. 238-248, 1946.

AIRE, T.A. & AKPOKODJE. Development of puberty in the white fulani (*Bos indicus*) bull calf. **British veterinary journal**. V (131): 146-151, 1975.

AMANN, R.P. Reproductive capacity of dairy bulls. III. The effect of ejaculation frequency, unilateral vasectomy, and age on spermatogenesis. **The American Journal of Anatomy**. V.110 (1): 49-62, 1962.

AMANN, R.P. Sperm production rates. In: **The testis**. JOHNSON, A.D.; GOMES, W.R.; VANDENMARK, N.L. (Ed). New York: Academic press, Cap. 7, V 1.: 433-482, 1970.

AMANN, R. P.; SCHANBACHER, B.D. Physiology of male reproduction. **Journal Animal Science**. V. 57 (2): 380-403, 1983.

AYRES, M.; AYRES JR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. BioStat 2.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. **Sociedade Civil Mimirauá**. CNPq. 272p. 2000.

BARDIN,C.W.; CHENG, G.Y.; MUSTOW, N.A.;GUNSALUS, G.L. The sertoli cell. In: **The physiology of reproduction**. KNOBIL, E and NEILL, J.D. (ED.). Raven Press, New York. V.1: 1303-1304, Cap. 20, 1994.

BATH, L.E.; BROWN, D.C.; KELNAR, C.J.H. Precocious puberty. Symposium: Endocrinology. **Current paediatrics**. V. 9: 242-246, 1999.

BECKER-SILVA, S.C. **Caracterização histológica e seminal do desenvolvimento sexual de caprinos saanen, criados em sistema intensivo.** Belo Horizonte. (Dissertação de Mestrado). UFMG: Escola de Veterinária. 117p. 2000.

BERNDTSON, W.E. and DESJARDINS, C. The cycle of the seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis. **The American Journal of Anatomy.** V. 140: 167-180, 1974.

BERNDTSON, W. E. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **Journal animal Science.** V. 44: 818-833, 1977.

BODMER, R.E.; PENN JR, J.W. Manejo da vida silvestre em comunidades na Amazônia. In: **Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil.** PADUA, C.V.; BODMER, R.E (Eds). Sociedade Civil Mamirauá. CNPq/Belém-Pa, 1997.

CARDOSO, F.M. and GODINHO, H.P. Cycle of the seminiferous epithelium and its duration in the Zebu, *Bos indicus*. **Animal reproduction science.** V. 5: 231-245, 1983.

CARVALHO, J. C. A fauna amazônica como recurso natural. **Anais da Biblioteca Nacional do Rio de Janeiro.** V.101: 205-214, 1981.

CASTRO, A.C.S. **A proposed acrosomal system for identifying stages of the cycle of the seminiferous epithelium and a model for the kinetics of spermatogenesis in the rabbit.** (Tese de Doutorado). University of New Hampshire, 148p. 1995.

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

CLERMONT, Y. and HARVEY, S.C. Duration of the cycle of seminiferous epithelium in normal, hypophysectomysed and hypophysectomysed-hormone treated albino rats. **Endocrinology**. V. 76: 80-89, 1965.

CLERMONT, Y. and TROTT, M. Duration of the cycle of the seminiferous epithelium in the mouse and hamster determined by means of ³H-thymidine and radioautography. **Fertility and Sterility**. V.20: 805-817, 1969.

CLERMONT, Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. **Physiology Reviews**. V.52 (1): 198-236, 1972.

COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M. T.; ORTAVANT, R. Spermatogenesis. In: **The testis**. JONHSON, A. D.; GOMES, W. R.; VANDEMARK(Eds). Academic Press. New york. V.1: 339-432, 1970.

COUROT, M. Prepubertal development and puberty: comparative aspects. **Int. J. Androl**. V.1 (suppl.1): 11-20, 1978. In: **Desenvolvimento testicular de suínos da raça piau, do nascimento aos 12 meses de idade**. FRANÇA, L.R.(Ed). Belo Horizonte. UFMG (Dissertação de mestrado), 79p., 1987.

CURTIS, H.F. and SAAVEDRA, C.J. Prospects for wildlife management in Latin American and the Caribbean. In: **Neotropical wildlife use and conservation**. ROBINSON, J.G.; REDFORD, K.H. (ED). University of Chicago Press, cap. 28. pg. 430-444, 1991.

EISENBERG, J.F. The order rodentia. In: **The mammalia radiations**. Londres: Athlone, p. 82-111, 1981

EISENBERG, J.F. Order Rodentia. In: **Mammals of the neotropics**. The University of Chicago. Press. Chicago e Londres., Cap. 13. V.1. 1989.

EMMONS, L. Large Cavylike rodents (Agoutidae, Dasyproctidae, Hydrochaeridae, Dinomyidae). In: **Neotropical rainforest mammals**. Chicago: University of Chicago; pg. 203-212, 1990.

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

FRANÇA, L.R. **Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau**. Belo-Horizonte. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 185p, 1991.

FRANÇA, L. R.; OGAWA, T.; AVARBOCH, M. R.; BRINSTER, R. L.; RUSSELL, L. D. Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. **Biology of Reproduction**. V. 59: 1371-1377, 1998

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

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

GUERRA, M. O. Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, em dados da literatura. **Revista Brasileira de Biologia**. 43 (4): 385-294, 1983.

