

**KYVIA LUGATE CARDOSO COSTA**

**AVALIAÇÃO MORFOFUNCIONAL DO TESTÍCULO DE VEADO-  
CATINGUEIRO (*Mazama gouazoubira* Fischer, 1814)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2009**

**KYVIA LUGATE CARDOSO COSTA**

**AVALIAÇÃO MORFOFUNCIONAL DO TESTÍCULO DE VEADO-  
CATINGUEIRO (*Mazama gouazoubira* Fischer, 1814)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 17 de Fevereiro de 2009

---

Prof. Mariella Bontempo Duca de Freitas  
(Co-Orientadora)

---

Prof. Tarcízio Antônio Rêgo de Paula  
(Co-Orientador)

---

Prof. Juliana Silva Rocha

---

Prof. Clóvis Andrade Neves

---

Prof. Sérgio Luis Pinto da Matta  
(Orientador)

*“Por mais distantes que seus objetivos se encontrem, para alcançá-los é necessário apenas dar o primeiro passo, pois toda longa jornada se inicia quando determinamos aonde desejamos chegar.”*

Carlos Magno Cesar de Menezes

Dedico esta dissertação aos meus amados  
pais, Sebastião e Selma e aos meus queridos  
irmãos, Kelly e Kyrk.

## AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho não seria possível sem a contribuição de muitas pessoas às quais expresso meu profundo agradecimento.

À Deus por estar presente em minha vida, iluminar e direcionar meus passos.

Aos meus amados pais, Sebastião e Selma, pelo amor incondicional, pelo exemplo de força, carinho e dedicação e pela forma como me ensinaram a conduzir as adversidades da vida. Agradeço aos meus amados irmãos, Kelly e Kyrk, pela alegria de crescer ao lado de vocês, pelo aprendizado constante e por acreditarem em mim. Muito obrigada minha amada família, pelo prazer de compartilhar com vocês os melhores momentos da vida! Vocês são o tesouro mais precioso que tenho!

Ao Leandro, por todo carinho, companheirismo, amor e momentos compartilhados. Obrigada por existir na minha vida e tornar os meus dias mais belos. Te amo!

A toda minha família pelo amor que nunca deixaram faltar e por confiarem em mim.

À minha querida família de Itabirito-MG pelo carinho e incentivo em todos os momentos.

Aos amigos e professores de graduação, Fabiana C. S. A. de Melo, Fabiano R. de Melo e Braz A. P. Cosenza pelo grande apoio desde o início e por me permitirem sonhar com este dia.

Ao amigo e Prof. Luiz Eduardo F. Fontes pela confiança, carinho, oportunidade de crescimento profissional e pelo apoio em todos os momentos. Muito obrigada de coração!

Ao querido orientador e amigo Prof. Sérgio Luis P. Matta pela confiança, acolhimento, exemplo de profissionalismo, preciosos ensinamentos, pelas longas conversas de pai e amigo e por todas as contribuições ao longo do trabalho. Você é muito especial em minha vida! Muito obrigada por tudo!

Aos amigos Helton Aguiar, Breno Rossetti e família, pela receptividade desde o início, pelo carinho e por permitir que a realização deste trabalho fosse possível. Obrigada por toda ajuda e pela amizade que construímos. Vocês foram fundamentais para que esse trabalho se concretizasse!

Aos amigos do laboratório e da vida: Juliana, Fabíola, Karine, Ana Paula, Marli, Pamella, Carol, Dani, Luiz, Bruna, Diego, Suellen, Letinho, Daiane, Flávia, Diane, Napô, Claudinha, Vinícius, Alex, Mariana e Regiane por me proporcionarem momentos

tão agradáveis e por terem feito essa experiência valer muito a pena! Muito obrigada por existirem na minha vida!

Aos amigos do Museu de Zoologia João Moojen da UFV, pelos momentos de descontração e carinho. Vocês são muito especiais!

Aos amigos e irmãos de república, Lú, Bebê e Rique pela convivência constante e por serem a minha família em Viçosa! Agradeço também as amigas e ex-companheiras de república, Tauana, Flavinha e Keila pelos momentos compartilhados.

À amiga Eloísa pelo carinho, torcida e grande ajuda nas correções para o inglês.

Ao amigo Marcos de Lucca pela receptividade, carinho e por toda ajuda ao longo do trabalho. Muito obrigada de coração!

À Dona Maria por alegrar as minhas sextas-feiras, pelas palavras de sabedoria, incentivo, exemplo de força e pelas longas conversas na cozinha.

A todos os amigos do mestrado, por compartilharmos esse momento tão importante de nossas vidas.

Aos amigos do Projeto “Montanhas dos muriquis,” Vivi, Thiago, Gláucia, Renato e Letícia, pelos momentos de descontração, alegrias e pelas idas e vindas da Serra do Brigadeiro.

Ao Ambiente Brasil Centro de Estudos, à Fazenda Engenho D’Água, ao Centro de Conservação de Estudos de Cervídeos Brasileiros (CONCERVO), à Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte e ao Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE), pelas parcerias e apoio ao desenvolvimento deste estudo.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realização do curso, crescimento profissional e pessoal.

Ao Instituto Estadual de Florestas (IEF) pela concessão da bolsa de pesquisa, imprescindível na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Tarcízio Antônio R. de Paula pela co-orientação, por toda ajuda nas coletas, translocação dos cervídeos e pelas contribuições ao longo deste trabalho.

À Equipe do CETAS por toda ajuda durante as coletas de material biológico e translocação dos cervídeos ao criatório conservacionista da Fazenda Engenho D’Água.

Aos amigos Daniel Vilela e Leonardo Loewenstein, por todo apoio ao longo do trabalho.

Aos amigos Marcos, Juliana e Dr<sup>a</sup>. Heidi (UNICAMP) pela receptividade, parcerias e grande ajuda no processamento do material biológico para microscopia eletrônica.

À Júlia e Diana (UFMG), pela ajuda nas coletas de material biológico, pelas parcerias e carinho.

Ao Estevam e Professor Dr. José Maurício B. Duarte (UNESP-Jaboticabal) pela receptividade e por cederem alguns animais para complementar este estudo.

Aos professores do Departamento de Biologia Animal da UFV, pelos ensinamentos durante o curso.

Aos professores membros da comissão coordenadora da Pós-graduação em Biologia Animal, Gisele Lessa, Jorge Dergan, Marcelo Vilela e Fiúza, com quem tive a oportunidade de aprender grandes lições!

Aos professores do Laboratório de Biologia Celular e Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV, Isabel, Lino, Clóvis e Adilson, pela colaboração na análise do material histológico, no uso de equipamentos e materiais e pelo exemplo de profissionalismo.

Aos Professores Dr. Tarcízio Antônio Rêgo de Paula, Dr<sup>a</sup> Mariella Bontempo Duca de Freitas, Dr<sup>a</sup> Juliana Silva Rocha, Dr. Clóvis Andrade Neves por participarem da banca examinadora, por todas as sugestões e críticas fundamentais à complementação deste trabalho.

Aos veados-catingueiros utilizados neste estudo.

Agradeço ainda, a todos com que tive a oportunidade de conviver nestes últimos anos e que muito contribuíram para que eu pudesse chegar até aqui. Muito obrigada por tudo!

## SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Cervídeos: Aspectos Gerais.....	2
2.1.1. Biologia Reprodutiva dos machos.....	3
2.2. Veado-catingueiro ( <i>Mazama gouazoubira</i> ).....	6
2.3. O testículo e o processo espermatogênico.....	9
2.3.1. Testículo.....	9
2.3.2. Espermatogênese.....	12
2.3.3. Células de Sertoli.....	14
2.3.4. Células de Leydig.....	14
2.3.5. Biópsia testicular.....	16
3. OBJETIVOS.....	18
3.1. Objetivo geral.....	18
3.2. Objetivos específicos.....	18
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
ARTIGO I	
MORFOMETRIA TESTICULAR E DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS DE VEADO-CATINGUEIRO ( <i>Mazama gouazoubira</i> Fischer, 1814) ADULTO MANTIDO EM CATIVEIRO.....	31
RESUMO.....	31
1. INTRODUÇÃO.....	32
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
2.1. Animais.....	33
2.2. Coleta e processamento do material biológico.....	34
2.3. Análises morfológicas dos testículos.....	35
2.3.1. Índice gonadossomático (%).....	35



2.3.2. Proporções volumétricas (%), volume dos componentes do testículo e índice tubulossomático (%).....	35
2.3.3. Diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero.....	36
2.3.4. Comprimento total dos túbulos seminíferos e comprimento total de túbulo por grama de testículo.....	36
2.4. Análise estatística.....	36
3. RESULTADOS.....	37
4. DISCUSSÃO.....	40
5. CONCLUSÕES.....	45
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

## ARTIGO II

QUANTIFICAÇÃO HISTOLÓGICA E ORGANIZAÇÃO DOS ELEMENTOS DO COMPARTIMENTO INTERTUBULAR DO TESTÍCULO DE VEADOCATINGUEIRO ( <i>Mazama gouazoubira</i> Fischer, 1814) ADULTO.....	54
RESUMO.....	54
1. INTRODUÇÃO.....	55
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	56
2.1. Animais.....	56
2.2. Coleta e processamento de material biológico.....	57
2.3. Análises morfométricas dos testículos.....	58
2.3.1. Proporção volumétrica (%) e volume dos elementos do intertúbulo.....	58
2.3.2. Morfometria da célula de Leydig.....	59
2.4. Análise estatística.....	59
4. RESULTADOS.....	60
5. DISCUSSÃO.....	62
6. CONCLUSÕES.....	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	73

## RESUMO

COSTA, Kyvia Lugate Cardoso, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2009. **Avaliação morfofuncional do testículo de veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira* Fischer, 1814)**. Orientador: Sérgio Luis P. da Matta. Co-orientadores: Tarcízio Antônio Rêgo de Paula e Mariella Bontempo Duca de Freitas.

Em comparação com os mamíferos da família Cervidae de outros continentes, os cervídeos da América do Sul são os menos estudados. São escassas as pesquisas com a finalidade de estabelecer parâmetros para a biologia reprodutiva dos cervídeos neotropicais. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi caracterizar morfológica e morfometricamente o testículo do veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*), fornecendo informações que permitam compreender os aspectos básicos da biologia reprodutiva desta espécie. Foram utilizados sete veados-catingueiros adultos mantidos em cativeiro. Os fragmentos testiculares foram obtidos por meio de biópsia testicular incisional. O peso corporal médio dos veados-catingueiros foi de 17,14kg dos quais 0,40% estão alocados em gônada e 0,33% em túbulos seminíferos que representaram 85,86% do parênquima testicular. O veado-catingueiro apresentou um alto percentual de massa corporal alocada em testículo e túbulos seminíferos, enquadrando-se entre os maiores valores descritos para a maioria dos mamíferos estudados. Os volumes calculados para as albugíneas dos testículos direito e esquerdo foram de 3,52mL, representando 5,33% da massa testicular. O volume do mediastino em ambos os testículos foi de 1g, representando 1,53% da massa dos testículos. Portanto, o parênquima testicular ocupa, em veados-catingueiros adultos, 93,14% do testículo, perfazendo um volume de 64,88mL. O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi de 224,43 $\mu$ m e a espessura média do epitélio seminífero foi de 69,58 $\mu$ m. O veado-catingueiro apresenta em torno de 1418 metros de túbulos seminíferos em ambos os testículos, perfazendo uma média de 21,47 metros de túbulos seminíferos por grama de testículo. A organização do parênquima testicular de veados-catingueiros adultos é semelhante ao padrão descrito para os mamíferos, porém com variações específicas quanto à proporção e volumetria dos elementos do parênquima testicular. No veado-catingueiro, 4,48% do parênquima testicular é ocupado por células de Leydig, 4,41% por tecido conjuntivo, 2,89% por vasos linfáticos e 2,36% por vasos sanguíneos. As células de Leydig ocorrem em grupos de tamanhos variados não apresentando padrão de distribuição definido, podendo ser observadas ao redor dos vasos sanguíneos, próximas aos vasos linfáticos ou associadas com a lâmina própria dos túbulos seminíferos. O volume médio das células de Leydig foi de 677,52 $\mu$ m<sup>3</sup> e o seu diâmetro nuclear médio foi de 7,18 $\mu$ m. O volume nuclear médio da célula de Leydig foi de 194,33 $\mu$ m<sup>3</sup>. O núcleo da célula de

Leydig correspondeu, em média, a 29,01% do seu volume total. O volume médio total das células de Leydig em ambos os testículos foi de 2,90mL. O índice Leydigossomático foi de 0,0084% e o número total de células de Leydig por grama de testículo foi superior a 60 milhões. O número de células de Leydig por grama de testículo foi superior ao relatado para a maioria dos mamíferos já estudados. O intertúbulo de veado-catingueiro apresenta população celular semelhante ao descrito para mamíferos. O padrão de organização dos elementos do compartimento intertubular se enquadra no padrão tipo II descrito por Fawcett, mostrando tecido conjuntivo frouxo pouco edemaciado. A descrição e quantificação histológica testicular realizadas neste estudo auxiliam na compreensão dos padrões espermatogênicos desta espécie, estabelecendo parâmetros da sua biologia reprodutiva básica. Além disso, esses conhecimentos preliminares podem subsidiar trabalhos subseqüentes com outras espécies de cervídeos existentes no Brasil, especialmente as ameaçadas de extinção, possibilitando a obtenção de dados importantes para a conservação das mesmas.

## ABSTRACT

COSTA, Kyvia Lugate Cardoso, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2009. **Morphofunctional evaluation of the testis in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira* Fischer, 1814).** Advisor: Sérgio Luis P. da Matta. Co-advisors: Tarcízio Antônio Rego de Paula and Mariella Bontempo Duca de Freitas.

In comparison to mammals of the family Cervidae from other continents, the South American cervids are the most understudied. Moreover, approaches aiming to establish the reproductive biology of neotropical cervids are scarce. In this way, the objective of this study was to characterize morphologically and morphometrically the testis of the brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*), providing information to improve the understanding of the reproductive biology of this species. For that, we have used seven adult male brown brocket deers, kept in captivity. Testicular fragments were obtained by testicular biopsy incision. The average body weight of brown brocket deer was 17.14kg, from which 0.40% were allocated in gonads and 0.33% in seminiferous tubules, which represented 85.86% of the testis parenchyma. The brown brocket deer presented high percentage of corporal mass allocated to testes and seminiferous tubules, exhibiting the greatest values described for most of studied mammalian species. The calculated volume of albuginea of right and left testis was 3.52mL, representing 5.33% of the testis mass. The volume of both mediastina was 1g, corresponding to 1.53% of testis mass. Therefore, the testicular parenchyma corresponds to 93.14% of the testis in brown brocket deers, making up a volume of 64.88mL. The average diameter of seminiferous tubules was 224.43 $\mu$ m and the average thickness of the seminiferous epithelium was 69.58 $\mu$ m. The brown brocket deer has around 1418m of seminiferous tubules in both testes, or an average of 21.47m of seminiferous tubules per gram of testis. The testicular parenchyma in the brown brocket deer was composed of 4.48% of Leydig cells, 4.41% of connective tissue, 2.89% of lymphatic vessels, and 2.36% of blood vessels. The Leydig cells occurred in groups of varied number of cells, with no particular pattern of distribution, and were observed around blood vessels, near to lymph vessels or associated with the lamina propria of seminiferous tubules. The average volume of Leydig cells was 677.52 $\mu$ m<sup>3</sup> and their average nuclear diameter was 7.18 $\mu$ m. The average nuclear volume of Leydig cells was 194.33 $\mu$ m<sup>3</sup>. The nuclei of Leydig cells corresponded, in average, to 29.01% of total cell volume. The average total volume of Leydig cells in both testes was 2.90mL. The Leydigosomatic index was 0.0084% and the total number of Leydig cells per gram of testis was more than 60 millions. This number of Leydig cells per gram of testis is higher than that reported for most mammals studied. The organizational pattern of

the testicular parenchyma of the brown brocket deers used in this study was similar to that described for most studied mammalian species, although with specific variations in the proportion and volume of some elements of the testicular parenchyma. Regarding the intertubular compartment, the organizational pattern of the elements of this region was in accordance with the standard type II, described by Fawcett, but presented variations in the connective tissue, which was slightly swollen. The qualitative and quantitative description of testicular histology of Brown brocket deer help to understand its spermatogenic process, and to establish parameters of the reproductive biology of this wild species. Furthermore, the preliminary data presented in this study could help subsequent research using other species of Brazilian cervids, especially those endangered, making possible the preservation of those species.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

As espécies de cervídeos existentes no Brasil vêm apresentando acentuado declínio populacional, principalmente devido à alteração e perda de habitat, doenças e caça indiscriminada (Duarte, 1997). Embora menos numerosos que os ruminantes domésticos, os ruminantes silvestres também são importantes para os humanos e para a manutenção da funcionalidade dos diferentes sistemas ecológicos (Verme & Ullrey, 1984).

Há um crescente interesse no estudo dos cervídeos, sobretudo pela necessidade de manutenção e preservação de áreas naturais para conservação das espécies, bem como para a possibilidade de criação em cativeiro (Berndt, 2005). Assim, tornam-se importantes os conhecimentos relativos à biologia reprodutiva, particularmente referentes à espermatogênese.

A espermatogênese é um processo sincrônico e regular de multiplicação e diferenciação celular pelo qual uma espermatogônia tronco é gradativamente diferenciada numa célula haplóide altamente especializada, o espermatozóide. Essa diferenciação envolve três classes de células germinativas: as espermatogônias, os espermatócitos e as espermátides. Esse processo, que ocorre nos túbulos seminíferos, dura em torno de 40 a 60 dias na maioria dos mamíferos estudados (França & Russell, 1998). A análise quantitativa da espermatogênese pode ser utilizada no estabelecimento de padrões cinéticos como a divisão e renovação de espermatogônias, permitindo ainda estimar o coeficiente de eficiência do processo espermatogênico. Além da quantificação numérica das células germinativas, também é possível a quantificação das relações dessas células com as células de Sertoli, em várias etapas do desenvolvimento ao longo do processo espermatogênico (Castro et al., 1997).

Uma importante contribuição para a conservação das espécies é o conhecimento de sua biologia reprodutiva, principalmente em seus aspectos básicos (Guião-Leite et al., 2006). A quantificação histológica do parênquima testicular é um requisito fundamental para estudos que envolvam parâmetros reprodutivos masculinos (Paula, 1999). A composição do parênquima testicular e o tamanho relativo dos testículos podem fornecer valiosas informações quanto à fisiologia reprodutiva e até mesmo quanto ao sistema de acasalamento de uma dada espécie (Kenagy & Troumbulak, 1986; Paula, 1999). Assim sendo, o estudo qualitativo e quantitativo do testículo em animais silvestres, além do processo espermatogênico, é essencial para o conhecimento dos padrões morfofisiológicos com os quais se podem estabelecer parâmetros para a

biologia reprodutiva, especialmente para as espécies de cervídeos (Morrow & Monfort, 1998). Dentre as espécies de cervídeos que ocorrem no Brasil, não foram encontrados na literatura especializada trabalhos relacionados à descrição qualitativa e quantitativa da histologia testicular. Diante deste fato, este trabalho insere-se no estudo da biologia reprodutiva básica do veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) pretendendo auxiliar na compreensão dos padrões espermatogênicos e possibilitando obter dados importantes para a sua conservação, além de subsidiar informações para trabalhos subsequentes.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Cervídeos: Aspectos Gerais**

Acredita-se que a radiação adaptativa dos cervídeos provavelmente iniciou-se na Eurásia, há 20 milhões de anos, com os gêneros *Dicrocerus* e *Procervulus*. Durante o pleistoceno, os cervídeos iniciaram uma radiação adaptativa à América do Sul, ocupando diferentes nichos. Os animais do gênero *Mazama* ocuparam florestas densas, de maneira similar aos “Duikers” da África e aos “Muntjacs” da Ásia. O processo exato de seleção para o pequeno tamanho corporal das espécies desse gênero não é bem compreendido. Porém, a adaptação desses animais às florestas densas pode ter favorecido sua pequena estatura (Eisenberg, 1984).

Os cervídeos são animais da ordem Artiodactyla e pertencentes à família Cervidae. Os membros desta ordem caracterizam-se pela presença de cascos, onde apenas dois dos quatro dedos de cada extremidade apoiam-se no solo (Pough, 1999). O primeiro dedo está ausente e o segundo e quinto são reduzidos, apenas o terceiro e o quarto tocam o solo (Reis et al., 2006). São os ruminantes selvagens mais disseminados no mundo, sendo encontrados em quase todos os continentes, exceto na Antártida (Van Soest, 1994). No mundo existem 19 gêneros e 52 espécies distribuídos pelas Américas, Europa, Ásia e África (Wilson & Reeder, 2005).

A dentição dos cervídeos é altamente especializada. Possuem dentes com superfície de oclusão amplas e ásperas capazes de romper as espessas paredes celulares de folhas e gramíneas. Especializações adicionais incluem o aumento do tamanho dos dentes, o avanço da molarização dos pré-molares e o desenvolvimento de dobras complexas de esmalte, dentina e cemento, permitindo que as três substâncias fiquem expostas simultaneamente na superfície oclusiva (Pough, 1999). Os pré-molares e molares apresentam um formato de meia lua, sendo classificados como selenodontes

(Reis et al., 2006). Os cervídeos não possuem incisivos superiores e, geralmente, também não apresentam caninos superiores. A presença de caninos superiores é observada nos gêneros *Muntiacus*, *Elaphodus* e *Hydropotes* (Vaughan et al., 2000). Por pertencerem ao grupo dos ruminantes, os cervídeos apresentam estômago dividido em quatro compartimentos: rúmen, retículo, omaso e abomaso. O alimento é primeiramente mastigado, passando do esôfago para o rúmen e retículo, onde existem populações de microrganismos. Em seguida, o alimento pode retornar para cavidade oral onde é remastigado e enviado de volta ao rúmen e subsequentemente para o omaso e abomaso onde sofre ação de enzimas digestivas do animal (Church, 1993).

