

Influência da estação do ano sobre a estrutura testicular em ovinos explorados no sul do Estado do Piauí¹

Juanna D.F. Santos², Raffael O. Eufrazio², George F.M. Pinheiro², Flávio R. Alves³, Maria A.M. Carvalho³ e Antonio A.N. Machado Júnior^{4*}

ABSTRACT- Santos J.D.F., Eufrazio R.O., Pinheiro G.F.M., Alves F.R., Carvalho M.A.M. & Machado Júnior A.A.N. 2015. [**Influence of the year's season on the testicular structure in sheep bred in southern Piauí, Brazil.**] Influência da estação do ano do ano sobre a estrutura testicular em ovinos criados no sul do Estado do Piauí. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 35(11):933-939. Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Rodovia Municipal Bom Jesus-Viana Km 1, Planalto Horizonte, Bom Jesus, PI 64900-000, Brazil. E-mail: machadojunior@gmail.com

To evaluate influence of the year season related with the testicular structure of cross bred sheep, the testes of ten 2 to 3-year-old sheep were sectioned and fixed in for 24 hours in bouin's solution. The fragments were subjected to histological processing, embedded in paraffin and stained with hematoxylin-eosin. The volumetric proportion of testicular compartments, the seminiferous tubules, seminiferous epithelial height and frequency of the seminiferous epithelium stages of the cycle were evaluated. Data were subjected to analysis of variance at 5% probability. The results showed that all values studied were influenced by year's season. The tubular diameter was 143.98 ± 17.83 and $170.37 \pm 26.64 \mu\text{m}$, the seminiferous epithelium height was 44.92 ± 9.23 and $50.06 \pm 13.61 \mu\text{m}$, and the testicle parenchyma volume density was 78.32 ± 16.68 and $80.13 \pm 15.14\%$ in the dry and rainy periods, respectively. The germ cells and Sertoli cells quantification showed that all values were higher in the rainy season compared with the dry season. It can be concluded that the year season interfered in the testicular structure, given that all values showed significant differences between the seasons, as the values were more pronounced during the rainy season.

INDEX TERMS: Spermatogenesis, testis, small ruminants, sheep.

RESUMO.- Objetivou-se avaliar a influência da estação do ano sobre a estrutura testicular de ovinos SRD. Foram utilizados 10 animais com idade entre dois e três anos. Os testículos foram seccionados e fixados em solução de Bouin por 24h. Os fragmentos foram submetidos ao processamento histológico, emblocados em parafina e corados com hematoxilina eosina. Foram avaliadas a proporção volumétrica dos compartimentos testiculares, o diâmetro dos túbulos seminíferos, altura do epitélio seminífero e frequências

dos estágios do ciclo do epitélio seminíferos. Os dados foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade, do programa estatístico SAS 9.0. Os resultados revelaram todos os valores pesquisados sofreram influência da estação do ano. O valor do diâmetro tubular foi de $143,98 \pm 17,83$ e $170,37 \pm 26,64 \mu\text{m}$, a altura do epitélio seminífero foi de $44,92 \pm 9,23$ e $50,06 \pm 13,61 \mu\text{m}$ e a proporção volumétrica foi de $78,32 \pm 13,68$ e $80,13 \pm 15,14\%$ nos períodos seco e chuvoso, respectivamente. A quantificação das células germinativas e de Sertoli mostrou todos os valores foram maiores no período chuvoso quando comparados com o seco. Concluiu-se que a estação do ano interferiu na estrutura testicular, tendo em vista que todos os valores da proporção volumétrica dos componentes testiculares mostraram diferença significativa entre as estações do ano, pois os valores foram mais acentuados no período chuvoso.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Espermatogênese, testículo, pequenos ruminantes, ovinos.

¹ Recebido em 5 de maio de 2015.

Aceito para publicação em 1 de outubro de 2015.

² Universidade Federal do Piauí (UFPI), Rodovia Municipal Bom Jesus-Viana Km 1, Planalto Horizonte, Bom Jesus, PI 64900-000, Brasil.

³ Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Campus da Socopo, UFPI, Teresina, PI 65000-000, Brasil.

⁴ Curso de Medicina Veterinária, UFPI, Rodovia Municipal Bom Jesus - Viana Km 1, Planalto Horizonte, Bom Jesus, PI 64900-000. *Autor para correspondência: machadojunior@ufpi.edu.br

INTRODUÇÃO

A atividade reprodutiva do macho ovino pode ser influenciada por fatores climáticos e nutricionais. Segundo Maia et al. (2011) a temperatura ambiente e umidade do ar afetam a capacidade reprodutiva dos ovinos. O aumento da temperatura corporal pode levar a um aumento da temperatura testicular causando degeneração do parênquima testicular e reduzindo a porcentagem de espermatozoides viáveis no ejaculado (Jainudeen & Hafez 2004).

Silva & Nunes (1987) descreveram que em ovinos das Raças Santa Inês e Somalis brasileira, criados no semi-árido brasileiro, a atividade sexual sofreu influência estacional, apresentando maior produção espermática no período chuvoso em comparação ao período seco, e em relação ao volume do ejaculado houve uma diminuição no período chuvoso e, consequentemente, a concentração espermática foi maior que no período seco.