GROCOCK, C.A. & CLARKE, J.R. Duration of spermatogenesis in the vole (*Microtus agrestis*) and bank vole (*Clethrionomys glareolus*). **Journal Reproduction Fertility**. V.47 (1): 132-135, 1976. In: Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, em dados da literatura. GUERRA, M. **Revista Brasileira de Biologia**. 43 (4): 385-294, 1983.

GUIMARÃES, D.A.A.; **Algumas Características reprodutivas da Cutia fêmea *Dasyprocta prymnolopha* (Wagler,1831), criadas em cativeiro**. Belém-Pa . (Dissertação de Mestrado). UFPa/MPEG, 89p. 1993.

GUIMARÃES, D.A.A.; **Aspectos reprodutivos e endócrinos da puberdade, ciclo estral, gestação e cio pós-parto de cutias (Rodentia: Dasyproctidae), criadas em cativeiro**. Belém-Pa . (Tese de doutorado). UFPa, 94p. 2000.

GURAYA, S.S. & BILASPURI, G.S. Stages of seminiferous epithelium cycle and relative duration of spermatogenic process in the buffalo (*Bos bubalus*). **Gegenbaurs Morphology**. V. 122 (2): 147-161, 1976.

HAFEZ, E.S.E. Anatomia da Reprodução masculina. In: **Reprodução Animal**. Ed. Manole. 6º Ed., Cap. 1, p. 3-20, 1995.

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

HOSKEN, F.M. Criação de capivaras. Ed. SEBRAE/MT. Cuiaba, 138p. 1999.

HOSKEN, F.M. Acessoria e projetos para a criação de animais silvestres. **Zooway**. Website: [http:// www.zooway.com.br/concei.htm](http://www.zooway.com.br/concei.htm). 2001

JOHNSON, L. Efficiency of spermatogenesis. **Microscopy Research and technique**. V. 32: 385-422, 1995.

JOHNSON, L.; VARNER, D.D.; ROBERTS, M.E.; SMIYH, T.L.; KEILLOR, G.E.; SCRUTCHFIELD, W.L. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**. V.60-61 (2): 471-480, 2000.

JONES, R. Some notes on the dissection of an Agouti (*Dasyprocta aguti*). **Proceeding of the Zoological Society of London**. N° 20: 82-84, 1834.

KERR, J.B. Spontaneous degeneration of germ cells in normal rat testis: assessment of cell types and frequency during the spermatogenic cycle. **Journal of Reproduction and Fertility**. V.95 (3): 825-830, 1992.

KRETZER, D.M. and KERR, J.B. The cytology of the testis. In: **The Physiology of Reproduction**. KNOBIL, E. AND NEIL, J.D. (Eds). Raven Press, New York, Cap. 19, p.1363-1434, 1994.

LEBLOND, C. P.; CLERMONT, Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Annals New York Academy science**. V.55: 548-573, 1952.

LUZ-RAMOS, R.S. **Análise cariotípica das espécies do gênero *Dasyprocta* (Rodentia: Dasyproctidae) encontradas na Amazônia brasileira**. Belém-Pa. (Dissertação de Mestrado). UFPA. 119p, 1998.

MADANI, M.O.K. & RAHAL, M.S. Puberty in Libyan male goats. **Anim. Reprod. Sci.** V. 13 (3-4): 207-216, 1988. In: **Caracterização histológica e seminal do desenvolvimento sexual de caprinos saanen, criados em sistema intensivo**. BECKER-

SILVA, S.C. Belo Horizonte, (Dissertação de Mestrado). UFMG: Escola de Veterinária. 117p. 2000.

MCCOOL, C.J. and ENTWISTLE, K.W. The development of puberty and sexual maturity in the Australian swamp buffalo bull. **Theriogenology**. V.32 (2): 171-184, 1989.

MCCOOL, C.J. The cycle of the seminiferous epithelium in Bali cattle (*Bos sondaicus*). **Journal of Reproduction and Fertility**. V.87: 327-330, 1989.

MCLACHLAN, R.I.; WREFORD, N.G., ROBERTSON, D.M.; KRETZER, D.M. Hormonal control of spermatogenesis. **Trends in Endocrinology and Metabolism**. V. 6 (3): 95-101, 1995.

MELO, M.I.V. **Desenvolvimento testicular e dinâmica da espermatogênese de búfalos mestiços de 10 a 24 meses de idade**. Belo Horizonte. UFMG-Escola de Veterinária (Dissertação de Mestrado). 66p., 1991

MERITT JR, D.A. Preliminary observations on reproduction in the Central American agouti, *Dasyprocta punctata*. **Zoological Biology**. V.2: 127-131, 1983.

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

MOREIRA, J. R; MACDONALD, D.W. Técnicas de manejo de capivaras e outros grandes roedores da Amazônia. In: **Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil**. PADUA, C. V.; BODMER, R. E. Cap.11. Sociedade civil Mamirauá; MCT-CNPq; 1997.

NITTA, H.; COOKE, P.S. Crescimento e desenvolvimento do testículo. In: **Fertilidade e infertilidade humana**. BADALOTTI, M.; TELOKEN, C.; PETRACCO, A. (Eds). Cap. 7, pg. 61-73, Ed. Medsi, 1997.

NOGUEIRA-FILHO, S.L.G. **Criação comercial de capivara**. Departamento de zootecnia. ESALQ/ USP, 1997.