Outra característica dos cervídeos é a grande quantidade de glândulas odoríferas, que têm por função auxiliar na comunicação entre os indivíduos da mesma espécie. As principais glândulas são as metatarsais, tarsais, pré-orbitais, nasais e interdigitais. Todos os cervídeos apresentam o olfato, a audição e a visão muito desenvolvidos (Duarte & Merino, 1997).

Em comparação com os cervídeos de outros continentes, os da América do Sul são os menos estudados (Leeuwenberg et al., 1997). Segundo Duarte (2006), são reconhecidas no Brasil oito espécies de cervídeos: *Blastocerus dichotomus* (cervo-do-pantanal), *Odocoileus virginianus* (veado-da-cauda-branca), *Ozotoceros bezoarticus* (veado-campeiro), *Mazama americana* (veado-mateiro), *Mazama gouazoubira* (veado-catingueiro), *Mazama nana* (veado-bororó-do-sul), *Mazama memorigava* (veado-fuboca) e *Mazama bororo* (veado-bororó-paulista). Dentre elas, há grandes variações quanto à estatura, peso, uso de habitat e hábitos alimentares. Algumas espécies encontram-se sob séria ameaça de extinção, existindo lacunas quanto ao conhecimento de sua biologia, ecologia e comportamento o que restringe a elaboração e implementação de medidas efetivas de conservação e manejo (Duarte & Merino, 1997).

### **2.1.1. Biologia reprodutiva dos machos**

Na maioria dos cervídeos, os machos apresentam chifres. Na espécie *Hydropotes inermis* os chifres estão ausentes, existindo nos machos, o desenvolvimento dos caninos superiores (Vaughan et al., 2000). Na rena (*Rangifer tarandus*), os chifres estão presentes em ambos os sexos (Lincoln, 1992; Eisenberg & Redford, 1999). Os chifres são formados a partir do osso frontal, sendo recobertos por um tegumento vascularizado (velame) durante sua fase de crescimento, cuja função é depositar cálcio na matriz óssea do chifre. Após o chifre atingir o tamanho característico da espécie, a irrigação do



velame é interrompida, fazendo com que este se desprenda do chifre auxiliado pela abrasão que o animal realiza contra arbustos e árvores. Os ciclos dos chifres têm relação direta com o ciclo de secreção do hormônio testosterona pelos testículos. O aparecimento dos chifres acompanha a maturidade sexual ocorrendo geralmente após um ano de vida (Duarte & Merino, 1997). Com o término da estação reprodutiva, os níveis de testosterona baixam resultando na descalcificação do pedicelo (base), o que provoca a queda do chifre (Vaughan et al., 2000).

O ciclo reprodutivo em cervídeos de clima temperado é bem conhecido (Duarte & Garcia, 1997). As espécies de regiões temperadas, tais como, *Cervus nippon*, *Cervus elaphus*, *Capreolus capreolus* e *Dama dama*, apresentam reprodução sazonal, padrão desenvolvido diante da necessidade de adaptação às condições climáticas da região que habitam, viabilizando a concentração de nascimentos no período de maior disponibilidade de alimento (Asher, 1985; Klonisch et al., 2005; Santiago-Moreno et al., 2006). Essas espécies apresentam uma sincronização entre a formação de novas galhadas (chifres) e o fotoperíodo (Duarte & Garcia, 1997). Uma coordenada mudança sazonal na morfologia dos órgãos reprodutivos, produção de espermatozoides, plasma seminal e testosterona garante o sucesso reprodutivo durante o curto período de reprodução (Goeritz et al., 2003). *Cervus nippon* apresenta variação anual no tamanho dos testículos, diâmetro dos túbulos seminíferos e concentração de testosterona plasmática. O início do processo espermatogênico ocorre em julho ou agosto e atinge a sua atividade máxima no final de outubro, início da estação reprodutiva, começando a declinar no final de dezembro. A concentração de testosterona mostra níveis altos no final de outubro e início de novembro, mas mantêm-se baixa durante os meses de fevereiro, março, junho e dezembro (Suzuki et al., 1992). Em *Cervus elaphus* observou-se variação na concentração de testosterona, peso testicular, volume do tecido intertubular, diâmetro dos túbulos seminíferos e vesículas seminais durante a primavera e o outono, sendo os maiores valores registrados no outono. Enquanto o número total de células de Sertoli por testículo e o diâmetro do nucléolo de Sertoli permaneceram constante, o número total de vários tipos de células germinativas envolvidas na espermatogênese mudaram com a estação. O espaço intertubular do parênquima testicular mostrou-se expandido devido à hipertrofia das células de Leydig na estação reprodutiva (outono) (Reviere & Lincoln, 1978). Os machos de *Cervus elaphus* defendem haréns durante a estação reprodutiva. O sucesso da luta entre eles influencia o tamanho desses haréns e conseqüentemente permite a cópula. As fêmeas não permanecem no mesmo harém durante a estação reprodutiva, podendo copular com

outros machos durante este período. Esta possibilidade é suportada pelo fato dos machos apresentarem grandes testículos em relação ao seu peso corporal quando comparado com outras espécies da família (Clutton-Brock et al., 1982). Em *Capreolus capreolus*, a estação reprodutiva ocorre em julho e agosto. Neste período a produção de espermatozoides é intensificada devido ao aumento da massa testicular que está relacionada com o aumento total no número de células espermatogênicas (espermatogônias, espermatócitos e espermátides) e aumento do diâmetro dos túbulos seminíferos (Schön et al., 2004). A diminuição da atividade testicular coincide com uma pronunciada redução da produção de testosterona e um aumento de apoptoses das espermatogônias, espermatócitos e espermátides entre os meses de novembro e dezembro (Blottner et al., 1996; Roelants et al., 2002). Em meados de fevereiro, os níveis de testosterona aumentam e permanecem altos até a estação reprodutiva (outubro). A queda dos chifres ocorre nos meses de novembro e dezembro devido a uma diminuição nas concentrações de testosterona. Os testículos têm seus pesos reduzidos ao final da estação reprodutiva atingindo os menores valores nos meses de dezembro e janeiro (Short & Mann, 1966). As células de Leydig e de Sertoli permanecem como células numericamente constantes nos testículos durante as mudanças sazonais nos testículos (Klonisch et al., 2005).

O ciclo reprodutivo dos cervídeos sul-americanos é pouco conhecido, especialmente quanto à sazonalidade (Duarte & Garcia, 1997). Segundo Lincoln (1992), em espécies de clima tropical e subtropical onde a sazonalidade não é facilmente detectável, os machos podem apresentar um ciclo de troca de galhadas (chifres) individual como é observado em *B. dichotomus* (cervo-do-pantanal), apesar de *O. bezoarticus* (veado-campeiro) apresentar um ciclo bem definido, demonstrando alguma sazonalidade. Em estudo realizado com veado-campeiro no Pantanal mato-grossense e no Parque Nacional das Emas, verificou-se que os animais apresentam sêmen de qualidade regular no verão (dezembro a fevereiro), mas de qualidade inferior nos meses de inverno (julho a setembro) (Duarte & Garcia, 1997). Essas variações no ciclo reprodutivo podem estar relacionadas com particularidades ambientais específicas de cada área tais como padrão de chuvas, disponibilidade de alimento, locais de competição por recurso entre espécies semelhantes ou pressão por predação (Tomas et al., 1997; Asher et al., 1999). O ciclo reprodutivo dos machos de *B. dichotomus* não é bem conhecido (Tomas et al., 1997). O veado-mateiro (*M. americana*) não apresenta sazonalidade na secreção de andrógenos, além de não apresentar ciclo de troca anual dos chifres, indicando que os machos desta espécie possuem pouca ou nenhuma

influência dos fatores abióticos sobre o ciclo testicular (Versiani et al., 2008). Não foram verificados na literatura trabalhos que descrevessem o processo espermatogênico em qualquer espécie de cervídeo encontrado no Brasil.

## **2.2. Veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*)**

O veado-catingueiro (*M. gouazoubira*) é uma espécie de cervídeo de pequeno porte, pesando em média 18 kg e com altura média de 50 cm na cernelha. A coloração geral dos indivíduos é muito variável, podendo ir do cinza escuro ao marrom avermelhado, ou até baio. A região ventral é baia, com áreas brancas na parte inferior da cauda e face interna das orelhas. A maioria dos indivíduos apresenta uma mancha branca acima dos olhos (mancha supraciliar) que não é vista em outras espécies. A orelha é grande e arredondada e os chifres não são ramificados (Duarte, 2006) (Figura 1). Os indivíduos que habitam florestas geralmente apresentam pelagem acinzentada e menor porte. Por outro lado, os que habitam áreas de savana podem apresentar pelagem amarronzada e maior tamanho corporal (Pinder & Leeuwenberg, 1997). Esta espécie apresenta ampla distribuição, ocupando áreas desde o sul do Uruguai até o norte do estado do Mato Grosso no Brasil e desde a cordilheira dos Andes até o Atlântico (Duarte, 2006) (Figura 2).

O veado-catingueiro é a espécie de cervídeo mais abundante da América do Sul, ocupando tanto áreas florestais quanto formações abertas de campos, cerrados e caatingas (Reis et al., 2006). Dentre as espécies de cervídeos brasileiros é a espécie mais flexível no que se refere ao uso de habitat, mas sempre está associada e dependente de florestas para abrigo e alimentação (Duarte, 1997; Vogliotti et al., 2003). A diversidade de ambientes ocupados pode influenciar em aspectos de sua ecologia, como seleção de habitat, dieta, reprodução e no comportamento social dos indivíduos. A utilização do habitat também está condicionada ao tipo de dieta que o animal necessita. Sendo um ruminante de pequeno porte, o veado-catingueiro requer dieta composta por alimentos ricos em proteína e de rápida liberação energética. Essas exigências são atingidas através de uma dieta balanceada entre o consumo de brotos e folhas, flores e frutos, em proporções que variam de acordo com a disponibilidade do meio e necessidades dos indivíduos (Pinder & Leeuwenberg, 1997). Vários autores têm considerado que esta espécie apresenta hábitos frugívoros (Stallings, 1984; Bodmer, 1989; Ghilardi Jr & Alho, 1990; Bisbal, 1994; Richard et al., 1995). Assim, a vantagem do estômago

ruminante para esses animais está na capacidade de digestão de frutas e sementes que não podem ser facilmente digeridas por estômagos não ruminantes (Bodmer, 1989).

A ausência de um período criticamente pobre em recursos alimentares permite a esta espécie se reproduzir em todos os meses do ano. Nasce apenas um filhote, após período de gestação de sete meses, com estro pós-parto, refletindo a ausência de sazonalidade reprodutiva (Nowak, 1991; Polegato & Duarte, 2003). São mencionados picos de nascimentos em diferentes estações do ano para as espécies do gênero *Mazama*, de acordo com a região de origem (Branan & Marchinton, 1987; Bisbal, 1994; Juliá & Richard, 2001). Os machos de veado-catingueiro não apresentam um ciclo anual de troca de chifres, podendo mantê-los por mais de 12 meses consecutivos. Sua capacidade reprodutiva provavelmente não é reduzida durante o período de crescimentos dos chifres (Pinder & Leeuwenberg, 1997). Em estudo realizado ao longo do ano, com animais em cativeiro, o padrão de variação nos níveis de testosterona sérica, desenvolvimento testicular e características do ejaculado não apresentou variação sazonal (Duarte & Garcia, 1997). Embora sejam animais facilmente encontrados em zoológicos e em criatórios conservacionistas pouco se sabe sobre sua biologia e padrão reprodutivo (Pinder & Leewenberger, 1997).

*M. gouazoubira* é um cervídeo com tendências a vida solitária, reunindo-se ao sexo oposto apenas para acasalar, conforme o padrão de organização social descrito para as espécies do gênero que habitam florestas densas (Putman, 1988; Nowak, 1991; Eisenberg & Redford, 1999). Devido à carência de estudos mais detalhados existem dúvidas a respeito do comportamento social dos veados-catingueiros (Pinder & Leewenberg, 1997). A organização social e o comportamento de marcação foram estudados em uma população de veado-catingueiro, mantida em uma área cercada de 14 ha na “Reserva Experimental Horco Molle” na Argentina, durante quatro anos. Na maioria das vezes, os animais foram encontrados solitários e indivíduos de ambos os sexos mantiveram suas áreas de atividade estáveis por um período de dois a quatro anos. As áreas de atividade dos machos adultos foram essencialmente exclusivas, não havendo sobreposição. Os machos adultos de quatro anos de idade e os mais velhos mantiveram áreas de atividade que abrangiam as áreas de mais de uma fêmea, mostrando padrão poligínico. Os machos foram sexualmente maduros a partir dos 18 meses de idade, porém só estabeleciam suas áreas de atividade a partir dos 3 anos (Black-Décima, 2000).

Os veados-catingueiros apresentam um comportamento de marcação de território através da presença de “latrinas” ou pilhas de fezes, geralmente depositadas

nas bordas dos capões de mata ou em seu interior. Essas “latrinas” são formadas em locais frequentemente utilizados para abrigo ou alimentação. Os machos também utilizam seus chifres e glândulas localizadas na cabeça para marcarem arbustos, abaixo dos quais, em algumas ocasiões, raspam as patas dianteiras no solo, chegando a depositar um pouco de fezes e urina no local. Os locais marcados desta maneira, quando encontrados por outro macho, são imediatamente remarcados, inclusive com defecação. As áreas de uso mais intensivo parecem ser evitadas por outros indivíduos adultos do mesmo sexo (Pinder & Leeuwenberg, 1997; Black-Décima, 2000; Dellafiore & Macieira, 2001).

O veado-catingueiro (*M. gouazoubira*) está incluído nas listas de espécies ameaçadas do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul onde é classificado, respectivamente, como em perigo e vulnerável (Reis et al., 2006).



**Figura 1.** Exemplar adulto de veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) mantido no criatório conservacionista da Fazenda Engenho D'Água, em Ouro Preto-MG.





**Figura 2.** Mapa de distribuição geográfica do veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) modificado de Black & Vogliotti (2008).

## 2.3. O testículo e o processo espermato gênico

### 2.3.1. Testículo

Os testículos têm a dupla função de espermatogênese e de esteroidogênese. São órgãos pares revestidos por uma espessa cápsula conjuntiva, a albugínea, a qual envia septos para o interior, dividindo o testículo em lóbulos e formando o mediastino testicular. O parênquima testicular consiste na parte funcional dos testículos e apresenta dois compartimentos: o tubular e o intersticial ou intertubular (Russell et al., 1990). O compartimento tubular constitui a maior parte do testículo ocupando, na maioria dos mamíferos, de 70% a 90% do parênquima testicular (França & Russell, 1998; Godinho,

1999). Neste compartimento, responsável pela produção dos espermatozóides, encontram-se túbulos seminíferos, os quais se conectam através das duas extremidades à rede testicular localizada no mediastino de onde o conteúdo tubular é direcionado para dentro dos túbulos eferentes e epidídimo. Os túbulos seminíferos são constituídos, de sua porção externa para a interna, de túnica própria, epitélio seminífero e lume. Na túnica própria são observadas as células mióides ou peritubulares, a membrana basal e fibras colágenas (Russell et al., 1990; França & Russell, 1998). As células mióides estão relacionadas com a movimentação de fluidos e espermatozóides pelos túbulos seminíferos (Russell et al., 1990).

No epitélio seminífero estão presentes dois tipos celulares: as células de Sertoli e as células germinativas ou espermatogênicas. Juntamente com as células mióides, as células de Sertoli elaboram a membrana basal que serve de suporte estrutural para a própria célula de Sertoli e para as células germinativas que se encontram na porção basal do epitélio seminífero. As células de Sertoli, através de junções de oclusão, dividem o epitélio seminífero em dois ambientes funcionais distintos: o basal onde se localizam as espermatogônias e os espermatócitos primários na fase inicial da prófase meiótica (pré-leptótenos e leptótenos), e o adluminal, no qual se encontram os espermatócitos primários a partir da fase de zigóteno, espermatócitos secundários e espermátides. Essa compartimentalização isola as células onde ocorrem as fases meiótica e pós-meiótica da espermatogênese formando a barreira hematotesticular. Desta forma, o ambiente adluminal está totalmente sob o controle das células de Sertoli, propiciando um ambiente segregado do sistema imune e apropriado para o desenvolvimento do processo espermatogênico (Russell et al., 1990; Setchell, 1991; Poccia, 1994; Sharpe, 1994). As junções entre as células de Sertoli modificam-se de modo a permitir a passagem dos espermatócitos em pré-leptóteno do ambiente basal para o adluminal, quando estes iniciam a meiose, o que significa que existe uma dinâmica das junções que permite que as células envolvidas no processo espermatogênico progridam no sentido da luz do túbulo, sem a ruptura da barreira (Lui et al., 2001). No lume tubular são encontrados o fluido secretado pelas células de Sertoli e os espermatozóides recém-espermiados (Russell et al., 1990). Existe grande variação no número e nas dimensões (diâmetro e comprimento) dos túbulos seminíferos nas diferentes espécies de mamíferos (França & Russell, 1998). O camundongo, por exemplo, possui aproximadamente 20 túbulos seminíferos perfazendo no total cerca de 2 metros de comprimento tubular por testículo (Bascom & Ostrud, 1925). Já no suíno doméstico existem milhares de túbulos seminíferos por testículo e aproximadamente

3000 metros de túbulos no total. Em geral, há de 10 a 15 metros de túbulos por grama de testículo em grande parte dos mamíferos já estudados (França & Russell, 1998). A medida do diâmetro tubular é uma abordagem classicamente utilizada como indicador da atividade espermatogênica em investigações envolvendo a função testicular (Attal & Courot, 1963; Godinho & Cardoso, 1979; Sinha-Hikim et al., 1991; Russell et al., 1994; França & Cardoso, 1998; Muñoz et al., 1998). O valor observado para o diâmetro tubular na maioria das espécies de mamíferos está em torno de 180 a 300  $\mu\text{m}$  (Roosen-Runge, 1977). Parâmetros quantitativos diretamente relacionados com o túbulo seminífero, como diâmetro tubular, espessura do epitélio seminífero e o comprimento total de túbulos seminíferos, apresentam uma relação positiva com a atividade espermatogênica, fornecendo informações para o estabelecimento da mesma, em uma dada espécie (França & Russell, 1998; Paula, 1999).

O compartimento intertubular é constituído de vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, células e fibras do tecido conjuntivo, macrófagos, mastócitos e células de Leydig. As células de Leydig são bastante conhecidas por sua marcante produção de andrógenos, os quais são sintetizados a partir de uma molécula base, o colesterol, e responsáveis pela manifestação dos caracteres sexuais secundários e pela manutenção da espermatogênese em animais sexualmente maduros (Bardin, 1996). Apesar de existir grande variação entre as diversas espécies quanto à proporção volumétrica dos diferentes componentes do compartimento intertubular (Fawcett et al., 1973; França & Russell, 1998; Godinho, 1999), a célula de Leydig é usualmente o tipo celular mais freqüente neste compartimento. Assim, por exemplo, o percentual ocupado pelas mesmas nos testículos de animais sexualmente maduros no período reprodutivo pode variar de aproximadamente 1% em carneiros (França & Russell, 1998) até cerca de 35% em capivaras (Paula, 1999). A proporção volumétrica de tecido intertubular no testículo dos mamíferos domésticos varia de 10% no cão a 40% no camelo (França & Russell, 1998), podendo atingir 50% em capivaras (Paula, 1999). Fawcett et al. (1973) descreveram três padrões distintos de organização entre os componentes do compartimento intertubular. No primeiro padrão (Tipo I), encontram-se as espécies que apresentam poucas células de Leydig e escasso tecido conjuntivo contrastando com extensos sinusóides e espaços linfáticos que ocupam a maior parte do intertúbulo (ex. rato, camundongo, hamster, cobaio e chinchila). No segundo padrão (Tipo II), encontram-se as espécies que apresentam grupos de células de Leydig espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo edemaciado, o qual é drenado por um vaso linfático localizado centralmente ou excentricamente no espaço intertubular (ex. bovino, ovino,



macaco e homem). Espécies como suínos e zebras, nas quais abundantes grupamentos de células de Leydig ocupam praticamente todo o compartimento intertubular, apresentando pouco tecido conjuntivo e vasos linfáticos, pertencem ao terceiro padrão (Tipo III).

### **2.3.2. Espermatogênese**

A organização geral da espermatogênese é basicamente a mesma em todos os mamíferos. A espermatogênese é um processo sincrônico, no qual uma espermatogônia (célula diplóide) se diferencia gradativamente em uma célula haplóide altamente especializada, o espermatozóide. Esse processo pode ser dividido em três fases, de acordo com as diferentes características funcionais: (1) fase proliferativa (espermatogonial), na qual as espermatogônias sofrem rápidas e sucessivas divisões mitóticas; (2) fase meiótica (espermatócitos), na qual o material genético é recombinado e segregado; (3) fase de diferenciação ou espermiogênica, onde cada espermátide arredondada passa por mudanças estruturais e bioquímicas e diferencia-se em espermatozóide, um tipo celular estruturalmente especializado para alcançar e fertilizar o ovócito (Russell et al, 1990; Sharpe, 1994).