A espermatogênese é um processo sincrônico no qual células diploides, espermatogônias, passam por várias divisões celulares até formarem células haploides especializadas, os espermatozoides. O estudo quantitativo das células que compõem o epitélio seminífero é importante para o entendimento do processo espermatogênico e determinação do rendimento geral da espermatogênese, pois permite um conhecimento mais completo desse processo e de como a estrutura testicular se comporta frente a diferentes condições (França & Russell 1998).

Em caprinos já foram realizados alguns estudos para avaliar a estrutura testicular e a espermatogênese (França et al. 1999, Leal et al. 2004, Machado Júnior et al. 2011, Machado Júnior et al. 2012), no entanto em ovinos são escassas as pesquisas abordando esse foco. Estudos envolvendo a estrutura do testículo e espermatogênese em ovinos descreveram que os animais submetidos a altos níveis de proteína na dieta apresentaram uma espermatogênese influenciada positivamente (Carrijo Júnior 2008). Martins et al. (2008) descreveram o testículo de ovinos possuindo 71,4% de túbulos seminíferos no parênquima testicular, volume dos túbulos seminíferos de 78,4mL, diâmetro tubular de 164,2µm e comprimento dos túbulos seminíferos de 3.671,3 metros, sendo que a obtenção desses valores ocorreu sem correlacionar essas informações com a estação do ano. McManus et al. (2010) avaliaram testículos de ovinos Santa Inês nascidos em diferentes estações do ano e verificaram efeito significativo da estação do ano sobre as características histológicas testiculares, tais como contagem celular, diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero.

Os fatores ambientais, tais como temperatura e umidade, dependendo da intensidade, podem influenciar a estrutura testicular dos animais (Kastelic et al. 1996, Strapa et al. 2004, Machado Júnior et al. 2009), no entanto não se sabe quais estruturas poderiam ser mais afetadas e nem a magnitude dessas alterações. Cabe ressaltar que em trabalhos realizados sob influência direta do ambiente, torna-se difícil identificar e mensurar quais são os efeitos específicos da temperatura ou da umidade sobre a estrutura testicular. Essas respostas poderiam ser conseguidas em câmaras climáticas, nas quais seria possível controlar a temperatura

e umidade, de formas independentes, sabendo-se assim, quais os efeitos específicos de cada fator ambiental.

Assim, com intuito de gerar informações sobre a ação da estação do ano sobre a estrutura testicular, tomando-se como hipótese que este período exerce influência sobre o testículo, foi realizada esta pesquisa que objetivou quantificar as alterações testiculares, em ovinos sem padrão racial definido, nos períodos seco e chuvoso do ano na região sul do Estado do Piauí.

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais utilizados nesse trabalho foram adquiridos em diferentes propriedades do município de Bom Jesus, localizado na região Sul do Estado do Piauí, Brasil que apresenta latitude 08°44'31" sul e longitude 43°86'47" oeste e foram conduzidos para um aprisco na UFPI/CPCE, onde permaneceram durante o experimento. O critério de inclusão dos animais consistiu da avaliação da higidez geral do animal, com especial atenção ao conjunto escroto e testículo, bem como da forma de criação dos animais nas propriedades. Todos os animais, nas propriedades de origem, estavam submetidos à forma extensiva de criação e apresentavam entre dois e três anos de idade e passaram a ser criados de forma intensiva, recebendo alimentação à base de capim-elefante (*Penisetum purpureum*), suplementados com ração comercial para ovinos, tendo ainda sal mineral e água *ad libitum*.

Os dados climáticos de temperatura ambiente utilizados nesse trabalho foram obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) durante o período do experimento. Este trabalho foi executado no período seco (outubro a novembro de 2012) e no período chuvoso (fevereiro a março de 2013).

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí-CEEA/UFPI no. 066/2011.

Foram utilizados 10 animais sendo cinco no período seco e cinco no período chuvoso, totalizando 20 testículos de ovinos sem raça definida (SRD).

Os animais foram pesados e, em seguida insensibilizados por método percussivo não penetrante conforme recomendações da legislação vigente (Brasil 2009). Posteriormente, foram abatidos pelo método de exanguinação. Após o abate, os testículos foram removidos e pesados em balança eletrônica, para obtenção do Índice Gonadossomático (IGS) que corresponde ao peso do testículo/peso corporal. Para fins de determinação do volume testicular, foi admitido o volume testicular igual ao peso do testículo, pois a densidade testicular é semelhante à densidade da água segundo informações de França (1991).

Posteriormente, os testículos foram seccionados e, fragmentos foram fixados em solução de Bouin em temperatura de 8°C pelo período de 24 horas.

O processamento dos fragmentos para microscopia de luz foi feito com base no protocolo: Desidratação em soluções crescentes de álcool (70°, 80°, 90°, 100°I e 100°II) pelo tempo de uma hora em cada concentração. Posteriormente, os fragmentos foram imersos em duas soluções de Xilol por um período de 30 minutos, seguido por dois banhos em parafina a 60°C por 30 minutos e, posterior inclusão em blocos de parafina. Em seguida, foram realizadas secções com auxílio de micrótomo com espessura de 4µm, que posteriormente foram coradas com Hematoxilina-Eosina e analisadas em microscópio de luz com auxílio de ocular micro-métrica de 10x.

A estimativa da proporção volumétrica dos compartimentos testiculares foi obtida utilizando-se um retículo com 441 intersecções em aumento de 400x (Elias et al. 1971). Assim, foram

analisados 20 campos sequenciados por lâmina, totalizando 8820 pontos, tendo sido analisados os constituintes do compartimento tubular: Lâmina própria, epitélio seminífero e lúmen e os constituintes do compartimento intersticial: células de Leydig, vasos sanguíneos e tecido conjuntivo.