NOLLER, D.W.; FLICKGINGER, C.J. and HOWARDS, S.S. Duration of the cycle of the seminiferous epithelium in the guinea pig determined bi tritiated thymidine autoradiography. **Biology of Reproduction**. V.17: 532-537, 1977.

NOWAK, R.M. Ordem Rodentia. In: **Walker's Mammals of the world**. John Hopkins Univ. Press., pg. 643-1629, 1991.

OHASHI, O.M. **Estudos morfofisiológicos do testículo de búfalos mestiços (*Bubalus bubalis*) em diferentes idades**. Botucatu-SP. (Tese de Doutorado). UNESP/SP, 114p. 1993.

OKWUN, E.O.; IGBOELI, G.; LUNSTRA, D.D.; FORD, J.J.; JOHNSON, L. Testicular composition, number of A spermatogonia, germ cell ratios, and number of spermatids in three different breeds of boars. **Journal of Andrology**. V.17 (3): 301-308, 1996.

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

ORTAVANT, R. Autoradiographie des cellules germinales du testicule de belier. Duree des phenomenes spermatogenetiques. **Arch. Anat. Micros. Morph. Exp.** V. 45 (1): 1-10, 1956 In: Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos

estádios do ciclo do epitélio seminífero, em dados da literatura. GUERRA, M. O. **Revista Brasileira de Biologia**. 43 (4): 385-294, 1983.

PARREIRA, G.G.; and CARDOSO, F.M. Biologia reprodutiva de machos *Bolomys lasiurus* Lund, 1841 (Rodentia, Cricetidae). I. morfologia da espermatogênese e ciclo do epitélio seminífero. **Revista Brasileira de Biologia**. V.51: 639-646, 1991.

PASHOV, B.; MATAMOROS, Y. Description histologica del epitelio seminifero del testiculo tepezcuinte (*Cuniculus paca*, BRISSON, 1762) e identificacion de sus diferentes etapas. **Ciências veterinárias**, Heredia. V.1 (1): 9-15, 1984.

PAULA, T.A; CHIARINI-GARCIA, H.; FRANÇA, L.R. Seminiferous epithelium cycle and its duration in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Tissue & Cell**. V.31 (3): 327-334, 1999.

REDFORD, K.H. A floresta vazia. In: **Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil**. PADUA, C.V.; BODMER, R.E (Eds). Sociedade Civil Mamirauá. CNPq/Belém-Pa, 1997.

REIG, O. Teoria del origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de America del Sur. **Monographiae Naturae**. V.1: 62-67 e 106-107, 1981.

REIG, O. Distribuição geográfica e história evolutiva dos roedores muroideos sul-americanos (Cricetidae, Sigmodontidae). **Revista Brasileira de Genética**. V.7: 333-365, 1984.

ROOIJ, D.G. Stem cells in the testis. **Int. J. Exp. Path.** V.79: 67-80, 1998.

ROMAN, M.T. Guia para el manejo y cria del "Aguti", "Picturi", "Guatusa", "Ñeque", *Dasyprocta punctata* y *dasyprocta fuliginosa*. **Ciencia y tecnología**. SECAB, Guadalupe (Ed), N°64, 1997.

ROOSEN-RUNGE, E.C. & GIESEL-JR, O. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. **The American of Anatomy**. V.87 (1): 1-30, 1950.

RUSSELL, L. Movement of spermatocytes from the adluminal compartment of the rat testis. **The American Journal of Anatomy**. V. 148: 313-328, 1976.

RUSSELL, L.D.; ETTLIN, R.A.; HIKIM, A.P.S.; CLEGG, E.D. Mammalian spermatogenesis. The sertoli cell. In: **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Cache River Press, U.S.A, p.1-40. Cap.1, 1990a.

RUSSELL, L.D.; REN, H.P.; SINHA-HIKIM, S.; SCHULZE, W.; SINHA-HIKIM, A.P. A comparative study in twelve mammalian species with respect to key morphometric parameters related to volume densities and volumes of selected testis components. **American Journal Anatomy**. V.188: 21-30, 1990b.

SCHAUB, S. Remarks on the distribution and classification of the "Hystricomorpha". **Verh. Naturf. Ges. Basel**, pg. 389 – 400, 1953.

SETCHELL, B.P.; MADDOCKS, S.; BROOKS, D.E. Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive. In: **The Physiology of Reproduction**. KNOBIL, E. AND NEIL, J.D. (Eds). Raven Press, New York, Cap. 18, p.1363-1434, 1994.

SHARMA, A.K. and GUPTA, R.C. Duration of seminiferous epithelial cycle in buffalo bulls (*Bubalus bubalis*). **Animal Reproduction Science**. V. 3: 217-224, 1980.

- SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In: **The Physiology of Reproduction**. KNOBIL, E. AND NEIL, J.D. (Eds). Raven Press, New York, Cap. 22, p.1363-1434, 1994
- SIMPSON, G. The principles of classification and a classification of mammals. **Bulletin American Museum Natural History**. V.85: 1-50, 1945.
- SMITH, N.J. Utilization of game along Brazil's transamazon highway. **Acta Amazonica**. V.6 (4): 455-466, 1976.
- SMITHE, N. The natural history of the central American agouti *Dasyprocta punctata*. **Smithsonian Contribution of zoology**. V.257: 1-52, 1978.
- SWIERSTRA, E.E. & FOOTE, R.H. Cytology and kinetics of spermatogenesis and spermatozoan transport in the rabbit based on cytological changes. DNA synthesis and labelling with tritiated thymidine. **The American Journal of Anatomy**. V. 116: 401-411, 1965. In: Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, em dados da literatura. GUERRA, M. **Revista Brasileira de Biologia**. 43 (4): 385-294, 1983.
- TAIT, A.J. & JOHNSON, E. Spermatogenesis in the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) and changes during sexual regression. In: Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, em dados da literatura. GUERRA, M. O. **Revista Brasileira de Biologia**. V. 43 (4): 385-294, 1983.
- VAN HAASTER, L.H. and DE ROOIJ, D.G. Cycle of the seminiferous epithelium in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus sungorus*). **Biology of Reproduction**. V. 48: 515-521, 1993.

WEIR, B. Some observations on reproduction in the female Agouti, *Dasyprocta aguti*. **Journal reproduction and fertility**. V.24: 203-211, 1971.

WEIR, B. Reproductive characteristics of hystricomorph rodents. **Symposium of Zoological Society of London**. V.34: 265-301, 1974.

WIDDOWSON, E.M. The role of nutrition in mammalian reproduction. In: **Environmental factors in mammal reproduction**. GILMORE, D. & COOK, B. (Eds). Macmillan publishers. Pg. 145-157. Cap. 9, 1981.

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

WOLDE-MICHAEL, T., MILLER, H.M., HOLMES, J.G.H *et al.* Effect of supplementary feeding and zeranol on puberty in fetal cashmere goat. **Aust. Vet. J.** V.66 (4): 124-126, 1989. In: BECKER-SILVA, S.C. **Caracterização histológica e seminal do desenvolvimento sexual de caprinos saanen, criados em sistema intensivo**. Belo Horizonte, Dissertação (Mestrado). UFMG: Escola de Veterinária. 117p. 2000.

WOOD, A. E. Are there Rodents Suborders? **Systematic zoological**. V.7 (4): 169 – 173. 1955.

WOOD, A. E. & PATTERSON, B. The Rodents of the Deseadan Oligocene of Patagonia and the beginnings of South America Rodents evolution. **Bulletin Museu. Comp. Zoological Havard college**, V.120 (3): 281 – 428. Cambridge, Mass., 1959

WOODS, C.A. The history and classification of south American histricognath rodents: reflections on the far awayand long ago. In: **Mammalian Biology in South America**.

MARES, M.A.; GENOWAYS, H.H. (Eds). Linesville: special Publication Series, p. 337-392, 1982.

ANEXOS

ANEXO 1

Processamento histológico

1) Soluções

1.1) ALFAC (fixador)

- 85 ml de álcool 80% (álcool etílico-Merck)
- 10 ml de formol (Chemco)
- 5 ml de ácido acético glacial (Merck)

1.2) Corantes

- Hematoxilina delafield
- Eosina Amarela

2) Desidratação em álcool

- Alcool 70% (1 hora)
- Álcool 80% (1 hora)
- Álcool 90% (1 hora)
- Alcool Abs I (1 hora)
- Álcool Abs II (1 hora)

3) Diafanização

- Xilol I (1 hora)
- Xilol II (1 hora)