O epitélio seminífero compõe-se de quatro camadas de gerações distintas de células germinativas, sustentadas morfofisiologicamente por um tipo de célula somática denominada célula de Sertoli. Na camada basal do epitélio seminífero observam-se as espermatogônias e espermatócitos primários iniciais. Na camada adluminal observam-se as gerações de espermatócitos mais desenvolvidos, espermatócitos secundários e as espermátides (Russell et al., 1990). As espermatogônias podem ser classificadas em duas categorias básicas, espermatogônias indiferenciadas e diferenciadas. As espermatogônias isoladas ( $A_{is}$ ), pareadas ( $A_{pr}$ ) e alinhadas ( $A_{al}$ ) pertencem à primeira categoria. As espermatogônias do tipo A, espermatogônia intermediária (In) e espermatogônia do tipo B pertencem à segunda categoria e estão comprometidas com a formação de espermatozóides (De Rooij, 1998). As espermatogônias podem ser identificadas com base na morfologia, dinâmica e volume do núcleo, número de nucléolos por núcleo, posição topográfica em relação a outras células e a lâmina basal, e a disposição dos cromossomos durante a divisão (Clermont & Antar, 1973). A espermatogênese inicia-se com a célula germinativa primitiva, a espermatogônia A, que é a célula fonte localizada junto à membrana basal. As espermatogônias se dividem por mitose e as células neoformadas podem continuar a dividir e originar novas

espermatogônias ou cessar a divisão e crescer, originando os espermatócitos, células que entram em meiose (Kierszenbaum, 2008; Junqueira & Carneiro, 2008). A meiose compreende duas divisões: as células da primeira divisão são chamadas de espermatócitos primários (I) e as da segunda, espermatócitos secundários (II). Os espermatócitos (I) são as maiores células da linhagem espermatogênica e caracterizam-se pela presença de cromossomos em diferentes fases de condensação. Os espermatócitos (II) ficam mais próximos da luz dos túbulos seminíferos sendo difícil observá-los em cortes histológicos, pois entram logo na segunda divisão meiótica. Desta divisão resultam as espermátides, células que são caracterizadas pelo pequeno tamanho, núcleos com zona de cromatina condensada e por sua localização próxima à luz dos túbulos seminíferos (Junqueira & Carneiro, 2008; Kierszenbaum, 2008). Estas células possuem a forma inicialmente arredondada (Clermont, 1972). Depois que as espermátides arredondadas são formadas, uma série de mudanças morfológicas, histoquímicas e bioquímicas vão ocorrer em seu núcleo e componentes do citoplasma (Guraya, 1987). Esta fase de mudanças é denominada espermiogênese e vai culminar com a formação de células haplóides altamente diferenciadas e especializadas que são os espermatozóides. Em seguida ocorre a espermição, quando os espermatozóides resultantes são liberados para o lume dos túbulos seminíferos (Junqueira & Carneiro, 2008; Kierszenbaum, 2008).

Durante o processo espermatogênico, as células de Sertoli e as células germinativas interagem de maneira bastante complexa, tanto física quanto bioquimicamente. Existem diversas formas de junções intercelulares entre estes dois tipos de células, incluindo-se os desmossomos, as junções do tipo “gap”, as junções à base de actina, conhecidas como especializações ectoplasmáticas e os complexos túbulo-bulbares. Apesar de serem postuladas várias funções para estes componentes juncionais, existem ainda poucas evidências experimentais para apoiar o papel preciso dos mesmos (Russell & Griswold, 1993). No entanto, fica bastante evidente a necessidade da interação das células germinativas com os componentes somáticos do testículo, principalmente células de Sertoli, células de Leydig e células mióides, para que o processo espermatogênico transcorra de maneira normal e eficiente (Skinner, 1991; Dadoune & Demoulin, 1993; Jégou, 1993; Spiteri-Grech & Nieschlag, 1993; Pescovitz et al., 1994; Russell et al., 1994; Schlatt et al., 1997; França & Russell, 1998).

### **2.3.3. Células de Sertoli**

A célula de Sertoli, descrita originalmente por Enrico Sertoli em 1865 na Itália, é uma célula somática residente entre as células germinativas no túbulo seminífero (Russell et al, 1990). Estas células possuem extensões citoplasmáticas que contornam os espermatócitos e espermatídes e provém uma estreita interação com as células germinativas durante todo o seu desenvolvimento (Russell & Griswold, 1993). O citoesqueleto é responsável por manter a forma celular e os movimentos ativos no citoplasma, essencial à acomodação dos constantes movimentos das células germinativas (Dadoune & Demoulin, 1993; Russell & Griswold, 1993). Durante o desenvolvimento testicular, as células de Sertoli multiplicam-se por mitose, porém após a puberdade não sofrem mais divisões, mantendo sua população estável (Courot et al., 1970; Russell & Griswold, 1993). O seu número total por testículo, estabelecido durante o desenvolvimento testicular, está relacionado com o tamanho do testículo e com a produção espermática do animal (Russell & Griswold, 1993; Sharpe, 1994).

As células de Sertoli desempenham um papel fundamental na regulação da espermatogênese (Russell & Griswold, 1993), já que intermedeiam a ação da testosterona e do hormônio folículo estimulante (FSH) nos testículos, sendo responsáveis pelo início, manutenção e regulação deste processo (Sharpe, 1994). Apresentam capacidade relativamente fixa de suporte das células germinativas de maneira espécie específica, além de outras funções que incluem a compartimentalização do túbulo seminífero pelas junções oclusivas entre as células de Sertoli propiciando um ambiente protegido e especializado para as células germinativas em desenvolvimento, o sustento e suporte nutricional especiais das células germinativas em diferenciação, a translocação dessas células em direção ao lume tubular, a secreção de fluidos e proteínas e a eliminação fagocítica de células germinativas em degeneração e do citoplasma excedente resultante da espermiogênese (Russell et al., 1990).

### **2.3.4. Células de Leydig**

Distribuídas no tecido conjuntivo do espaço intertubular do parênquima testicular, encontram-se as células produtoras de esteróides denominadas células de Leydig. São células relativamente grandes, poliédricas e limitadas pela membrana plasmática que contém microvilos. Seu núcleo está localizado excentricamente no citoplasma com um a três nucléolos e usualmente apresenta forma arredondada ou oval.

Grânulos de heterocromatina formam uma camada intimamente associada ao envoltório nuclear, sendo esta uma característica universal destas células (Setchell, 1991). Durante o desenvolvimento testicular, mais precisamente na puberdade e durante a recrudescência testicular em animais sazonais, a célula de Sertoli deixa de ser modulada unicamente pelo hormônio folículo estimulante (FSH), que gradativamente, é substituído pela testosterona. Assim, como preparação para esta substituição, as células de Leydig devem ser adequadas numérica e fisiologicamente para dar suporte ao novo requerimento de testosterona, sendo que o FSH parece influenciar diretamente no desenvolvimento desta população (Sharpe, 1994).

As células de Leydig se encontram em contato íntimo com o sistema de capilares e são responsáveis pela síntese e armazenamento de testosterona, importante para promover o comportamento sexual normal (libido) e a ocorrência do processo espermatogênico, juntamente com os hormônios folículo estimulante e hormônio luteinizante (LH), além de manter a função das glândulas acessórias (Dellman & Wrobel, 1982; Russell, 1996). A produção de testosterona pelas células de Leydig é controlada pelo LH que se une especificamente às membranas das células de Leydig e ativa a adenosina-monofosfato cíclica (cAMP). Este processo dá início à ativação das proteínas cinases que catalizam a fosforilação das proteínas intracelulares e a mobilização de precursores dos esteróides, principalmente através da conversão do colesterol a pregnenolona. O LH também tem efeito trófico sobre as células de Leydig, estimulando-as a se hipertrofiar. A remoção do LH cessa a produção de testosterona e leva à grande redução no tamanho das células de Leydig (Stanbenfeldt & Edqvist, 1996). A testosterona produzida pelas células de Leydig tem uma ação parácrina ao se difundir para os túbulos seminíferos, atravessando facilmente a barreira-hematotesticular (Stanbenfeldt & Edqvist, 1996; Goodman, 2000). Altas concentrações são necessárias para a espermatogênese e especialmente para o processo de meiose. A ação dos andrógenos na espermatogênese acontece via células de Sertoli, já que as células germinativas não possuem receptores para andrógenos (Lyu & Handelsman, 2003).

Inúmeros fatores podem influenciar na quantidade de células de Leydig por animal, dentre os quais podem ser destacados a quantidade de LH disponível, o número de receptores de LH por células, a quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar por uma unidade de tempo, a velocidade pela qual a testosterona deixa o testículo via vasos linfáticos, vasos sanguíneos e fluidos seminais, o volume

sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (Russell et al., 1994; Russell, 1996).

### **2.3.5. Biópsia testicular**

A biópsia testicular é um procedimento utilizado em muitos casos para avaliação de várias afecções testiculares, tais como aplasia ou bloqueio do desenvolvimento das células germinativas, o hipogonadotrofismo e o hipogonadismo (Meinhard et al., 1973; Nseyo et al., 1984; Threlfall & Lopate, 1993). A biópsia testicular incisional é o método mais antigo de obtenção de amostras testiculares. O fragmento proveniente do parênquima testicular é obtido por incisão das túnicas envoltórias do testículo, com instrumentos cortantes, seguindo-se a sutura dos vários planos incisados. Esta técnica proporciona a obtenção de maior amostra de tecido, porém tem havido controvérsia no que diz respeito aos efeitos sobre o parênquima testicular (Freneau, 1996). Pimentel et al. (1984) salientaram a importância de uma adequada quantidade de parênquima testicular na biópsia, de modo a propiciar um estudo histológico seguro dos testículos. Assim, o método incisional apesar de provocar maior traumatismo parece ser o mais indicado, devido à exigência do tamanho mínimo da amostra (Freneau, 1996). Alguns estudos relataram que se os testículos de um indivíduo apresentarem um tamanho similar, a biópsia incisional unilateral seria suficiente para representar o estado dos dois órgãos (Lopate et al., 1989; Hunt & Foote, 1997).

O processo de biópsia testicular incisional tem propiciado diversos trabalhos sobre a fisiologia reprodutiva do testículo de animais silvestres, sem a necessidade de castração (Bittencourt et al., 2004; Azevedo, 2004; Caldeira, 2005; Guião-Leite et al., 2006; Sarti, 2006; Barros et al., 2007). As potenciais complicações da biópsia testicular são os danos ao parênquima, que localmente poderiam interromper a espermatogênese, ou adesões que impediriam a termorregulação testicular. Tais complicações têm feito com que a técnica de biópsia testicular seja pouca aceita, tendo assim seu uso limitado (Attia et al., 2000). Entretanto, mesmo que danos histológicos estejam presentes nos testículos de cães após a biópsia, efeitos permanentes na produção e motilidade dos espermatozoides depois de repetidas biópsias em testículos alternados (James et al., 1979), biópsia unilateral (Hunt et al., 1965), ou biópsia unilateral após orquiectomia unilateral (Hunt & Foote, 1997; Mascarenhas et al., 2006) parecem insignificantes. Procedimentos invasivos nos testículos e epidídimos podem induzir à formação de anticorpos antiespermatozoides, mas a duração destes anticorpos é transitória não

interferindo negativamente, nem na produção espermática nem na motilidade dos espermatozóides. Assim, a associação de anticorpos à diminuição na porcentagem de espermatozóides normais não é clinicamente significativa, concluindo-se que a biópsia testicular e a aspiração do epidídimo são procedimentos diagnósticos seguros (Attia et al., 2000). Neste sentido, a biópsia testicular mostra-se muito efetiva para a coleta de material biológico sem maiores danos reprodutivos em longo prazo, nas diferentes espécies estudadas (Galina, 1971; Lopate et al., 1989; Feldman & Nelson, 1996; Freneau, 1996; Munson et al., 1996; Faber & Roser, 2001; Mascarenhas et al., 2006).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Caracterizar morfológica e morfometricamente o testículo do veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*), para obtenção de informações que permitam compreender a biologia reprodutiva desta espécie.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Determinar a proporção volumétrica e o volume dos componentes do parênquima testicular;
- Calcular os índices gonadossomático (IGS), tubulossomático (ITS) e Leydigossomático (ILS);
- Mensurar a altura do epitélio seminífero e o diâmetro dos túbulos seminíferos;
- Calcular o comprimento total dos túbulos seminíferos;
- Determinar a proporção volumétrica e o volume dos elementos do intertúbulo;
- Mensurar o diâmetro nuclear das células de Leydig;
- Calcular a relação nucleoplasmática das células de Leydig;
- Calcular o volume nuclear, citoplasmático e celular das células de Leydig;
- Calcular o número total de células de Leydig por testículo e por grama de testículo;

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Asher, G. W. Oestrous cycle and breeding season of farmed fallow deer (*Dama dama*). J. Reprod. Fert., 75:521-529, 1985.
- Asher, G. W.; Monfort, S. L. & Wemmer, C. Comparative reproductive function in cervids: implications for management of farm and zoo populations. J. Reprod. Fertil., 54 (Suppl.):143-156, 1999.
- Attal, J. & Courot, M. Développement testiculaire et établissement de la spermatogénese chez le taureau. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 3:219-241, 1963.
- Attia, K. A.; Zaki, A. A.; Eilts, B. E. & Paccamonti, D. L. Anti-sperm antibodies and seminal characteristics after testicular biopsy or epididymal aspiration in dogs. Theriogenology, 53:1355-1363, 2000.
- Azevedo, M. H. F. Análise morfofuncional do testículo da onça pintada (*Panthera onça*) adulta. 2004. 63 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2004.
- Bardin, C. W. Androgens: early attempts to evaluate Leydig cell function in man. In: Payne, A. H., Hardy, M. P., Russell, L. D. (eds). The Leydig cell. Vienna: Cache River Press, Cap. 2, p. 31-42, 1996.
- Barros, J. B. G.; Paula, T. A. R.; Matta, S. L. P. ; Fonseca, C. C.; Guião-Leite, F. L.; Rossi, J. L.; Oliveira, P. C. & Costa, E. P. Sertoli cell index and spermatid reserves in adult captive African lions (*Panthera leo*, Linnaeus, 1758). Anim. Reprod. Sci., 102:(3-4)350-356, 2007.
- Bascom, K. F. & Ostrud, H. L. Quantitative studies of testicle. II. Pattern and total tubule length in the testicles of certain common mammals. Anat. Rec., 31:159-169, 1925.



- Berndt, A. Nutrição e ecologia nutricional de cervídeos brasileiros em cativeiro e no Parque Nacional das Emas-Goiás. 2005. 71 p. Tese (Doutorado) - Pós-graduação em Ecologia dos ecossistemas, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2005.
- Bisbal, F. J. Biología poblacional del venado matacán (*Mazama spp.*) (Artiodactyla: Cervidae) en Venezuela. *Rev. Biol. Trop.*, 42(1/2):305-313, 1994.
- Bittencourt, V. L.; Paula, T. A. R.; Matta, S. L. P.; Fonseca, C. C.; Neves, M. T. D.; Costa, M. E. L.; Malta, M. C.; Coelho, C. M. & Bastos, J. A. B. Avaliação da população celular do epitélio seminífero e índices indicativos da população espermática, através de biópsia testicular em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus* Illiger, 1811) adulto. *Rev. Bras. Rep. Anim.*, 28:108-113, 2004.
- Black, P. & Vogliotti, A. 2008. *Mazama gouazoubira*. In: IUCN 2008. 2008 IUCN Red List of Threatened Species. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Downloaded on 05 January 2009.
- Black-Décima, P. Home range, social structure, and scent marking behavior in Brown Brocket Deer (*Mazama gouazoubira*) in a large enclosure. *Mastozoología Neotropical - J. Neotrop. Mammal.*, 7(1):5-14, 2000.
- Blottner, S.; Hingst, O. & Meyer, H.H.D. Seasonal spermatogenesis and testosterone production in roe deer (*Capreolus capreolus*). *J. Reprod. Fertil.*, 108:299-305, 1996.
- Bodmer, R. E. Ungulate biomass in relation to feeding strategy within Amazonian Forests. *Oecol.*, 81(4):547-550, 1989.
- Branan, W. V. & Marchinton, R. L. Reproductive ecology of white-tailed and red brocket deer in *Suriname*. In: Wemmer, C. M. (Ed.). *Biology and management of the Cervidae*. Washington D. C., London: Smithsonian Institution Press, p. 344-351, 1987.

- Caldeira, B. C. Avaliação morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766) adulto. 2005. 48 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2005.
- 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. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 21(1):25-34, 1997.
- Church, D. C. *The ruminant animal, digestive physiology and nutrition*. Illinois: Waveland Press, 564 p., 1993.
- Clermont, Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals, seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol. Rev.*, 52 (1):198-236, 1972.
- Clermont, Y. & Antar, M. Duration of the cycle of the seminiferous epithelium and the spermatogonial renewal in the monkey (*Macaca arctoides*). *Am. J. Anat.*, 136:153-166, 1973.
- Clutton-Brock, T.; Guinness, F. & Albon, S. D. *Red Deer. Behaviour and ecology of two sexes*. *Wildlife behavior and ecology*, Edinburgh: Edinburgh University Press, 1982.
- Courot, M.; Hochereau-De-reviers, M. T. & Ortavant, R. Spermatogenesis. In: Johnson, A. D.; Gomes, W.R.; Vandemark, N. L. (Eds.). *The testis*. New York: Academic Press, v.1, Cap.6, p.339-432, 1970.
- Dadoune, J. P. & Demuolin, A. Structure and functions of the testis. In: Thibault, C., Levasseur, M. & Hunter, R. H. F. (eds). *Reproduction in mammals and man*. Paris: Ellipses, Cap.13, p. 227-250, 1993.
- De Rooij, D. G. Stem cells in the testis. *Int. J. Exp. Path.*, 79:67-80, 1998.
- Dellafiore, C. M. & Macieira, N. (Ed.). *Los ciervos autóctonos de la Argentina*. Buenos Aires: GAC, p. 27-34, 2001.

- Dellmann, H. & Wrobel, K. Sistema reprodutor masculino, In: Dellmann, H. & Brown, E. M. Histologia Veterinária, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 12, p. 232-253, 1982.
- Duarte, J. M. B. Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, 238 p., 1997.
- Duarte, J. M. B. & Garcia, J. M. Tecnologia da reprodução para propagação e conservação de espécies ameaçadas de extinção. In: Duarte, J. M. B. (Ed.). Biologia e Conservação de cervídeos sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, Cap. 15, p. 228-238, 1997.
- Duarte, J. M. B. & Merino, M. L. Taxonomia e evolução. In: Duarte, J. M. B. (Ed.). Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, Cap. 1, p. 1-21, 1997.
- Duarte, J. M. B. Artiodactyla-Cervidae (Veado-catingueiro, Veado-campeiro, Cervo-do-pantanal) In: Cubas, Z. S. C.; Silva, J. C. R.; Catão-Dias, J. L. Tratado de animais selvagens: Medicina veterinária. São Paulo: Roca, Cap. 38, p. 641-662, 2006.
- Eisenberg, J. F. The evolutionary history of the Cervidae with special reference to the south American radiation. In: Wemmer, C. M. (Ed.). Biology and management of the cervidae. Washington: Smithsonian Institution Press, Cap. 6, p. 60-64, 1984.
- Eisenberg, J. F. & Redford, K. H. Mammals of the neotropics. Chicago: The University of Chicago Press, v. 3, 609 p., 1999.
- Faber, N. F. & Roser, J. F. Testicular biopsy in stallions: diagnostic potential and effects on prospective fertility. J. Reprod. Fertil. Suppl., 56:31-42, 2001.
- Fawcett, D. W.; Neaves, W. B. & Flores, M. N. Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. Biol. Reprod., 9: 500-532, 1973.

- Feldman, E. C. & Nelson, R. W. Canine and feline endocrinology and reproduction. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 785 p., 1996.
- França, L. R. & Cardoso, F. M. Duration of spermatogenesis and sperm transit time through the epididymis in the piau boar. *Tiss. Cell.*, 30:573-582, 1998.
- França, L. R. & Russell, L. D. The testis of domestic animals. In: Regadera, J. & Martinez-Garcia (eds). Male reproduction: A multidisciplinary overview. Madrid: Churchill Livingstone, p. 197-219, 1998.
- Freneau, G. F. Biópsia testicular em touros Nelore na puberdade e pós-puberdade e sua consequência na espermatogênese e sêmen. 1996. 187p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1996.
- Galina, C. An evaluation of testicular biopsy in farm animals. *Vet. Rec.*, 88:628-631, 1971.
- Ghilardi JR., R. & Alho, C. J. R. Produtividade sazonal da floresta e atividade de forrageamento animal em habitat de terra firme da Amazônia. *Acta Amaz.*, 20:61-76, 1990.
- Godinho, H. P. & Cardoso, F. M. Desenvolvimento sexual de porcos Yorkshire. II. Estabelecimento e evolução da espermatogênese. *Arq. Esc. Vet. UFMG*, 31:351-361, 1979.
- Godinho, C. L. Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*), sexualmente maduros. 1999. 74 p. Dissertação (Mestrado) - Pós-graduação em Biologia Celular, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1999.
- Goeritz, F.; Quest, M.; Wagener, A.; Fassbender, M.; Broich, A.; Hildebrandt, T. B.; Hofmann, R. R. & Blottner, S. Seasonal timing of sperm production in roe deer: interrelationship among changes in ejaculate parameters, morphology and function of testis and accessory glands. *Theriogenology*, 59:1487-1502, 2003.

- Goodman, H. M. Controle Hormonal da Reprodução Masculina. In: Johnson, L.R. Fundamentos de Fisiologia Médica, 2. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 45, 2000.
- Guião-Leite, F. L.; Paula, T. A. R.; Matta, S. L. P.; Fonseca, C. C.; Neves, M. T. D. & Barros, J. B. G. Cycle and duration of the seminiferous epithelium in puma (*Puma concolor*). Anim. Reprod. Sci., 90: 307-316, 2006.
- Guraya, S. S. Biology of spermatogenesis and spermatozoa in mammals. Spring-Verlag Berlen Heidelberg, 430 p., 1987.
- Hunt, W. L.; Paufler, S. K. & Foote, R. H. Testicular biopsies and spermatogenesis in dogs. J. Anim. Sci., 24:921, 1965.
- Hunt, W. L. & Foote, R. H. Effect of repeated testicular biopsy on testis function and semen quality in dogs. J. Androl., 18:740-744, 1997.
- James, R. W.; Heywood, R. & Fowler, D. J. Serial percutaneous testicular biopsy in the Beagle dog. J. Small Anim. Pract., 20: 219-228, 1979.
- Jégou, B. The Sertoli-germ cell communication network in mammals. Int. Rev. Cytol., 147:25-95, 1993.
- Juliá, J. P. & Richard, E. Corzuela colorada. In: Dellafiore, C. M. & Macieira, N (Ed.). Los ciervos autóctonos de la Argentina. Buenos Aires: GAC, Cap. 3, p. 27-34, 2001.
- Junqueira, L. C. & Carneiro, J. Aparelho Reprodutor masculino. In: Junqueira, L. C.; Carneiro, J. Histologia básica. Texto e Atlas. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 11 ed., Cap. 21, p. 323-334, 2008.
- Kenagy, G. J. & Trombulak, S. C. Size and function of mammalian testis in relation to body size. J. Mamm., 67:1-22, 1986.
- Kierszenbaum, A. L. Histologia e Biologia Celular: Uma Introdução à Patologia. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2 ed., 677 p., 2008.