As frequências relativas de cada estágio do CES dos ovinos foram estimadas através da observação de 500 secções transversais de túbulos seminíferos em cada animal em aumento de 400x, utilizando-se a fórmula:

$$\text{Frequência} = \frac{\text{Estágio observado} \times 100}{500 \text{ seções observadas}}$$

Para evitar a catalogação de secções pertencentes a um mesmo segmento de túbulo seminífero foi adotado uma distância mínima de 500µm entre duas secções avaliadas (França 1991).

O diâmetro dos túbulos seminíferos foi registrado por meio da análise de 30 secções transversais de túbulos seminíferos, com contorno o mais circular possível, em aumento de 400 x, por lâmina.

Para obtenção da altura do epitélio seminífero foram analisadas 30 secções transversais de túbulos seminíferos, com contorno o mais circular possível, em aumento de 400x, por lâmina.

A quantificação dos diferentes tipos celulares foi obtida por meio da avaliação de 20 secções transversais de túbulos seminíferos, com perfil o mais arredondado possível, no estágio 1 do CES e em aumento de 400x. Todas as células da linhagem espermatogênica contadas foram corrigidas pelo diâmetro nuclear ou nucleolar e a espessura do corte histológico, segundo cálculo de Abercrombie (1946), modificada por Amann & Almquist (1962):

$$\text{Número corrigido} = \text{contagem obtida} \times \frac{\text{Espessura do corte}}{\text{Espessura do corte} \pm \sqrt{\frac{(\text{DM})^2 - (\text{DM})^2}{4}}}$$

A determinação do diâmetro médio do núcleo ou nucléolo (DM) foi obtida por meio da média de 10 núcleos ou nucléolos de células germinativas por animal, mensurados com a ocular micrométrica em aumento de 1000x. A quantificação das células de Sertoli por secção foi obtida empregando a metodologia mencionada anteriormente.

A estimativa para o número total de células de Sertoli (NTCS) por testículo foi feita de acordo com a fórmula descrita por Hoche-reau-de-Reviere & Lincoln (1978):

$$\text{NTCS} = \frac{(\text{CTTS} \times \text{n}^\circ \text{ corrigido de CS por secção transversal})}{\text{espessura histológica}}$$

O comprimento total dos túbulos seminíferos (CTTS) por testículo, em metros, foi determinado com base no volume ocupado pelos túbulos seminíferos no testículo e no diâmetro tubular médio obtido para cada animal utilizando a seguinte fórmula (Attal & Courot 1963, Dorst & Sajonski 1974):

$$\text{CTTS} = \frac{\text{Volume total dos túbulos seminíferos}}{\pi R^2}$$

onde, πR^2 é a área da secção transversal dos túbulos seminíferos e R é diâmetro tubular dividido por 2.

O número de células de Sertoli por grama de testículo foi determinado por meio da divisão entre o valor encontrado pelo peso dos testículos.

Os dados obtidos tanto no período seco quanto no chuvoso foram submetidos à análise de variância (PROC GLM) para um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com dois tratamentos (período seco e período chuvoso) e cinco repetições. As médias foram comparadas através do teste exato de Fisher a um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

O Quadro 1 mostra a média da temperatura ambiente e da umidade relativa referente ao período de coleta de dados. Pode-se perceber que a temperatura máxima e a média expressaram diferença estatística entre as estações do ano sendo que no período seco o valor máximo foi de 34,75°C e no período chuvoso foi de 33,18°C. A umidade relativa no período seco foi de 54,17% e no período chuvoso 66,46%, sendo estes valores estatisticamente diferentes.

No Quadro 2 encontram-se expressos valores do peso corporal e testicular, IGS, além dos valores referentes à morfometria testicular avaliadas nos períodos seco e chuvoso do ano.

Com relação ao peso corporal, IGS e peso testicular verificou-se que estes parâmetros não apresentaram diferença estatística em função da estação do ano (Quadro 2).

A densidade de volume dos compartimentos testiculares mostrou variação entre as estações do ano. O compartimento tubular apresentou valor de 78,32±13,68% no período seco e 80,13±15,14% no período chuvoso (p<0,05) (Quadro 2). Dentre todos os parâmetros avaliados dentro dos compartimentos testiculares, apenas as células de Leydig e os vasos testiculares não mostraram diferença entre as estações do ano (p>0,05), todos os demais parâmetros apresentaram diferença estatística (Quadro 2).

No Quadro 2 também estão evidenciados os valores do diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero. O diâmetro tubular apresentou, no período seco, valor de 143,98±17,83µm e no período chuvoso, 170,37±26,64µm (p<0,05). A altura do epitélio seminífero apresentou com-

Quadro 1. Média ± desvio padrão dos valores da temperatura ambiente (°C) e umidade relativa (%) registrados no período seco e chuvoso, em Bom Jesus/PI

| Período do ano | Temperatura máxima | Temperatura mínima | Temperatura média | Umidade relativa |
|----------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|-------------------------|
| Seco | 34,75±2,07 ^a | 19,83±0,54 | 27,29±1,13 ^a | 57,14±5,86 ^b |
| Chuvoso | 33,18±1,64 ^b | 19,74±0,68 | 26,26±2,59 ^b | 66,46±8 ^a |

Letras diferentes p<0,05 entre os períodos seco e chuvoso pelo teste de Fisher.

Quadro 2. Média ± desvio padrão dos parâmetros referentes à morfometria dos animais e dos testículos

| | Período seco | Período chuvoso |
|--------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Peso corporal (kg) | 33,5 ±1 | 42,4 ±11,01 |
| Peso testicular (g) | 122,75±22,81 | 144,7 ±74,25 |
| Índice gonadosomático (%) | 0,35±0,06 | 0,33±0,09 |
| Volume dos compartimentos testiculares (%) | | |
| Tubular | 78,32±13,68 ^b | 80,13±15,14 ^a |
| Lâmina própria | 6,21±3,5 ^b | 7,48±3,83 ^a |
| Epitélio Seminífero | 41,81±9,93 ^a | 38,42±11,17 ^b |
| Lúmen | 30,30±12,65 ^b | 34,23±12,77 ^a |
| Intersticial | 21,52±13,31 ^a | 19,73±14,80 ^b |
| Células de Leydig | 3,13±2,95 | 3,10±2,72 |
| Tecido conectivo | 14,50±10,28 ^a | 12,91±10,90 ^b |
| Vasos Testiculares | 4,41±3,69 | 5,66±3,89 |
| Diâmetro Tubular (µm) | 143,98±17,83 ^b | 170,37±26,64 ^a |
| Altura do epitélio seminífero (µm) | 44,92±9,23 ^b | 50,06±13,61 ^a |

Letras diferentes p<0,05 entre os períodos seco e chuvoso pelo teste de Fisher.

portamento semelhante ao relatado para o diâmetro. No período seco o valor foi de $44,92 \pm 9,23 \mu\text{m}$ e no período chuvoso foi de $50,06 \pm 13,61 \mu\text{m}$.

A frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero está disposta no Quadro 3. O estágio 3 foi o que apresentou maior frequência em ambos os períodos, $21,15 \pm 1,5\%$ no período seco e $16,89 \pm 0,8\%$ no período chuvoso, sendo esses valores diferentes ($p < 0,05$) entre si. No período seco o estágio que apresentou menor frequência foi de 2 ($7,20 \pm 1,1\%$) e no período chuvoso foi o estágio 8 ($8,37 \pm 0,9\%$). Todas as frequências dos estádios do ciclo do epitélio seminífero apresentaram diferença estatística entre as estações do ano. A fase pré-meiótica (estágio 1 a 3) apresentou frequência de $38,51\%$ no período seco e $40,04\%$ no período chuvoso. A fase meiótica (estágio 4) mostrou frequência de $11,17$ e $12,93\%$ nos períodos seco e chuvoso, respectivamente. A fase pós-meiótica (estágio 5 a 8) apresentou no período seco e chuvoso valores de $50,14$ e $47,03\%$, respectivamente.

No Quadro 4 estão expressos os valores corrigidos da população celular encontrada por secção transversal de túbulos seminíferos no estágio 1. Pode-se verificar que todas as células contadas expressaram variação significativa em função da estação do ano ($p < 0,05$). O número corrigido de espermatogônia foi de $12,84 \pm 5,42$ no período seco e $17,75 \pm 7,38$ no chuvoso. A população de espermatócito foi $21,28 \pm 9,05$ no período seco e $29,47 \pm 10,31$ no período chuvoso. As espermatídes arredondadas mostraram valores de $58,54 \pm 30,46$ células no período seco e $87,86 \pm 47,85$ no chuvoso. As células de Sertoli foram quantificadas por secção transversal e a sua população total nos testículos. Por secção transversal estas células mostraram valores de $9,79 \pm 2,88$ células no período seco e $12,78 \pm 1,15$ no chuvoso, enquanto a população total no testículo foi de $1,88 \times 10^9$ células no período seco e $4,1 \times 10^9$ no período chuvoso.

Quadro 3. Média \pm desvio das frequências relativos (%) dos estádios do ciclo do epitélio seminíferos analisados nos períodos seco e chuvoso

| | Período seco | Período chuvoso | Fases da espermatogênese |
|-----------|-------------------|-------------------|--------------------------|
| Estágio 1 | $10,16 \pm 0,9^b$ | $13,02 \pm 1,2^a$ | Pré-meiótica |
| Estágio 2 | $7,20 \pm 1,1^b$ | $10,13 \pm 2,1^a$ | |
| Estágio 3 | $21,15 \pm 1,5^a$ | $16,89 \pm 0,8^b$ | |
| Estágio 4 | $11,17 \pm 0,5^b$ | $12,93 \pm 1,1^a$ | Meiótica |
| Estágio 5 | $11,84 \pm 1,0^a$ | $13,75 \pm 2,1^a$ | Pós-meiótica |
| Estágio 6 | $16,48 \pm 1,3^a$ | $15,76 \pm 0,9^a$ | |
| Estágio 7 | $9,49 \pm 0,4^a$ | $9,15 \pm 0,7^a$ | |
| Estágio 8 | $12,33 \pm 1,3^a$ | $8,37 \pm 0,9^b$ | |

Letras diferentes $p < 0,05$ entre os períodos seco e chuvoso pelo teste de Fisher.

Quadro 4. Média \pm desvio padrão do número corrigido de células germinativas e de Sertoli no estágio 1

| Período | A | PQ | AR | CS | NTCS $\times 10^9$ | NTCS/g $\times 10^6$ |
|---------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| Seco | $12,84 \pm 5,42^b$ | $21,27 \pm 9,05^b$ | $58,54 \pm 30,46^b$ | $9,79 \pm 2,88^b$ | $1,88 \pm 0,65^b$ | $15,38 \pm 5,32^b$ |
| Chuvoso | $17,75 \pm 7,38^a$ | $29,47 \pm 10,31^a$ | $87,86 \pm 47,85^a$ | $12,78 \pm 1,15^a$ | $4,1 \pm 1,36^a$ | $28,36 \pm 9,41^a$ |

A = espermatogônia, PQ = Espermatócito em paquíteno, AR = espermatíde arredondada, CS = Células de Sertoli, NTCS = número total de células de Sertoli. Letras diferentes $p < 0,05$ entre os períodos seco e chuvoso pelo teste de Fisher.

DISCUSSÃO

Nesse trabalho, o fato de terem sido registradas temperaturas ambientes diferentes estatisticamente entre as estações do ano justifica a sua realização tendo em vista que apontam para a possibilidade de existir influência desse parâmetro sobre a fisiologia animal. Variações na temperatura ambiental, dentro de certos limites, não exercem influência sobre a temperatura corporal dos animais, no entanto, alteram significativamente as temperaturas escrotal e testicular conforme relatos de Martins Junior et al. (2004), Strapa et al. 2004 e Machado Junior et al. (2009), o que pode levar a alterações da estrutura morfofisiológica, pois segundo Kastelic et al. (1996) e Setchell (1998), a elevação da temperatura dos testículos aumenta a demanda de oxigênio pelas células do epitélio seminífero, no entanto como o fluxo vascular para os testículos é limitado, essa demanda acaba não sendo atendida o que resulta em morte celular por hipóxia.

O peso corporal, o IGS e peso testicular não variaram entre as estações do ano. Esta observação permitiu-nos inferir que as alterações observadas na estrutura testicular são advindas de fatos externos aos animais, pois se sabe que todos esses parâmetros acabam tendo relação entre si. Assim, não tendo variação dessas medidas nos diferentes períodos, a variação na estrutura testicular pode ser advinda da variação da temperatura ambiente. Observação análoga a esta foi feita por Machado Júnior et al. (2011) estudando o efeito da morfologia escrotal sobre a estrutura testicular e observaram que entre os grupos de animais pesquisados não ocorreu variação do peso corporal, IGS e peso testicular e estes autores assinalaram para o fato das alterações observadas no estudo serem em função da característica morfológica estudada.

Com relação à proporção volumétrica dos componentes testiculares, ou seja, o volume que cada componente ocupa dentro do testículo, foi evidenciado que a exceção das células de Leydig e dos vasos testiculares, todos os demais apresentaram diferença entre as estações do ano.

Segundo a classificação de Fawcett et al. (1973) as espécies de mamíferos são agrupados de acordo com a organização dos elementos constituintes do intertúbulo, seguindo três padrões: grupo I, reúne as espécies que apresentam um pequeno volume de Células de Leydig e pouco tecido conjuntivo; Grupo II, são as espécies em que as células de Leydig são amplamente espalhados em um tecido conjuntivo muito solto estroma drenado por linfática visível e vasos, mais ou menos centralmente localizado no espaço do intertúbulo, grupo III: reúne espécies que apresentam maior quantidade de Células de Leydig dominando o compartimento intertubular e poucos vasos e tecido. De

acordo com a classificação de Fawcett et al. (1973), os ovinos pertencem ao grupo III. Neste experimento, o principal componente do tecido intertubular foi o tecido conectivo tanto no período seco (14,50%) quanto no período chuvoso (12,91%). Em relação às células de Leydig, Ewing (1979) ressalta que tanto a estrutura quanto as funções desempenhadas pelas células de Leydig indicam que as variações na secreção da testosterona decorrem mais da capacidade individual das células do que no volume total das mesmas.

Em relação aos vasos testiculares, em ovinos SRD registrou-se 4,41% (período seco) e 5,66% (período chuvoso) sendo superior aos relatados em Morada Nova 0,6% (Sousa 2010) e caprinos 2,2% por Leal et al. (2004).

O valor encontrado para compartimento tubular, em ambos os períodos avaliados (78,32% no seco e 80,13% no chuvoso), estão dentro dos limites normais relatados para mamíferos que vai de 70 a 90% (Oke et al. 1984, Russell et al. 1990, França & Russell 1998, Leal et al. 2004). No período chuvoso, o valor encontrado nesta pesquisa foi próximo do relatado por Wobrel et al. (1995), 83% e Almeida et al. (2006), 84,4%, em ovinos criados sob condições de temperatura semelhante a deste trabalho no período chuvoso, no entanto foi bem menor que o citado por Leal et al. (2004) para caprinos (87,7%) e por Costa (2011) para o veado catingueiro (85,56%). Para o compartimento intersticial os valores encontrados neste trabalho (21,52% no seco e 19,73% no chuvoso) foram maiores do que o relatado para caprinos, 15,60%, (Machado Junior et al. 2011) e carneiros Morada Nova, 15,2% (Sousa 2010).

O diâmetro dos túbulos seminíferos encontrado neste trabalho (143,98µm, no período seco e 170,37µm, no período chuvoso) apresentou a mesma disposição do relatado por McManus et al. (2010) para ovinos Santa Inês, o qual no período seco foi de 158,61µm, enquanto no chuvoso foi 167,51µm, ou seja, no período seco o valor foi menor que o encontrado no período chuvoso. Comparando esses valores com os encontrados neste trabalho percebe-se que no período seco o valor descrito por McManus et al. (2010) foi maior, enquanto que no período chuvoso foi menor. Queiroz & Cardoso (1989) descreveram o diâmetro tubular em ovinos da ordem de 152µm no período seco e 171µm no período chuvoso, sendo ambos esses valores maiores que os encontrados neste trabalho. No entanto, é importante ressaltar que a variação encontrada por todos os autores entre os períodos do ano sempre foi maior no período chuvoso.

Com relação à altura do epitélio seminífero foi encontrado na literatura, distribuição semelhante ao relatado para o diâmetro tubular. McManus et al. (2010) descreveram no período seco um valor de 46,67µm, enquanto no período chuvoso, o valor foi de 48,26µm. Esses valores apresentam semelhança com os encontrados neste trabalho no sentido de que no período chuvoso a altura do epitélio seminífero foi maior que o verificado no período seco. Comparando os achados de McManus et al. (2010) com os deste trabalho percebe-se que no período seco foi maior (44,92µm) e no período chuvoso foi menor (50,06µm). Martins (2006) relatou valor de 52,7µm sendo este valor maior que os encontrados neste trabalho em ambos os períodos.

Quadro 5. Frequência de distribuição dos estágios do ciclo do epitélio seminífero agrupados em fase pré-meiótica, meiótica e pós-meiótica

| Espécie | Pré-meiose | Meiose | Pós-meiose | Referência |
|----------|------------|--------|------------|------------------------------|
| | 48,2 | 8,2 | 43,6 | Ortavant (1956) |
| Ovinos | 58,7 | 9,4 | 31,9 | Billaspuri & Guraia (1984) |
| | 52,7 | 7,2 | 40,1 | Cardoso & Queiroz (1988) |
| Caprinos | 49,1 | 10,7 | 40,2 | França et al. (1999) |
| | 42,29 | 13,8 | 43,86 | Machado Júnior et al. (2012) |
| Bovinos | 64,7 | 8,8 | 26,5 | Cardoso & Godinho (1983) |
| Búfalos | 56 | 9,9 | 34,1 | McCool et al. (1989) |
| Suínos | 31,4 | 12,1 | 56,5 | França & Cardoso (1998) |
| Capivara | 44,8 | 14,6 | 40,6 | Paula et al. (1999) |

A frequência de ocorrência dos estágios no ciclo do epitélio seminífero reflete, no cálculo da duração da espermatogênese, o tempo, em dias, que cada estágio leva para acontecer durante o processo. Isso significa que, quanto menor a frequência de observação de um determinado estágio, menor é o tempo que este estágio demora a ocorrer durante a espermatogênese. Neste trabalho, para um melhor entendimento das fases da espermatogênese agrupamos os estágios em fases pré-meiótica (38,51% período seco e 40,04% no chuvoso), meiótica (11,17% no período seco e 12,93% no chuvoso) e pós-meiótica (50,14% seco e 47,03% chuvoso). No Quadro 5 encontram-se esses mesmos parâmetros para diferentes espécies.

No que se refere a contagem celular, o número de espermatogônias por seção transversal nos períodos analisados foi inferior ao registrado por McManus et al. (2010), 14,40 no período seco e 25,04 no período chuvoso em ovinos. Martins et al. (2008) encontraram, também em ovinos, $2,8 \pm 0,9$; Souza (2003) relataram valores de $1,18 \pm 0,11$ em carneiro Santa Inês e Souza (2010) $1,5 \pm 0,1$ em Morada Nova, no entanto, esses autores não fizeram associação com a estação do ano. Em caprinos, os achados também foram inferiores (18,10) (Machado Junior et al. 2012).

Em relação aos espermátocitos por seção transversal, os resultados nos períodos avaliados também foram inferiores aos encontrados por McManus et al. (2010) (45,22 células no período chuvoso e 24,90 no período seco). Em ambos os períodos esses valores foram maiores que o relatado nesse trabalho, no entanto, sob o aspecto influência da estação do ano, mostraram variação semelhante ao deste estudo. Em outros experimentos foram observados em ovinos Morada Nova, $34,0 \pm 1,5$ (Sousa 2010), ovinos SRD, $36,7 \pm 9,5$ (Martins et al. 2008) e Santa Inês, $44,96 \pm 1,93$ (Souza 2003).

Os valores registrados para espermátides arredondadas foram superiores aos encontrados em ovinos Santa Inês no período seco (37,06) e período chuvoso (71,08) (McManus et al. 2010). Outros estudos relataram, que em ovinos SRD, o número de espermátides arredondadas correspondeu a 110 ± 23 (Martins et al. 2008) e em Morada Nova foi igual a $85,5 \pm 4,0$ (Sousa 2010).

O número de células de Sertoli, por seção transversal, apresentou valores superiores a McManus et al. (2010) que foi de 6,42 para o período seco e 10,44 para o período chuvoso. Em ovinos SRD, Martins et al. (2008) relataram valor de $8,3 \pm 1,5$, sendo mais próximo ao valor descrito neste

trabalho no período seco. Em ovinos Morada Nova, Souza (2010) informou valor de 11,5 e Souza (2003) informou, para ovinos Santa Inês, valor de 14,9. Queiroz & Cardoso (1989) descreveram uma situação não observada neste estudo, uma vez que não houve significância entre os períodos, tendo sido registrado 16,2 no período seco e 17,0 no período chuvoso.

Em relação, ao número total de células de Sertoli registrou-se valores próximos a ovinos Morada Nova $1,9 \pm 0,1 \times 10^9$ (Souza 2010) no período seco e em ovinos SRD $2,2 \pm 0,8 \times 10^9$ (Martins et al. 2008), e inferiores ao encontrado em ovinos Santa Inês ($7,72 \times 10^9$) por Souza (2003). Em caprinos, Leal et al. (2004) informou valor de $1,98 \pm 0,27 \times 10^9$, sendo este número próximo ao encontrado neste trabalho, no período seco.

Em comparação com outras espécies, o número de células de Sertoli por grama de testículo apresentou valores próximos aos relatados para bovinos 29×10^6 (Amman & Alquist 1962), suínos, 21×10^6 (França et al. 1991), capivara, 20×10^6 (Paula et al. 1991), caprinos $21,4 \times 10^6$ (Leal et al. 2004).

CONCLUSÕES

Diante do apresentado, pode-se concluir que a estação do ano exerce influência sobre a estrutura testicular de ovinos SRD, pois a maior parte dos parâmetros morfométricos testiculares avaliados expressaram valores significativamente diferentes entre as estações do ano.

Adicionalmente, conclui-se que na estação chuvosa do ano, período este caracterizado por menor temperatura ambiente e maior umidade relativa, a morfometria testicular mostrou-se com melhores resultados no que se refere ao volume do compartimento tubular, diâmetro tubular, altura do epitélio seminífero, contagem celular e frequência dos estágios correspondentes à fase pós-meiótica.

REFERÊNCIAS

- Abercrombie M. 1946. Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.* 92:239-247.
- Almeida F.F.L., Leal M.C. & França L.R. 2006. Testes morphometry, duration of spermatogenesis and spermatogenic efficiency in wild boar (*Sus scrofa scrofa*). *Biol. Reprod.* 75:792-799.
- Amann R.P.A. & Almquist J.O. 1962. Reproductive capacity of dairy bull. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. *J. Dairy Sci.* 45:774-781.
- Bilaspuri G.S. & Guraya S.S. 1986. The Seminiferous Epithelial Cycle and Spermatogenesis in Rams (*Ovis aries*). *Theriogenology* 25:485-505.
- Brasil 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952 que regulamenta a inspeção industrial de produtos de origem animal. Publicada no Diário Oficial da República Federativa do Brasil, de 7.7.1952, Seção 1, p.10785.
- Cardoso F.M. & Godinho H.P. 1983. Cycle of seminiferous epithelium and its duration in the zebu *Bos indicus*. *Anim. Reprod. Sci.* 5:231-245.
- Cardoso F.M. & Queiroz G.F. 1988. Duration of the cycle of seminiferous epithelium and daily sperm production of Brazilian hairy rams. *Anim. Reprod. Sci.* 17:77-84.
- Carrizo Junior O.A., Lucci C.M., McManus C., Louvandinni H., Martins R.D. & Amorim C.A. 2008. Morphological evaluation of the testicles of young Santa Ines rams submitted to different regimes of protein supplementation and drenching. *Ciênc. Anim. Bras.* 9:433-441.
- Costa K.L.C., da Matta S.L.P., Gomes L.M., de Paula T.A.R., Freitas K.M., Carvalho F.A.R., Silveira J.A., Dolder H. & Chamindrani Mendis-Handagama S.M.L. 2011. Histomorphometric evaluation of the neotropical brown brocket deer *Mazama gouazoubira* testis, with an emphasis on cell population indexes of spermatogenic yield. *Anim. Reprod. Sci.* 127:202-212.
- Elias H., Hennig A. & Schwartz D.E. 1971. Stereology applications to biomedical research. *Physiol. Rev.* 51:158-200.
- Ewing L.L., Zirkin B.R., Cochran R., Kromann N., Peters C. & Ruiz-Bravo N. 1979. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog and hamster testes perfused in vitro, correlation with Leydig cell mass. *Endocrinology* 105:1135-1142.
- Fawcett D.W., Neaves W.B. & Flores M.N. 1973. Comparative Observations on Intertubular Lymphatics and the Organization of the Interstitial Tissue of the Mammalian Testis. *Biol. Reprod.* 9:500-532.
- França L.R. 1991. Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau. Belo Horizonte. Tese em Ciências, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 185p.
- França L.R. & Cardoso F.M. 1998. Duration of spermatogenesis and sperm transit time through the epididymis in the piau boar. *Tissue & Cell* 31:573-582.
- França L.R. & Russell L.D. 1998. The testis of domestic animals, p.197-219. In: Regadera J. & Martinez-Garcia (Eds), *Male Reproduction*. Livingston, Churchill.
- França L.R., Becker-Silva S.C. & Chiarini-Garcia H. 1999. The length of the cycle of seminiferous epithelium in goats (*Capra hircus*). *Tissue & Cell* 31:274-280.
- Houchereau-de-Reviens M.T. & Lincoln G.A. 1978. Seasonal-variation in histology of testis of red deer, *Cervus elaphus*. *J. Reprod. Fert.* 52:209-213.
- Jainudeen M.R. & Hafez E.S.E. 2004. Falhas Reprodutiva em machos. In: Hafez E.S.E. & Hafez B. (Eds), *Reprodução Animal*. 7ª ed. Trad. Renato Campanarut Barnabe. Manole, Barueri, SP.
- Kastelic J.P., Coulte G.H. & Cook R.B. 1996. Scrotal surface, subcutaneous, intratesticular and intraepididymal temperatures in bulls. *Theriogenology* 44:147-152.
- Leal M.C., Becker-Silva S.C., Chiarini-Garcia H. & França L.R. 2004. Sertoli cell efficiency and daily sperm production in goats (*Capra hircus*). *Anim. Reprod.* 1:122-128.
- Maia M.S., Medeiros I.M. & Lima C.A.C. 2011. Características reprodutivas de carneiros no Nordeste do Brasil: parâmetros seminais. *Revta Bras. Reprod. Anim.* 35:175-179.
- Machado Júnior A.A.N., Miglino M.A., Menezes D.J.A., Assis Neto A.C., Silva R.A.B., Leiser R. & Carvalho M.A.M. 2009. Influence of the bipartite scrotum on the testicular and scrotal temperatures in goats. *Pesq. Vet. Bras.* 29:797-802.
- Machado Junior A.A.N., Assis Neto A.C., Ambrósio C.E., Leiser R., Lima G.S., Oliveira L.S. & Carvalho M.A.M. 2011. Goat scrotal-testicular biometry: Influence of the season on scrotal bipartition. *Pesq. Vet. Bras.* 31:1116-1119.
- Machado Junior A.A.N., Oliveira L.S., Assis Neto A.C., Alves F.R., Miglino M.A. & Carvalho M.A.M. 2012. Spermatogenesis in goats with and without scrotum bipartition. *Anim. Reprod. Sci.* 130:42-50.
- Martins Júnior L.M. 2004. Adaptabilidade das raças Boer e Anglo-Nubiana às condições climáticas da Região Meio Norte do Brasil. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI. 45p.
- Martins J.A.M., Souza C.E.A., Campos A.C.N., Aguiar G.V., Lima A.C.B., Araújo A.A., Neiva J.N.M. & Moura A.A.A. 2008. Biometria do trato reprodutor e espermatogênese em ovinos sem padrão racial definido (SPRD). *Arch. Zootec.* 57:553-556.
- McCool C.J., Entwistle K.W. & Townsend M.P. 1989. The cycle of the seminiferous epithelium in the Australian swamp buffalo. *Theriogenology* 31:399-417.
- McManus C., Sasaki L.C.B., Louvandini H., Dias L.T., Teixeira R.A., Alves J.M., Lucci C.M., Marsiaj P.H.P. & Murata L.S. 2010. Avaliação Histológica dos Testículos de Ovinos da Raça Santa Inês Nascidos em Diferentes Estações do Ano. *Ciência Rural*. 40:396-402.

- Oke B.O., Ogwuegbu S.O. & Akusu M.O. 1984. Morphometric study of the testis of the west African Dwarf goat. *Bull. Anim. Health Prod. S. Afr.* 32:57-60.
- Ortavant R. 1956. Autoradiographic des cellules germinales du testicule de bélier. Durée des phénomènes spermatogenetiques. *Arch. Anat. Micros. Morphol. Exp.* 4:1-10.
- Paula T.R.A., Chiarini-Garcia H. & França L.R. 1999. Seminiferous epithelium cycle and its duration in *Capybaras (Hydrochoerus hydrochaeris)*. *Tissue & Cell* 31:327-334.
- Queiroz G.C. & Cardoso F.M. 1989. Avaliação histológica do rendimento da espermatogênese de carneiros deslanados adultos. *Revta Bras. Reprod. Anim.* 13:99-108.
- Russell L.D., Ren H.P., Sinha-Hikim I., Schulze W. & Sinha-Hikim A.P. 1990. A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes, and numerical densities of selected testis components emphasizing those related the Sertoli cell. *Am. J. Anat.* 188:21-30.
- Setchell B.P. 1998. The parkers lecture- heat and the testis. *J. Reprod. Fertil.* 114:179-194.
- Silva A.E.D.F. & Nunes J.F. 1987. Estacionalidade na Atividade Sexual e Qualidade do Sêmen nos Ovinos Deslanados das Raças Santa Inês e Somalis Brasileira. *Bolm Pesq.* 8, Embrapa-CNPC, Sobral, CE. 14p.
- Sousa F.M.L. 2010. Estudo das características do aparelho reprodutivo, epitélio seminífero e mapas eletroforéticos biodimensionais do plasma seminal de carneiros morada nova. Dissertação Mestrado em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, CE. 50p.
- Souza C.E.A. 2003. Avaliação da função reprodutiva de carneiros Santa Inês durante o primeiro ano de vida: estudo do desenvolvimento testicular, produção espermática e caracterização das proteínas do plasma seminal. Dissertação Mestrado em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. 60p.
- Strapa R.A., Diniz E.G., Beletti M.E., Eberhardt B.G. & Strapa R. 2004. Avaliação das diferenças entre temperatura retal, escrotal e intratesticular e da quantidade de glândulas sudoríparas e sebáceas em escroto de búfalos de duas faixas etárias. *Revta Bras. Reprod. Anim.* 28:202-205.
- Wrobel K.H., Reichold J. & Shimmel M. 1995. Quantitative morphology of the ovine seminiferous epithelium. *Ann. Anat.* 177:19-32.