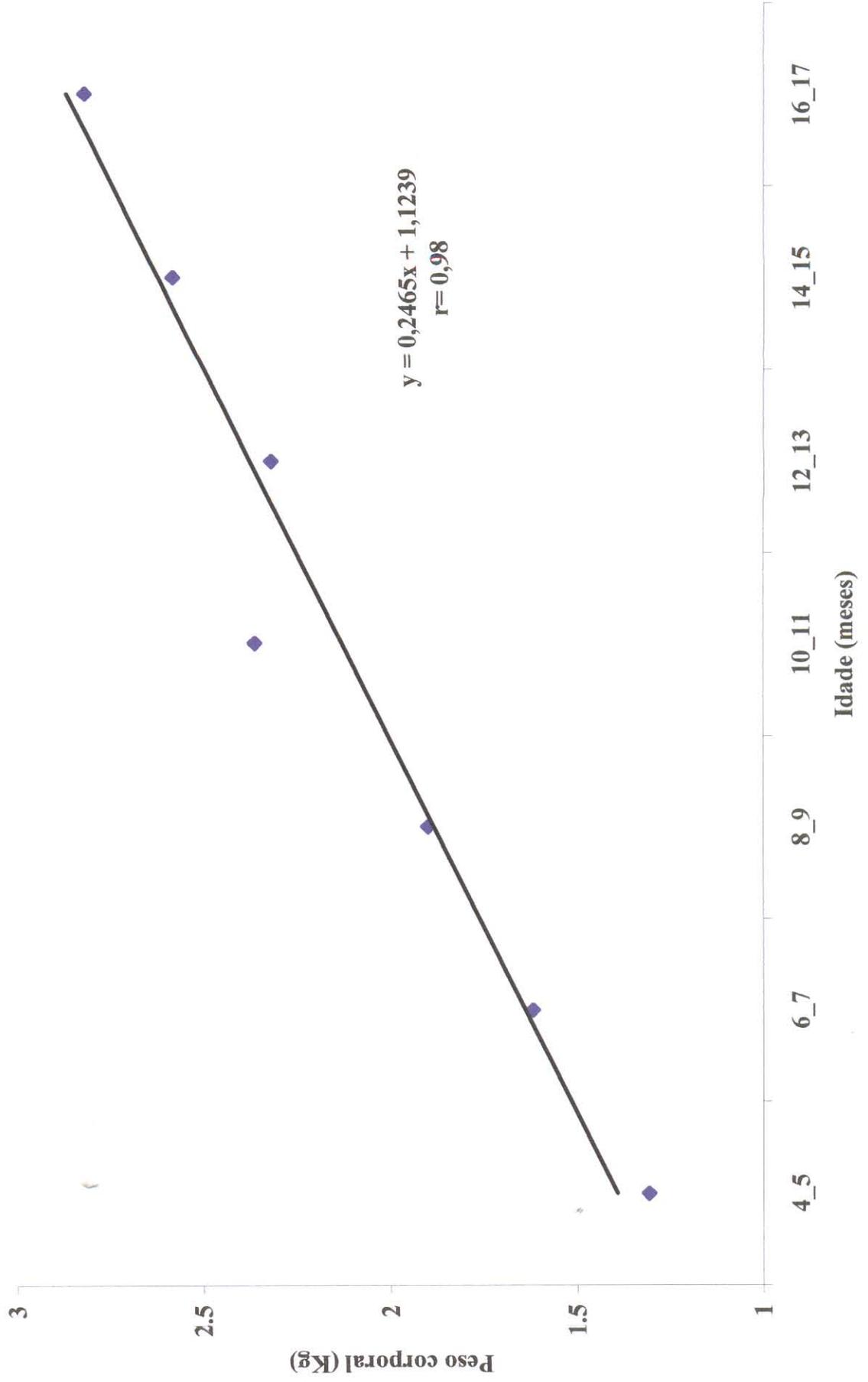
4) Inclusão em parafina à 65°C

- Parafina I (1 hora)
- Parafina II (1 hora)

5) Etapas de Coloração

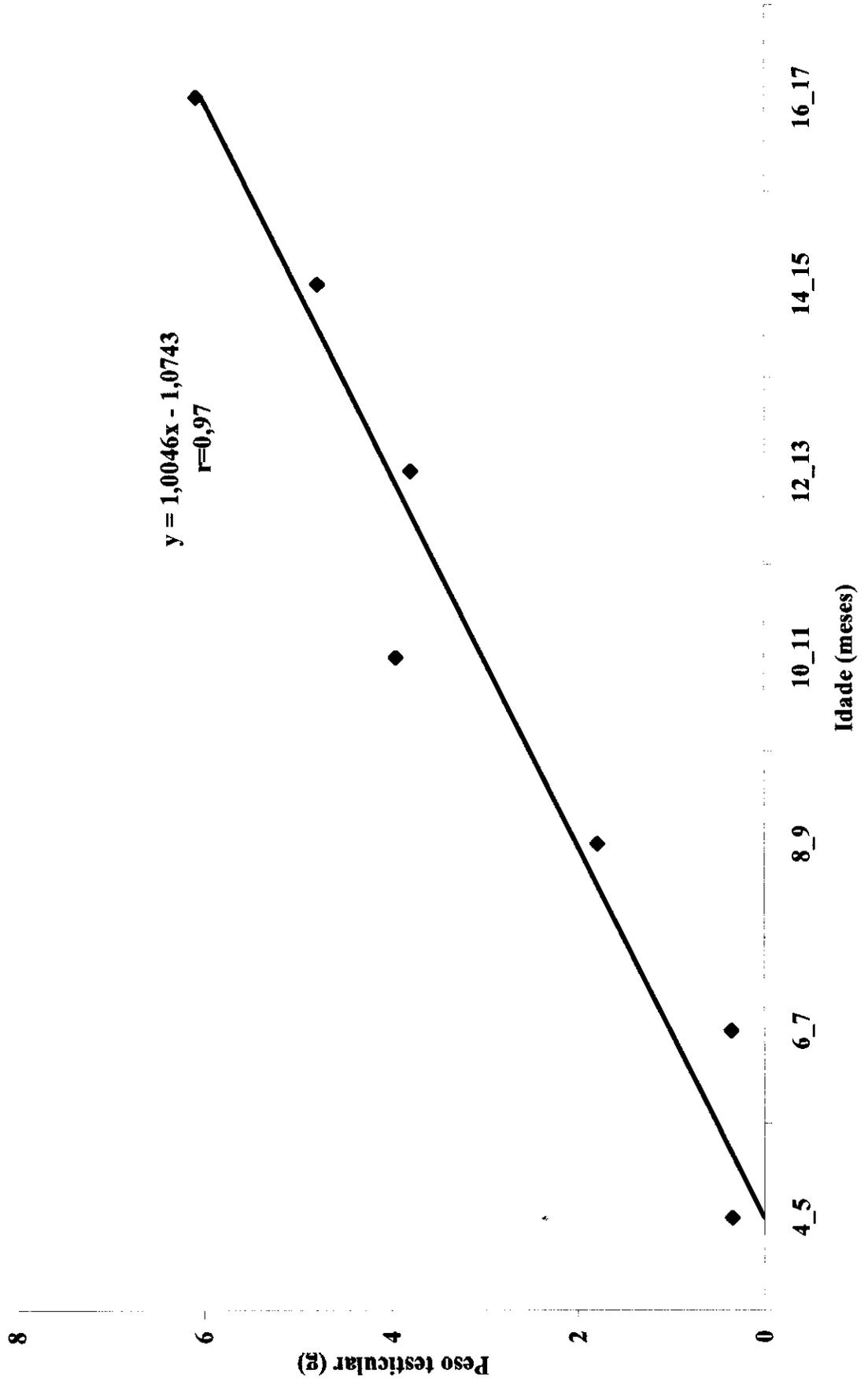
- Xilol I (7 minutos)
- Xilol II (7 minutos)
- Alcool Abs I (3 minutos)
- Álcool Abs II (3 minutos)
- Álcool 90% (3 minutos)
- Alcool 80% (3 minutos)
- Álcool 70% (3 minutos)
- H₂O destilada
- Hematoxilina (15 minutos)
- H₂O corrente (5 minutos)
- Diferenciador (HCL + Álcool 70%)
- H₂O destilada
- Eosina (1 minuto)
- Alcool 70% (lavar)
- Álcool 80% (lavar)
- Álcool 90% (2 minutos)
- Alcool Abs I (4 minutos)
- Álcool Abs II (% minutos)
- Xilol I (lavar)
- Xilol II (lavar)
- Montagem de lâmina com entelan (Merck)