- Klonisch, T.; Schön, J.; Hombach-Klonisch, S. & Blottner, S. The roe deer as a model for studying seasonal regulation of testis function. *Int. J. Androl.*, 29:122-128, 2005.
- Leeuwenberg, F.; Pinder, L. & Resende, L. S. Manejo de populações em vida livre. In: Duarte, J. M. B. *Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos: Blastocerus, Ozotoceros e Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, Cap. 8, p. 109-123, 1997.
- Lincoln, G. A. Biology of seasonal breeding deer. In: Brown, R. D. (ed.). *The biology of deer*. Springer-Verlag. p. 565-574, 1992.
- Lopate, C.; Threlfall, W. R. & Rosol, T. J. Histopatologic and gross effects of testicular biopsy in the dog. *Theriogenology*, 32(4):585-602, 1989.
- Lui, W. Y.; Lee, W. M. & Cheng, C. Y. Transforming growth factor-beta3 perturbs the inter-Sertoli tight junction permeability barrier in vitro possibly mediated via its effects on occludin, zonula occludens-1, and claudin-11. *Endocrinology*, 142:1865-1877, 2001.
- Lyu, P. Y. & Handelsman, D. J. The present and future state of hormonal treatment for male infertility. *Hum. Reprod. Updat.*, 9(1):9-23, 2003.
- Mascarenhas, R. M. M.; Paula, T. A. R.; Junior, M. C.; Ribeiro, E. C. S.; Borboleta, L. R. B. & Matta, S. L. P. Efeitos da biópsia incisional testicular sobre o rendimento intrínseco da espermatogênese e índices de células de Sertoli em cães. *Revista Ceres*, 53(305):100-105, 2006.
- Meinhard, E.; Mcrae, C. U. & Chisholm, G. D. Testicular biopsy in evaluation of male infertility. *Br. Med. J.*, 15:577-581, 1973.
- Morrow, C. J. & Monfort, S. L. Ovarian activity in the scimitar-horned oryx (*Oryx dammah*) determined by faecal steroid analysis. *Anim. Reprod. Sci.*, 53:191- 207, 1998.

- Muñoz, E. M.; Fogal, T.; Dominguez, S.; Scardapane, L.; Guzman, J.; Cavicchia, J. C. & Piezzi, R. S. Stages of the cycle of the seminiferous epithelium of the viscacha (*Lagostomus maximul maximus*). *Anat. Rec.* 252: 8-16, 1998.
- Munson, L.; Brown, J. L.; Bush, M. Packer, C.; Janssen, D.; Reiziss, S. M. & Wildt, D. E. Genetic diversity affects testicular morphology in free-ranging lions (*Panthera leo*) of Serengeti Plains and Ngorongoro Crater. *J. Reprod. Fertil.*, 108:11-15, 1996.
- Nowak, K. Walker's Mammal of the World, vol. VI. The Hopkins University Press, 1101 p., 1991.
- Nseyo, U. O.; Englander, L. S.; Huben, R. P. & Pontes, J. E. Aspiration biopsy of testis: another method for histologic examination. *Fertil. Steril.*, 42(2):281-284, 1984.
- Paula, T. A. R. Análise histométrica e funcional dos testículos de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas 1999. 84 p. Tese (Doutorado) - Pós-graduação em Biologia Celular, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1999.
- Pescovitz, O. H.; Srivastava, C. H.; Breyer, P. R. & Monts, B. A. Paracrine control of spermatogenesis. *Trends Endocrinol. Metabol.*, 5:126-131, 1994.
- Pimentel, C. A.; Ferreira, J. M. M.; Moraes, J. C. F.; Chagas, P. R.; Amaral, C. O.; Medeiros, E. L. & Bento, C. L. R. Desenvolvimento testicular e corporal em touros de corte. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 8(1):27-33, 1984.
- Pinder, L. & Leeuwenberg. Veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*, (Fischer 1814)). In: Duarte, J. M. Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*, São Paulo: FUNEP, p. 60-68, 1997.
- Poccia, D. Molecules of the somatic cells. In: Poccia, D. Molecular biology intelligence unit: molecular aspects of spermatogenesis. Austin: R. G. Landes Company, Cap.4, p.75-90, 1994.

- Polegato, B. F. & Duarte, J. M. B. Período de gestação e cio pós-parto em veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*). In: Livro de resumos, II Congresso Brasileiro de Mastozoologia. Sociedade Brasileira de Mastozoologia. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG. 221 p., 2003.
- Pough, F. H. A vida dos vertebrados. São Paulo: Atheneu, 2 ed., 800 p., 1999.
- Putman, R. J. The natural history of deer. London: Christopher Helm, 191p., 1988.
- Reis, N. R.; Peracchi, A. L.; Pedro, W. A. & Lima, I. P. (eds). Mamíferos do Brasil. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 427 p., 2006.
- Reviere, M. T. H. & Lincoln, G. A. Seasonal variation in the histology of the testis of the red deer, *Cervus elaphus*. J. Reprod. Fert. 54:209-213, 1978.
- Richard, E.; Julia, J. P. & Aceñolaza, P. G. Hábitos frugívoros de la Corzuela Parda (*Mazama gouazoubira*, (Fischer, 1814)) (Mammalia: Cervidae), em um ambiente secundario de Yungas. Acta Vertebr., 22(1-2):19-28, 1995.
- Roelants, H.; Schneider, F.; Göritz, F.; Streich, J. & Blottner, S. Seasonal changes of spermatogonial proliferation in roe deer, demonstrated by flow cytometric analysis of c-kit receptor, in relation to follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, and testosterone. Biol. Reprod., 66:305-312, 2002.
- Roosen-Runge, E. C. The process of spermatogenesis in animals. Cambridge: Academic Press, 123 p., 1977.
- Russell, D. L.; Ettlín, R. A.; Sinha Hikim, A. P. & Clegg, E. D. Mammalian spermatogenesis. In: Russell, D. L.; Ettlín, R. A.; Sinha Hikim, A. P. & Clegg, E. D., (eds). Histological and histopathological evaluation of the testis. Bolesta: Cache River Press, Cap. 1, p. 1-40, 1990.
- Russell, L. D. & Griswold, M. D. The Sertoli cell. (ed) Clearwater, Florida: Cache River Press, p. 1-37, 1993.



- Russell, L. D.; Chandrashekar, V.; Bartke, A. & Sinha-Hikim, A. P. The hamsters Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. *Int. J. Androl.*, 17(2): 93-106, 1994.
- Russell, L. D. Mammalian Leydig cell structure. In: Payne, A. H., Hardy, M. P. & Russell, L. D. (eds) *The Leydig cell*. Vienna: Cache River Press, Cap. 10, p. 218-222, 1996.
- Santiago-Moreno, J.; Góñez-Brunet, A.; Toledano-Diaz, A.; Picazo, R.; Gonzalez-Bulnes, A. & López-Sebastian, A. Seasonal endocrine changes and breeding activity in mediterranean wild ruminants. *Reprod. Dom. Anim.*, 41(Suppl.2):72-81, 2006.
- Sarti, P. Avaliação Morfométrica do Testículo e da Espermatogênese de Jaguatiricas (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) Adultas. 66p. 2006. Mestrado (Dissertação) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2006.
- Schlatt, S.; Meinhardt, A. & Nieschlag, E. Paracrine regulation of cellular interactions in the testis: factors in search of a function. *Eur. J. Endocrinol.*, 137:107-117, 1997.
- Schön, J; Göriz, J.; Streich, J. & Blottner, S. Histological organization of roe deer testis throughout the seasonal cycle: variable and constant components of tubular and interstitial compartment. *Anat. Embryol.*, 208:151-159, 2004.
- Setchell, B. P. Male reproductive organs and semen. In: Cupps, P. T. (ed): *Reproduction in domestic animals*, 4 ed., San Diego: Academic, 6:221-250, 1991.
- Sharpe, R. M. Regulation of spermatogenesis. In: Knobil, E. & Neill, J. D. (eds). *The physiology of reproduction*, 2 ed., N.Y. Raven Press p. 1363-1434, 1994.
- Short, R. V. & Mann, T. The sexual cycle of a seasonally breeding mammal, the roebuck (*Capreolus capreolus*). *J. Reprod. Fert.*, 12:337-351, 1966.

- Sinha-Hikim, A. P.; Sinha-Hikim, I. S.; Amador, A.G.; Bartke, A.; Woolf, A. & Russell, L. D. Reinitiation of spermatogenesis by exogenous gonadotropins in a seasonal breeder, the woodchuck (*Marmota monax*), during gonadal inactivity. *Am. J. Anat.* 192(2):194-213, 1991.
- Skinner, M. Cell-cell interactions in the testis. *Endoc. Rev.*, 12:45-77, 1991.
- Spiteri-Grech, J. & Nieschlag, E. Paracrine factors relevant to the regulation of spermatogenesis - a review. *J. Reprod. Fertil.*, 98:1-14, 1993.
- Stallings, J. R. Notes on feeding habitats of *Mazama gouazoubira* in the Chaco Boreal of Paraguay. *Biotrop.*, 16:155-157, 1984.
- Stanbenfeldt, G. H. & Edqvist, L. Processos reprodutivos do macho. In: Swenson, M. J.; Reece, W. O. Dukes: fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., Cap. 35, p. 603-614, 1996.
- Suzuki, M.; Kaji, K. & Nigi, H. Annual changes of testis size, seminiferous tubules and plasma testosterone concentration of wild sika deer (*Cervus nipon ysoensis* Heude, 1884) in Hokkaido. *J. Vet. Med. Sci.*, 54(3):551-556, 1992.
- Threlfall, W. R. & Lopate, C. Testicular biopsy. In: Mc Kinnon, A. O.; Voss J. L. (Eds.) *Equin Reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, London, p. 943-949, 1993.
- Tomas, W. M.; Beccaceci, M. D. & Pinder, L. Cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*). In: Duarte, J. M. B. *Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos: Blastocerus, Ozotozeros, Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, Cap. 2, p. 24-40, 1997.
- Van Soest, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. New York: Cornell University, 2 ed., 476 p., 1994.
- Vaughan, T. A.; Ryan, J. M. & Czaplewski, N. J. *Mammalogy*. Philadelphia: Saunders College Publishing, Fourth Edition, 2000.

- Verme, L. J. & Ullrey, D. E. White-tailed deer: ecology and management. Washington: Park Smithsonian Institution, 577 p., 1984.
- Versiani, N. F.; Pereira, R. J. G. & Duarte, J. M. B. Perfil dos andrógenos fecais em machos de veado-mateiro (*Mazama americana*) mantidos em cativeiro e sua correlação com os chifres. In: Anais do IV Congresso Brasileiro de Mastozoologia, São Lourenço-MG. Sociedade Brasileira de Mastozoologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro-RJ, 2008.
- Vogliotti, A.; Cheffer, R. & Duarte, J. M. B. Área de moradia e uso de habitat de veados do gênero *Mazama* em área de Mata Atlântica no sul do estado de São Paulo. In: Livro de resumos, II Congresso Brasileiro de Mastozoologia. Sociedade Brasileira de Mastozoologia. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte. 221 p., 2003.
- Wilson, D. E. & D. M. Reeder. Mammal Species of the World, 3 ed., Johns Hopkins: University Press, v. 2, 142 p., 2005.

**Morfometria testicular e dos túbulos seminíferos de veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira* Fischer, 1814) adulto mantido em cativeiro**

**Resumo**

O veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) é a espécie de cervídeo mais abundante da América do Sul, ocupando tanto áreas florestais quanto formações abertas de campos, cerrados e caatingas. Existem muitos estudos com cervídeos em regiões temperadas, mas os neotropicais têm sua fisiologia reprodutiva praticamente desconhecida. Assim, o estudo do processo espermatogênico torna-se relevante, uma vez que visa preencher as lacunas existentes relativas à biologia reprodutiva básica da espécie. A composição do parênquima testicular e o tamanho relativo dos testículos podem fornecer importantes informações quanto à fisiologia reprodutiva e até mesmo quanto ao sistema de acasalamento de uma determinada espécie. O peso corporal médio dos veados-catingueiros foi de 17,14kg dos quais 0,40% estão alocados em gônada e 0,33% em túbulos seminíferos, que representaram 85,86% do parênquima testicular. Os volumes calculados para as albugíneas dos testículos direito e esquerdo foram de 3,52mL, representando 5,33% da massa testicular. O volume do mediastino em ambos os testículos foi de 1g, representando 1,53% da massa dos testículos. Portanto, o parênquima testicular ocupa, em veados-catingueiros adultos 93,14% do testículo, perfazendo um volume de 64,88mL. O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi de 224,43µm, enquanto a espessura média do epitélio seminífero foi de 69,58µm. O veado-catingueiro apresenta em torno de 1418 metros de túbulos seminíferos em ambos os testículos, perfazendo uma média de 21,47 metros de túbulos seminíferos por grama de testículo. O padrão de organização do parênquima testicular dos veados-catingueiros utilizados neste estudo mostrou-se semelhante ao descrito para a maioria das espécies de mamíferos estudadas, apresentando variações específicas quanto à proporção e volumetria dos elementos do parênquima testicular.

**Palavras-chave:** Compartimento tubular, *Mazama gouazoubira*, reprodução, testículo, veado-catingueiro.

## 1. Introdução

O veado-catingueiro (*M. gouazoubira*) é a espécie de cervídeo mais abundante da América do Sul, ocupando tanto áreas florestais quanto formações abertas de campos, cerrados e caatingas (Reis et al., 2006). Dentre as espécies de cervídeos brasileiros é a espécie mais flexível no que se refere ao uso de habitat, mas sempre está associada e dependente de florestas para abrigo e alimentação (Duarte, 1997; Vogliotti et al., 2003). Devido à fragmentação de seus habitats, caça indiscriminada e doenças transmitidas por ungulados domésticos, suas populações vêm declinando significativamente, assim como as demais espécies de cervídeos existentes no Brasil (Duarte, 2006). O veado-catingueiro está incluído nas listas de espécies ameaçadas do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul onde é classificado, respectivamente, como em perigo e vulnerável (Reis et al., 2006). O aumento constante da lista de espécies ameaçadas de extinção e a carência de informações têm estimulado o desenvolvimento de pesquisas que permitam compreender os fundamentos da fisiologia reprodutiva de animais silvestres. Existem muitos estudos com cervídeos em regiões temperadas, mas os neotropicais têm sua fisiologia reprodutiva praticamente desconhecida (Duarte & Garcia, 1995). Conforme o padrão de organização social descrito para as espécies do gênero, o veado-catingueiro é um cervídeo com tendências à vida solitária, reunindo-se ao sexo oposto apenas para se acasalar (Putman, 1988; Nowak, 1991; Eisenberg & Redford, 1999). Os machos são poligínicos e considerados maduros sexualmente a partir dos 18 meses de idade (Black-Décima, 2000). A ausência de um período criticamente pobre em termos de recursos alimentares permite a esta espécie se reproduzir em todos os meses do ano. Os machos não mostram variações anuais nos níveis de testosterona, desenvolvimento testicular e características do ejaculado, não apresentando sazonalidade reprodutiva (Duarte & Garcia, 1997).

Em termos funcionais, os testículos dos mamíferos estão divididos em dois compartimentos: o tubular ou espermatogênico e o intertubular ou androgênico. A proporção desses compartimentos varia consideravelmente entre as espécies, sendo um dos principais fatores responsáveis pela diferença observada para a eficiência da produção espermática entre elas (França & Russell, 1998; Paula, 1999). O estudo dos testículos por meio da quantificação histológica tem sido útil para avaliar as características reprodutivas básicas em animais silvestres (Bittencourt et al., 2004; Caldeira, 2005; Azevedo et al., 2006; Guião-Leite et al., 2006; Sarti, 2006; Barros et al., 2007). Aliado a isso, a utilização da biópsia testicular tem propiciado a obtenção de

material biológico suficiente que permite o estudo sem maiores danos reprodutivos a espécie, por ser um método conservativo da capacidade reprodutiva (Galina, 1971; Lopate et al., 1989; Freneau, 1996; Feldman & Nelson, 1996; Munson et al., 1996; Faber & Roser, 2001; Mascarenhas et al., 2006). O tamanho relativo dos testículos pode oferecer informações importantes quanto ao sistema de acasalamento de uma determinada espécie e até mesmo quanto à sua fisiologia reprodutiva (Kenagy & Trombulak, 1986; Paula, 1999). Parâmetros quantitativos diretamente relacionados com o túbulo seminífero, como diâmetro tubular, espessura do epitélio seminífero e o comprimento total de túbulos seminíferos, apresentam uma relação positiva com a atividade espermatogênica, fornecendo informações para o estabelecimento da mesma em uma dada espécie (França & Russell, 1998; Paula, 1999). As mensurações tubulares são abordagens utilizadas como indicadores da atividade espermatogênica em investigações envolvendo a função testicular (França & Russell, 1998).

Apesar do veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) ser uma espécie abundante, pouco é conhecido sobre sua biologia e padrão reprodutivo, particularmente em machos. Em comparação com outros continentes, os cervídeos da América do Sul são os menos estudados (Leeuwenberg et al., 1997). Portanto, o estudo das características testiculares e do processo espermatogênico torna-se relevante, uma vez que visa preencher as lacunas existentes relativas à biologia reprodutiva básica desta espécie.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi descrever os parâmetros morfométricos do testículo e dos túbulos seminíferos correlacionando-os à massa corporal em veados-catingueiros adultos.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Animais**

Foram utilizados sete veados-catingueiros (*Mazama gouazoubira*) machos adultos, sendo três provenientes do criatório particular e conservacionista pertencente à Fazenda Engenho D'água em Ouro Preto (MG), três oriundos do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) em Jaboticabal (SP) e um mantido pela Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte (MG), conforme autorização do IBAMA número 1946480.

## 2.2. Coleta e processamento do material biológico

Os fragmentos testiculares foram coletados através de biópsia testicular incisional. Para realização desta, os animais foram contidos e mantidos sob anestesia dissociativa, pela associação de quetamina (10mg/kg) e xilazina (1mg/kg).

Os animais foram pesados e ambos os testículos foram mensurados quanto à largura, espessura e comprimento, para o cálculo dos volumes através da fórmula:  $4/3\pi ABC$  (onde A corresponde a metade do comprimento, B metade da largura e C metade da espessura). Como a densidade volumétrica dos testículos de mamíferos é próxima a 1 (1,046) g/mL, seu peso em gramas foi considerado equivalente ao seu volume em mL (Johnson et al., 1981; Paula, 1999). A espessura da pele do escroto também foi mensurada e descontada das dimensões testiculares. Após a antisepsia local, a pele do escroto e a túnica fibrosa (túnica espermiática) foram incisadas para expor a albugínea testicular. Um fragmento de 4 milímetros de diâmetro foi retirado da região média do testículo esquerdo com o auxílio de um bisturi circular, sendo imediatamente imerso em solução de Karnovsky (paraformaldeído 4% e glutaraldeído 4% em tampão fosfato 0,1M pH 7,4) para o procedimento de fixação. A albugínea testicular, a túnica fibrosa e a pele foram suturadas, separadamente, com ponto intradérmico contínuo com extremidades irreversíveis.

Após 24 horas de fixação em Karnovsky os fragmentos foram imersos em álcool 70% até o processamento histológico. A albugínea foi mensurada quanto à espessura utilizando-se paquímetro digital “Caliper King Tools” (precisão de 10 $\mu$ m). Para o cálculo do volume do parênquima testicular (volume líquido do testículo) utilizou-se a fórmula do volume da elipse ( $4/3\pi ABC$ ) subtraindo-se das dimensões testiculares (comprimento, largura e espessura) a espessura da albugínea testicular. O volume da albugínea testicular foi obtido através da diferença entre o volume testicular e o volume testicular desprovido do valor do volume da albugínea. Posteriormente, os valores referentes ao mediastino e volume da albugínea foram subtraídos do volume do testículo para obtenção do volume do parênquima testicular. O acesso ao mediastino não é possível em estudos que utilizam biópsia testicular. No entanto, tivemos acesso a dois testículos provenientes de animais que vieram a óbito no criatório conservacionista da Fazenda Engenho D’Água em Ouro Preto (MG) e foram cedidos para complementar esta pesquisa. Os mediastinos foram removidos e pesados, sendo o valor médio destes descontados do volume testicular nos animais utilizados neste estudo.

Após a fixação do fragmento coletado, foram feitas as preparações histológicas. Para o estudo ao microscópio de luz os fragmentos testiculares foram desidratados por imersão em concentrações crescentes de etanol (70%, 80%, 90%, 95% e 100%) permanecendo por um período de 30 minutos em cada solução. Em seguida, os fragmentos foram imersos em solução de infiltração glicol metacrilato (Historesin<sup>®</sup> - Leica) por doze horas e em seguida, foram transferidos para uma solução de infiltração nova por mais duas horas. Posteriormente, os fragmentos foram incluídos por adição do endurecedor conforme a recomendação do fabricante. Os fragmentos incluídos, devidamente identificados, foram mantidos em sílica gel até ficarem completamente secos.