ANEXO 2



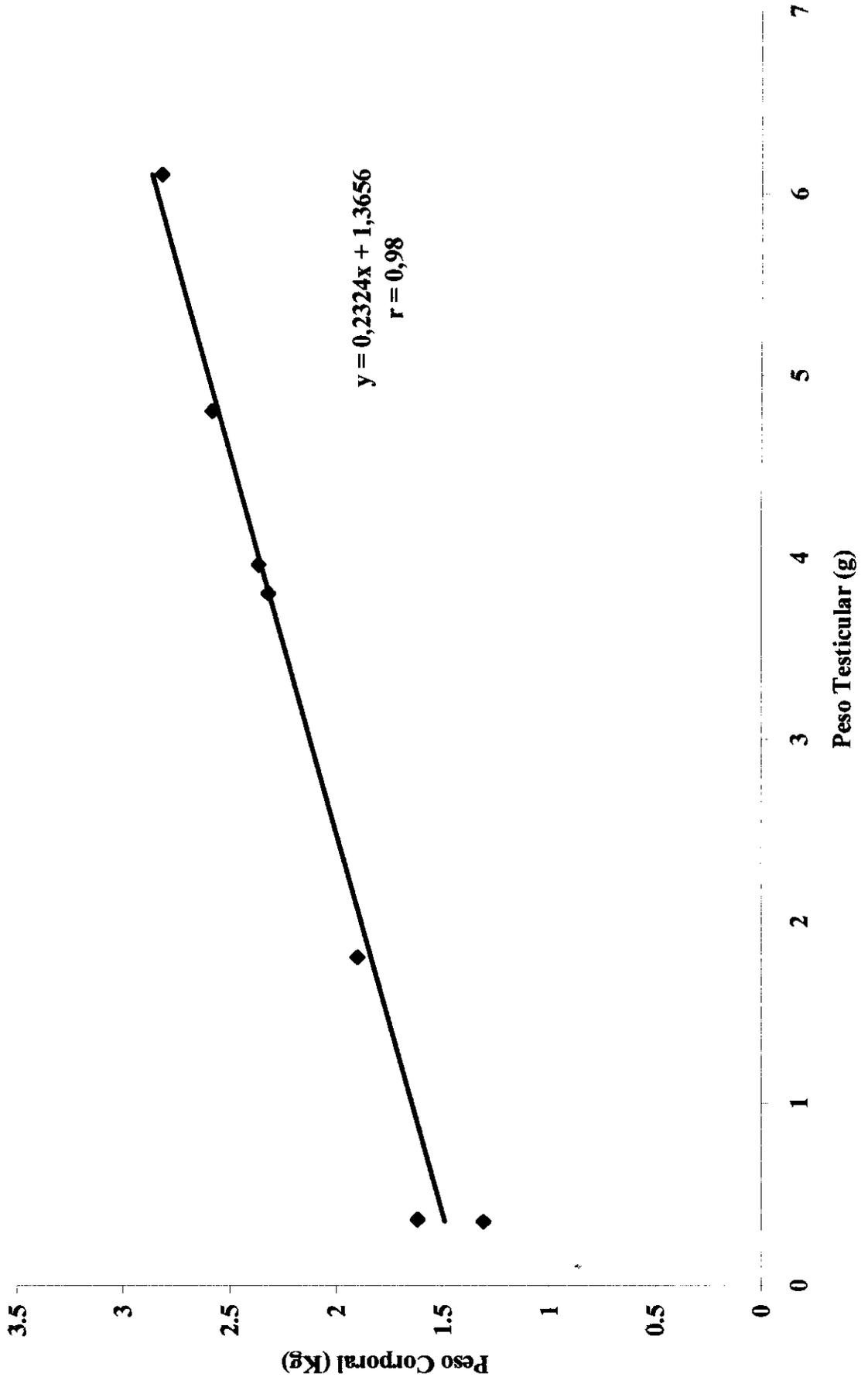
Evolução do peso corporal (Kg) em relação a idade

ANEXO 3



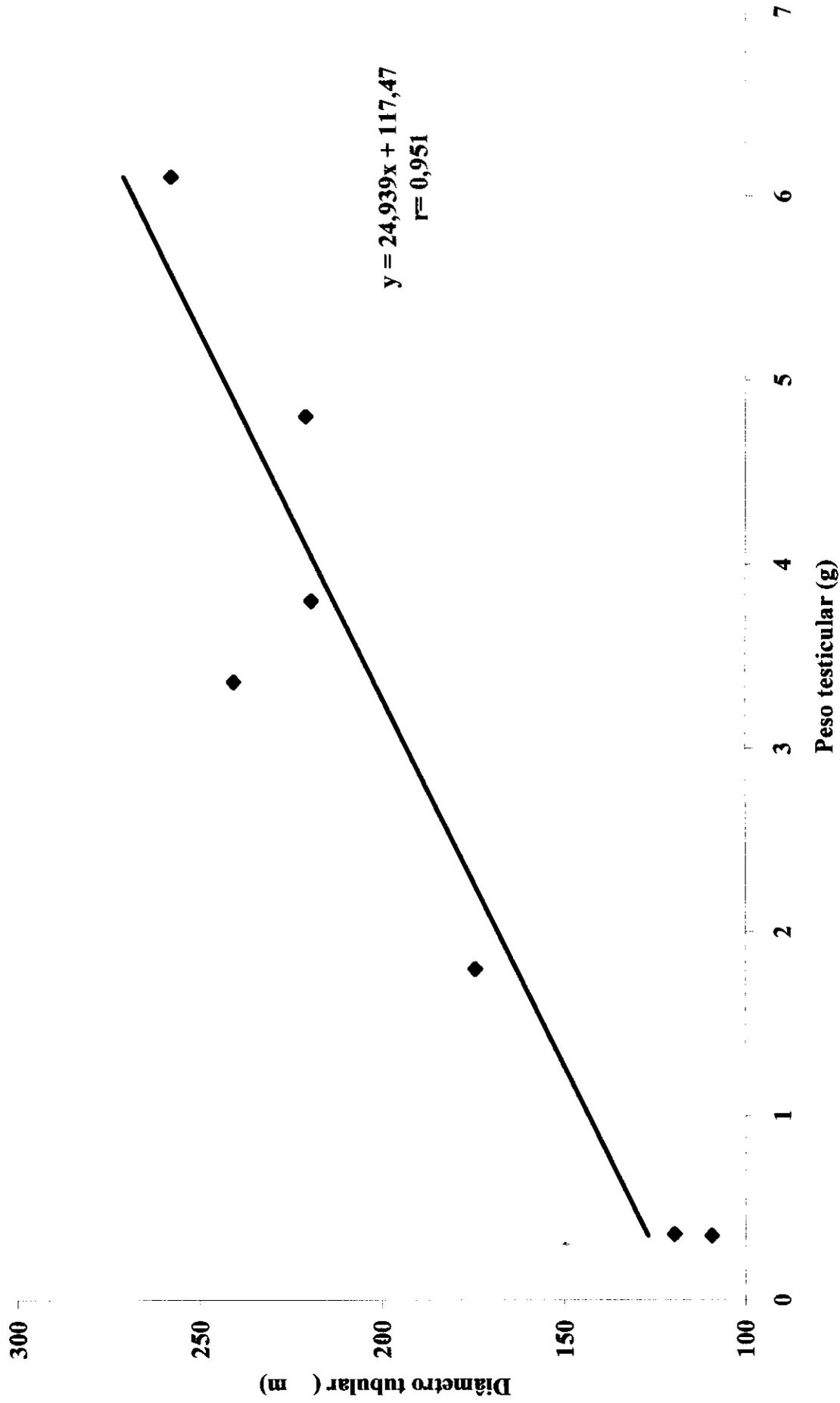
Evolução do peso testicular (g) em relação a idade