Utilizando-se micrótomo rotativo (Reichert-Jung, Alemanha) dotado de navalha de vidro, foram feitos cortes histológicos semi-seriados de 3 $\mu$ m de espessura com intervalos de 40 $\mu$ m. As secções obtidas foram coradas com azul de toluidina-borato de sódio 1% e montadas com Entellan<sup>®</sup> - Merck. Imagens do parênquima testicular foram obtidas em fotomicroscópio Olympus AX-70 e analisadas com o auxílio do software de morfometria Image-Pro Plus<sup>®</sup>.

### **2.3. Análises morfométricas dos testículos**

#### **2.3.1. Índice gonadossomático (%)**

Inferindo-se ao peso corporal o peso de ambos os testículos, foi calculado o índice gonadossomático (IGS) a partir da fórmula  $IGS = PG/PC \times 100$ , onde PG = peso das gônadas e PC = peso corporal (Amann, 1970). Este índice representa o percentual de massa corporal alocada em testículos.

#### **2.3.2. Proporções volumétricas (%), volume dos compartimentos do parênquima testicular e índice tubulossomático (%)**

Para o cálculo da proporção volumétrica ocupada pelos túbulos seminíferos e o intertúbulo, foram obtidas aleatoriamente dez imagens do parênquima testicular. Sobre as imagens digitalizadas foi projetada uma grade contendo 475 pontos com o auxílio do software Image-Pro Plus<sup>®</sup>, sendo que a leitura final totalizou 4750 pontos por animal.



O volume de cada compartimento do parênquima testicular, expresso em mL, foi estimado a partir da fórmula  $\text{volume} = \% \text{ túbulo ou intertúbulo}/100 \times \text{volume do parênquima de um testículo}$ .

Baseado nos volumes de túbulos seminíferos e nos pesos corporais foi calculado o índice tubulossomático (ITS) a partir da fórmula  $\text{ITS} = \text{VT}/\text{PC} \times 100$ , onde VT= volume tubular e PC = peso corporal. Assim, foi possível estimar o percentual de massa corporal alocada em túbulos seminíferos.

### **2.3.3. Diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero**

O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi obtido a partir do diâmetro de 30 secções transversais tubulares em cada animal. As secções escolhidas foram as mais circulares possíveis, independentes do estágio em que se encontravam. A altura do epitélio seminífero foi mensurada na mesma secção transversal em que foi obtido o diâmetro tubular. Neste caso, considerou-se a distância desde a membrana basal até a borda luminal. Foram realizadas duas medidas diametralmente opostas em cada secção transversal, sendo anotado como resultado a média das mesmas. As mensurações foram feitas com auxílio do software de morfometria Image-Pro Plus<sup>®</sup>.

### **2.3.4. Comprimento total dos túbulos seminíferos e comprimento de túbulo por grama de testículo**

O comprimento total dos túbulos seminíferos, expresso em metros, foi estimado a partir do conhecimento do volume ocupado pelos túbulos seminíferos nos testículos e do diâmetro tubular médio obtido para cada animal, empregando-se a fórmula  $\text{CT} = \text{VTS}/\pi R^2$ , onde VTS = volume total dos túbulos seminíferos;  $\pi R^2$  = área da secção transversal dos túbulos seminíferos e R = diâmetro tubular/2 (Attal & Courot, 1963; Dorst & Sajonski, 1974). Para o cálculo do comprimento tubular por grama de testículo, dividiu-se o valor do CT pelo peso bruto dos testículos.

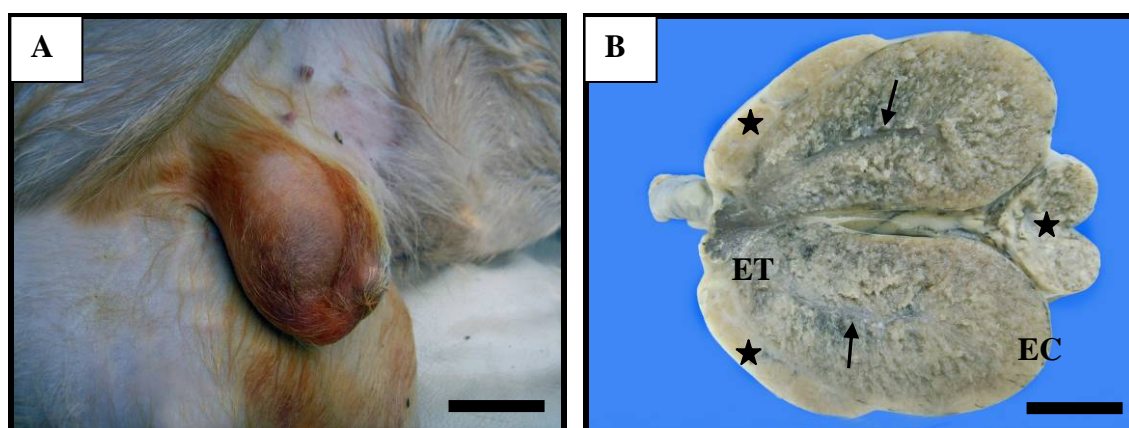
### **2.3.5. Análise estatística**

Os dados foram analisados quanto à média, desvio padrão e o coeficiente de variação segundo a função estatística do programa Microsoft Office Excel<sup>®</sup> 2003.

Para avaliar as variações entre os volumes do testículo esquerdo e direito foi utilizado o Test t de Student, através do programa BIOESTAT 3.0 (Ayres et al., 2003). Foram aceitos como significativos os resultados com  $p < 0,05$  (5%).

### 3. Resultados

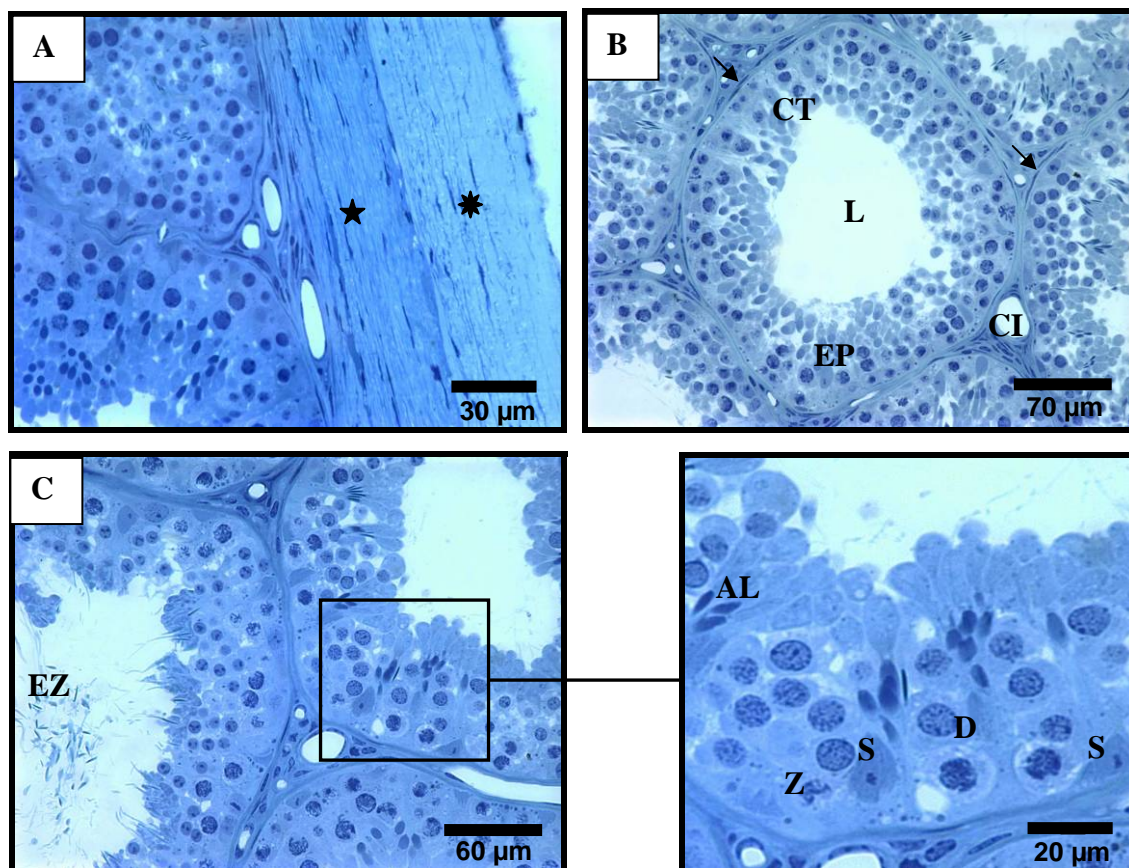
Os testículos de veado-catingueiro são órgãos pares, de formato ovóide, localizados fora da cavidade abdominal em uma prega cutânea denominada escroto (Figura 1A). Está envolto por uma espessa cápsula conjuntiva denominada albugínea testicular que converge para o interior do parênquima testicular, formando o mediastino testicular localizado na porção central do testículo (Figura 1B).



**Figura 1. A)** Testículo de veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*). Barra: 1,5 cm. **B)** Secção longitudinal do testículo de veado-catingueiro.  $\rightarrow$  : Mediastino testicular; **ET**: extremidade capitata do testículo; **EC**: extremidade caudata do testículo;  $\star$  : Epidídimo. Barra: 1 cm.

A albugínea é recoberta externamente pela túnica vaginal e composta por fibras colágenas, fibrócitos, fibroblastos, células musculares lisas e ainda por vasos linfáticos e sanguíneos (Figura 2A). No parênquima testicular são observados dois compartimentos: o tubular e o intertubular. No compartimento tubular estão os túbulos seminíferos constituídos, de sua porção externa para interna, por túnica própria, epitélio seminífero e lume. Na túnica própria é observada camada única de células mióides (Figura 2B). No epitélio seminífero encontram-se células espermatogênicas em várias etapas de desenvolvimento e as células de Sertoli com seu característico núcleo irregular e nucléolos evidentes. Em alguns túbulos foram observados espermatozóides no lume

(Figura 2C). O compartimento intertubular é constituído por células de Leydig, células e fibras do conjuntivo, vasos sanguíneos e vasos linfáticos.



**Figura 2.** Secções histológicas transversais do túbulo seminífero de veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*). **A)**★: Albugínea testicular; ✱: Túnica vaginal visceral. **B)** CT: Compartimento tubular; CI: Compartimento intertubular; ➔: Túnica própria; L: Lume; EP: Epitélio seminífero. **C)** EZ: espermatozóides. Detalhe: S: Células de Sertoli; D: espermatócitos primários em diplóteno; Z: espermatócitos primários em zigóteno; AL: espermátides alongadas. Azul de Toluidina - Borato de Sódio.

Os animais apresentaram peso corporal médio de 17,14kg, variando entre 16,4 e 17,9kg (Tabela 1). Os dados referentes à biometria testicular como comprimento, largura e espessura estão descritos na Tabela 1. A partir desses parâmetros foi possível o cálculo da média dos volumes do testículo direito e esquerdo sendo, respectivamente, 33,79mL e 35,61mL (Tabela 1). Estes valores não apresentaram variação significativa ( $t = -0,37$ ;  $n=7$ ;  $p=0,72$ ) quando avaliados no Teste t de Student. O índice gonadossomático médio foi de 0,40% (Tabela 1).

**Tabela 1.** Parâmetros biométricos corporais e testiculares e índice gonadossomático de veados-catingueiros adultos, mantidos em cativeiro. N=7

Parâmetros	Média ± Desvio padrão	Coefficiente de variação
Peso corporal (kg)	17,14±1,01	5,88
Comprimento do testículo direito (cm)	5,88 ±0,78	13,32
Largura do testículo direito (cm)	3,35±0,30	8,99
Espessura do testículo direito (cm)	3,23±0,27	8,25
Comprimento do testículo esquerdo (cm)	6,14±0,54	8,81
Largura do testículo esquerdo (cm)	3,26±0,42	12,82
Espessura do testículo esquerdo (cm)	3,33±0,28	8,42
Volume testículo direito (mL)	33,79±8,97	26,53
Volume testículo esquerdo (mL)	35,61±9,66	27,12
Volume de ambos os testículos (mL)	69,40±17,96	25,88
Peso de ambos os testículos (g)	69,40±17,96	25,88
Índice Gonadossomático (%)	0,40±0,09	22,40

Em veados-catingueiros adultos, a espessura média da albugínea testicular foi de 345,71µm. O volume calculado para as albugíneas dos testículos direito e esquerdo foi de 3,52mL, representando 5,33% da massa testicular. O volume do mediastino em ambos os testículos foi de 1g, representando 1,53% da massa dos testículos (Tabela 2). Portanto, o parênquima testicular representa, em veados-catingueiros adultos, 93,14% do testículo, perfazendo um volume de 64,88mL (Tabela 2).

**Tabela 2.** Proporção volumétrica e volumes médios da albugínea, mediastino e parênquima testicular de veados-catingueiros adultos, mantidos em cativeiro. N=7

Parâmetros	Média ± Desvio padrão	Coefficiente de variação (%)
Espessura da albugínea testicular (µm)	345,71±107,37	31,06
Volume de ambas as albugíneas testiculares (mL)	3,52±0,98	27,96
Volume de ambos os mediastinos (mL)	1,00±0,03	3,24
Volume de ambos os parênquimas testiculares (mL)	64,88±17,91	27,61
Proporção volumétrica da albugínea testicular (%)	5,33±1,82	34,08
Proporção volumétrica do mediastino testicular (%)	1,53±0,40	26,24

O parênquima testicular de veados-catingueiros apresenta 85,86% de sua massa alocada em túbulos seminíferos e 14,14% alocada em tecido intertubular, perfazendo, respectivamente, um volume de 56,03mL e 8,85mL (Tabela 3). O diâmetro médio dos

túbulos seminíferos foi de 224,43 $\mu$ m e a espessura média do epitélio seminífero foi de 69,58 $\mu$ m (Tabela 3). O veado-catingueiro adulto apresenta em média 1418 metros de túbulos seminíferos em ambos os testículos, perfazendo a média de 21,47 metros de túbulos seminíferos por grama de testículo. O índice tubulossomático (ITS) em veados-catingueiros foi de 0,33% (Tabela 3).

**Tabela 3.** Proporção volumétrica e volume dos túbulos seminíferos e intertúbulo, diâmetro do túbulo seminífero, espessura do epitélio seminífero, comprimento total e por grama de testículo do túbulo seminífero e índice tubulossomático em veados-catingueiros (*M. gouazoubira*) adultos mantidos em cativeiro. N=7

Parâmetros	Média $\pm$ Desvio padrão	Coefficiente de variação (%)
Proporção volumétrica de túbulo seminífero (%)	85,86 $\pm$ 5,67	6,60
Proporção volumétrica de intertúbulo (%)	14,14 $\pm$ 5,7	40,1
Volume de túbulos seminíferos (mL)	56,03 $\pm$ 17,52	31,27
Volume de intertúbulo (mL)	8,85 $\pm$ 3,3	36,9
Diâmetro do túbulo seminífero ( $\mu$ m)	224,43 $\pm$ 39,21	17,47
Espessura do epitélio seminífero ( $\mu$ m)	69,58 $\pm$ 9,67	13,90
Comprimento total de túbulos seminíferos (m)	1418 $\pm$ 259,04	18,26
Comprimento de túbulos seminíferos por grama de testículo (m/g)	21,47 $\pm$ 6,06	28,23
Índice Tubulossomático (%)	0,33 $\pm$ 0,09	28,03

#### 4. Discussão

O padrão de organização do testículo de veado-catingueiro mostrou-se semelhante ao descrito para a maioria das espécies de mamíferos estudadas (Russell et al., 1990; França & Russell, 1998), apresentando variações específicas quanto à proporção e volumetria dos elementos do parênquima testicular. O peso corporal médio do veado-catingueiro está de acordo com os padrões descritos para a espécie como foi verificado por Duarte (2006), que registrou o peso médio de 18kg para animais desta espécie. O peso testicular médio foi estimado a partir de suas dimensões (comprimento, largura e espessura), uma vez que as coletas de fragmentos testiculares foram realizadas por meio de biópsia. A utilização da fórmula ( $4/3\pi ABC$ ) como forma de aferição do volume testicular mostrou-se efetiva em testículos de cães submetidos à castração, não havendo variação significativa entre o peso testicular e o volume calculado dos testículos (Mascarenhas et al., 2006). O processo de biópsia testicular tem propiciado

diversos trabalhos sobre a fisiologia reprodutiva do testículo de animais silvestres, sem a necessidade de castração (Bittencourt et al., 2004; Caldeira, 2005; Azevedo et al., 2006; Guião-Leite et al., 2006; Sarti, 2006; Barros et al., 2007), sendo um método conservativo da capacidade reprodutiva por não provocar efeitos deletérios nos testículos em longo prazo nas diferentes espécies estudadas (Galina, 1971; Lopate et al., 1989; Freneau, 1996; Feldman & Nelson, 1996; Munson et al., 1996; Faber & Roser, 2001; Mascarenhas et al., 2006). Desta forma, a opção pela realização de biópsia testicular ao invés de outros procedimentos como castração e hemicastração para obtenção de material biológico mostrou-se viável também neste estudo.

Os volumes dos testículos direito e esquerdo de veado-catingueiro não apresentaram variação significativa entre si ( $t = -0,37$ ;  $n = 7$ ;  $p = 0,72$ ) quando avaliados pelo Test t de Student, confirmando o observado para os demais mamíferos já estudados (França e Russell, 1998). Alguns estudos relatam que se os testículos de um indivíduo apresentam tamanhos semelhantes, a biópsia incisional unilateral seria suficiente para representar o estado dos dois órgãos (Lopate et al., 1989; Hunt & Foote, 1997). Como os volumes de ambos os testículos não apresentaram variações significativas, a utilização de biópsia testicular mostrou-se pertinente neste estudo.

Em veado-catingueiro adulto o índice gonadossomático (IGS) foi de 0,40%, sendo maior que aqueles obtidos para alguns membros da ordem Artiodactyla, como touro (0,1%) e búfalo (0,04%) (França & Russell, 1998), cateto (0,09%) (Kenagy & Trombulak, 1986), queixada (0,19%; Costa et al., 2007a) e javali (0,31%; Almeida et al., 2006). Por outro lado, mostrou-se menor quando comparado com ovino (0,91%; Kenagy & Trombulak, 1986), carneiros (0,7%; França & Russell, 1998) e outras raças domesticadas de ovinos como “Australian Merinos” (0,84%), “British clun forest” (0,60%) e “Ile de france” (0,66%) (Setchell & Breed, 2006). Entretanto, os valores encontrados para veado-catingueiro apresentaram-se semelhantes àqueles encontrados em caprino (0,35%; Leal et al., 2004), porcos domésticos (0,40%; Godinho & Cardoso, 1979; Okwun et al., 1996; França et al., 2005) e bodes (0,40%) (Setchell, 1991; França & Russell, 1998). A produção espermática está altamente correlacionada com o peso testicular (França & Russell, 1998). O tamanho relativo dos testículos é indicador do sistema de acasalamento de uma determinada espécie, ou seja, o tamanho testicular está diretamente relacionado com o comportamento reprodutivo (Kenagy & Trombulak, 1986). O veado-catingueiro é considerado uma espécie de cervídeo de pequeno porte (Duarte, 2006) com sistema de acasalamento poligínico (Black-Décima, 2000). Segundo Kenagy & Trombulak (1986), espécies de pequeno porte apresentam maior alocação e

dispendimento energético em massa testicular. Isto explica o grande investimento do veado-catingueiro em massa testicular que reflete diretamente no seu comportamento reprodutivo. Neste caso, o sistema de acasalamento é do tipo multi-machos o que determina também o grande tamanho testicular. Tal fato é evidenciado também em outras espécies de cervídeos sendo diferentes de quando existe apenas um macho reprodutor cujos testículos podem ser menores, segundo Kenagy & Trombulak (1986).

A albugínea e o mediastino testicular participam da morfologia testicular embora não participem diretamente da função espermatogênica ou androgênica. Desta forma, nos estudos fisiológicos essas estruturas são descontadas do peso testicular para a obtenção do cálculo do parênquima testicular (Johnson et al., 1981). Nos casos em que o material biológico do estudo é proveniente de biópsia testicular, não é possível o acesso aos dados referentes ao mediastino testicular a não ser por meio de ultrassonografia. Devido a esta dificuldade no acesso e por não ser uma estrutura tão representativa nos testículos geralmente não são desconsiderados do volume testicular. No entanto, neste estudo foi possível dissecar os testículos de dois animais que vieram a óbito, sendo os mediastinos removidos e pesados, obtendo-se um peso médio de 1g. Este valor foi descontado nos testículos dos animais utilizados neste estudo, perfazendo em média 1,53% do peso testicular total. O percentual médio da albugínea em relação ao peso testicular de veado-catingueiro (5,33%) foi muito menor quando comparado aos demais membros da ordem Artiodactyla como queixada (14,02%; Menezes, 2006), cateto (13,14%; Costa, 2001) e porco monteiro (11,96%; Costa et al., 2005). Entretanto, foi semelhante ao valor relatado para suínos domésticos (Godinho & Cardoso, 1979; Okwun et al., 1996; França et al., 2005), javali (Almeida et al., 2006) e porcos (França & Russell, 1998). Nos animais que apresentam testículos maiores, a albugínea parece ocupar menor percentual do peso testicular quando comparado com as espécies que apresentam testículos menores (Egbunike, 1981). O percentual ocupado pelo mediastino nos testículos de veado-catingueiro (1,53%) também foi muito menor ao relatado para queixada, cateto e porco monteiro (Costa, 2001; Menezes, 2006; Costa et al., 2005). O veado-catingueiro apresenta menor percentual de albugínea e mediastino quando comparados com a maioria das espécies domésticas, nos quais a proporção volumétrica da albugínea e mediastino testiculares está geralmente em torno de 10% (França & Russell, 1998).

O parênquima testicular consiste na parte funcional dos testículos e apresenta dois compartimentos: o tubular e o intersticial ou intertubular (Russell et al., 1990). A proporção entre esses compartimentos varia consideravelmente entre as espécies, sendo



responsável pela diferença observada na eficiência na produção espermática (França & Russell, 1998). O compartimento tubular constitui a maior parte do testículo, ocupando, na grande maioria dos mamíferos, de 61% a 86% do parênquima testicular (França & Russell, 1998). Em capivaras, foi observada a menor proporção volumétrica sendo que cerca de 50% do parênquima testicular é composto por túbulos seminíferos (Paula et al., 2002). A proporção volumétrica de túbulos seminíferos em veado-catingueiro foi de 85,86% do parênquima testicular, sendo encontrados valores semelhantes em búfalos e bodes (80%; França & Russell, 1998), javali (82,1%; Costa & Silva, 2006), porco piau (82,9%; França, 1991), cateto (83,6%; Costa et al., 2007b), carneiros e porcos (85%; França & Russell, 1998), touro e carneiro (85%; Setchell, 1991), javali (86,9%; Almeida et al., 2006) e caprino (87,7%; Leal et al., 2004). Valor menor foi relatado para queixada (75,8%; Costa et al., 2007a).

O índice tubulossomático (ITS) é um parâmetro que visa quantificar o investimento em túbulo seminífero em relação ao peso corporal do animal. Assim, o veado-catingueiro aloca em média 0,33% do peso corporal em túbulo seminífero, estando este valor entre os maiores já descritos para os animais silvestres: leão africano (0,009%; Barros, 2005), onça parda (0,02%; Guião-Leite et al., 2006), onça-pintada (0,022%; Azevedo, 2004), lobo-guará (0,03%; Bittencourt, 2003), cachorro-do-mato (0,042%; Caldeira, 2005), jaguatirica (0,074%; Sarti, 2006) e paca (0,24%; Carreta Junior, 2008). Este índice é de grande importância quanto à avaliação da influência do comportamento reprodutivo sobre a morfologia tubular. O maior investimento do veado-catingueiro na produção espermática reforça a tendência descrita por Kenagy & Trombulak (1986) para animais de menor porte com comportamento poligínico ou com sistema de acasalamento multi-machos.

A mensuração tubular é uma das abordagens utilizadas como indicadores da atividade espermatogênica em experimentos relacionados à função testicular (Godinho & Cardoso, 1979; Russell et al., 1994; França & Cardoso, 1998). Embora o diâmetro médio possa chegar a 550 $\mu$ m em algumas espécies de marsupiais (Woolley, 1975), o valor observado para a maioria dos amniotas varia de 180 a 300 $\mu$ m (Roosen-Runge, 1977). O valor encontrado para veado-catingueiro (224,43 $\mu$ m) apresentou-se muito próximo aos valores encontrados para porcos (224 $\mu$ m; França & Russell, 1998), queixada (225,61 $\mu$ m; Costa et al., 2007a), carneiro (237 $\mu$ m; Leal et al., 2004) e pouco menores que os valores relatados para javali (249,2 $\mu$ m; Costa & Silva, 2006) e cateto (278,94 $\mu$ m; Costa et al., 2004) estando dentro da amplitude considerada para as demais espécies estudadas. Em animais sexualmente maduros que não apresentam sazonalidade



reprodutiva, o diâmetro dos túbulos seminíferos não sofre variações significativas. No entanto, pode apresentar variações entre espécies ou até mesmo entre os indivíduos de uma mesma espécie (França & Russell, 1998). Outros fatores podem contribuir para explicar a grande amplitude observada para o diâmetro tubular nos mamíferos, tais como: metodologias em que não se considera a retração tecidual durante o processamento histológico, uso de animais que ainda não atingiram a maturidade sexual, variações no número de camadas de células mióides que constituem a túnica própria, tamanho e população das células de Sertoli e células espermatogênicas e secreção de fluido pelas células de Sertoli, o que determina o tamanho do lume tubular (Paula, 1999).

A mensuração do epitélio seminífero é mais efetiva para avaliação da produção espermática do que o diâmetro tubular (Wing & Christensen, 1982). No veado-catingueiro a espessura média do epitélio seminífero (68,40 $\mu$ m) encontra-se dentro da amplitude observada para animais domésticos, que vai de 60 a 100 $\mu$ m (França & Russell, 1998). Valores semelhantes foram observados em búfalos (60-65 $\mu$ m; França & Russell, 1998), cateto (66,3 $\mu$ m; Costa et al., 2004) e javali (67,5 $\mu$ m; Costa & Silva, 2006). Maior espessura foi relatada para touros (72-79 $\mu$ m; França & Russell, 1998), caprino (78 $\mu$ m; Leal et al., 2004), queixada (78,4 $\mu$ m; Costa et al., 2007a) e carneiros (90-100  $\mu$ m; França & Russell, 1998).

O comprimento total dos túbulos seminíferos depende de três parâmetros: volume testicular, diâmetro tubular e proporção volumétrica dos túbulos seminíferos (França & Russell, 1998). Animais que apresentam testículos grandes e alta proporção volumétrica dos túbulos seminíferos têm vantagem sobre aqueles com peso testicular menor. Assim, comparações entre animais com pesos testiculares diferentes não são pertinentes. Entretanto, quando o comprimento total de túbulos seminíferos nos testículos é convertido para grama por testículo, essas comparações são possíveis. O veado-catingueiro apresenta 21,47 metros de túbulo seminífero por grama de testículo, valor este acima da faixa de 10 a 15m/g descrita para a maioria dos animais domésticos (França & Russell, 1998), porém abaixo dos valores encontrados para o gato doméstico de 23m/g (Godinho, 1999), paca (29,71m/g; Carreta Júnior, 2008) e morcego *Molossus molossus* (48m/g; Morais, 2008). Valor semelhante foi relatado para caprino (20m/g; Leal et al., 2004) e javali (19,3m/g; Costa & Silva, 2006). Valores menores que os encontrados para veado-catingueiro foram observados em queixada (15,8m/g; Costa et al., 2007a), búfalos (16,3m/g; França & Russell, 1998), porcos (11-12m/g; França & Russell, 1998), touros (10-18m/g; França & Russell) e cateto (10,3m/g; Costa, 2001).

## **5. Conclusões**

O padrão de organização do testículo de veado-catingueiro mostrou-se semelhante ao descrito para a maioria dos mamíferos já estudados. O veado-catingueiro apresentou um alto percentual de massa corporal alocada em testículo e túbulos seminíferos, enquadrando-se entre os maiores valores descritos para a maioria dos animais domésticos e silvestres estudados. O percentual de albugínea testicular e o mediastino foram próximos aos valores encontrados para suínos domésticos, estando entre os menores relatados para os animais domésticos. O diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero foram semelhantes aos descritos para a maioria dos animais pertencentes à mesma ordem (Artiodactyla), estando dentro da amplitude observada para as demais espécies de mamíferos. O veado-catingueiro situa-se entre os animais que apresentam maior comprimento de túbulo seminífero por grama de testículo.

## **Agradecimentos**

Ao Instituto Estadual de Florestas (IEF) pela concessão da bolsa de estudo. À Fazenda Engenho D'Água e ao Ambiente Brasil Centro de Estudos por todo apoio ao longo do projeto.

## 6. Referências Bibliográficas

- Almeida, F. F. L., Leal, M. C. & França, L. R. Testis morphometry, duration of spermatogenesis, and spermatogenic efficiency in the Wild boar (*Sus scrofa scrofa*). Biol. Reprod., 75:792-799, 2006.
- Amann, R. P. Sperm production rates. In: Johnson, A. D., Gomes, W. R., Vandemark, N. L. (eds). The testis. New York: Academic Press, v.1, Cap.7, p. 433-482, 1970.
- Attal, J. & Courot, M. Développement testiculaire et établissement de la spermatogénèse chez le taureau. Ann Biol. Anim. Bioch. Biophys., 3:219- 241, 1963.
- Azevedo, M. H. F. Análise morfofuncional do testículo da onça pintada (*Panthera onça*) adulta. 2004. 63 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2004.
- Azevedo, M. H. F.; Paula, T. A. R.; Matta, S. L. P.; Fonseca, C. C. & Neves, M. T. D. Morfometria testicular e o túbulo seminífero da onça pintada (*Panthera onca*) Adulta. Revista Ceres, 53:374-381, 2006.
- Ayres, M., Ayres Jr., M. & Ayres, D. L.; Santos, A. S. BioEstat 3.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Belém, PA: Sociedade Civil Mamirauá, 2003.
- Barros, J. B. G. Análise Morfofuncional do testículo e espermatogênese de leões africanos (*Panthera leo*, Linnaeus, 1758) adultos. 2005. 64p. Dissertação (Mestrado) -Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2005.
- Barros, J. B. G.; Paula, T. A. R. & Matta, S. L. P. ; Fonseca, C. C.; Guião-Leite, F. L.; Rossi, J. L.; Oliveira, P. C. & Costa, E. P. Sertoli cell index and spermatid reserves in adult captive african lions (*Panthera leo*, Linnaeus, 1758). Anim. Reprod. Sci., 102:(3-4)350-356, 2007.

- Bittencourt, V. L. Avaliação morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do lobo guará (*Chrysocyon brachyurus* Illiger, 1811) adulto. 2003. 57 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2003.
- Bittencourt, V. L.; Paula, T. A. R.; Matta, S. L. P.; Fonseca, C. C.; Costa, M. E. L.; Malta, M. C.; Coelho, C. M. & Bastos, J. A. B. Avaliação da população celular do epitélio seminífero e índices indicativos da população espermática, através de biópsia testicular em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus* Illiger, 1811) adulto. Rev. Bras. Rep. Anim., 28:108-113, 2004.
- Black-Décima, P. Home range, social structure, and scent marking behavior in Brown Brocket Deer (*Mazama gouazoubira*) in a large enclosure. Mastozoología Neotropical - J. Neotrop. Mammal., 7(1):5-14, 2000.
- Caldeira, B. C. Avaliação morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766) adulto. 2005. 48 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2005.
- Carreta Junior, M. Avaliação morfofuncional do processo espermatogênico de pacas (*Cuniculus paca*, Linnaeus, 1766) adultas. 2008. 61 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2008.
- Costa, D. S. Análise morfofuncional da espermatogênese e características seminais de catetos (*Tayassu tajacu*). 2001. 61p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 2001.
- Costa, D. S.; Henry, M. & Paula, T. A. R. Espermatogênese de catetos (*Tayassu tajacu*). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 56:46-51, 2004.

- Costa, D. S.; Paes, R. C. S.; Costa Netto, A. A.; Oliveira, J. M.; Monteiro, L. A. R. C.; Ribeiro, O. C. & Henriques, L. S. V. Peso e percentual da túnica albugínea e mediastino testicular em porcos monteiro (*Sus scrofa*). In: 10º Encontro de iniciação científica da UENF, 2005, Campos dos Goytacazes-RJ. Anais do 10º Encontro de iniciação científica, 5 Mostra de Pós-graduação e 3 Mostra de Pós-graduação e 3 Mostra de extensão da UENF, 2005.
- Costa, D. S. & Silva, J. F. S. Wild boars (*Sus scrofa scrofa*) seminiferous tubules morphometry. Braz. Arch. Biol. Technol., 49(5): 739-745, 2006.
- Costa, D. S.; Menezes, C. M. C & Paula, T. A. R. Spermatogenesis in White-lipped peccaries (*Tayassu pecari*). Anim. Reprod. Sci., 98:322-334, 2007a.
- Costa, D. S.; Silva, J. F. & Silveira, L. S. Morphometry of cells in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., 44(5):384-389, 2007b.
- Dorst, V, J. & Sajonski, H. Morphometrische untersuchunhen am tubulussystem des schweinehodens während der postnatalen entwicklug. Monatsh. Veterinaer Med., 29:650-652, 1974.
- Duarte, J. M. B. & Garcia, J. M. Reprodução assistida em cervidae brasileiros. Rev. Bras. Reprod. Anim. 19(1-2):111-121, 1995.
- Duarte, J. M. B. Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, 238 p., 1997.
- Duarte, J. M. B. & Garcia, J. M. Tecnologia da reprodução para propagação e conservação de espécies ameaçadas de extinção. In: Duarte, J. M. B. (Ed.). Biologia e Conservação de cervídeos sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, Cap. 15, p. 228-238, 1997.
- Duarte, J. M. B. Artiodactyla-Cervidae (Veado-catingueiro, Veado-campeiro, Cervo-do-pantanal) In: Cubas, Z. S. C.; Silva, J. C. R.; Catão-Dias, J. L. Tratado de animais selvagens: Medicina veterinária. São Paulo: Roca, Cap. 38, p. 641-662, 2006.

- Egbunike, G. N. Testis characteristics of pubertal large white boars reared in a humid tropical environment. *Androl.*, 13(4):284-290, 1981.
- Eisenberg, J. F. & Redford, K. H. *Mammals of the neotropics*. Chicago: The University of Chicago Press, v. 3, 609 p., 1999.
- Faber, N. F. & Roser, J. F. Testicular biopsy in stallions: diagnostic potential and effects on prospective fertility. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 56:31-42, 2001.
- Feldman, E. C. & Nelson, R. W. *Canine and feline endocrinology and reproduction*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 785 p., 1996.
- França, L. R. Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça piau. 1991. 185p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Celular, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1991.
- França, L. R. & Cardoso, F. M. Duration of spermatogenesis and sperm transit time through the epididymis in the piau boar. *Tiss. Cell.*, 30:573-582, 1998.
- França, L. R. & Russell, L. D. The testis of domestic animals. In: Regadera, J. & Martinez-Garcia (eds). *Male reproduction: A multidisciplinary overview*. Madrid: Churchill Livingstone, p. 197-219, 1998.
- França, L. R.; Avelar, G. F. & Almeida, F. F. L. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology*, 63:300-318, 2005.
- Freneau, G. F. Biópsia testicular em touros Nelore na puberdade e pós-puberdade e sua consequência na espermatogênese e sêmen. 187 p. 1996. Tese (Doutorado) Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1996.
- Galina, C. An evaluation of testicular biopsy in farm animals. *Vet. Rec.*, 88:628-631, 1971.

- Godinho, H. P. & Cardoso, F. M. Desenvolvimento sexual de porcos Yorkshire. II. Estabelecimento e evolução da espermatogênese. Arq. Esc. Vet. UFMG, 31:351-361, 1979.
- Godinho, C. L. Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*), sexualmente maduros. 1999. 74 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Celular, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1999.
- Guião-Leite, F. L.; Paula, T. A. R.; Matta, S. L. P.; Fonseca, C. C.; Neves, M. T. D. & Barros, J. B. G. Cycle and duration of the seminiferous epithelium in puma (*Puma concolor*). Anim. Reprod. Sci., 90:307-316, 2006.
- Hunt, W. L. & Foote, R. H. Effect of repeated testicular biopsy on testis function and semen quality in dogs. J. Androl., 18:740-744, 1997.
- Johnson, L, Petty, C. S. & Neves, W. B. A new approach to qualification of spermatogenesis and its applications to germinal cell attrition during human spermatogenesis. Biol. Reprod., 25:217-226, 1981.
- Kenagy, G. J. & Trombulak, S. C. Size and function of mammalian testis in relation to body size. J. Mamm., 67:1-22, 1986.
- Leal, M. C.; Becker-Silva, S. C.; Chiarini-Garcia, H. & França, L. R. Sertoli cell efficiency and daily sperm production in goats (*Capra hircus*). Anim. Reprod., 1(1):122-128, 2004.
- Leeuwenberg, F.; Pinder, L. & Resende, L. S. Manejo de populações em vida livre. In: Duarte, J. M. B. Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, 238 p., 1997.
- Lopate, C.; Threlfall, W. R. & Rosol, T. J. Histopatologic and gross effects of testicular biopsy in the dog. Theriogenology, 32(4):585-602, 1989.

- Nowak, K. Walker's Mammal of the World, Vol. VI. The Hopkins University Press, 1101 p., 1991.
- Mascarenhas, R. M. M.; Paula, T. A. R.; Junior, M. C.; Ribeiro, E. C. S.; Borboleta, L. R. B. & Matta, S. L. P. Efeitos da biópsia incisional testicular sobre o rendimento intrínseco da espermatogênese e índices de células de Sertoli em cães. *Revista Ceres*, 53(305):100-105, 2006.
- Menezes, C. M. C. Análise morfofuncional da espermatogênese de queixadas (*Tayassu pecari* LINK, 1975). 2006. 65p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Produção Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Campos dos Goytacazes-RJ, 2006.
- Morais, D. B. Morfologia e morfometria testicular em morcego insetívoro (*Molossus molossus*, Pallas, 1776 Chiroptera: Molossidae) 2008. 74p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Celular, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2008.
- Munson, L.; Brown, J. L.; Bush, M. Packer, C.; Janssen, D.; Reiziss, S. M. & Wildt, D. E. Genetic diversity affects testicular morphology in free-ranging lions (*Panthera leo*) of Serengeti Plains and Ngorongoro Crater. *J. Reprod. Fertil.*, 108:11-15, 1996.
- Okwun, O. E.; Igboeli, G.; Ford, J. J.; Lunstra, D. D. & Johnson, L. Number and function of Sertoli cells, number and yield of spermatogonia, and daily sperm production in three breeds of boar. *J. Reprod. Fertil.*, 107:137-149, 1996.
- Paula, T. A. R. Análise histométrica e funcional dos testículos de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. 1999. 84 p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Celular, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1999.
- Paula, T. A. R.; Costa, D. S. & Matta, S. L. P. Avaliação histológica do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. *Biosci. J.*, 18(1):121-136, 2002.



- Putman, R. J. The natural history of deer. London: Christopher Helm, 191 p., 1988.
- Reis, N. R.; Peracchi, A. L.; Pedro, W. A. & Lima, I. P. (eds). Mamíferos do Brasil. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 427 p., 2006.
- Roosen-Runge, E. C. The process of spermatogenesis in animals. Cambridge: Academic Press, 123 p., 1977.
- Russell, D. L.; Ettlin, R. A.; Sinha Hikim, A. P. & Clegg, E. D. Mammalian spermatogenesis. In: Russell, D. L.; Ettlin, R. A.; Sinha Hikim, A. P.; Clegg, E. D., (eds). Histological and histopathological evaluation of the testis. Bolesta: Cache River Press, Cap. 1, p. 1-40, 1990.
- Russell, L. D.; Chandrashekar, V.; Bartke, A. & Sinha-Hikim, A. P. The hamsters Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. Int. J. Androl. 17(2): 93-106, 1994.
- Sarti, P. Avaliação Morfométrica do Testículo e da Espermatogênese de Jaguatiricas (*Leopardus pardalis* Linnaeus, 1758) Adultas. 2006. 66 p. Mestrado (Dissertação) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2006.
- Setchell, B. P. Male reproductive organs and semen. In: Cupps, P. T. (ed): Reproduction in domestic animals, 4 ed., San Diego: Academic, 6:221-250, 1991.
- Setchell, B. P. & Breed, W. G. Anatomy, vasculature, and innervation of the male reproductive tract. In: Knobil, E., Neill, J. (Eds.). The Physiology of Reproduction. Raven Press, New York, v.1, 3 ed, p. 999-1080, 2006.
- Vogliotti, A.; Cheffer, R. & Duarte, J. M. B. Área de moradia e uso de habitat de veados do gênero *Mazama* em área de Mata Atlântica no sul do estado de São Paulo. In: Livro de resumos, II Congresso Brasileiro de Mastozoologia. Sociedade Brasileira de Mastozoologia. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 221 p., 2003.

Wing, T. Y. & Christensen, A. K. Morphometric studies on rat seminiferous tubules.  
*Am. J. Anat.*, 165:13-25, 1982.

Woolley, P. The seminiferous tubules in dasyurid marsupials. *J. Reprod. Fert.*, 45:255-  
261, 1975.

## ARTIGO II

### **Quantificação histológica e organização dos elementos do compartimento intertubular do testículo de veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira* Fischer, 1814) adulto**

#### **Resumo**

No compartimento intertubular dos testículos são encontradas as células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e uma população celular conjuntiva variável constituída de fibroblastos, macrófagos e mastócitos. O arranjo e a proporção desses elementos variam entre as espécies. Essas diferenças estão relacionadas à quantidade de células de Leydig, tecido conjuntivo e à disposição dos vasos linfáticos e sanguíneos. O objetivo deste trabalho foi quantificar e avaliar histologicamente através de análises morfométricas a organização do compartimento intertubular de veados-catingueiros mantidos em cativeiro. No veado-catingueiro, 4,48% do parênquima testicular é ocupado por células de Leydig, 4,41% por tecido conjuntivo, 2,89 % por vasos linfáticos e 2,36% por vasos sanguíneos. As células de Leydig ocorrem em grupos de tamanhos variados não apresentando padrão de distribuição definido, podendo ser observadas ao redor dos vasos sanguíneos, próximas aos vasos linfáticos ou associadas à túnica própria dos túbulos seminíferos. O volume médio das células de Leydig em veado-catingueiro foi de  $677,52\mu\text{m}^3$  e o seu diâmetro nuclear médio foi de  $7,18\mu\text{m}$ . O volume nuclear médio da célula de Leydig foi de  $194,33\mu\text{m}^3$ . O núcleo da célula de Leydig correspondeu, em média, a 29,01% do volume total desta célula. O volume médio das células de Leydig em ambos os testículos foi de 2,90mL. O índice Leydigossomático foi de 0,0084% e o número total de células de Leydig por grama de testículo foi superior a 60 milhões. O intertúbulo de veado-catingueiro apresenta população celular semelhante ao descrito para mamíferos. O padrão de organização dos elementos do compartimento intertubular se enquadra no padrão tipo II descrito por Fawcett e apresenta variação quanto ao tecido conjuntivo que se apresenta pouco edemaciado. O número de células de Leydig por grama de testículo foi superior ao relatado para a maioria dos mamíferos já estudados.

**Palavras-chave:** Células de Leydig, intertúbulo, *Mazama gouazoubira*, veado-catingueiro.

## 1. Introdução

Os cervídeos são os ruminantes selvagens de distribuição mais ampla no mundo, sendo encontrados em quase todos os continentes, exceto na Antártida (Van Soest, 1994). O veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) é um cervídeo de pequeno porte, pesando em média 18 kg (Duarte, 2006). Apresenta ampla área de distribuição no Brasil, ocupando os mais variados ambientes como florestas, cerrados e caatinga (Reis et al., 2006). A diversidade de ambientes ocupados pode influir em aspectos de sua ecologia, como seleção de habitat, dieta, reprodução e no comportamento social dos indivíduos (Pinder & Leeuwenberg, 1997). Os cervídeos pertencentes ao gênero *Mazama* são solitários, sendo encontrados aos pares somente durante o período reprodutivo (Putman, 1988; Nowak, 1991; Eisenberg & Redford, 1999). As fêmeas apresentam estro pós-parto e os machos não apresentam variações significativas nos níveis de testosterona, diâmetro testicular e características do ejaculado ao longo do ano, fatores estes que sinalizam a ausência de sazonalidade reprodutiva na espécie (Nowak, 1991; Duarte & Garcia, 1997; Freneau & Duarte, 2001; Polegato & Duarte, 2003).

Embora seja uma espécie adaptável a diversos ambientes, suas populações vêm declinando devido à forte pressão de caça, fragmentação de seus habitats e doenças transmitidas pelos ungulados domésticos (Freneau & Duarte, 2001). Mesmo sendo animais facilmente encontrados em zoológicos e em criatórios conservacionistas, pouco se sabe sobre sua biologia e padrão reprodutivo (Pinder & Leewenberger, 1997). O veado-catingueiro está incluído nas listas de espécies ameaçadas do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul onde é classificado, respectivamente, como em perigo e vulnerável (Reis et al., 2006). Assim, devem ser iniciadas pesquisas com a finalidade de descrever os padrões reprodutivos básicos, particularmente os estudos referentes à histologia testicular. O entendimento desses aspectos reprodutivos pode contribuir de forma efetiva para o manejo das populações em vida livre e em cativeiro e conseqüentemente auxiliar na conservação da espécie.

Os testículos dos mamíferos estão divididos funcionalmente em dois compartimentos: o tubular ou espermatogênico e o intertubular ou androgênico. A proporção desses compartimentos varia consideravelmente entre as espécies, o que influencia diretamente na eficiência da produção espermática entre elas (França & Russell, 1998; Paula, 1999). No compartimento intertubular são encontrados as células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e uma população variável do tecido conjuntivo constituído de fibroblastos, macrófagos e mastócitos (Russell et al., 1990;

Setchell, 1991). As células de Leydig sintetizam testosterona que sustenta a espermatogênese, promove a diferenciação do trato genital masculino, mantém os caracteres sexuais secundários e a função das glândulas acessórias (O'Donnel et al., 2001). Esse hormônio é também responsável por modular padrões comportamentais tais como status social, agressividade, demarcação de território e desenvolvimento da libido (Hadley, 1988).

As variações no percentual volumétrico e no arranjo entre os componentes do intertúbulo nas diferentes espécies de mamíferos foram estudadas por Fawcett et al. (1973) e descritos em três padrões distintos. Estas diferenças estão relacionadas à quantidade de células de Leydig, tecido conjuntivo e à disposição dos vasos linfáticos. Apesar do pouco conhecimento a respeito das implicações fisiológicas destas variações, as mesmas provavelmente estão relacionadas com a habilidade dos vasos linfáticos de mover para fora dos testículos materiais vascularmente secretados e manter as concentrações adequadas de andrógenos nos testículos e nos vasos sanguíneos (Fawcett et al., 1973). Não foram encontrados na literatura consultada trabalhos que abordassem os padrões reprodutivos do veado-catingueiro, particularmente estudos referentes à quantificação e organização dos elementos do compartimento intertubular, o que estimulou o desenvolvimento deste trabalho. Diante disso, observamos o quanto são escassas as pesquisas com a finalidade de estabelecer parâmetros para a biologia reprodutiva dos cervídeos neotropicais. Reconhecer, portanto, os padrões reprodutivos desta espécie de cervídeo é de grande importância para a compreensão de sua biologia reprodutiva básica e conseqüentemente pode auxiliar na sua conservação. Além disso, pode gerar informações adicionais a trabalhos subseqüentes e servir como base de comparação em estudos com outras espécies de cervídeos neotropicais. O objetivo deste trabalho foi quantificar e avaliar histologicamente através de análises morfométricas a organização do compartimento intertubular de veados-catingueiros mantidos em cativeiro.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Animais**

Foram utilizados sete veados-catingueiros (*Mazama gouazoubira*) machos adultos, sendo três provenientes do criatório particular e conservacionista pertencente à Fazenda Engenho D'água em Ouro Preto (MG), três oriundos do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) em Jaboticabal (SP) e um mantido pela

Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte (MG), conforme autorização do IBAMA número 1946480.

## 2.2. Coleta e processamento do material biológico

Fragmentos testiculares foram coletados através de biópsia testicular incisional. Para realização desta, os animais foram contidos e mantidos sob anestesia dissociativa, pela associação de quetamina (10mg/kg) e xilazina (1mg/kg). Os animais foram pesados e ambos os testículos foram mensurados quanto à largura, espessura e comprimento, para o cálculo dos volumes através da fórmula:  $4/3\pi ABC$  (onde A corresponde a metade do comprimento, B metade da largura e C metade da espessura). Como a densidade volumétrica dos testículos de mamíferos é próxima a 1 (1,046) g/mL, seu peso em gramas foi considerado equivalente ao seu volume em mL (Johnson et al., 1981; Paula, 1999). A espessura da pele do escroto também foi mensurada e descontada das dimensões testiculares. Após a antissepsia local, a pele do escroto e a túnica fibrosa (túnica espermática) foram incisadas para expor a albugínea testicular. Um fragmento de 4 milímetros de diâmetro foi retirado da região média do testículo esquerdo com o auxílio de um bisturi circular, sendo imediatamente imerso em solução de Karnovsky (paraformaldeído 4% + glutaraldeído 4% em tampão fosfato 0,1M pH 7,4) para o procedimento de fixação. A albugínea testicular, a túnica fibrosa e a pele foram suturadas, separadamente, com ponto intradérmico contínuo com extremidades irreversíveis. Após 24 horas de fixação em Karnovsky os fragmentos foram imersos em álcool 70% até o processamento histológico. A albugínea foi mensurada quanto à espessura utilizando-se paquímetro digital “Caliper King Tools” (precisão de 10 $\mu$ m). Para o cálculo do volume do parênquima testicular (volume líquido do testículo) utilizou-se a fórmula do volume da elipse ( $4/3\pi ABC$ ) subtraindo-se das dimensões testiculares (comprimento, largura e espessura) a espessura da albugínea testicular. O volume da albugínea testicular foi obtido através da diferença entre o volume testicular e o volume testicular desprovido do valor da espessura da albugínea. Posteriormente, os valores referentes ao mediastino e volume da albugínea foram subtraídos do volume do testículo para obtenção do volume do parênquima testicular. O acesso ao mediastino não é possível em estudos que utilizam biópsia testicular. No entanto, tivemos acesso a dois testículos provenientes de animais que vieram a óbito no criatório conservacionista da Fazenda Engenho D’Água em Ouro Preto (MG) e foram cedidos para complementar esta pesquisa. Os mediastinos foram removidos e pesados, sendo o valor médio destes

descontados do volume testicular nos animais utilizados neste estudo. Após a fixação do fragmento coletado, foram feitas as preparações histológicas. Para o estudo ao microscópio de luz os fragmentos testiculares foram desidratados por imersão em concentrações crescentes de etanol (70%, 80%, 90%, 95% e 100%) permanecendo por um período de 30 minutos em cada solução. A seguir, os fragmentos foram imersos em solução de infiltração glicol metacrilato (Historesin<sup>®</sup> - Leica) por doze horas e em seguida, foram transferidos para uma solução de infiltração nova por mais duas horas. Posteriormente, os fragmentos foram incluídos por adição do endurecedor conforme a recomendação do fabricante. Os fragmentos incluídos, devidamente identificados, foram mantidos em sílica gel até ficarem completamente secos.

Utilizando-se micrótomo rotativo (Reichert-Jung, Alemanha) com navalha de vidro, foram feitos cortes histológicos semi-seriados de 3 $\mu$ m de espessura com intervalos de 40 $\mu$ m. As secções obtidas foram coradas com azul de toluidina-borato de sódio 1% e montadas com Entellan<sup>®</sup> - Merck. Imagens do parênquima testicular foram obtidas em fotomicroscópio Olympus AX-70 e analisadas com o auxílio do software de morfometria Image-Pro Plus<sup>®</sup>.

### **2.3. Análises morfométricas dos testículos**

#### **2.3.1. Proporção volumétrica (%) e volume dos elementos do intertúbulo**

Para a obtenção das proporções volumétricas (%) dos componentes intertubulares foram contados 1.000 pontos projetados sobre imagens capturadas da região do intertúbulo, nos diferentes cortes histológicos do testículo de cada animal. Foram computados os pontos coincidentes sobre núcleo e citoplasma de células de Leydig, tecido conjuntivo, vaso sanguíneo e vaso linfático. As células conjuntivas não foram individualizadas para contagem.

O percentual de cada elemento nos testículos foi obtido multiplicando-se a proporção volumétrica de intertúbulo pela proporção volumétrica do elemento/100. O volume que o elemento ocupa no parênquima testicular, expresso em mL, foi estimado através da multiplicação do percentual ocupado pelos mesmos nos testículos multiplicado pelo peso do parênquima de um testículo e dividido por 100.

### 2.3.2. Morfometria da célula de Leydig

Para obtenção do diâmetro nuclear da célula de Leydig foram utilizadas imagens capturadas. Cinquenta núcleos foram medidos para cada animal utilizando-se o software Image-Pro Plus<sup>®</sup>, escolhendo os núcleos que apresentavam o contorno mais circular, cromatina perinuclear e nucléolos evidentes. Foram calculados os volumes ( $\mu\text{m}^3$ ) nuclear e citoplasmático e em seguida o volume de uma célula de Leydig. Para obtenção do volume nuclear (VN) utilizou-se a fórmula  $VN = 4/3 \pi R^3$ , onde R = raio nuclear. O volume citoplasmático (VC) foi calculado a partir da fórmula  $VC = \% \text{ citoplasma} \times \text{volume nuclear} / \% \text{ núcleo}$ . O volume de uma célula de Leydig foi obtido somando-se o volume nuclear ao volume citoplasmático.

O volume que a célula de Leydig ocupa por testículo e por grama de testículo foi calculado de acordo com as fórmulas abaixo:

Volume que a célula de Leydig ocupa por testículo = proporção da célula de Leydig no testículo x peso do parênquima de um testículo / 100

Volume que a célula de Leydig ocupa por grama de testículo = volume que a célula de Leydig ocupa por testículo / peso bruto de um testículo

Para calcular o número total de células de Leydig por testículo e por grama de testículo foram utilizadas as seguintes fórmulas:

Número de células de Leydig por testículo = volume que as células de Leydig ocupam por testículo ( $\mu\text{m}^3$ ) / volume de uma célula de Leydig ( $\mu\text{m}^3$ )

Número de células de Leydig por grama de testículo = volume que a célula de Leydig ocupa por grama de testículo ( $\mu\text{m}^3$ ) / volume de uma célula de Leydig ( $\mu\text{m}^3$ )

O índice Leydigossomático (ILS) foi calculado através da seguinte fórmula:

$ILS = \text{volume que a célula de Leydig ocupa nos testículos} / \text{PC} \times 100$ , onde PC = peso corporal. Este parâmetro quantifica o investimento em células de Leydig em relação à massa corporal.

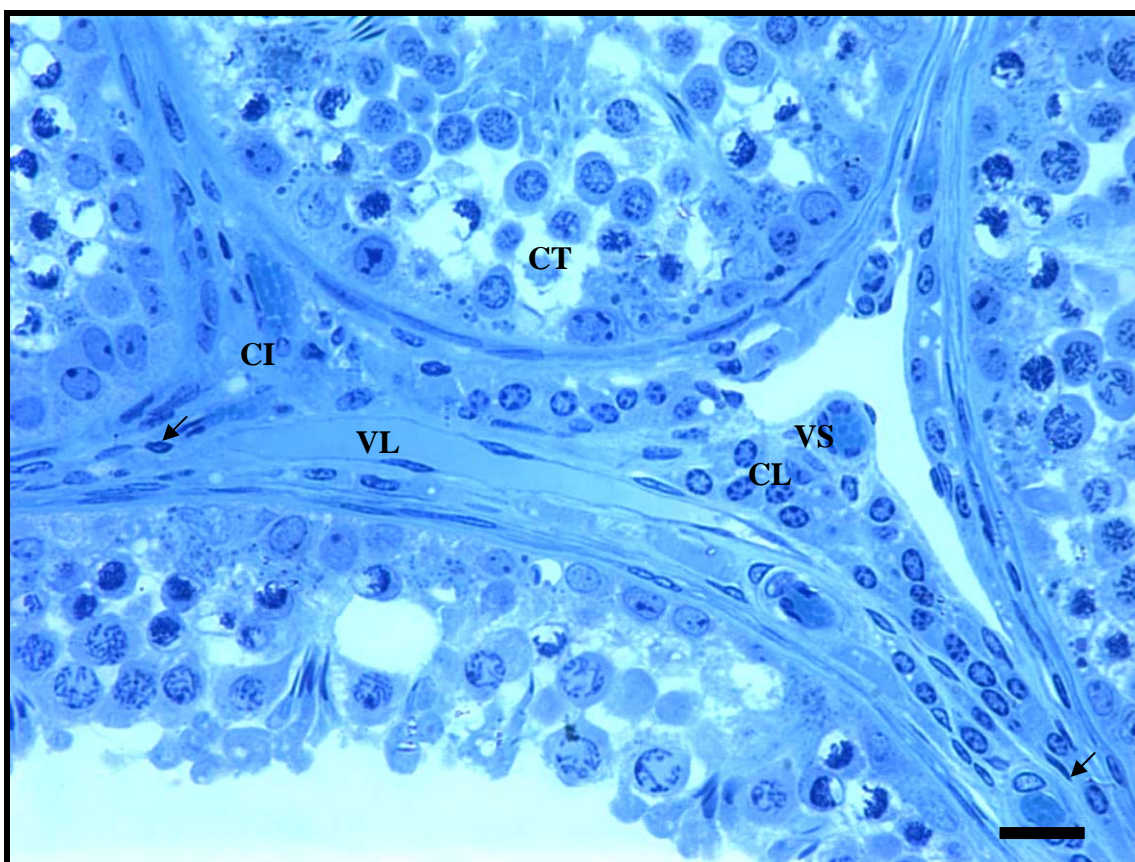
### 2.3.3. Análise estatística

Os dados foram analisados quanto à média, desvio padrão e o coeficiente de variação segundo a função estatística do programa Microsoft Office Excel<sup>®</sup> 2003.



#### 4. Resultados

O compartimento intertubular do veado-catingueiro é constituído de células de Leydig, células e fibras do tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e linfáticos (Figura 1). O padrão de organização dos elementos do compartimento intertubular se enquadra no padrão tipo II de Fawcett. Segundo este padrão, são observados no compartimento intertubular grupos de células de Leydig espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo edemaciado, o qual é drenado por um vaso linfático localizado centralmente ou excentricamente no espaço intertubular (Figura 1).



**Figura 1.** Secção histológica transversal do testículo de veado-catingueiro (*M. gouazoubira*). CT: compartimento tubular; CI: Compartimento intertubular; VS: Vaso sanguíneo; VL: Vaso linfático; CL: Células de Leydig; ➔: Tecido conjuntivo. Azul de Toluidina - Borato de Sódio. Barra: 30µm.

A variação observada foi quanto ao tecido conjuntivo que se apresentou pouco edemaciado. Em veado-catingueiro as células de Leydig são uninucleadas. Os núcleos são grandes, esféricos ou ovais, estão localizados excentricamente no citoplasma e apresentam vários nucléolos evidentes. No citoplasma são observadas raras gotículas

lipídicas sob microscopia de luz. Grânulos de heterocromatina formam uma camada intimamente associada ao envoltório nuclear. As células de Leydig ocorrem em grupos de tamanhos variados em um tecido conjuntivo frouxo pouco edemaciado. As células de Leydig não apresentam um padrão de distribuição definido, podendo ser observadas ao redor dos vasos sanguíneos, próximas aos vasos linfáticos ou associadas com a túnica própria dos túbulos seminíferos. Os vasos linfáticos apresentam um endotélio bem visível e geralmente estão localizados centralmente. O intertúbulo é bastante vascularizado mostrando vasos de pequeno e médio calibre.

O compartimento intertubular representa 14,14% do parênquima testicular, sendo que 4,48% são ocupados pelas células de Leydig (Tabela 1). A proporção volumétrica média de tecido conjuntivo do espaço intertubular foi de 4,41% do parênquima testicular (Tabela 1). Quanto à volumetria proporcional de vasos sanguíneos e linfáticos foi respectivamente, de 2,36% e 2,89% (Tabela 1).

**Tabela 1.** Proporção volumétrica dos elementos do espaço intertubular de veado-catingueiro (*M. gouazoubira*) adulto.

Animal	Núcleo de células de Leydig (%)	Citoplasma células de Leydig (%)	Total de células de Leydig (%)	Tecido Conjuntivo (%)	Vaso Sanguíneo (%)	Vaso linfático (%)
1	1,14	3,58	4,72	3,97	1,61	0,70
2	0,97	2,13	3,10	3,91	2,50	3,10
3	1,25	3,46	4,71	4,59	1,60	1,14
4	0,95	1,98	2,93	2,33	1,66	0,68
5	1,18	3,06	4,24	4,24	2,66	1,52
6	1,69	3,48	5,17	5,66	3,18	10,83
7	1,82	4,67	6,49	6,17	3,30	2,28
<b>Média</b>						
<b>± d.p.*</b>	1,29±0,34	3,19±0,92	4,48±1,22	4,41±1,26	2,36±0,74	2,89±3,61
<b>Cv**</b>	26,49	28,81	27,30	28,54	31,48	124,58

\*d.p. = desvio padrão \*\* Cv = coeficiente de variação

O volume médio da célula de Leydig foi de 677,52 $\mu\text{m}^3$  (Tabela 2). O diâmetro nuclear médio da célula de Leydig foi de 7,18  $\mu\text{m}$  (Tabela 2). O volume nuclear médio da célula de Leydig foi de 194,33  $\mu\text{m}^3$  (Tabela 2). O núcleo da célula de Leydig, em veados-catingueiros correspondeu, em média, a 29,01% do volume total da célula de Leydig (Tabela 2). O volume médio das células de Leydig em ambos os testículos foi de 2,90mL (Tabela 2). O índice Leydigossomático que representa o percentual de massa

corporal alocada em células de Leydig foi de 0,0084% (Tabela 2). O número total de células de Leydig nos testículos e por grama de testículo foram de  $2175 \times 10^6$  e  $62 \times 10^6$ , respectivamente (Tabela 2).

**Tabela 2.** Parâmetros biométricos e dados morfométricos referentes às células de Leydig de veado-catingueiro (*M. gouazoubira*) adulto. N=7

Parâmetro	Média $\pm$ d.p. *	CV**
Peso corporal (kg)	17,14 $\pm$ 1,01	5,88
Peso de ambos os testículos (g)	69,40 $\pm$ 17,96	25,88
Volume de ambos os parênquimas testiculares (mL)	64,88 $\pm$ 17,96	27,61
Proporção volumétrica de intertúbulo (%)	14,14 $\pm$ 5,7	40,1
Volume de intertúbulo (mL)	8,85 $\pm$ 3,3	36,9
Diâmetro nuclear ( $\mu\text{m}$ )	7,18 $\pm$ 0,23	3,22
Volume nuclear ( $\mu\text{m}^3$ )	194,33 $\pm$ 18,52	9,53
Proporção nuclear (% da célula)	29,01 $\pm$ 3,19	11,00
Volume celular ( $\mu\text{m}^3$ )	677,52 $\pm$ 109,85	16,2
Volume de células de Leydig nos testículos (mL)	2,90 $\pm$ 1,04	35,9
Número de células de Leydig por testículo ( $10^6$ )	2175 $\pm$ 806	37,0
Número de células de Leydig/grama de testículo ( $10^6$ )	62 $\pm$ 17	28,7
Índice Leydigossomático (%)	0,0084 $\pm$ 0,0028	33,2

\*d.p. = desvio padrão    \*\* Cv = coeficiente de variação

## 5. Discussão

O parênquima testicular consiste na parte funcional dos testículos e apresenta dois compartimentos: o tubular ou espermatogênico e o intertubular ou androgênico (Russell et al., 1990). Grandes variações são observadas entre as proporções destes compartimentos, sendo um dos principais fatores responsáveis pela diferença entre a eficiência da produção espermática nas diversas espécies (França & Russell, 1998). O compartimento intertubular é constituído de células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, células e fibras do tecido conjuntivo (Setchell, 1991). O intertúbulo de veado-catingueiro apresenta uma população celular compatível com o padrão descrito para maioria dos mamíferos, com predomínio das células de Leydig e tecido conjuntivo.

O compartimento intertubular de várias espécies foi estudado por Fawcett et al. (1973) e classificado de acordo com o arranjo dos elementos constituintes. Assim, são

descritos três padrões distintos. No primeiro padrão, observado em rato, camundongo, hamster, cobaio e chinchila observam-se poucas células de Leydig e escasso tecido conjuntivo contrastando com extensos sinusóides e espaços linfáticos que ocupam a maior parte do intertúbulo. No segundo padrão, encontrado em bovinos, ovinos e primatas observam-se grupos de células de Leydig espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo edemaciado, o qual é drenado por um vaso linfático localizado centralmente ou excentricamente no espaço intertubular. Em suínos e zebras ocorrem abundantes agrupamentos de células de Leydig que ocupam praticamente todo o compartimento intertubular, apresentando pouco tecido conjuntivo e vasos linfáticos, pertencendo ao terceiro padrão. O arranjo e a proporção dos elementos constituintes do compartimento intertubular de veados-catingueiros foi classificado como sendo do tipo II mostrando tecido conjuntivo frouxo, porém pouco edemaciado. Variação desse tipo foi também descrita por Fawcett et al. (1973) para touros e carneiros. Estes são passíveis de comparação com os veados-catingueiros por serem animais pertencentes à mesma ordem. Nos veados-catingueiros as células de Leydig não apresentaram gotículas lipídicas distintas no seu citoplasma. A ausência dessas gotículas também foi observada em touro, carneiro e javali (Fawcett et al., 1973). A existência de grânulos de heterocromatina formando uma camada intimamente associada ao envoltório nuclear das células de Leydig em veado-catingueiro é descrita como uma característica universal dessas células (Setchell, 1991).

A proporção volumétrica de tecido intertubular no testículo dos mamíferos domésticos varia de 10% no cão a 40% no camelo (França & Russell, 1998), mas pode ser maior em alguns animais silvestres como 50% em capivaras (Paula et al., 2002). O volume médio de intertúbulo em veado-catingueiro foi de 8,85mL representando 14,14% do parênquima testicular. Valores semelhantes foram encontrados em caprino (12,3%; Leal et al., 2004), javali (13,10%; Almeida et al., 2006), touro e carneiro (15%; Setchell, 1991), porcos e carneiros (15%; França & Russell, 1998), cateto (16,4%; Costa et al., 2004), porco piau (17,10%; França, 1991), javali (17,9%; Costa & Silva, 2006). Por outro lado, búfalos e bodes apresentaram valor levemente maior (20%; França & Russell, 1998).

Apesar de existir grande variação entre as diversas espécies quanto à proporção volumétrica dos diferentes componentes do compartimento intertubular (Fawcett et al., 1973; França & Russell, 1998; Godinho, 1999), a célula de Leydig é usualmente o tipo celular mais freqüente neste compartimento. Assim, o percentual ocupado pelas mesmas nos testículos de animais sexualmente maduros no período reprodutivo pode variar de

aproximadamente 1% (França & Russell, 1998) em carneiros até cerca de 35% em capivaras (Paula et al., 2002). Em veado-catingueiro, as células de Leydig foram o componente mais abundante juntamente com o tecido conjuntivo, representando em média 4,48% do parênquima testicular. Valor semelhante foi observado em touro (4,2%; França & Russell, 1998). Valor menor foi relatado para caprino (1,4%; Leal et al., 2004). Para os outros Artiodactyla são descritos valores maiores: javali (6,3% Almeida et al., 2006); cateto (10,50%; Costa et al., 2007a), queixada (15,8%; Costa et al., 2007b) e porco doméstico variando de 7 a 19% (França & Russell, 1998; França et al., 2005). Essa diferença pode ser decorrente do padrão do compartimento intertubular desses animais que é classificado como tipo III, no qual as células de Leydig ocupam praticamente todo o intertúbulo (Fawcett et al., 1973). Em veado-catingueiro, o tecido conjuntivo representa em média 4,41% do parênquima testicular, próximo ao relatado para javali (5,2%; Almeida et al., 2006). Valores maiores são descritos para caprino (8%; Leal et al., 2004) e suínos da raça piau (7%; França, 1991). Quanto à proporção volumétrica de vasos sanguíneos, o veado-catingueiro apresentou 2,36% do parênquima testicular. Valor semelhante foi descrito para caprino (2,2%; Leal et al., 2004) e valor menor foi descrito para javali (1,4%; Almeida et al., 2006). Quanto à volumetria de vasos linfáticos, observou-se no veado-catingueiro 2,89%. Caprinos apresentaram apenas 0,7% desse elemento no parênquima testicular (Leal et al., 2004) e javalis 0,2% (Almeida et al., 2006). Na maioria dos mamíferos estudados, o espaço linfático ocupa cerca de 3,5% do parênquima testicular (Russell e França, 1995). Costa et al. (2007a) e Costa et al. (2007b) agruparam células e fibras do tecido conjuntivo, nervos, vasos sanguíneos e vasos linfáticos considerando o conjunto como estroma, registrando 5,7% para cateto e 8,4% para queixada, respectivamente.

Estudos correlacionando a estrutura e funções das células de Leydig mostram que variações na secreção de testosterona resultam mais da capacidade individual que as células de Leydig possuem em secretar hormônio do que das diferenças do volume total das mesmas no testículo (Ewing, 1979). Esta capacidade está altamente correlacionada com a quantidade de retículo endoplasmático liso das células de Leydig (Zirkin et al., 1980). A forte correlação entre o volume individual das células de Leydig com o nível plasmático de testosterona foi observada em capivaras adultas (Costa & Paula, 2006). Adicionalmente, Castro et al. (2002) descrevem que, em coelhos, há uma correlação altamente significativa do percentual volumétrico do núcleo e do número de células de Leydig por grama de testículo, com os níveis plasmáticos e testiculares de testosterona. O volume médio da célula de Leydig de veado-catingueiro adulto foi de  $677,52\mu\text{m}^3$ ,

apresentando-se mais próximo ao valor relatado para caprino ( $775\mu\text{m}^3$ ; Leal et al., 2004). Valores superiores foram relatados para cateto ( $1202,74\mu\text{m}^3$ ; Costa et al., 2007a) e demais espécies pertencentes à mesma ordem como camelo ( $1615\mu\text{m}^3$ ), touro ( $1739\mu\text{m}^3$ ) e porcos ( $2178\mu\text{m}^3$ ) (França & Russell, 1998) e porco doméstico no qual variou de 1100 a  $2200\mu\text{m}^3$  (França et al., 2005). Valores menores foram observados em javali ( $399\mu\text{m}^3$ ; Almeida et al., 2006) e carneiro ( $400\mu\text{m}^3$ ; Lunstra & Schanbacher, 1988; França & Russell, 1998). O diâmetro e o volume nuclear médio das células de Leydig do veado-catingueiro foram de  $7,18\mu\text{m}$  e  $194,33\mu\text{m}^3$ , respectivamente, mostrando-se semelhantes aos valores encontrados para caprino ( $6,9\mu\text{m}$  e  $169\mu\text{m}^3$ ; Leal et al., 2004). Valores inferiores foram encontrados em javali ( $6,0\mu\text{m}$  e  $116\mu\text{m}^3$ ; Almeida et al., 2006) e cateto ( $6,52\mu\text{m}$  e  $146,47\mu\text{m}^3$ ; Costa et al., 2007a). No veado-catingueiro, o núcleo da célula de Leydig corresponde a 29,01% do volume total da célula, valor superior ao encontrado para cateto (12,3%; Costa et al., 2007a) e demais espécies de mamíferos estudados (10 a 19%; França & Russell, 1998), porém inferior ao registrado para jaguatirica (35,11%; Sarti, 2006). O volume que as células de Leydig ocupa em ambos os testículos foi de 2,90mL. Este parâmetro é semelhante ao relatado para catetos (2,02mL; Costa et al., 2007a).

A quantidade de célula de Leydig parece ser bastante variada entre indivíduos e entre espécies de mamíferos, não sendo esta variação encontrada para outras glândulas endócrinas (Fawcett et al., 1973; Paula, 1999). O índice Leydigossomático (ILS) corresponde ao percentual de massa corporal alocada em célula de Leydig. Como a quantificação da célula de Leydig através da histometria não considera a massa corporal, o ILS é um importante parâmetro por permitir as comparações entre indivíduos de tamanhos corporais distintos. Em veado-catingueiro este índice foi em média de 0,0084%, com uma amplitude de 0,0039% a 0,0125%, reforçando a necessidade individual no requerimento dessas células. Valores maiores de ILS foram relatados para cateto e javali (0,02%; Costa et al., 2007a; Almeida et al., 2006).

A quantidade de célula de Leydig observada por animal pode ser influenciada por uma série de fatores, tais como: a quantidade de hormônio luteinizante (LH) disponível, o número de receptores de LH por célula; a quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar em um período de tempo; a velocidade pela qual a testosterona deixa os testículos via vasos linfáticos, vasos sanguíneos e fluido seminal, o volume sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (Russell et al., 1994; Russell, 1996). O número de células de Leydig por testículo foi de  $2175,88 \times 10^6$ , sendo superior ao valor encontrado em cateto ( $1717,65 \times 10^6$ ; Costa et al., 2007a). Por

outro lado, o número de células de Leydig por grama de testículo foi de  $62,38 \times 10^6$ , apresentando-se inferior ao relatado para cateto ( $92,12 \times 10^6$ ; Costa et al., 2007a), mas muito semelhante ao valor descrito para alguns porcos domésticos ( $60 \times 10^6$ ; França et al., 2005). Em caprino o número de células de Leydig por testículo ( $1720 \times 10^6$ ) e por grama de testículo ( $18,6 \times 10^6$ ) foi muito inferior ao valor relatado para o veado-catingueiro. A maioria dos mamíferos apresenta entre 20 e 40 milhões de célula de Leydig por grama de testículo (Russell, 1996; França & Russell, 1998). O número médio de células de Leydig por grama de testículo encontrado em veado-catingueiro apresentou-se muito superior ao relatado para a maioria dos mamíferos, ultrapassando os 60 milhões. Segundo Fawcett et al. (1973), a maior quantidade de células de Leydig pode estar relacionada com a síntese de outros tipos de esteróides que não testosterona e feromônios, ou ainda, substâncias com outras funções não definidas e que seriam importantes para as funções reprodutivas. O grande número de células de Leydig encontrados nesta espécie pode estar relacionado ao seu baixo volume individual. Assim, o aumento da quantidade de células de Leydig seria uma forma de compensar seu menor volume celular a fim de manter a produção adequada de testosterona.

## **6. Conclusões**

O intertúbulo apresenta população celular semelhante ao descrito para mamíferos. A proporção volumétrica de tecido intertubular foi semelhante aos valores relatados para a maioria dos membros da ordem Artiodactyla, estando dentro da amplitude descrita para os animais domésticos. O padrão de organização dos elementos do compartimento intertubular se enquadra no padrão tipo II descrito por Fawcett, mostrando tecido conjuntivo frouxo pouco edemaciado. Os componentes mais abundantes do compartimento intertubular foram as células de Leydig e o tecido conjuntivo. O volume médio da célula de Leydig apresenta um dos menores valores relatados para mamíferos até agora estudados e o percentual ocupado pelo núcleo desta célula, em relação ao seu volume total, foi superior ao descrito para a maioria das espécies domésticas e silvestres. O número de células de Leydig por grama de testículo foi maior que o encontrado na maioria dos mamíferos já estudados.

## **Agradecimentos**

Ao Instituto Estadual de Florestas (IEF) pela concessão da bolsa de estudo. À Fazenda Engenho D'Água e ao Ambiente Brasil Centro de Estudos por todo apoio ao longo do projeto.



## 7. Referências Bibliográficas

- Almeida, F. F. L., Leal, M. C. & França, L. R. Testis morphometry, duration of spermatogenesis, and spermatogenic efficiency in the Wild boar (*Sus scrofa scrofa*). Biol. Reprod. 75:792-799, 2006.
- Asher, G. W.; Monfort, S. L. & Wemmer, C. Comparative reproductive function in cervids: implications for management of farm and zoo populations. J. Reprod. Fertil., 54 (Suppl.), 143-156, 1999.
- Black-Décima, P. Home range, social structure, and scent marking behavior in Brown Brocket Deer (*Mazama gouazoubira*) in a large enclosure. Mastozoología Neotropical-J. Neotrop. Mammal., 7(1):5-14, 2000.
- Castro, A.C.S., Berndtson, W.E., Cardoso, F.M. Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits. Braz. J. Med. Biol. Res., 35:493-498, 2002.
- Costa, D. S. & Henry, M.; Paula, T. A. R. Espermatogênese de catetos (*Tayassu tajacu*). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 56:46-51, 2004.
- Costa, D. S. & Silva, J. F. S. Wild boars (*Sus scrofa scrofa*) seminiferous tubules morphometry. Braz. Arch. Biol. Technol., 49(5):739-745, 2006.
- Costa, D. S. & Paula, T. A. R. Testosterone level, nasal gland volume and Leydig cell morphometry in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 58(6):1086-1091, 2006.
- Costa, D. S. & Silveira, L. S. Morphometry of Leydig cells in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., 44(5):384-389, 2007a.
- Costa, D. S.; Menezes, C. M. C & Paula, T. A. R. Spermatogenesis in White-lipped peccaries (*Tayassu pecari*). Anim. Reprod. Sci., 98:322-334, 2007b.

- Dellafiore, C. M. & Macieira, N. (Eds.). Los ciervos autóctonos de la Argentina. Buenos Aires: GAC, p. 27-34, 2001.
- Duarte, J. M. B. & Garcia, J. M. Tecnologia da reprodução para propagação e conservação de espécies ameaçadas de extinção. In: Duarte, J. M. B. (Ed.). *Biologia e Conservação de cervídeos sul-americanos: Blastocerus, Ozotoceros e Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, Cap. 15, p. 228-238, 1997.
- Duarte, J. M. B. & Merino, M. L. Taxonomia e evolução. In: Duarte, J. M. B. (Ed.). *Biologia e Conservação de cervídeos sul-americanos: Blastocerus, Ozotoceros e Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, Cap. 1, p. 1-21, 1997.
- Duarte, J. M. B. Artiodactyla-Cervidae (veado-catingueiro, Veado-campeiro, Cervo-do-pantanal) In: Cubas, Z. S. C.; Silva, J. C. R.; Catão-Dias, J. L. *Tratado de animais selvagens: Medicina veterinária*. São Paulo: Roca, Cap. 38, p. 641-662, 2006.
- Eisenberg, J.F. & Redford, K. H. *Mammals of the neotropics*. Chicago: The University of Chicago Press, v. 3, 609 p., 1999.
- Ewing, L. L., Zirkin B. R., Cochran, R. C., Kromann, N., Peters, C. & Ruiz-Bravo, N. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell mass. *Endocrinology*, 105:1135-1142, 1979.
- Fawcett, D. W.; Neaves, W. B. & Flores, M. N. Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biol. Reprod.*, 9:500-532, 1973.
- França, L. R. Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça piau. 1991. 185 p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Celular, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1991.
- França, L. R. & Russell, L. D. The testis of domestic animals. In: Regadera, J. & Martinez-Garcia (eds). *Male reproduction: A multidisciplinary overview*. Madrid: Churchill Livingstone, p. 197-219, 1998.

- França, L. R., Avelar, G. F. & Almeida, F. F. L. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology* 63:300-318, 2005.
- Freneau, G. E. & Duarte, J. M. B. Biometria testicular e características seminais de veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) mantidos em cativeiro em Porto Nacional-TO. *Ars. Vet.*, 17 (1):1-5, 2001.
- Godinho, C. L. Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*), sexualmente maduros. 1999. 74 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Celular, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1999.
- Hadley, M. E. *Endocrinology*. 2 ed. New Jersey: Prentice Hall, 549 p., 1988.
- Johnson, L.; Petty, C. S. & Neves, W. B. A new approach to qualification of spermatogenesis and its applications to germinal cell attrition during human spermatogenesis. *Biol. Reprod.*, 25:217-226, 1981.
- Leal, M. C.; Becker-Silva, S. C.; Chiarini-Garcia, H. & França, L. R. Sertoli cell efficiency and daily sperm production in goats (*Capra hircus*). *Anim. Reprod.*, 1(1):122-128, 2004.
- Lincoln, G. A. Seasonal breeding in deer. In: Fennessy, P. F & Drew, K. R (eds). *The biology of deer production*. Bulletin n.22, Royal Society of New Zealand, Wellington, p. 165-179, 1985.
- Lunstra, D. D. & Schanbacher, B. D. Testicular function and Leydig cell ultrastructure in long-term bilateral cryptorchid rams. *Biol. Reprod.*, 38:211-220, 1988.
- Nowak, K. *Walker's Mammal of the World*, vol. VI. The Hopkins University Press, 1101 p., 1991.
- O'Donnel, L.; Robertson, K. M.; Jones, M. E. & Simpson, E. R. Estrogen and spermatogenesis. *Endocrinol. Rev.*, 22:289-318, 2001.

- Paula, T. A. R. Análise histométrica e funcional dos testículos de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. 1999. 84 p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Celular, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1999.
- Paula, T. A. R.; Costa, D. S. & Matta, S. L. P. Avaliação histológica quantitativa do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. *Biosci. J.*, 18(1):121-136, 2002.
- Pinder, L. & Leeuwenberg. Veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira* (Fischer 1814)). In: Duarte, J. M. Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos: *Blastoceros*, *Ozotoceros* e *Mazama*, São Paulo: FUNEP, p. 60-68, 1997.
- Polegato, B. F. & Duarte, J. M. B. Período de gestação e cio pós-parto em veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*). In: Livro de resumos, II Congresso Brasileiro de Mastozoologia. Sociedade Brasileira de Mastozoologia. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 221 p., 2003.
- Putman, R. J. The natural history of deer. London: Christopher Helm, 191 p., 1988.
- Reis, N. R.; Peracchi, A. L.; Pedro, W. A. & Lima, I. P. (eds). Mamíferos do Brasil. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 427 p., 2006.
- Russell, D. L.; Ettlin, R. A.; Sinha Hikim, A. P. & Clegg, E. D. Mammalian spermatogenesis. In: Russell, D. L.; Ettlin, R. A.; Sinha Hikim, A. P. & Clegg, E. D., (eds). Histological and histopathological evaluation of the testis. Bolesta: Cache River Press, Cap. 1, p. 1-40, 1990.
- Russell, L. D., Chandrashekar, V., Bartke, A. & Sinha-Hikim, A. P. The hamsters Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. *Int. J. Androl.*, 17(2): 93-106, 1994.
- Russell, L. D. & França, L. R. Building a testis. *Tiss. Cell.*, Siena, 27(2):129-147, 1995.

- Russell, L. D. Mammalian Leydig cell structure. In: Payne, A. H., Hardy, M. P. & Russell, L. D. (eds) The Leydig cell. Vienna: Cache River Press, Cap. 10, p. 218-222, 1996.
- Sarti, P. Avaliação Morfométrica do Testículo e da Espermatogênese de Jaguatiricas (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) Adultas. 2006. 66 p. Mestrado (Dissertação) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2006.
- Setchell, B. P. Male reproductive organs and semen. In: Cupps, P. T. (ed): Reproduction in domestic animals. (4 ed) San Diego: Academic, 6:221-250, 1991.
- Van Soest, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. New York: Cornell University, 2 ed., 476 p., 1994.
- Zirkin, B. R.; Ewing, L. L.; Kromann, N. & Cochran, R. C. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro: Correlation with Leydig cell ultrastructure. *Endocrinology*, 107:1867-1874, 1980.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

- A organização do parênquima testicular de veados-catingueiros adultos é semelhante ao padrão descrito para a maioria dos mamíferos.
- O veado-catingueiro apresentou um alto percentual de massa corporal alocada em testículo e túbulos seminíferos, enquadrando-se entre os maiores valores descritos para a maioria dos animais domésticos e silvestres estudados.
- A albugínea e o mediastino testiculares apresentaram-se entre os menores percentuais descritos para os animais domésticos e silvestres.
- A proporção volumétrica dos túbulos seminíferos foi semelhante ao observado para algumas espécies pertencentes à ordem Artiodactyla.
- O diâmetro tubular e espessura do epitélio seminífero foram próximos aos valores descritos para a maioria dos animais pertencentes à mesma ordem, estando dentro da amplitude observada para as demais espécies de mamíferos.
- O comprimento tubular por grama de testículo apresentou-se acima dos valores descritos para a maioria dos animais domésticos.
- O intertúbulo de veado-catingueiro apresenta população celular compatível ao descrito para mamíferos.
- O arranjo e a proporção dos elementos constituintes do compartimento intertubular de veado-catingueiro foi classificado como sendo do tipo II descrito por Fawcett, mostrando tecido conjuntivo frouxo pouco edemaciado.
- A proporção volumétrica do tecido intertubular no parênquima testicular foi semelhante aos valores relatados para a maioria dos membros da ordem Artiodactyla, estando dentro da amplitude descrita para os animais domésticos.
- As células de Leydig juntamente com o tecido conjuntivo foram os elementos mais abundantes do compartimento intertubular.
- O percentual ocupado pelas células de Leydig no parênquima testicular foi semelhante ao encontrado em touros.
- O percentual de tecido conjuntivo no parênquima testicular foi mais próximo ao relatado para javalis.
- O percentual de vasos sanguíneos foi superior ao relatado para a maioria dos membros da ordem Artiodactyla.
- O percentual ocupado por vasos linfáticos no compartimento intertubular foi superior ao observado para javali e caprino.

- O volume médio da célula de Leydig de veado-catingueiro, representa um dos menores valores relatados para a maioria dos mamíferos.
- O diâmetro e o volume nuclear médio das células de Leydig foram semelhantes aos valores relatados para caprinos.
- O percentual ocupado pelo núcleo da célula de Leydig em relação ao volume desta célula foi superior ao descrito para a maioria das espécies domésticas e silvestres.
- O volume médio das células de Leydig em ambos os testículos foi muito próximo ao relatado para catetos.
- O índice leydigossomático (ILS) de veados-catingueiros foi muito inferior aos valores relatados para cateto e javali.
- O número de células de Leydig por grama de testículo foi semelhante ao observado para alguns porcos domésticos, sendo superior ao relatado para a maioria dos mamíferos estudados.
- Levando-se em consideração a escassez de dados referentes à biologia reprodutiva de veado-catingueiro tornam-se necessários estudos adicionais relativos ao ciclo reprodutivo da espécie.