ANEXO 4



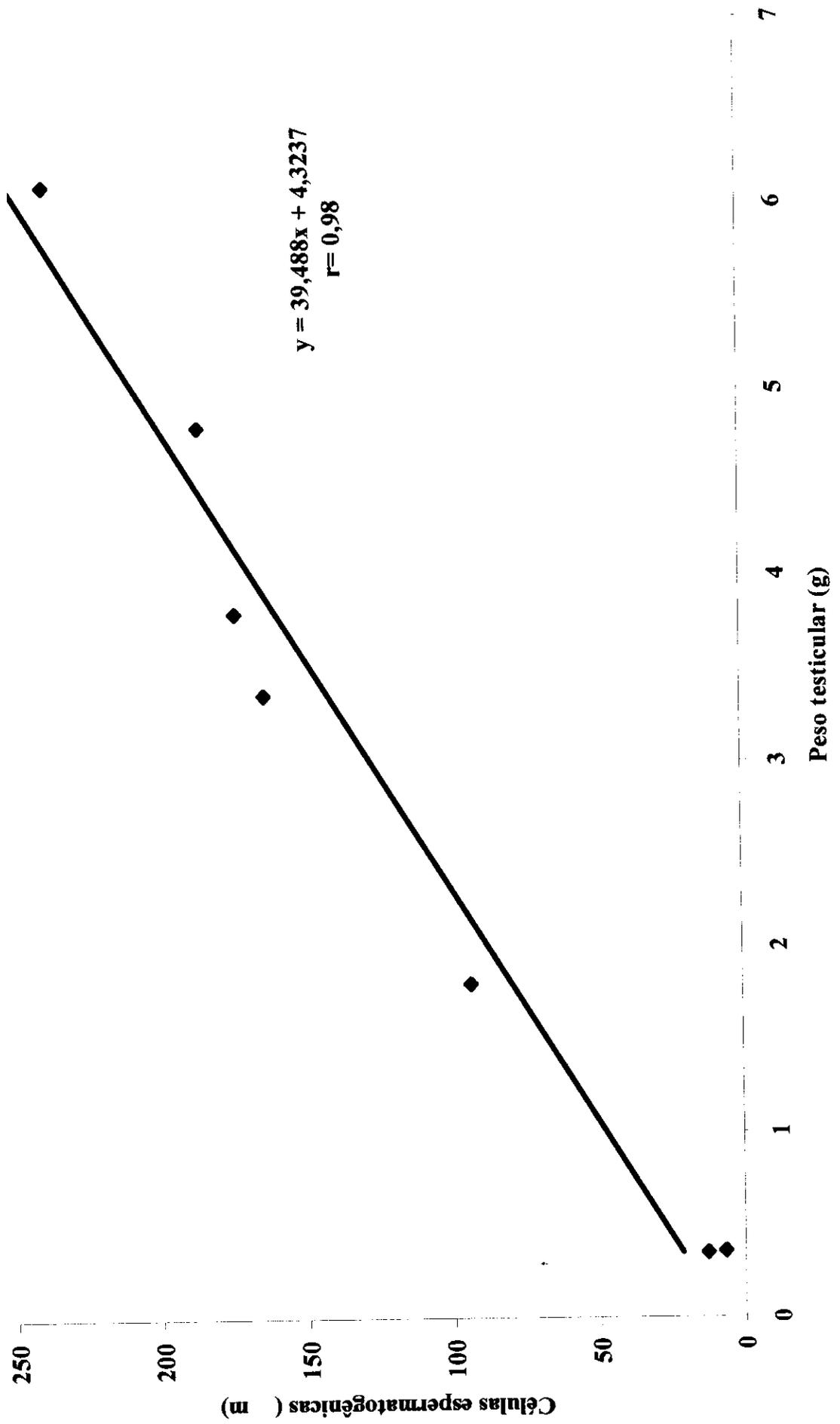
Evolução do peso corporal (Kg) em relação ao peso Testicular (g)

ANEXO 5



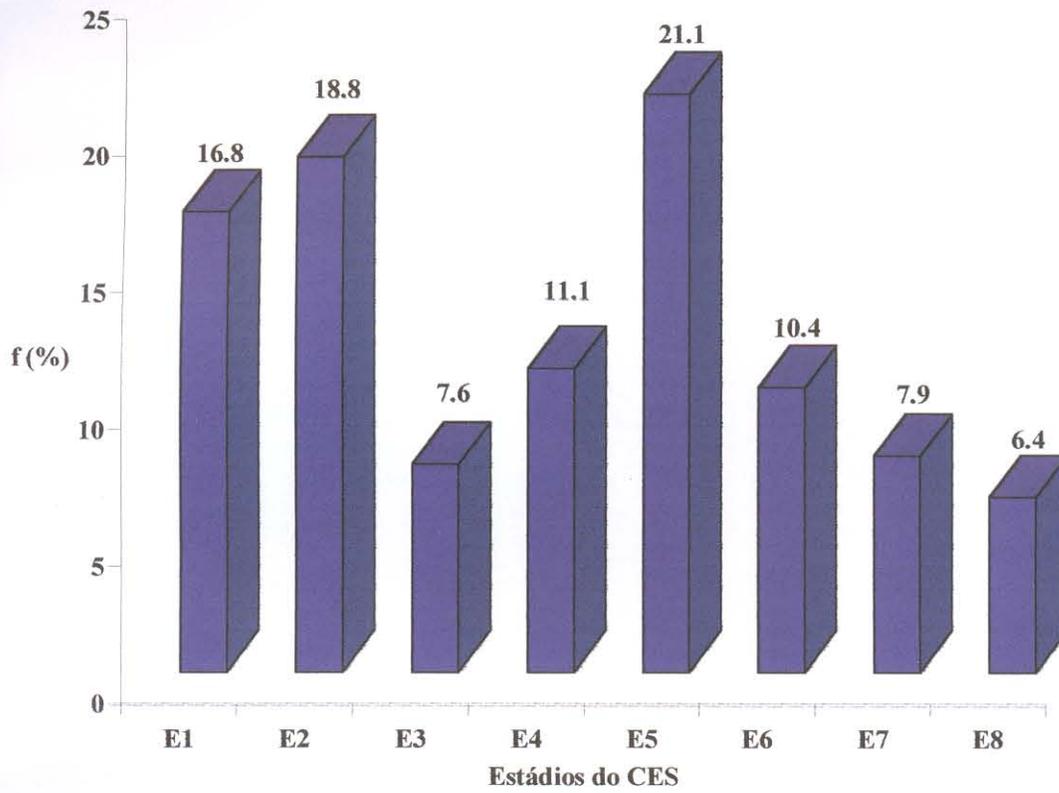
Evolução do diâmetro tubular em micrômetros em relação ao peso testicular (g)

ANEXO 6



Evolução das células espermatogênicas em relação ao peso testicular (g)

ANEXO 7



Frequência relativa (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminífero