

PRISCILLA SARTI

**AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DO TESTÍCULO E
DA ESPERMATOGÊNESE DE JAGUATIRICAS
(*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) ADULTAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do Título de “*Magister Scientiae*”.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2006**

PRISCILLA SARTI

**AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DO TESTÍCULO E
DA ESPERMATOGÊNESE DE JAGUATIRICAS
(*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) ADULTAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do Título de “*Magister Scientiae*”.

APROVADA: 24 de fevereiro de 2006

Prof. Cláudio César Fonseca

Prof. Sérgio Luís Pinto da Matta
Conselheiro

Prof. Laércio dos Anjos Benjamin

Prof. Clóvis Andrade Neves

Prof. Tarcízio Antônio Rêgo de Paula
Orientador

DEDICATÓRIA:

Este trabalho é dedicado a eles: pequenos, grandes, ferozes, dóceis, companheiros, bonitos, esquisitos... A todos os animais que possibilitaram esses vários anos de aprendizado, pois sem eles esse trabalho e muitos outros não aconteceriam e nós veterinários nada seríamos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me ajudar enfrentar todos os obstáculos.

À minha mãe, Idalina, meu pai, Gilmar e meus irmãos, Ricardo e Ariane, por sempre estarem ao meu lado. Amo todos vocês.

À Universidade Federal de Viçosa e aos professores do Departamento de Veterinária que confiaram e acreditaram em meu potencial.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Ao meu orientador e amigo, Tarcízio Antônio Rêgo de Paula por todas as oportunidades oferecidas e pela confiança depositada em mim.

Ao Centro de Triagem de Animais Silvestres da UFV (CETAS-UFV) por me fornecer dias maravilhosos e muitas vezes difíceis, mas que me trouxeram muita experiência. Agradeço também aos animais Tripé, Simba e Leo utilizados nos experimentos.

À Fundação ZooBotânica de Belo Horizonte, na pessoa do Diretor Carlyle Mendes Coelho e, principalmente, à equipe veterinária e funcionários chefiados pelo médico veterinário Marcelo Malta. Aos animais Blue e Fiv que também foram utilizados nos experimentos.

Ao Médico Veterinário Leonardo Maciel, pela ajuda.

Ao IBAMA/NUFAS (Núcleo de Fauna Silvestre), por permitir acesso aos animais.

Ao meu namorado Renê, por ser paciente e estar sempre me incentivando, mesmo longe. Amo você.

Aos professores Cláudio Fonseca, Sérgio da Matta, Marco Túlio, Patarroyo e Jacson pela paciência e conselhos.

Aos funcionários Rose, Luciano, Nilza, Lucinda, Aécio, Alex, Luís Marcio, Maninha, Tuim, Waldir, Adão, Cláudio, Nenzinho, Didi, José de Oliveira, Sônia, Claudiomiro, Paulo, Zé Antônio, Toninho, Camilo, Eloísa, Geraldinho, Bel, Rogerinho, Margareti. João e a todos os demais pela ajuda fornecida nestes anos. Ao amigo que já se foi, Ponte Nova pelo companheirismo.

A meus amigos: Gabriela, Alexandre, Thaís, Anna, Thyara, Carolzinha que me apoiaram nos dias mais difíceis e sombrios, sempre com paciência e prestativos. Nunca vou esquecer.

Ao Carlão, Ticha, Pablo e Carol pela colaboração.

Aos colegas de trabalho pelo auxílio fornecido.

A Rebeca, Tarcizinho e Regina pela hospitalidade.

A todos os estagiários do CETAS por cuidar com carinho dos animais.

Aos colegas de mestrado: Adolfo, Vivi, Marcelo, João, Bianca e Juliano.

Aos professores Laércio e Clóvis por estarem presentes em um dia tão especial.

A Vivian, Katinha, Lucimara e Arly por continuarem minhas amigas apesar da distância.

A Gigi, Lindinha, Mel, Lady, Gordo, Cocota, Vada, Lara, Guara, Lana, Magali, Kiara, Nikita, Chitara, Kovu, Ulas, Half, Lorinho, Agessivo, Doidão, Pelado, Téia, Babaloo, Linda, Toquinho, Branquinha, Sharon, Frida, Mayla, Docinho, Belinha, Vó, Viúva, Thuck, Thuck Júnior, Toquinho, Chiquinha, Carijós, Taquinhas, Híbrida, Lobão, Cachorrinho, às várias Cobras, Lagartos, Psitacídeos, Passaeriformes, Canídeos, Felinos, Procionídeos, Edentatas, Xernatras, Roedores, Marsupiais, Rapinantes e outros que tornaram cada dia de minha vida mais brando, feliz e que me deram razão para continuar sempre em frente.

Aos que auxiliaram em parte dessa etapa de minha vida, meu muito obrigado.

BIOGRAFIA

PRISCILLA SARTI, filha de Idalina Gonella e Gilmar Sebastião Sarti, nascida em 27 de abril de 1977, em Santa Rita do Passa Quatro, SP.

Concluiu o ensino fundamental em dezembro de 1991 na escola E.E.P.G. “Nelson Fernandes” de Santa Rita do Passa Quatro, SP.

Concluiu o ensino médio em dezembro de 1994 na escola E.E.P.S.G. “Francisco Ribeiro” de Santa Rita do Passa Quatro, SP.

Em fevereiro de 1999 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, MG, onde em janeiro de 2004 graduou-se.

Em março de 2004 iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Morfologia da Reprodução, no Departamento de Veterinária na UFV-MG.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1.0.INTRODUÇÃO.....	01
2.0.REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1.A Jaguatirica.....	03
2.2.Os testículos e a espermatogênese.....	06
2.2.1.Índice gonadossomático.....	06
2.2.2.O túbulo e o epitélio seminíferos.....	07
2.2.3.A célula de Sertoli.....	09
2.2.4.Rendimento intrínseco da espermatogênese.....	10
2.2.5.O compartimento intertubular.....	11
2.2.6.Biópsia testicular.....	13
3.0.OBJETIVOS.....	14
4.0.MATERIAL E MÉTODOS.....	15
5.0.RESULTADOS.....	17
6.0.DISSCUSSÃO.....	24
7.0.CONCLUSÕES.....	36
8.0.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

RESUMO

SARTI, Priscilla, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2006.
Avaliação morfométrica do testículo e da espermatogênese de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) adultas. Orientador: Tarcízio Antônio Rêgo de Paula. Conselheiros: Eduardo Paulino da Costa e Sérgio Luís Pinto da Matta.

Foram utilizadas no presente experimento, cinco jaguatiricas machos adultas, sendo três provenientes do Centro de Triagem de Animais Silvestres da Universidade Federal de Viçosa e duas da Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte-MG, devidamente autorizado pelo IBAMA-MG. Estes animais foram submetidos à anestesia geral, pesados, tiveram os testículos mensurados e biopsiados para obtenção de fragmentos representativos, os quais foram processados histologicamente, e analisados em microscopia de luz. A idade média dos animais estudados foi de 5,6 anos, e o peso corporal médio foi de 14,5 kg. Através do cálculo volumétrico a massa testicular média foi de 8,5 g. O índice gonadossomático encontrado foi de aproximadamente 0,12 %, o índice tubulossomático de 0,074% e o índice leydigossomático de 0,0036%. Em jaguatiricas machos adultas, a albugínea testicular representa 23,42% da massa testicular. O parênquima testicular de jaguatiricas adultas apresenta 80,58% de sua massa alocada em túbulos seminíferos e 19,39% alocados em tecido intertubular, perfazendo respectivamente um volume de 10,53 e 2,58 ml. A maior parte do tecido intertubular está alocado em tecido conjuntivo frouxamente distribuído. O diâmetro da secção transversal de túbulos seminíferos na jaguatirica adulta foi em média 211,37 μm , enquanto a espessura média do epitélio seminífero foi de 75,38 μm . A jaguatirica adulta apresenta em torno de 17,81 metros de túbulo seminífero por grama de testículo. As jaguatiricas machos adultas possuem o maior coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais e rendimento geral da espermatogênese registrados entre todos os felinos já estudados; porém, a capacidade de suporte das células de Sertoli encontra-se dentro da amplitude observada para os demais felinos. A reserva de espermátides nas jaguatiricas é de aproximadamente 3,7 bilhões de espermátides produzidas a cada ciclo do

epitélio seminífero por grama de testículo, sendo a maior já documentada entre os mamíferos já estudados. A célula de Leydig da jaguatirica apresentou-se uninucleada, com o núcleo arredondado contendo uma fina camada de heterocromatina ao longo do envelope nuclear e, na maioria das vezes, um único nucléolo. Observam-se, ainda, montantes variáveis de pigmentos de lipofuccina em seu citoplasma. A jaguatirica adulta apresenta cerca de 33,39 milhões de células de Leydig alocados por grama de testículo, com volume unitário de $913,39 \mu\text{m}^3$. Embora as jaguatiricas possuam células de Leydig com pequeno volume unitário, o número destas células por grama de testículo é semelhante àquele dos demais felinos estudados.

ABSTRACT

SARTI, Priscilla, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February 2006. **Morphometric evaluation of the testis and spermatogenesis in adult ocelot (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758)** Adviser: Tarcízio Antônio Rêgo de Paula. Committee members: Eduardo Paulino da Costa and Sérgio Luís Pinto da Matta.

To study the spermatogenic cycle in ocelots, were used, three adult males, proceeding from the Centro de Triagem de Animais Silvestres the Federal University of Viçosa and two adult males proceeding from the Fundação Zoobotânica of Belo Horizonte/MG/Brazil, authorized by the IBAMA-MG. These animals were submitted to general anesthesia, weighed and its testis were measured and biopsied to obtain, representative fragments. After this, the fragments histologically processed and analyzed in light microscopy. The average value for the age of the studied animals was 5.6 years and for the body weight was 14.5 kg. Using the volumetric calculation, it was observed a testicular mass 8.5 g. The gonadosomatic index was 0.12%, the tubulosomatic index was 0.074% and the leydigosomatic index was 0.0036%. In adult male ocelots, the testicular albuginea represents 23.42% of the testicular mass. The testicular parenchyma of adult ocelots is constituted by 80.58 % seminiferous tubules and 19.39% of intertubular tissue, with volume respective 10.53 e 2.58 ml. Most of the intertubular tissue is constituted by loose connective tissue. The mean diameter of the cross section of the seminiferous tubules in the adult ocelot was 211.37 μm , while the average thickness of seminiferous tubules was 75.38 μm . The adult ocelot presents around 17.81 m of seminiferous tubules for each gram of testis. The spermatogonias of the adult male ocelot possess a bigger coefficient of mitoses efficiency and the sperm production registered between the felines already studied. However, the Sertoli cells maintain its support capacity, in the same range observed for the felines. The spermatids reserve for each cycle of the seminiferous epithelium was approximately 3.7 billions for each gram of testis, the greatest quantity already registered between the studied mammals. The Leydig cell of ocelot presented a single, rounded nucleus with a fine layer of heterochromatin near to the nuclear envelope, and only one nucleolus. Too, it was observed a variable quantity of lipofuccin in its

cytoplasm. The adult ocelot presents about 33.39 millions of Leydig cells in each gram of testis. In this animal, volume of the Leydig cells $913.39 \mu\text{m}^3$. The ocelot presents a small volume of the Leydig cell but a similar number for each gram of testis as related to other studied felines.

1.0. INTRODUÇÃO

Os carnívoros são animais que exercem fascínio sobre as pessoas sendo frequentemente utilizados como modelo de força pela mídia. No entanto, toda esta beleza plástica não é suficiente para evitar que quase todas as espécies que ocorrem no Brasil estejam em risco de extinção. Os carnívoros, notadamente os felinos, são vítimas constantes de praticamente todas as formas de ameaça, como a caça furtiva para troféu, caça predatória para comércio de peles, tráfico de animais vivos e principalmente, eliminação de indivíduos que estejam causando prejuízo econômico a proprietários rurais e destruição e fragmentação de habitats (PITMAN et al., 2002).

Nas décadas de 60 e 70, dentre os felinos pintados, a jaguatirica (*Leopardus pardalis*) foi à espécie mais explorada pelo comércio de peles (NOWELL & JACKSON, 1996). Nos dias atuais a principal causa do declínio na população de jaguatiricas é a destruição de seu habitat, responsável por aumentar de forma significativa o risco de extinção de subespécies, como a *Leopardus pardalis mitis*, habitante da Mata Atlântica brasileira. O risco aumenta se forem consideradas as conseqüências do isolamento e da perda genética associado à fragmentação de seu habitat (OLIVEIRA, 1994).

Por estarem no topo da pirâmide alimentar, os carnívoros têm grande importância ecológica, pois podem regular a população de presas naturais e, desta forma, influenciar toda a dinâmica do ecossistema em que vivem. Na ausência desses predadores, suas presas naturais, como roedores, aves e répteis tendem a se multiplicar exponencialmente, podendo trazer sérios prejuízos a agricultura com consideráveis perdas financeiras (PITMAN et al., 2002). Todos os felinos neotropicais estão incluídos nos apêndices I ou II do CITES (Convenção para o Trânsito Internacional de Espécies Ameaçadas, 2006), estando à jaguatirica listada no Apêndice I (CITES Appendix I) e na lista de espécies ameaçadas de extinção do Instituto Brasileiro de Recursos Naturais Renováveis e do Meio Ambiente (IBAMA, 2006).

As espécies que conseguem escapar dos riscos da extinção ainda podem estar sujeitas aos efeitos da endogamia que ocasiona normalmente baixa eficiência reprodutiva (WILDT et al., 1987). Segundo MEROLA (1994), muitos dos efeitos fenotípicos atribuídos à consangüinidade em guepardos, como infertilidade, ninhada reduzida e aumento da

susceptibilidade a doenças, são limitados aos indivíduos cativos e podem ser explicados como artefatos fisiológicos ou comportamentais do cativeiro.

Segundo CONWAY (1989) as populações de cativeiro representam boa opção para auxiliar na manutenção da variabilidade genética de animais como a jaguatirica. Porém, as instituições brasileiras que abrigam populações de pequenos felinos, possuem poucos exemplares frequentemente de origem variada, e em muitos casos desconhecida. Embora alguns destes animais possam reproduzir bem em cativeiro, a falta de informações sobre sua origem inviabiliza o acasalamento devido ao risco de cruzamento entre subespécies distintas. Adicionalmente, os acasalamentos têm sido ainda evitados devido ao espaço restrito para manutenção destes animais em cativeiro (MOREIRA et al, 1994).

De acordo com MOREIRA et al (1994), historicamente os pequenos felinos sul-americanos possuem baixo índice reprodutivo em cativeiro, sendo reduzida à porcentagem de nascimentos nessas populações e o sucesso reprodutivo imprevisível. Os registros reprodutivos das populações de pequenos felinos de zoológicos brasileiros mostram uma pequena porcentagem de nascimentos, associada à alta taxa de mortalidade nos primeiros cinco dias. Assim, o desempenho reprodutivo não é confiável e as particularidades associadas ao sucesso ou fracasso reprodutivo em cativeiro são pouco compreendidas.

A manutenção a longo prazo de populações geneticamente viáveis de pequenos felinos dependerá de programas bem planejados, incluindo técnicas de reprodução assistida como inseminação artificial e fecundação *in vitro* (SWANSON & WILDT, 1997). Apesar dessas técnicas jamais substituírem a reprodução por métodos naturais, elas podem auxiliar nos esforços de salvar estas espécies da extinção, uma vez que possibilitarão troca de material genético entre populações cativas e mesmo de vida livre (ROTH, 1993; GUIMARÃES, 2001). A melhor compreensão da fisiologia reprodutiva de pequenos felídeos neotropicais faz-se necessária para se obter um desempenho reprodutivo mais consistente em cativeiro, aumentando o número de indivíduos capazes de reproduzirem-se.

Uma grande dificuldade para se trabalhar com animais silvestres reside nas restrições de acesso aos espécimes de vida livre e cativeiro, o que, faz com que os pesquisadores trabalhem com número reduzido de indivíduos, dificultando dessa forma a obtenção de informações estatisticamente significativas (WILDT, 1989).

2.0. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A jaguatirica

As jaguatiricas possuem hábito diurno e noturno, sendo mais ativas durante a noite. Descansam em troncos caídos, são consideradas boas escaladoras (EMMONS & FERR, 1990) e ótimas nadadoras (WIELOCH et al., 1997); são solitárias, formam pares durante o período de acasalamento (EMMONS & FERR, 1990) e tanto a fêmea quanto o macho marcam e defendem seu território ativamente (EISENBERG, 1989).

É uma espécie de médio porte (Figura 1), com peso variando de oito a 15 kg, possui corpo esbelto e patas grandes, sendo os machos maiores que as fêmeas (EISENBREG, 1989; EMMONS & FERR, 1990). Medem de 50 cm a um metro de comprimento (mais a cauda que pode medir até 45 cm), só perdendo em tamanho para a onça pintada e parda. Vivem em torno de 20 anos em cativeiro. As jaguatiricas são também conhecidas como ocelote, gato maracajá (norte do Brasil) ou gato maracajá verdadeiro (OLIVEIRA & CASSARO, 1999), embora o gato do mato (*Leopardus wiedii*), seja mais conhecido por gato maracajá.



Figura 1. Jaguatirica (*Leopardus pardalis*) macho adulta no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS-UFV).

A coloração do dorso é bastante variável, de cinza amarelo pálido a castanho ocráceo, com as mais diversas tonalidades intermediárias. A região ventral é esbranquiçada,

e as manchas negras tendem a formar rosetas abertas que coalescem formando bandas longitudinais nas faces laterais do pescoço (OLIVEIRA & CASSARO, 1999). Segundo estes mesmos autores, a cauda nestes animais é proporcionalmente curta em relação às outras espécies de felinos, o que muitas vezes facilita à identificação da espécie.

São animais estritamente carnívoros, e sua dieta inclui pequenos roedores, aves, répteis e outros pequenos vertebrados (EMMONS & FERR, 1990).

A jaguatirica possui ampla distribuição na América Central e do Sul, sendo que no Brasil pode ser vista em ecossistemas variados, de florestas úmidas à caatinga (OLIVEIRA, 1994). Podem ser observadas em todas as regiões do Brasil exceto no sul do Rio Grande do Sul (OLIVEIRA & CASSARO, 1999) (Figura 2). De acordo com CABALLOS & MIRANDA (1986) seu território é mais ou menos fixo. Sendo o território da fêmea de cerca de três km² e do macho 10 km² e este se sobrepõe ao de várias fêmeas (WIELOCH et al., 1997).



Figura 2. Em coloração escura a distribuição geográfica da jaguatirica (*Leopardus pardalis*).

Sua grande capacidade de adaptação a diferentes habitats pode ser observada nos registros próximos aos grandes centros urbanos. Assim estão sob o risco direto da ação humana, e sujeitas a acidentes causados por atropelamentos, queimadas, desmatamentos, entre outros.

De acordo com SIMON et al. (1997), o gato mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*) e a jaguatirica (*Leopardus pardalis*) têm-se reproduzido e criado filhotes de forma mais consistente em cativeiro, se comparados com outras espécies de felídeos neotropicais, como por exemplo, o gato do mato pequeno (*Leopardus tigrinus*) e o gato maracajá (*Leopardus wiedii*), que possuem reprodução mais difícil no cativeiro.

Na jaguatirica a puberdade esta correlacionada com o peso corporal adulto ocorrendo mais cedo nas fêmeas (GRUFFYDD-JONES, 1993). A maturidade sexual nas fêmeas ocorre dos 18 aos 22 meses de idade e nos machos aos trinta meses (BRAZILIAN OCELOT, 2006). EATON (1984), através de estudos de hormônios esteróides reprodutivos e da atividade ovariana em fêmeas de pequenos felinos em cativeiro, observou que essas espécies não apresentavam padrão característico de sazonalidade reprodutiva, portanto, experimentações reprodutivas podem ser conduzidas durante o ano todo.

Nos trópicos parece não haver uma época específica para acasalamentos, mas no sul dos Estados Unidos eles ocorrem geralmente no outono-inverno (WIELOCH et al., 1997). Os mesmos autores ainda relatam que nascem de dois a quatro filhotes. O período exato de gestação varia entre 70 e 85 dias (MELLEN, 1990; GREEN, 1991) e os machos parecem não contribuir para os cuidados com os filhotes. Os filhotes são encontrados em companhia da mãe até dois anos de idade, passando a partir dessa idade a viver solitários e a demarcar seu território (ANIMAL PLANET, 2006). Os filhotes nascem de olhos fechados, os abrem após 15 a 18 dias e começam a comer dieta sólida a partir dos 42 dias (FAGEN & WILEY, 1978).

A cópula ocorre de cinco a 10 vezes por dia com montas de aproximadamente um minuto e meio e a probabilidade de concepção é de 60% (EATON, 1978; MELLEN, 1990). O ciclo estral é de aproximadamente 25 dias e o estro dura 4,6 dias (MELLEN, 1990). Entretanto EATON (1977) descreve um período de sete a dez dias para o estro e um período de interestro de seis semanas.

As fêmeas de pequenos felinos neotropicais são poliestrais, sendo a da jaguatirica e a do gato do mato pequeno, ovuladoras induzidas, com a ovulação ocorrendo apenas após o estímulo copulatório. Porém as fêmeas de gato maracajá podem apresentar altos níveis de metabólitos fecais de progestágenos, indicando ovulação espontânea (MOREIRA et al., 2001).

2.2. Os testículos e a espermatogênese

2.2.1. Índice gonadossomático

A habilidade reprodutiva dos machos sexualmente maduros depende da capacidade dos testículos em produzir elevado número de espermatozóides viáveis e concentrações adequadas de andrógenos para libido e a maturação dos órgãos reprodutivos (GIER & MARION, 1970). Grande variação no peso relativo dos testículos é observada nas diferentes espécies animais. O índice gonadossomático, que corresponde à proporção do peso corporal alocada em ambos os testículos é um parâmetro representativo do investimento específico na produção espermatogênica (AMANN, 1970). Segundo KENAGY & TROMBULAK (1986), mamíferos de menor porte alocam maiores proporções de massa corporal e de gasto de energia, para o tecido testicular do que mamíferos de maior porte sendo este investimento, não espécie específico nem correlacionado à forma ou a posição dos testículos no corpo (abdominal ou escrotal). Ainda segundo KENAGY & TROMBULAK (1986), o tamanho testicular está intimamente relacionado com o comportamento reprodutivo, uma vez que animais com comportamentos monogâmicos e poligâmicos apresentam um menor peso testicular em relação a espécies com comportamentos reprodutivos promíscuos ou poliândricos. Nestes últimos maior produção espermática é necessária devido à competição entre espermatozóides de diferentes machos para a fertilização da mesma fêmea.

Apesar da estrutura geral do testículo seguir um padrão relativamente rígido para as diversas espécies de mamíferos, existem muitas variações no que concerne à proporção volumétrica dos diferentes componentes que o constituem, principalmente em relação aos túbulos seminíferos, células de Leydig, vasos sanguíneos e espaços linfáticos. A seleção natural presumivelmente atua no estabelecimento da massa dos testículos como um balanço funcional da demanda de hormônios e espermatozóides e na otimização do gasto de energia para crescimento, manutenção e produção testicular. Raramente se observam grandes investimentos em células de Leydig e demais elementos do espaço intertubular em relação aos túbulos seminíferos, uma vez que a produção de hormônios apresenta custo energético muito menor que aquele observado para a produção de espermatozóides (SHORT, 1997).

2.2.2. O túbulo e o epitélio seminíferos

O túbulo seminífero apresenta grande variação em sua densidade volumétrica no testículo entre as diferentes espécies, mas, é geralmente o componente mais abundante do parênquima testicular (FRANÇA & RUSSELL, 1998). Todos os parâmetros quantitativos relacionados com o túbulo seminífero, como diâmetro tubular, espessura do epitélio seminífero, comprimento total de túbulos e comprimento por grama de testículo, apresentam relação positiva com a atividade espermatogênica (FRANÇA & RUSSELL, 1998; PAULA, 1999).

O epitélio seminífero compõe-se de quatro camadas de gerações distintas de células germinativas, sustentadas morfofisiologicamente por uma célula somática denominada célula de Sertoli (RUSSELL et al., 1990). Na camada basal do epitélio seminífero observam-se espermatogônias e espermátocitos primários iniciais; nas camadas intermediárias observam-se gerações de espermátocitos primários mais desenvolvidos e espermátocitos secundários; e na camada adluminal, espermátides. Este complexo e bem organizado processo pode ser dividido em três fases, baseando-se em considerações morfológicas e funcionais: (1) fase proliferativa (espermatogônial), na qual as células sofrem rápidas e sucessivas divisões mitóticas; (2) fase meiótica (espermátocitos), na qual o material genético é duplicado e passa por recombinação genética; e (3) fase de diferenciação ou espermiogênica (espermátides), na qual as espermátides sofrem intensas modificações, transformando-se em espermatozóides (RUSSELL et al., 1990).

De maneira geral as espermatogônias podem ser classificadas em duas categorias básicas, espermatogônias indiferenciadas e diferenciadas. As espermatogônias isoladas (A_i), pareadas (A_{pr}) e alinhadas (A_{al}) pertencem à primeira categoria. As espermatogônias do tipo A, intermediárias (In) e espermatogônias do tipo B pertencem à categoria das espermatogônias diferenciadas, comprometidas de forma irreversível com a formação de espermatozóides (DE ROOIJ, 1998). Vale ressaltar que existem consideráveis diferenças em relação ao número de gerações de espermatogônias diferenciadas nas diversas espécies de mamíferos, porém, este número geralmente não ultrapassa seis gerações (RUSSELL et al., 1990; DE ROOIJ, 1998; FRANÇA & RUSSELL, 1998).

Nem todo espermátócito que entra em meiose completa seu desenvolvimento em espermátide e é liberado como espermatozóide. Degenerações ocorrem durante a meiose ou raramente durante a espermiogênese, sendo que o período mais crítico para que isto ocorra é a metáfase II. A degeneração durante a metáfase II é um fator comum à maioria dos mamíferos (ROOSEN-RUNGE, 1973).

Nos túbulos seminíferos de animais sexualmente maduros as células espermatogênicas não estão arranjadas ao acaso, mas sim organizadas numa série bem definida de associações celulares ou estádios. Dentre os sistemas utilizados para se estudar os estádios do ciclo do epitélio seminífero, o mais empregado é aquele baseado na forma e na localização dos núcleos das espermátides e na presença de figuras de divisões meióticas (ROOSEN-RUNGE & GIESEL JR., 1950; COUROT et al., 1970; BERNDTSON, 1977; ORTAVANT et al., 1977; GUERRA, 1983; FRANÇA, 1991). Este sistema, designado por BERNDTSON (1977) como método da morfologia tubular, permite a padronização do ciclo em oito estádios para todos os mamíferos. Outra classificação, designada como método do sistema acrossômico, é baseado nas características das espermátides, em particular no desenvolvimento do acrossoma, método no qual o número de estádios para cada espécie é variado (RUSSELL et al., 1990). Com exceção de algumas espécies de primatas, o arranjo dos estádios do ciclo do epitélio seminífero é segmentar em todos os mamíferos investigados, e usualmente existe somente um estágio por secção transversal de túbulo seminífero (LEBLOND & CLERMONT, 1952; RUSSELL et al., 1990). Os estádios se sucedem numa determinada área do epitélio seminífero, com o decorrer do tempo. Esta seqüência, assim ordenada, constitui o processo denominado ciclo do epitélio seminífero (LEBLOND & CLERMONT, 1952; ORTAVANT et al., 1977; RUSSELL et al., 1990).

2.2.3. A célula de Sertoli

As células de Sertoli desempenham papel fundamental na regulação da espermatogênese (RUSSELL & GRISWOLD, 1993). A quantidade impressionante de funções desempenhadas por estas células inclui, dentre outras o suporte e nutrição das células germinativas em desenvolvimento, a compartimentalização do epitélio seminífero, a liberação de espermatozóides no lume tubular, a secreção de fluídos e proteínas e a fagocitose de células germinativas em degeneração e do excesso de citoplasma das espermátides em espermição (FRANÇA & RUSSELL, 1998). A célula de Sertoli também desempenha papel chave na mediação da ação do FSH e da testosterona na espermatogênese, provavelmente atuando de maneira cíclica (RUSSELL et al., 1990).

O número de células de Sertoli por testículo é o principal fator na determinação da produção espermática e no tamanho do testículo (FRANÇA et al., 1995). A produção total de espermátócitos na primeira fase da espermatogênese é ajustada numericamente para capacidade suporte de células de Sertoli, fazendo com que ocorra degeneração de grande número de células (DE ROOIJ & LOK, 1987). Esta capacidade suporte de células germinativas é relativamente fixa para cada espécie (STEINBERGER & STEINBERGER, 1971; ORTH et al., 1988; FRANÇA & RUSSELL, 1998). Desta forma, o número de células germinativas suportadas por uma única célula de Sertoli (índice de células de Sertoli) é o melhor indicativo da eficiência funcional destas (RUSSELL & PETERSON, 1984).

Segundo FRANÇA (1991), considerando-se que a população de células de Sertoli é estável ao longo dos estádios do ciclo do epitélio seminífero e não variam com idade dos animais adultos, estas células podem ser utilizadas como ponto de referência para a quantificação e a correção de contagens de células germinativas. As células de Sertoli constituem também a base para o estudo de alterações no processo espermatogênico, em decorrência de fatores patológicos e terapêuticos (RUSSELL & CLERMONT, 1977; RUSSELL et al., 1990).

Particularmente entre as células de Sertoli existem junções intercelulares altamente especializadas conhecidas como junções de oclusão ou "tight junctions". Estas junções controlam o fluxo de substâncias no epitélio seminífero e delimitam dois compartimentos

neste epitélio: o compartimento basal e o adluminal (RUSSELL et al, 1990). A principal ação destas junções entre as células adjacentes é a formação de uma barreira de difusão fisiológica (barreira hemato-testicular) no interior dos túbulos, garantindo um ambiente adequado no compartimento adluminal, sem interferências externas e mantém níveis específicos de algumas substâncias tais como enzimas inibidoras, hormônios gonadotrófico e a proteína ABP (GARNER & HAFEZ, 2000; DELLMANN & WROBEL, 1982).

2.2.4. Rendimento intrínseco da espermatogênese

As razões entre as populações dos diferentes tipos de células germinativas constituem uma maneira bastante acurada de se analisar a eficiência do processo espermatogênico. Esta abordagem permite comparações entre diferentes espécies, servindo ainda como fator de correção para as contagens obtidas através de diferentes metodologias e com cortes histológicos de espessura variada. Classicamente, três índices avaliando as diferentes fases da espermatogênese são utilizados: 1) coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais, que quantifica o grau de perdas celulares na fase espermatogonial ou proliferativa, estimando as degenerações que ocorrem nas conversões celulares de espermatogônias do tipo A₁ até a formação de espermátocitos primários em pré-leptóteno; 2) o rendimento meiótico que avalia a eficiência das duas divisões meióticas e 3) o rendimento geral da espermatogênese, em que a eficiência do processo espermatogênico como um todo (de espermatogônia do tipo A₁ até espermátides arredondadas) é investigado (PAULA, 1999).

2.2.5. O compartimento intertubular

Em termos funcionais, o testículo de mamíferos pode ser dividido em dois compartimentos básicos: o tubular ou espermatogênico e o intertubular ou androgênico. A proporção entre estes compartimentos é bastante variável, sendo um dos principais fatores responsáveis pela diferença observada para a eficiência na produção espermática nas diversas espécies (RUSSELL et al., 1990; FRANÇA & RUSSELL, 1998). O compartimento intertubular é composto pelas células de Leydig, vasos linfáticos, vasos sanguíneos, nervos e uma população celular variável que inclui fibroblastos, macrófagos e mastócitos (RUSSELL, 1996).

Além do controle endócrino, através do eixo hipotálamo-hipófise-testículo, um elaborado sistema de comunicação intercelular é desenvolvido no testículo para assegurar o perfeito funcionamento do processo espermatogênico (ROSER, 2000). Assim, as células envolvidas direta ou indiretamente na produção dos gametas masculinos (células de Sertoli, células germinativas, células de Leydig, células mióides peri-tubulares, leucócitos, etc.) mantêm um sistema parácrino/autócrino, que modula esta intrincada rede de interação celular, que é fundamental para o perfeito funcionamento do testículo (SCHLATT, 1997).

O principal componente celular do compartimento intertubular é a célula intersticial ou de Leydig (HOOKER, 1970). Ela forma grupos de células irregulares, entre os túbulos seminíferos, e sua população varia de acordo com a espécie e idade. Tais células são responsáveis pela síntese e armazenamento de testosterona, importante para promover o comportamento sexual normal (libido) e a ocorrência do processo espermatogênico (juntamente com FSH e LH) e manter a função das glândulas acessórias (DELLMANN & WROBEL, 1982) e características sexuais secundárias (DELLMANN & WROBEL, 1982; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2005).

A proporção volumétrica de tecido intertubular no testículo dos mamíferos domésticos varia de 10% no cão a 40% no camelo (FRANÇA & RUSSELL, 1998). Inúmeros fatores podem influir na quantidade de células de Leydig por animal, dentre os quais podem ser destacados a quantidade de LH disponível, o número de receptores de LH por célula, a quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar em um dado tempo, a velocidade pela qual a testosterona deixa o testículo via vasos linfáticos,

vasos sanguíneos e fluidos seminal, o volume sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (RUSSELL et al., 1994; RUSSELL, 1996). Estudos correlacionando a estrutura e a função das células de Leydig, em várias espécies de mamíferos, mostraram que variações na secreção de testosterona resultam mais da capacidade individual desta célula em secretar este hormônio do que de diferenças do volume total das mesmas no testículo (EWING et al., 1979). Esta capacidade está altamente associada com a quantidade de retículo endoplasmático liso presente na célula de Leydig (ZIRKIN et al., 1980).

As células de Leydig iniciam a secreção da testosterona ainda na vida fetal, para a diferenciação embriológica dos órgãos genitais masculino, estimuladas pelo hormônio gonadotrófico materno, que atravessa a placenta e atinge o sangue fetal (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2005). Em ratos gonadotrofinas placentárias ou hipofisárias maternas exercem influência direta sobre as células de Leydig, aumentando-as em número e tamanho. O número de células de Leydig varia de espécie para espécie, sendo abundantes no gato e no porco, em menor quantidade em homens e ratos e raras em algumas espécies de aves (HOOKER, 1970).

Durante o desenvolvimento testicular, principalmente na puberdade, e durante a recrudescência testicular em animais sazonais, a célula de Sertoli, principal reguladora do processo espermatogênico, deixa de ser modulada unicamente pelo hormônio folículo estimulante (FSH) que, gradativamente, é substituído pela testosterona (MEANS et al., 1976; JÉGOU et al., 1983; SHARPE, 1994). Assim, como preparação para esta substituição, as células de Leydig devem estar numérica e fisiologicamente adequadas para dar suporte ao novo requerimento de testosterona, sendo que o FSH parece influenciar diretamente no desenvolvimento desta população (SHARPE, 1994).

FAWCETT et al. (1973) descreveram três modelos para o arranjo dos componentes do espaço intertubular nas diferentes espécies, indicando uma grande variação em relação à quantidade de células de Leydig e à disposição de vasos/espacos linfáticos. Segundo estes autores, a drenagem linfática aliada à quantidade de células de Leydig e tecido conjuntivo frouxo nas diferentes espécies segue, em geral, três padrões distintos: I) espécies nas quais as células de Leydig e o tecido conjuntivo ocupam uma área muito pequena no compartimento intertubular, contrastando com extensos sinusóides ou espacos linfáticos; II) espécies que apresentam grupos de células de Leydig espalhado em tecido conjuntivo

frouxo abundante e edemaciado, o qual é drenado por um vaso linfático localizado central ou excentricamente no espaço intertubular; e III) espécies nas quais abundantes grupamentos de células de Leydig ocupam praticamente todo o compartimento intertubular, apresentando pouco tecido conjuntivo e vasos linfáticos. Apesar do pouco conhecimento a respeito das implicações fisiológicas da variação em relação à quantidade de células de Leydig e à disposição de vasos/espacos linfáticos, esses autores especularam que a mesma estaria provavelmente relacionada com a habilidade dos linfáticos de mover para fora dos testículos substâncias vascularmente secretadas e de manter as concentrações adequadas de andrógenos no testículo e nos vasos sangüíneos.

2.2.6. Biópsia testicular

A biópsia testicular é um procedimento utilizado em muitos casos para avaliação de patologias relacionadas à infertilidade (NSEYO et al., 1984). Os métodos mais comuns de biópsia testicular são a biópsia aspirativa e a biópsia incisional (FINCO, 1974; LOPATE et al., 1989).

A biópsia testicular é largamente utilizada em humanos para diagnóstico de azospermia obstrutiva ou não obstrutiva, e para classificação de oligospermia, auxiliando na prescrição de um protocolo de tratamento e no prognóstico (THRELFALL & LOPATE, 1993). Da mesma forma, é recomendada para diagnóstico de azospermia em cães e nas demais espécies domésticas (FINCO, 1974; ATTIA et al., 2000), podendo fornecer informação adicional sobre o estado espermatogênico de animais inférteis, assim como a etiologia, o tratamento e o prognóstico (LOPATE et al., 1989). Porém, esta técnica é utilizada com receio, devido à possibilidade do ato cirúrgico ocasionar lesões no parênquima testicular que poderiam afetar a qualidade espermática e fertilidade, por invadir a barreira hemato-testicular (HEDGER, 1997).

O efeito da biópsia sobre a motilidade espermática e a porcentagem de espermatozoides anormais é bastante variável. Segundo SYKES et al. (1949), uma única biópsia, unilateral, não causaria alterações nestes parâmetros. Porém, biópsias sucessivas, mesmo no testículo contralateral, acarretaria efeito adverso, diminuindo a motilidade e aumentando a porcentagem de espermatozoides com defeitos morfológicos. As potenciais complicações da biópsia ao parênquima testicular são danos que provocam interrupção local da espermatogênese, ou adesões que podem impedir a termoregulação testicular. Estas complicações têm feito com que a técnica de biópsia testicular seja pouco aceita, tendo assim uso limitado (ATTIA et al., 2000). Ainda 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., 2005) parecem insignificantes. Cavalos castrados após biópsia incisional unilateral demonstraram apenas aumento transitório na degeneração de espermátócitos em pré-leptóteno e espermatogônias do tipo B no testículo biopsiado (DELVENTO et al., 1992).

Ainda que procedimentos invasivos nos testículos e epidídimos possam induzir à produção de anticorpos antiespermatozóides, a duração destes anticorpos é transitória, não interferindo negativamente nem na produção espermática nem na motilidade dos espermatozóides (ATTIA et al., 2000).

3.0 OBJETIVOS

A morfologia reprodutiva do *Leopardus pardalis*, bem como de muitos outros animais silvestres ainda é pouco conhecida. Assim, com o objetivo de fornecer dados sobre a organização morfofuncional dos componentes do testículo, o presente projeto propôs-se a:

- a) Realizar a morfometria macro e microscópica dos testículos, incluindo proporções volumétricas entre seus componentes;
- b) Caracterizar quali-quantitativamente o tecido intertubular;
- c) Calcular os índices gonadossomático, tubulossomático e leydigossomático;
- d) Calcular o diâmetro dos túbulos e a altura do epitélio seminífero;
- e) Calcular o comprimento do túbulo seminífero, total e por grama de testículo;
- f) Determinar a população celular dos túbulos seminíferos ao longo do estágio 1 do ciclo e calcular o rendimento intrínseco da espermatogênese
- g) Determinar as relações quantitativas entre células da linhagem espermatogênica e células de Sertoli.
- h) Determinar a reserva espermática total e por grama de testículo a cada ciclo do epitélio seminífero.

4.0 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas na presente experimentação cinco jaguatiricas (*Leopardus pardalis*) machos adultos variando de três a nove anos de idade, sendo três oriundos do Centro de Triagem de Animais Silvestres da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais (CETAS-UFV) e dois da Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte conforme autorização IBAMA processo número: 02015003377/04-19. A presente experimentação foi submetida e aprovada pela comissão de ética do Departamento de Veterinária-UFV sob registro número 032/2005.

Os animais foram contidos, pelo uso de dardos anestésicos e mantidos sob anestesia geral, com a utilização da associação quetamina (10mg/kg)/ xilazina (2mg/kg). Todo procedimento foi monitorado, aferindo-se dos animais a temperatura, os movimentos respiratórios e o batimento cardíaco em intervalos de 10 minutos. Os animais foram então, pesados e ambos os testículos mensurados quanto à largura, espessura e comprimento, utilizando-se paquímetro. Através da fórmula do volume da elipse: $\frac{4}{3}\pi ABC$, onde A= metade da largura, B= metade da espessura e C= metade do comprimento, foi calculado o volume testicular em cada animal (MASCARENHAS et al., 2005). Como as mensurações foram realizadas percutaneamente, a espessura da pele também foi mensurada e descontada das dimensões testiculares. O volume testicular foi diretamente convertido em gramas, visto que a densidade volumétrica do testículo de mamíferos é igual a 1,046 (JOHNSON et al, 1981), sendo considerada como 1 por este autor e por outros que trabalham com espermatogênese (PAULA, 1999; GUIÃO-LEITE, 2002; AZEVEDO, 2004; BARROS, 2005).

Após tricotomia e anti-sepsia local com iodo polvidine tópico, a pele do escroto foi incisada e, com o uso de um bisturi circular de quatro mm de diâmetro, foi obtido um fragmento da região média do testículo esquerdo. Este fragmento foi imediatamente imerso em fixador Karnovsky (paraformaldeído 4% e glutaraldeído 5% em tampão fosfato 0,1M pH 7,4) em temperatura ambiente por no mínimo duas horas. Após remoção do fragmento foi realizada a sutura separadamente da albugínea testicular, túnica fibrosa e pele utilizando-se fio absorvível. Para estudos em microscópio de luz os fragmentos foram desidratados em séries de concentrações crescentes de álcoois (50°, 70°, 80°, 90°, 95° e 100° GL) e incluídos em resina plástica à base de glicol metacrilato. Os fragmentos foram

posicionados de modo a oferecer uma secção transversal da albugínea testicular. A partir deste foram obtidos tantos cortes histológicos quanto possível, de modo seqüencial, utilizando-se micrótomo rotativo dotado de navalha de vidro, com três μm de espessura. Os cortes foram corados com solução de azul de toluidina / borato de sódio 1% por um minuto.

Através de uma ocular micrométrica, em aumento de 40 vezes ao microscópio de luz, foi obtida a espessura média da albugínea testicular em 10 secções transversais em cada animal. O volume da albugínea testicular foi obtido pela diferença entre o volume testicular total e o volume do parênquima testicular, este calculado também através da fórmula do volume da elipse, porém utilizando a diferença entre as dimensões testiculares e a espessura da albugínea.

Com auxílio de uma ocular integradora dotada de 100 pontos em aumento de 640 vezes, foi avaliada a proporção volumétrica do túbulo seminífero e do espaço intertubular no parênquima testicular, através da contagem destes elementos teciduais correspondentes aos pontos em dez campos, aleatoriamente distribuídos para cada animal. Inferindo-se a estas proporções o volume total do parênquima testicular, foram obtidos os volumes totais de cada componente testicular em todos os animais. O diâmetro médio dos túbulos seminíferos e a espessura do epitélio seminífero foram obtidos pela média das mensurações de 20 secções transversais de túbulos seminíferos, o mais circular possível, em cada animal, utilizando-se ocular micrométrica.

Devido ao formato cilíndrico do túbulo seminífero, o cálculo do seu comprimento foi baseado na fórmula: comprimento = volume / área da base. O volume foi calculado previamente através da proporção volumétrica do túbulo seminífero no volume testicular e a área da base corresponde à área da secção transversal do túbulo seminífero (πr^2).

A partir do peso calculado para ambos os testículos, para o volume do túbulo seminífero e para o volume das células de Leydig foi possível calcular os índices gonadossomático, índice tubulossomático e leydigossomático, os quais se referem ao percentual de massa corporal alocados respectivamente em gônadas, túbulos seminíferos e células de Leydig.

As populações de células germinativas e de células de Sertoli foram estimadas em cada animal a partir da contagem em 10 secções transversais de túbulos seminíferos no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, segundo o método da morfologia tubular

(BERNDTSON, 1977). Foram considerados os seguintes tipos celulares: espermatogônias do tipo A, espermatócitos primários em pré leptóteno/leptóteno e paquíteno, espermátides arredondadas e células de Sertoli. A contagem obtida para cada tipo celular foi corrigida para o diâmetro nuclear médio e a espessura do corte, utilizando-se a fórmula de ABERCROMBIE (1946) modificada por AMANN (1962). Pelo fato das células de Sertoli apresentarem núcleo irregular, a correção do número das mesmas foi feita a partir do diâmetro nucleolar médio. Neste caso, somente núcleos com nucléolo evidente foram contados. A seguinte fórmula foi utilizada para obtenção do número corrigido:

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

O diâmetro nuclear médio (DM) foi obtido pela média das mensurações de 10 núcleos dos tipos celulares estudados no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero para cada animal. Estas medidas nucleares foram feitas utilizando-se uma régua micrométrica acoplada à ocular 10X em microscópio de luz e com a objetiva de 100X.

A partir da população dos diferentes tipos celulares do epitélio seminífero, foram calculados o coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais, o rendimento meiótico, o rendimento geral da espermatogênese e o índice de células de Sertoli.

Através do número médio corrigido de espermátides arredondadas em secções transversais de túbulos seminíferos obteve-se a população total desta célula a partir da correção para o comprimento total do túbulo por testículo ou por grama de testículo. Desta forma, obteve-se a reserva espermática testicular produzida a cada ciclo do epitélio seminífero.

O cálculo volumétrico do núcleo de células de Leydig baseou-se na fórmula do volume de uma esfera (pr^3) onde r (raio) foi calculado a partir da média dos diâmetros nucleares em cada animal. A partir da proporção volumétrica do núcleo frente ao citoplasma foi calculado o volume de uma célula de Leydig. Inferindo-se o volume total de células de Leydig calculado ao volume individual, obteve-se o número total de células de Leydig por animal e por grama de testículo.

Todos os dados foram analisados quanto à média, desvio padrão e o coeficiente de variação. Em alguns casos foram aplicados teste de coeficiente de correlação e o intervalo de confiança a 5%, segundo a função estatística do programa Excel/Windows XP.

5.0 RESULTADOS

A idade média dos animais estudados foi de 5,6 anos, que apresentaram peso corporal médio de 14,52 kg, comprimento corporal de 89,25 cm e o diâmetro torácico de 48,50 cm (tabela 1). Quanto à biometria testicular, o comprimento, a largura e a espessura dos testículos direito e esquerdo, estão descritos na tabela 1, sendo observado, através do cálculo volumétrico, volume testicular direito médio de 8,49 ml e esquerdo de 8,64 ml, não sendo observada variação estatisticamente significativa entre estas médias. O índice gonadossomático de jaguatiricas adultas foi de aproximadamente 0,12 % (tabela 1).

Tabela 1-Parâmetros biométricos corporais e testiculares, idade e índice gonadossomático de jaguatiricas adultas, mantidas em cativeiro.

Parâmetros	Média ± desvio padrão	Coefficiente de variação
Peso corporal (g)	14520 ± 1782,41	12,27
Comprimento corporal (cm)	89,25 ± 5,12	5,74
Diâmetro torácico (cm)	48,50 ± 1,47	3,0
Idade (anos)	5,60 ± 2,30	41,11
Comprimento do testículo direito (cm)	3,32 ± 0,17	5,14
Largura do testículo direito (cm)	2,59 ± 0,23	8,83
Espessura do testículo direito (cm)	2,51 ± 0,28	11,07
Comprimento do testículo esquerdo (cm)	3,33 ± 0,09	2,75
Largura do testículo esquerdo (cm)	2,51 ± 0,27	10,58
Espessura do testículo esquerdo (cm)	2,64 ± 0,24	9,23
Volume do testículo direito (ml)	8,49 ± 1,35	15,85
Volume do testículo esquerdo (ml)	8,64 ± 0,99	11,51
Volume ambos os testículos (ml)	17,13 ± 2,16	12,60
Índice Gonadossomático (%)	0,12± 0,03	23,90

Em jaguatiricas machos adultas a espessura média da albugínea testicular foi de 1066,25 µm, sendo que o volume calculado para as albugíneas direita e esquerda foi de

4,02 ml, o que representa cerca de 23,42% da massa testicular (tabela 2). Conseqüentemente o parênquima testicular ocupa, em jaguatiricas adultas 76,58 % do testículo, perfazendo em ambos os testículos um volume de 13,12 ml (tabela 2).

Tabela 2-Proporção volumétrica, espessura da albugínea testicular e volumes médios da albugínea e parênquima testiculares de jaguatiricas adultas, mantidas em cativeiro.

Parâmetros	Média ± desvio padrão	Coefficiente de variação
Espessura da albugínea testicular (µm)	1066,25 ± 71,25	6,68
Volume de ambas as albugíneas testiculares (ml)	4,02 ± 0,58	14,47
Volume de ambos os parênquimas testiculares (ml)	13,12 ± 1,58	12,1
Proporção volumétrica da albugínea testicular (%)	23,42 ± 0,56	2,42
Proporção volumétrica do Parênquima testicular (%)	76,58 ± 0,57	0,74

O parênquima testicular de jaguatiricas adultas apresenta 80,58 % de sua massa alocada em túbulos seminíferos e 19,39 % alocado em tecido intertubular, perfazendo respectivamente um volume de 10,53 e 2,58 ml respectivamente (tabela 3). A maior parte do tecido intertubular está alocado em tecido conjuntivo frouxo com presença ainda de células de Leydig e vasos sangüíneos e linfáticos, compondo assim, respectivamente 13,29; 3,90 e 2,20 % do parênquima testicular, o que corresponde a 1,78; 0,51 e 0,28 ml de volume testicular (tabela 3).

Tabela 3-Proporção volumétrica e volume dos diferentes componentes do parênquima testicular de jaguatiricas adultas mantidas em cativeiro.

Parâmetros	Média ± desvio padrão	Coefficiente de variação
Volume total de túbulos seminíferos (ml)	10,53 ± 0,95	9,05
Proporção volumétrica de túbulo seminífero (%)	80,58 ± 4,07	5,06
Volume total de tecido intertubular (ml)	2,58 ± 0,79	30,77
Proporção volumétrica de tecido intertubular (%)	19,39 ± 4,04	20,86
Volume total de células de Leydig (ml)	0,51 ± 0,19	36,21
Proporção volumétrica de células de Leydig (%)	3,90 ± 1,33	34,16
Volume total de tecido conjuntivo (ml)	1,78 ± 0,78	43,88
Proporção volumétrica de tecido conjuntivo (%)	13,29 ± 4,40	33,16
Volume total de vasos sangüíneos e linfáticos (ml)	0,28 ± 0,04	15,93
Proporção volumétrica de vasos sangüíneos e linfáticos (%)	2,20 ± 0,63	28,86

O diâmetro da secção transversal de túbulos seminíferos na jaguatirica adulta foi de 211,37 μm , enquanto a espessura média do epitélio seminífero foi de 75,38 μm (tabela 4). A jaguatirica adulta apresenta em torno de 301,02 metros de túbulos seminíferos em ambos os testículos perfazendo uma média de 17,81 metros por grama de testículo (tabela 4). Em jaguatiricas adultas observa-se índice tubulossomático de 0,074% (tabela 4).

Tabela 4-Diâmetro, comprimento total e por grama de testículo de túbulo seminífero, espessura do epitélio seminífero e índice tubulossomático em jaguatiricas adultas mantidas em cativeiro.

Parâmetros	Média ± desvio padrão	Coefficiente de variação
Diâmetro do túbulo seminífero (µm)	211,37 ± 13,86	6,56
Espessura do epitélio seminífero (µm)	75,38 ± 6,34	8,41
Comprimento total de túbulos seminíferos (m)	301,02 ± 26,9	8,94
Comprimento de túbulos seminíferos por grama de testículo (m/g)	17,81 ± 2,87	16,13
Índice tubulossomático	0,074 ± 0,013	18,30

Na tabela 5 estão descritas as médias das diferentes populações corrigidas de células germinativas e células de Sertoli, obtidas a partir da contagem em secções transversais de túbulos no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero de jaguatiricas adultas. Ainda na tabela 5, pode-se observar que, a reserva espermática testicular total é de cerca de seis bilhões de espermátides, sendo desta forma, aproximadamente 360 milhões de espermátides produzidas a cada ciclo do epitélio seminífero por grama de testículo.

As relações populacionais indicativas do rendimento intrínseco da espermatogênese de jaguatiricas adultas revelam que 16,85 espermatócitos primários são produzidos por espermatogônias no início do processo espermatogênico e 3,14 espermátides são produzidas durante a fase meiótica sendo aproximadamente 57 destas liberadas, a partir de uma espermatogônia (tabela 5). A capacidade suporte de células de Sertoli na jaguatirica adulta é de 14,38 células germinativas, sendo 8,76 destas, espermátides arredondadas (Tabela 5).

Tabela 5-População celular corrigida por secção transversal de túbulo seminífero, índices indicativos do rendimento intrínseco da espermatogênese, capacidade suporte das células de Sertoli e reserva espermática total e por grama de testículo de jaguatiricas adultas mantidas em cativeiro.

Parâmetros	Média ± desvio padrão	Coefficiente de variação
Espermatogônias A	1,06 ± 0,2	19,06
Células de Sertoli	6,86 ± 0,87	12,70
Espermatócitos primários em pré-leptóteno/ leptóteno	17,78 ± 2,91	16,38
Espermatócitos primários em paquíteno	19,22 ± 3,39	17,61
Espermátides arredondadas	59,5 ± 8,9	15,02
Reserva espermática testicular total	60,7x 10 ⁸ ± 5,8x 10 ⁸	9,60
Reserva espermática por grama de testículo	365,6 x 10 ⁶ ± 36,42 x 10 ⁶	10,21
Coefficiente de mitoses espermatogoniais	16,85 ± 1,98	11,73
Rendimento meiótico	3,14 ± 0,47	14,86
Rendimento geral	56,96 ± 9,79	17,18
Índice de células de Sertoli por espermátides	8,76 ± 1,6	18,35
Índice de célula de Sertoli por total de células germinativas	14,38 ± 2,49	18,33

A célula de Leydig da jaguatirica apresentou-se uninucleada e com o núcleo arredondado contendo uma fina camada de heterocromatina ao longo do envoltório nuclear e na maioria das vezes, com um único nucléolo. Observaram-se ainda quantidades variáveis de pigmentos de lipofuccina em seu citoplasma (Figura 3).

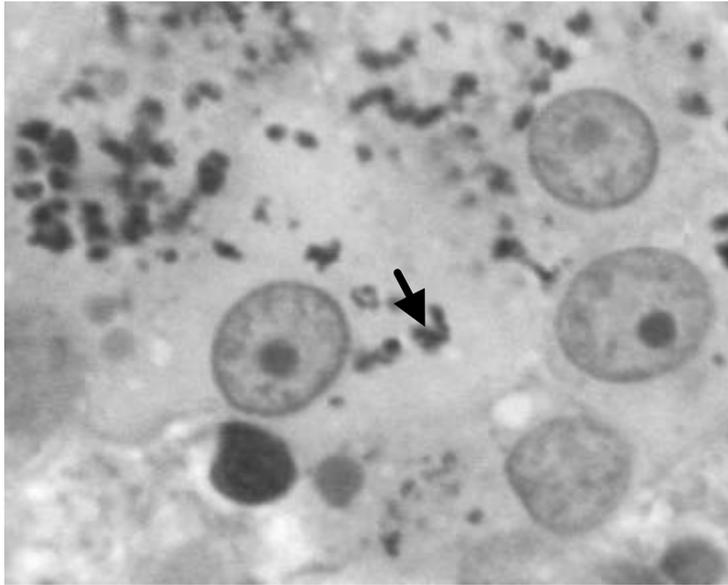


Figura 3. Células de Leydig de jaguatirica adulta, com pigmentos de lipofuscina (seta) em seu citoplasma. (1900X).

O diâmetro nuclear médio das células de Leydig destes animais, foi de 8,48 μm . Utilizando-se cálculo volumétrico a partir de seu raio, observou-se que o volume nuclear destas células foi de 320,25 μm^3 , sendo que este ocupa 35,11 % do total da célula. Assim, o volume unitário da célula de Leydig nestes animais é de 913,39 μm^3 (tabela 6). A jaguatirica adulta apresenta cerca de 569,63 milhões de células de Leydig em ambos os testículos, o que significa um total de 33,39 milhões de células de Leydig por grama de testículo (tabela 6). Quanto ao investimento em células de Leydig, a jaguatirica adulta apresenta índice leydigossomático de 0,0036% (tabela 6).

Tabela 6-Volume celular e nuclear, diâmetro nuclear, volume nuclear, relação núcleo/citoplasmática, número total e por grama de testículo de células de Leydig e índice leydigossomático de jaguatiricas adultas mantidas em cativeiro.

Parâmetros	Média ± desvio padrão	Coefficiente de variação
Volume de uma célula de Leydig (μm^3)	913,39 ± 90,2	9,87
Diâmetro do núcleo (μm)	8,48 ± 0,27	3,23
Volume nuclear (μm^3)	320,25 ± 31,80	9,93
Relação núcleo citoplasma (%)	35,11 ± 2,07	5,90
Número de células totais	569,63x 10 ⁶ ± 239,55x 10 ⁶	42,05
Número de células /g testículo	33,39 x 10 ⁶ ± 13,53x 10 ⁶	40,57
Índice leydigossomático (%)	0,0036 ± 0,0015	41,60

6.0 DISCUSSÃO

A idade dos animais estudados foi estimada a partir do tempo de cativeiro e desgaste dentário. A amplitude observada foi de três a nove anos com média de 5,6 anos sendo desta forma, todos considerados sexualmente maduros, uma vez que segundo a literatura, a maturidade sexual é atingida entre 24 e 30 meses de idade (FAGEN & WILEY, 1978; GREEN, 1991; EMMONS, 1988).

A maturidade sexual está fortemente vinculada ao peso corporal médio adulto, (próximo dos 15 kg, GRUFFYDD-JONES, 1993), sendo que 89% dos animais atingem este peso em torno de 20 a 23 meses de idade (TEWES, 1986) e aos 24 a 30 meses todos os animais apresentam o peso adulto (EMMONS, 1988).

Segundo WIELOCH et al. (1997), o tamanho corporal médio de jaguatiricas adultas varia de 50 cm a 1 metro. Os animais da presente experimentação apresentaram tamanho corporal médio dentro da amplitude descrita, com média de 89,25 cm.

O diâmetro torácico é um parâmetro rotineiramente empregado na biometria corporal de animais silvestres. Nas jaguatiricas deste estudo, o diâmetro torácico foi em média de 48,50 cm, apresentando maior correlação com o peso corporal ($r = 0,9$) do que com o tamanho do corpo ($r = 0,49$), sendo desta forma o parâmetro mais importante na previsão do peso corporal.

O volume testicular em jaguatiricas adultas foi obtido pelo cálculo volumétrico utilizando-se da fórmula da esfera, modificada para uma elipse ($vol = 4/3 \pi r^3$). Segundo MASCARENHAS et al. (2005), esta fórmula oferece resultados volumétricos da mensuração testicular altamente relacionado ao real peso testicular em cães. Uma vez que o volume do testículo apresenta densidade próxima a 1,0 (1,046 g/ml, JOHNSON et al., 1981), seu volume foi, em alguns casos, convertido diretamente em gramas no presente experimento. A massa de ambos os testículos foi em média 17,13 g correspondendo a 0,12 % da massa corporal em jaguatiricas adultas.

Segundo KENAGY & TROMBULAK (1986), uma maior alocação e dispendimento energético em massa testicular são observadas em animais de menor porte, em relação a animais de maior massa corporal, assim como também é observada a forte influência do sistema de acasalamento no índice gonadossomático. Segundo estes mesmos

autores, animais com reprodução poligâmica ou monogâmica apresentam menor investimento corporal relativo em massa testicular, que animais com sistemas poliândricos ou promíscuos. Neste sentido maior investimento no índice gonadossomático (IGS) era esperado na jaguatirica, em relação aos grandes felinos. Assim, as jaguatiricas adultas estudadas apresentaram IGS médio de 0,12% enquanto leões africanos adultos apresentaram 0,015% (BARROS, 2005), onça pintada 0,034% (AZEVEDO, 2004) e a onça parda 0,03% (GUIÃO-LEITE, 2002). Porém, não obstante a maior massa corporal, jaguatiricas adultas apresentaram IGS acima dos observados para pequenos felinos como o gato doméstico que apresentou 0,07% (GODINHO, 1999) e o gato do mato africano que apresentou IGS de 0,05% (KENAGY & TROUMBULAK, 1986). Somando-se à sua maior massa corporal a forte tendência à poligamia, uma vez que o território do macho sobrepõe ao de várias fêmeas (WIELOCH et al., 1997), o maior investimento da jaguatirica em massa testicular, em relação aos pequenos felinos, não se adequa ao descrito por KENAGY & TROUMBULAK (1986) (Figura 4).



Figura 4. Jaguatirica macho adulta, demonstrando grande volume escrotal e conseqüente maior investimento em massa testicular em relação aos demais felinos.

Na maioria das espécies domésticas, a proporção volumétrica da albugínea e mediastino testiculares é geralmente em torno de 10% (FRANÇA & RUSSELL, 1998).

Porém, em carnívoros estas estruturas se mostram mais abundantes. Assim, GODINHO (1999) observou no gato doméstico valores próximos de 18%, MASCARENHAS et al. (2005) descreveram valores similares para o cão, assim como BARROS et al. (2004) em leões africanos. Em concordância, as jaguatiricas adultas utilizadas no presente experimento apresentaram proporção volumétrica média da albugínea testicular acima do observado para os animais domésticos, e acima ainda do observado para os carnívoros, tornando esta espécie aquela que apresenta a maior proporção de albugínea entre as já estudadas (23,42%).

O termo parênquima testicular é amplamente utilizado na literatura para se referir à massa testicular desprovida de albugínea e mediastino testiculares (BERNDTSON, 1977; JOHNSON et al., 1981; RUSSELL et al., 1990; JOHNSON et al., 2000). O parênquima testicular é dividido em dois compartimentos: o tubular e o intertubular (AMANN, 1970; FAWCETT et al., 1973; AMANN & SCHANBACHER, 1983; RUSSELL et al., 1990). Porém, em trabalhos descritivos que obtém fragmentos testiculares por meio de biópsia o mediastino não pode ser quantificado.

Com exceção dos baixos valores descritos para a marmota e para a capivara (FAWCETT et al., 1973; PAULA, 1999), a maioria dos animais investigados apresenta entre 70 e 90% de túbulos seminíferos no parênquima testicular (FRANÇA & RUSSELL, 1998; PAULA, 1999). A jaguatirica macho adulta apresentou em média 80,58 % do parênquima alocado em túbulos seminíferos, menor que o observado para o gato doméstico (90%, GODINHO, 1999), porém muito próximo aos valores observados em outros felinos silvestres como a onça parda (78%, GUIÃO-LEITE, 2002), a onça pintada (77,7%, AZEVEDO, 2004) e o leão africano (75,6 % BARROS et al., 2004). O compartimento tubular do parênquima testicular, como seu principal componente, exerce grande influência sobre o peso testicular e, por consequência, sobre a produção espermática (AMANN, 1970; FRANÇA & RUSSELL, 1998; PAULA, 1999).

O outro compartimento do parênquima testicular é o espaço intertubular ou tecido intertubular. Neste, encontra-se a porção endócrina do testículo, representada pelas células de Leydig, associada às células e fibras conjuntivas, leucócitos, vasos sanguíneos e linfáticos (FAWCETT et al., 1973). Segundo estes autores, a drenagem linfática aliada à quantidade de células de Leydig e tecido conjuntivo frouxo nas diferentes espécies segue,

em geral, três padrões distintos: I) espécies nas quais as células de Leydig e o tecido conjuntivo ocupam uma área muito pequena no compartimento intertubular, contrastando com extensos sinusóides ou espaços linfáticos; II) espécies que apresentam grupos de células de Leydig espalhado em tecido conjuntivo frouxo abundante e edemaciado, o qual é drenado por um vaso linfático localizado central ou excêntrica no espaço intertubular; e III) espécies nas quais abundantes grupamentos de células de Leydig ocupam praticamente todo o compartimento intertubular, apresentando pouco tecido conjuntivo e vasos linfáticos. Apesar do pouco conhecimento a respeito das implicações fisiológicas destas variações, FAWCETT et al. (1973) e RUSSELL (1996), especulam que estejam provavelmente relacionadas com a habilidade dos vasos linfáticos em moverem para fora dos testículos materiais vascularmente secretados, e manterem as concentrações adequadas de andrógenos no testículo e vasos sanguíneos.

Em semelhança ao observado para os demais felinos estudados, como o gato doméstico (GODINHO, 1999), a onça parda (GUIÃO LEITE, 2002), a onça pintada (AZEVEDO, 2004) e o leão africano (BARROS, 2005), a jaguatirica adulta também apresenta o padrão do tipo II na classificação de FAWCETT et al., (1973) (Figura5). Nas jaguatiricas, o tecido conjuntivo é o componente mais abundante do tecido intertubular dentre os felinos estudados, sendo esta relação semelhante somente ao observado na onça parda. Assim 13,29% do parênquima testicular são alocados em tecido conjuntivo na jaguatirica e 8,3% observado na onça parda, (GUIÃO LEITE 2002). Já nos demais felinos estudados a célula de Leydig é o principal componente do espaço intertubular, ocupando 15% do parênquima testicular no leão africano (BARROS, 2005), 13% na onça pintada (AZEVEDO, 2004) e 6% no gato doméstico (GODINHO, 1999), na jaguatirica esta proporção é de 3,9%.

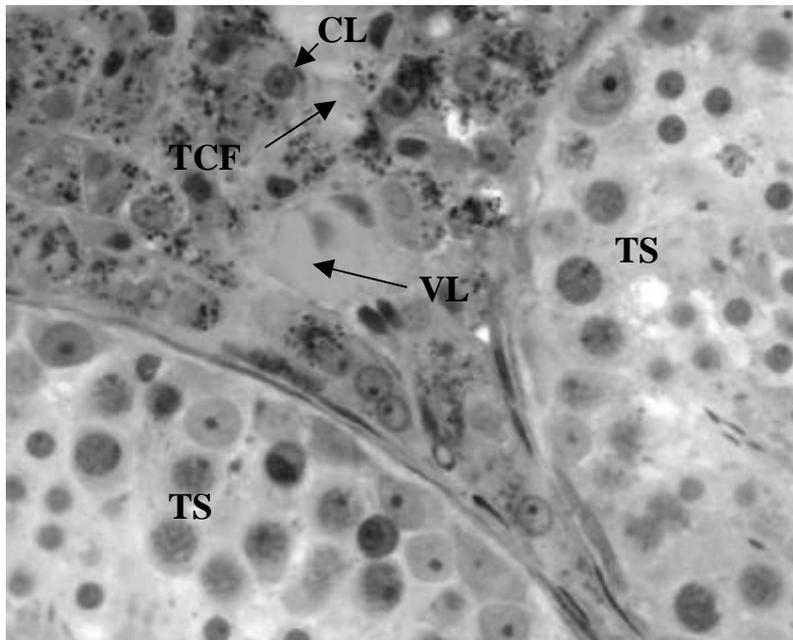


Figura 5. Tecido intertubular de jaguatirica (*Leopardus pardalis*) adulta. CL-célula de Leydig; VL-Vaso linfático; TCF-Tecido conjuntivo frouxo; TS-túbulo seminífero (648X).

Todos os parâmetros quantitativos relacionados com o túbulo seminífero, tais como: o diâmetro tubular, a espessura do epitélio seminífero e o comprimento total e por grama de testículo, apresentam relação positiva com a atividade espermatogênica (FRANÇA & RUSSELL, 1998; PAULA, 1999).

A medida do diâmetro tubular é uma das abordagens utilizadas como indicador da atividade espermatogênica em experimentos que envolvam a função testicular (ATTAL & COURROT, 1963; GODINHO & CARDOSO, 1979; SINHÁ-HIKIM et al., 1991; RUSSELL et al., 1994; MUÑOZ et al., 1998; FRANÇA & CARDOSO, 1998). O valor observado para a maioria dos amniotas, quanto ao diâmetro médio do túbulo seminífero varia de 180 a 300 μm (ROOSEN-RUNGE, 1977). Nas jaguatiricas estudadas o diâmetro médio da secção transversal do túbulo seminífero foi 211,37 μm , menor que o valor observado para os demais felinos estudados, cujos valores estão próximos de 250 μm , (GODINHO, 1999; GUIÃO-LEITE, 2002; AZEVEDO, 2004; BARROS, 2005).

A espessura média observada para o epitélio seminífero de jaguatiricas adultas foi

de 75,38 μm . Além de apresentar-se dentro da amplitude observada para os animais domésticos (60 a 100 μm , FRANÇA & RUSSELL, 1998), assemelha-se aos valores observados para outros felinos como, o leão africano (93,2 μm , BARROS, 2005), a onça pintada (90,3 μm , AZEVEDO, 2004), o gato doméstico (81 μm , GODINHO, 1999) e a onça parda (67 μm , GUIÃO-LEITE, 2002). Segundo WING E CHRISTENSEN (1982), a mensuração da espessura do epitélio seminífero é um parâmetro mais efetivo para a avaliação da produção espermática do que o diâmetro tubular, uma vez que foram observadas diferenças significativas no diâmetro tubular, acompanhando as variações do ciclo do epitélio seminífero.

A quantificação métrica do túbulo seminífero por unidade de massa testicular, diferente da quantificação total, é um parâmetro produtivo que permite a comparação entre animais de diferentes portes. Neste sentido, jaguatiricas adultas apresentam valores semelhantes aos observados para onça parda, respectivamente 17,81 e 18 metros de túbulo seminífero por grama testicular, valores estes menores que aqueles observados para o gato doméstico (23m/g, GODINHO, 1999), porém, maiores do que os descritos para a onça pintada (12,2m/g, AZEVEDO, 2004) e leão africano (12,4 m/g, BARROS, 2005).

O índice tubulossomático (ITS) é um parâmetro que visa quantificar o investimento em produção espermática com relação à massa corporal. Acompanhando a tendência apresentada nos valores do índice gonadossomático, a jaguatirica apresentou também o maior investimento somático em túbulos seminíferos observados entre os felinos já estudados, ou seja, 0,074% da massa corporal alocado em túbulos seminíferos. Este valor é próximo àquele observado no gato doméstico (0,063%, GODINHO, 1999), porém, demonstra um maior investimento corporal na produção espermática nestas espécies em relação a felinos de maior porte como o leão africano (0,011%, BARROS, 2005), onça parda e pintada (0,02%, GUIÃO-LEITE, 2002; AZEVEDO, 2004), reafirmando a tendência descrita por KENAGY & TROUMBULAK (1986) quanto ao investimento inverso na produção espermática em relação à massa corporal.

Assim como nas demais espécies estudadas, em jaguatiricas adultas, as células germinativas estão arranjadas de forma organizada numa série bem definida de associações celulares, ou estádios, ao longo do tempo. O sistema empregado na classificação destes estádios, na jaguatirica, é aquele baseado na forma e na localização dos núcleos das

espermátides e na presença de figuras de divisões meióticas. Este sistema, designado como método da morfologia tubular por BERNDTSON (1977), permite a padronização de oito estádios do ciclo em todos os mamíferos. Estes estádios refletem a combinação de distintas gerações de células germinativas, em diferentes etapas do processo espermatogênico, ao longo do epitélio seminífero em um corte transversal. Semelhante ao observado nos demais mamíferos, no estágio 1 o epitélio seminífero da jaguatirica apresenta uma camada basal composta por espermatogônias do tipo A e espermatócitos primários na fase de pré-leptóteno/leptóteno, em sua camada intermediária apresenta uma geração de espermatócitos primários na fase de paquíteno, uma camada adluminal com espermátides arredondadas (Figura 6).

Em todos os mamíferos investigados somente 15% a 50% dos espermatozóides teoricamente esperados são realmente produzidos (HUCKINS, 1978; CASTRO et al., 1997; FRANÇA & RUSSELL, 1998; SWERDLOFF et al., 1998). Isto, provavelmente, é decorrente de degeneração densidade-dependente, onde a apoptose é o mecanismo homeostático utilizado para limitar as células germinativas a um número que possa ser suportado pelas células de Sertoli disponíveis (HUCKINS, 1978; DE ROOIJ & JANSSEN, 1987; DE ROOIJ & LOK, 1987; SHARPE, 1994; DE ROOIJ, 1998; SANTOS, 1999). Desta forma, as perdas celulares são um componente integrante do processo espermatogênico. Durante a fase proliferativa da espermatogênese na jaguatirica, 16,8 espermatócitos primários são produzidos pela espermatogônia do tipo A. Embora este valor esteja dentro da amplitude apontada para a maioria dos animais domésticos (14,6 a 24,8; FRANÇA & RUSSELL, 1998), demonstra ser o coeficiente de eficiência das mitoses espermatogoniais bem superior àqueles observados em todos os felinos já estudados como o leão africano (10,3; BARROS 2005), a onça parda (7,7; GUIÃO-LEITE, 2002), a onça pintada (9,2; AZEVEDO, 2004) e o gato doméstico (8,4; GODINHO, 1999).

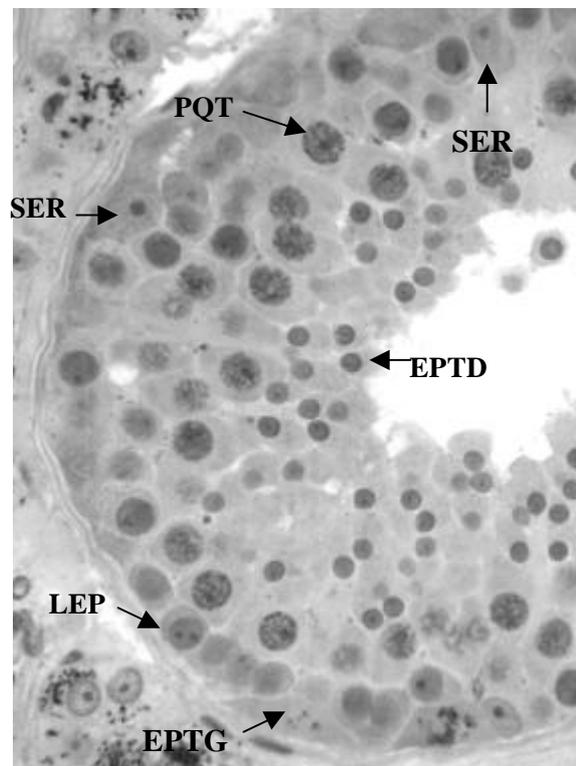


Figura 6. Estádio 1 do ciclo do epitélio seminífero de jaguatirica macho adulta, caracterizado pelo método da morfologia tubular. EPTG- espermatogônia do tipo A; PQT- espermatócito primário em paquíteno; LEP- espermatócito primário em pré-leptóteno/leptóteno; EPTD-espermátide arredondada; SER- célula de Sertoli. (550X).

Durante a fase meiótica do processo espermatogênico da jaguatirica, apenas 3,14 espermátides foram produzidas em média, o que significa perda de 21,5 % nesta fase. De forma geral nos mamíferos, esta perda é em torno de 25%, ou seja, de cada quatro espermátides arredondadas teoricamente esperadas, três são formadas (FRANÇA & RUSSELL, 1998). A maior parte dos pesquisadores cita que as perdas celulares que ocorrem na meiose fazem parte do mecanismo de eliminação de células com cromossomos anormais (ROOSEN-RUNGE, 1973; SHARPE, 1994), sendo este, o provável mecanismo causador da infertilidade na maioria dos animais híbridos (BENIRSCHKE et al., 1962; HERNÁNDEZ-JAUREGUI & MONTER, 1977). Em relação aos demais felinos a

jaguarica aproxima-se ao rendimento meiótico observado para a onça pintada (perda de 20%, AZEVEDO, 2004), sendo, porém, mais eficiente aos observados em leões africanos (perda de 33%, BARROS, 2005), no gato doméstico (perda de 30%, GODINHO, 1999) e na onça parda (perda de 25%, GUIÃO-LEITE, 2002).

O rendimento geral da espermatogênese é uma mensuração da eficiência do processo espermatogênico como um todo, e é calculado a partir da população de espermátides arredondadas por secção transversal do túbulo seminífero. Sua confiabilidade como índice de avaliação da produção de espermatozóides, é embasada no fato de que as perdas durante o processo espermiogênico são consideradas pequenas e não significativas (AMANN, 1970; BERNDTSON, 1977; RUSSELL & PETERSON, 1984; JOHNSON, 2000). O rendimento geral da espermatogênese de jaguaricas adultas é de aproximadamente 57 células, ou seja, 57 espermatozóides são produzidos a cada ciclo do epitélio seminífero a partir de uma espermatogônia do tipo A. Este valor está dentro da amplitude observada para a maioria dos animais domésticos (37,4 a 74,2 FRANÇA & RUSSELL, 1998), porém muito acima do rendimento observado nos demais felinos estudados como, o leão africano 22,1 (BARROS, 2005), a onça parda 22,7 (GUIÃO-LEITE, 2002), a onça pintada 23,4 (AZEVEDO, 2004) e o gato doméstico 16,3 (GODINHO 1999).

A reserva espermática testicular quantifica o número potencial de espermatozóides em produção no testículo ou por grama de testículo, a cada ciclo do epitélio seminífero de uma dada espécie (AMANN & LAMBIASE, 1969; BERNDTSON, 1977). Para o cálculo da reserva espermática testicular utiliza-se a população de espermátides arredondadas no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, considerando-se que as perdas durante o processo espermiogênico são pequenas e não significativas (AMANN, 1970; BERNDTSON, 1977; RUSSELL & PETERSON, 1984; JOHNSON, 2000).

O valor médio observado para a reserva espermática por grama de testículo em jaguaricas adultas foi de 356×10^6 , acima do observado para a maioria dos animais domésticos (120 a 260×10^6 ; FRANÇA & RUSSELL, 1998) e demais felinos estudados como o leão africano ($103,6 \times 10^6$; BARROS, 2005), a onça parda ($268,0 \times 10^6$; GUIÃO-LEITE, 2002), onça pintada ($165,9 \times 10^6$; AZEVEDO, 2004) e gato doméstico (157×10^6 ; GODINHO, 1999), colocando assim a jaguarica adulta como um dos animais a apresentar

as maiores reservas espermáticas por grama de testículo já observado. Embora comparações quanto à reserva espermática testicular por grama de testículo sejam extremamente válidas em avaliações interespecíficas, é necessário ter em mente que este parâmetro é relativo à duração de um ciclo do epitélio seminífero, que por sua vez é uma constante biológica espécie-específica (ORTAVANT et al., 1977; AMANN & SCHANBACHER, 1983).

A população de células de Sertoli é o principal fator na determinação da produção espermática e no tamanho do testículo (FRANÇA et al., 1995), uma vez que esta célula desempenha funções primordiais na morfofisiologia da espermatogênese. Sendo sua interação com as células germinativas é de fundamental importância para a manutenção da produção espermática normal (GRISWOLD, 1995). A definição de compartimentos, com a formação de uma barreira hemato-testicular, devido à existência de junções especiais entre as células de Sertoli, acentua a dependência das células germinativas à ação destas células. Como prova disso, as células da linhagem germinativa, além de isoladas, não apresentam receptores para gonadotropinas e andrógenos. Desta forma, os efeitos endócrinos na espermatogênese ocorrem através de ações indiretas da célula de Sertoli (PARKS et al., 2003).

Entre as diferentes espécies estudadas, a capacidade de suporte das células de Sertoli é extremamente variada, mas esta capacidade é uma relação espécie-específica (RUSSELL & PETERSON, 1984; FRANÇA & RUSSELL, 1998; FRANÇA et al., 1999). Em jaguatiricas adultas a capacidade suporte das células de Sertoli é de aproximadamente 14,38 células da linhagem espermatogênica, sendo semelhante ao descrito para o leão africano (14,9; BARROS, 2005), acima dos valores observados para a onça parda (12,5; GUIÃO-LEITE, 2002) e para o gato doméstico (9,8; GODINHO, 1999), e inferior àquele descrito para a onça pintada (19,2; AZEVEDO, 2004). Porém, o melhor indicativo da eficiência funcional das células de Sertoli refere-se à sua capacidade de manutenção das espermátides arredondadas (RUSSELL & PETERSON, 1984; SHARPE, 1994), assim, cada célula de Sertoli do epitélio seminífero de jaguatiricas adultas é capaz de manter 8,75 espermátides arredondadas, média superior ao descrito para a onça parda (7,3; GUIÃO-LEITE, 2002) e gato doméstico (5,1; GODINHO, 1999), todavia inferior ao registrado em onças pintadas (11; AZEVEDO, 2004), mas próximo à média descrita para as espécies domésticas (FRANÇA & RUSSELL, 1998) e para o leão africano (7,9; BARROS, 2005).

Para o seu perfeito funcionamento, a célula de Sertoli depende de interações endócrinas, parácrinas e de relações celulares. Dentre as mais estudadas, estão às interações físicas e parácrinas com as células germinativas (YE et al., 1993; CAVICCHIA et al., 1998; BOUJRAD et al., 1995), com as células peritubulares (DYM, 1994; PARKS et al., 2003), e com as células de Leydig (LEJEUNE et al., 1998; MENDIS-HANDAGAMA & ARIYARATNE, 2001), destacando-se estas últimas.

Como verificado no citoplasma da célula de Leydig da onça-pintada, observa-se grande quantidade de lipofuscina, ou pigmento lipocromo, nas células de Leydig da jaguatirica adulta (Figura 3). Este pigmento é considerado uma forma semidegradada de lipídio, envolvido em membrana e tem sido relatado ainda em células de Leydig de cobaio, tatu, e humanos (RUSSELL, 1996).

Em jaguatiricas adultas o volume médio de uma célula de Leydig foi de $913,39\mu\text{m}^3$, muito abaixo para o observado nos diferentes felinos pesquisados como o leão africano ($1894,6\mu\text{m}^3$, BARROS, 2005), a onça pintada ($2386\mu\text{m}^3$, AZEVEDO, 2004) e o gato doméstico ($2044\mu\text{m}^3$, GODINHO, 1999), abaixo ainda dos valores relatados para os roedores de laboratório e o homem (RUSSELL, 1996). Já o diâmetro e o volume nuclear médio da célula de Leydig da jaguatirica, $8,48\mu\text{m}$ e $320,25\mu\text{m}^3$ respectivamente, mostraram-se próximos aos valores observados para a onça-pintada ($7,7\mu\text{m}$ e $240\mu\text{m}^3$, AZEVEDO, 2004) e o gato doméstico ($7,9\mu\text{m}$ e $261\mu\text{m}^3$, GODINHO, 1999). Na maioria dos animais estudados, o núcleo da célula de Leydig corresponde de 10 a 19% do volume total da célula (FRANÇA & RUSSELL, 1998). Na jaguatirica adulta este parâmetro corresponde a 35,11%, muito acima do observado para a onça-pintada (10%, AZEVEDO, 2004) e para o leão africano (7,4%, BARROS, 2005).

Entretanto, apesar do pequeno volume unitário das células de Leydig em jaguatiricas adultas, o número médio por grama de testículo, que foi de $33,39 \times 10^6$, apresentou-se dentro da amplitude descrita para a maioria dos mamíferos, entre 20 e 40 milhões (RUSSELL, 1996; RUSSELL & FRANÇA, 1998), e semelhante ao observado a onça pintada ($39,4 \times 10^6$, AZEVEDO, 2004). Desta forma, a quantidade de células de Leydig parece variar bastante variada entre indivíduos e entre espécies de mamíferos, não sendo esta variação encontrada para outras glândulas endócrinas (FAWCETT et al., 1973; PAULA, 1999). No intuito de se avaliar a variação individual destas células na jaguatirica

adulta, inferiu-se à massa corporal a proporção volumétrica de células de Leydig, obtendo-se assim o índice leydigossomático. Esse índice representa o percentual da massa corporal alocada em células de Leydig. Em jaguatiricas, as células de Leydig ocupam 0,0036% da massa corporal, semelhante ao observado para a onça-pintada (0,0036%, AZEVEDO, 2004) e para o leão africano (0,0023%, BARROS, 2005). Visto que a capacidade produtiva da célula de Leydig está altamente correlacionada com sua quantidade de retículo endoplasmático liso e que variações na secreção de testosterona resultam mais da capacidade individual desta célula do que de diferenças volumétricas totais (EWING et al., 1979), há uma necessidade espécie-específica no requerimento destas células.

7.0 CONCLUSÕES

1-A jaguatirica macho adulta apresenta 0,12% do peso corporal alocado em gônadas, sendo este o maior índice gonadossomático registrado em relação aos felinos já estudados.

2-Jaguatiricas machos adultas apresentam grande investimento no estroma testicular, com as maiores proporções volumétricas observadas entre os mamíferos já estudados, de tecido conjuntivo intertubular e albugínea testicular.

3-As jaguatiricas machos adultas possuem o maior coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais e rendimento geral da espermatogênese registrados entre todos os felinos já estudados, porém, com uma capacidade de suporte das células de Sertoli dentro da amplitude observada para os demais felinos.

4-A reserva de espermátides produzidas a cada ciclo do epitélio seminífero, por grama de testículo, registrado para as jaguatiricas adultas é a maior já documentada entre os mamíferos já estudados.

5-Embora as jaguatiricas possuam células de Leydig com pequeno volume unitário o número por grama de testículo é semelhante ao dos demais felinos estudados.

6-As jaguatiricas machos adultas apresentaram o maior investimento somático em túbulos seminíferos observados entre os felinos já estudados.

7-O diâmetro tubular médio nas jaguatiricas machos adultas foi menor que o valor observado nos demais felinos estudados.

8-A espessura média observada para o epitélio seminífero de jaguatiricas adultas apresentou-se dentro da amplitude observada para os animais domésticos e para os demais felinos estudados.

9-O comprimento do túbulo seminífero nas jaguatiricas estudadas apresentou valores semelhantes aos observados para onça parda, porém menores que os do gato doméstico e maiores do que os descritos para a onça pintada e leão.

8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABERCROMBIE, M. 1946. Estimation of nuclear populations from microtome sections. *Anat. Rec.*, v. 94, p.238-248.
- AMANN, R.P. 1970. *Sperm production rates*. In: JOHSON, A.D., GOMES, W.R.,VANDEMARK, N.L. (eds). *The testis*. New York: Academic Press., p. 433-482.
- AMANN, R.P., ALMQUIST, J.O. 1962. Reproductive capacity of dairy bulls. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. *J. Dairy Sci.*, v.45, p.774-781.
- AMANN, R.P., LAMBIASE, J.T. 1969. The male rabbit III. Determination of daily sperm production hy means of testicular homogenates. *J. Anim. Sci.*, v. 28, p.369-374.
- AMANN, R.P., SCHANBACHER, B.D. 1983. Physiology of male reproduction. *J. Anim Sci Suppl.*, v.57, p.380-403.
- ANIMAL PLANET. Disponível em: <<http://animal.discovery.com/fansites/jeffcorwin/carnival/>>. Acesso em: 20 de janeiro de 2006.
- ATTAL, J., COUROT, M. 1963. Développement testiculaire et établissement de la spermatogénèse chez le taureau. *Anim. Bioch. Biophys.*, v.3, p.219-241.
- ATTIA, K.A., ZAKI, A.A., EILTS, B.E., PACCAMONT, D.L., HOSGOOD, G., DIETRICH, M.A., HOROHOV, D.W., BLOWIN, D.C. 2000. Anti-sperm antibodies and seminal characteristics after testicular biopsy or epididymal aspiration in dogs. *Theriogenol.*, n. 53, p. 1355-1363.

- AZEVEDO, M.H.F. Análise morfofuncional do testículo da onça pintada (*Panthera onca*) adulta. Viçosa: Departamento de Veterinária, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFV, 2004. 63p. Dissertação (Mestrado em Morfologia).
- BARROS, J.B.G., PAULA, T.A.R., AZEVEDO, M.H.F., GUIÃO LEITE, F.L., ROSSI Jr, J., MATTA, S.L.P., OLIVEIRA, P.C. 2004. Population of the seminiferous epithelium, intrinsic yield of spermatogenesis and Sertoli cells index in adult lions (*Panthera leo*) raised in captivity. 5th *International Symposium on Canine and Feline Reproduction*, Rio de Janeiro, RJ, p.166-168.
- BARROS, J.B.G. Análise Morfofuncional do testículo e espermatogênese de leões africanos (*Panthera leo*, Linnaeus, 1758) adultos. Viçosa: Departamento de Veterinária, Centro de Ciências Biológicas da UFV, 2005. 64p. Dissertação (Mestrado em Morfologia).
- BENIRSCHKE, K., BROWNHILL, L.E., BEATH, M.M. 1962. Somatic chromosomes of the horse, the donkey and their hybrids, the mule and the hinny. *J. Reprod. Fertil.*, v.4, p.319-326.
- BERNDTSON, W.E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. *J. Anim. Sci.*, v.44, n.5, p.818-83.
- BITTENCOURT, V.L. Avaliação morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811), adulto. Viçosa: Departamento de Veterinária, Centro de Ciências Biológicas da UFV, 2003. 65p. Dissertação (Mestrado em Morfologia).
- BOUJRAD, N., HOCHEREAU-de-RIVIERS, M.T., CARREAU, S. 1995. Evidence for germ cell control of cell function in three models of germ cell depletion in adult rat. *Biol. Reprod.*, v.53, p.1345-1352.

- BRAZILIAN OCELOT. Disponível em: <<http://www.senecaparkzoo.org/resources/pdf/ocelot.pdf>> Acesso em : 20 de janeiro de 2006.
- CABALLOS, G., MIRANDA, A. 1986. Los mamíferos de Chamela, Jalisco. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México. p. 436.
- CASTRO, A.C.S., BERNDTSON, W.E., CARDOSO, F.M. 1997. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em estudos da reprodução de mamíferos. *Rev. Bras. Rep. Anim.*, v. 21, n. 1, p. 25-34.
- CAVICCHIA, J.C., SACERDOTE, A., ZHU, B.C. 1998. Cell nuclear pore number changes in some stages of spermatogenic cycle of the rat seminiferous epithelium. *Tiss. & Cell.*, v.30, n. 2, p. 268-273.
- CITES (Conservation on International Trade in Endangered Species) Protected species. Disponível em: < <http://www.cites.org/CITES/eng/append/species.shtml>>. Acesso em 15 de janeiro de 2006.
- COUROT, M., HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T., ORTAVANT, R. 1970. *Spermatogenesis*. In: Johnson, A.D., Gomes, W.R., Vandemark, N.L. (ed). *The testis*. New York: Academic Press., v.1, cap. 6, p 339-432.
- CONWAY, W.G. 1989. *The prospects for sustaining species and their evolution*. In: WESTERN D.; PEARL M. (Ed.) *Conservation for the twenty-first century*. New York: Oxford University Press., p. 189-209.
- DELLMANN, H., WROBEL, K. *Sistema reprodutor masculino*, In: DELLMANN, H., BROWN, E. M. 1982. *Histologia veterinária*, Guanabara Koogan., cap. 12, p. 232-253.

- DELVENTO, V.R., AMANN, R.P., TROTTER, G.W., VEERAMACHANENI, D.N., SQUIRES, E.L. 1992. Ultrasonographic and quantitative histologic assessment of sequelae to testicular biopsy in stallions. *Am. J. Vet. Res.*, v. 53, n. 11, p. 2094-2101.
- DE ROOIJ, D.G., JANSSEN, J.M. 1987. Regulation of the density spermatogonia in the seminiferous epithelium of the chinese hamster I. Undifferentiated spermatogonia. *Anat. Rec.*, v. 217 n. 2 p.124-130.
- DE ROOIJ, D.G., LOK, D. 1987. Regulation of the density of spermatogonia in the seminiferous epithelium of the chinese hamster: II. Differentiating spermatogonia. *Anat. Rec.*, v. 217, p. 131-136.
- DE ROOIJ, D.G. 1998. Stem cells in the testis. *Int. J. Exp. Path.*, v. 79, p. 67-80.
- DHYM, M. 1994. Basement membrane regulation of cells. *Endocrinol. Rev.*, v. 15, n. 1 p. 102-115.
- EATON, R.L. 1984. Surgery of smaller felid breeding. *Zool. Garten.*, v. 54, n. 1/2, p. 101-120.
- EATON, R.L. 1978. Why some felids copulate so much: a model for the evolution of copulation frequency. *Carniv.*, v. 1, p. 42-51.
- EATON, R.L. 1977. Breeding biology and propagation of the ocelot (*Leopardus pardalis*). *Zool. Garten.*, v. 47, p. 9-23.
- EISENBERG, J.F. 1989. *Mammals of the Neotropics*. The Northern Neotropics. Panama, Colombia, Venezuela, Guyana, Suriname, French Guiana, Chicago: The University of Chicago Press., v. 1, p. 397-399.

- EMMONS, L.H. 1988. A field study of ocelots (*Felis pardalis*) in Peru. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, v. 43, p. 133-157.
- EMMONS, L.H., FEER, F. 1990. *Neotropical Rainforest Mammals. A field guide*. The University of Chicago Press. Chicago, p. 151-152.
- EWING, L.L., ZIRKIN, B.B., COCHRAN, R.C., KROMANN, N. 1979 Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused *in vitro*: correlation with Leydig cell mass. *Endocrinol.*, v. 105, p. 1135-1142.
- FAGEN, R.M., WILEY, K.S. 1978. Felid paedomorphosis, with special reference to *Leopardus*. *Carniv.*, v. 1, p. 72-81.
- FAWCETT, D.W., NEAVES, W.B., FLORES, M.N. 1973. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biol. Reprod.*, v. 9, p. 500-532.
- FINCO, D.R. 1974. Biopsy of the testicle. *Vet. Clin of North American.*, v. 4, n. 2, p. 377-381.
- FRANÇA, L.R. Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau. Belo Horizonte: UFMG, 1991, 180p. Tese (Doutorado em Morfologia). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 1991.
- FRANÇA, L.R., YE, S.J., YING, L., SANDBERG, M., RUSSELL, L.D. 1995. Morphometry of rat germ cells during spermatogenesis. *Anat. Rec.*, v. 241, p. 181-204.
- FRANÇA L.R, CARDOSO F.M. 1998. Duration of spermatogenesis and sperm transit time through the epididymis in the piau boar. *Tiss. & Cell.*, v.30, p. 573-582.

- FRANÇA, L.R., RUSSELL, L.D. 1998. *The testis of domestic animals*. In: REGADERA, J. & MARTINEZ-GARCIA (eds.). *Male reproduction. A multidisciplinary overview*. Churchill Livingstone, Madrid. p. 197-219.
- FRANÇA, L.R., BECKER-SILVA, S.C., CHIARINI-GARCIA, H. 1999. Spermatogenic cycle length in goats. *Tiss. & Cell*, v.31 n.3, p. 274-280.
- GARNER, D.L.; HAFEZ, E. S. E. *Espermatozóides*. In: HAFEZ, E. S. E. 2000. *Reprodução animal*, Editora Manole, ed. 7, cap. 9, p. 187-211.
- GIER, H.T., MARION, G.B. *Development of mammalian testis*. In: JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; VANDERMARK, N. L. 1970. *The testis*, vol. 1, ed. Academic Press, cap. 1, p. 2-45,
- GODINHO H.P., CARDOSO F.M. 1979. Desenvolvimento sexual de porcos Yorkshire. II. Estabelecimento e evolução da espermatogênese. *Arq Esc Vet UFMG*, v. 31, p. 351-361.
- GODINHO, C.L. Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*) sexualmente maduros. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 1999. 123p.
- GREEN, R. 1991. *Wild cat species of the world*. Basset Publications, Plymouth, U.K. 163p.
- GRISWOLD, M.D. 1995. Interaction between germ cells and Sertoli cells in the testis. *Biol. Reprod.*, v. 52, p. 211-216
- GRUFFYDD-JONES, T.J. 1993. *Disorders of the reproductive system*. In: J. WILLS, A. WOLF, eds Handbook of feline medicine. Oxford, Pergamon Press., p. 213-222.

- GUERRA, M.O. 1983. Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, em dados da literatura. *Rev. Bras. Biol.*, v. 43, n. 4, p. 385-394.
- GUIÃO-LEITE, F.L. Análise morfológica do testículo e do processo espermatogênico da onça parda (*Puma concolor*, Wozencraft, 1993) adulta. Viçosa, MG: UFV, 2002. 65 p. Tese (Mestrado em morfologia) Universidade Federal de Viçosa.
- GUIMARÃES, M.A.B.V. 2001. A aplicação de técnicas de reprodução assistida em animais silvestres mantidos em cativeiro. *Rev. Bras. Rep. Anim.*, v. 25, n. 2, p. 116-117.
- HEDGER, M.P. 1997. *Testicular leukocytes: what are they doing?* *Rev. Repr.*, n. 2, p. 38-47.
- HERNÁNDEZ-JÁUREGUI, P., MONTER. H.M. 1977. Fine structure of mule testes: Light and electron microscopy study. *Am. J. Vet. Res.*, v. 38, n. 4, p. 343-347.
- HOOKE, C.W. *The intertubular tissue of the testis* In: JOHNSON, A.D.; GOMES, W.R.; VANDEMARK, N.L. *The testis Development, anatomy and physiology*, v. 1, cap. 8, ed. Academic press, 1970, New York, p. 483-550.
- HUCKINS, C. 1978. The morphology and kinetics of spermatogonial degeneration in normal adult rats: an analysis using a simplified classification of the germinal epithelium. *Anat. Rec.* v. 190, n. 4, p. 905-26.
- HUNT, W.L., PAUFLER, S.K., FOOTE, R.H. 1965. Testicular biopsies and spermatogenesis in dogs *J. Anim. Sci.*, v.24, p. 921.
- HUNT, W.L., FOOTE, R.H. 1997. Effect of repeated testicular biopsy on testis function and semen quality in dogs. *J. Androl.*, v.18, p.740-744.

IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e RECURSOS Naturais Renováveis) *Lista oficial de animais ameaçados de extinção*. Disponível em: <http://www.Ibama.gov.br/>. Acesso em 15 de janeiro de 2006.

JAMES, R.W., HEYWOOD, R., FOWLER, D.J. 1979. Serial percutaneous testicular biopsy in the Beagle dog. *J. Small. Anim. Pract.*, v. 20, p. 219-228.

JÉGOU, B., Le GAC, F., IRBY, D.C., De KRESTSER, D.M. 1983. Studies on seminiferous tubule fluid production in the adult rat: Effect of hypophysectomy and treatment with FSH, LH and testosterone. *Int. J. Androl.*, v. 6, p. 249-260.

JOHNSON, L., PETTY, C.S., NEVES, W.B. 1981. A new approach to qualification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermatogenesis. *Biol. Reprod.*, v. 25, p. 217-226.

JOHNSON L., VARNER D.D., ROBERTS M.E., SMITH T.L., KEILLOR G.E., SCRUTCHFIELD, W.L. 2000. Efficiency of spermatogenesis: A comparative approach. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 60, p. 180-471.

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

KENAGY, G.J., TROMBULAK, S.C. 1986. Size And Function of Mammalian Testes In relation to body size. *J. Mamm.*, v. 67. n. 1, p. 1-22.

LEBLOND, C.P., CLERMONT, Y. 1952. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, v. 55, p. 548-584.

- LEJEUNE, H., HABERT, R., SAEZ, J. M. 1998. Origin, proliferation and differentiation of Leydig cells *J. Mol. Endocrinol.*, v. 20, p. 1-25.
- LOPATE, C., THRELFALL, W.R., ROSOL, T.J. 1989. Histopatologic and gross effects of testicular biopsy in the dog. *Theriogenol.*, v. 32, n. 4.
- MASCARENHAS R.M., PAULA T.A.R., CARRETTA JÚNIOR M, RIBEIRO E.C.S., BORBOLETA L.R., MATTA S.L.P. 2005. Efeitos da biópsia incisional testicular sobre o rendimento intrínseco da espermatogênese e índices de células de Sertoli em cães. *Rev. Bras. Rep. Anim.*, (in press).
- MEANS, A.R., FAKUNDING, J.L., HUCKINS, C. TINDALL, D.J., VITALE, R. 1976. Follicle-stimulating hormone, the Sertoli cell and spermatogenesis. *Recent. Prog. Horm. Res.*, v. 32, p. 477-527.
- MELLEN, J.D. 1990. Reproductive behaviour of small captive exotic cats (*Felis spp*). Ph.D. Dssertation, University California, Davis. 161p.
- MENDIS-HANDAGAMA, S.M.L. C., ARIYARATNE, H.B.S. 2001. Differentiation of the adult Leydig cell population in postnatal testis. *Biol. Reprod.*, v. 65, p. 660-671.
- MEROLA, M. 1994. A reassessment of homozygosity and the case for inbreeding depression in the cheetah, *Acinonyx jubatus*: Implications for conservation. *Conserv. Biol.*, v. 8, p. 961-971.
- MOREIRA, N., MORAES, W., SANTOS, L.C. 1994. Study of reproductive parameters in *Felis tigrina*, *Felis pardalis* e *Felis wiedii*. In: *Proceedings XVIII Brazilian Congress of Zoological Society*. Rio de Janeiro, RJ, SZB, p. 59.

- MOREIRA, J.R. 1995. The reproduction, demography and management of capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) on Marajó Island- Brazil. Doctorate Thesis. University of Oxford, 198 p.
- MOREIRA, N.; MONTEIRO-FILHO, E.L.A.; MORAES, W.; SWANSON, W.F.; GRAHAM, L.H.; PASQUALI, O.L.; GOMES, M. L.F.; MORAIS, R.N.; WILDT, D.E.; BROWN, J. L. 2001. Reproductive steroid hormones and ovarian activity in felids of the *Leopardus* genus. *Zoo Biol.*, v. 20, p. 103-116.
- MUÑOZ E.M., FOGAL T., DOMINGUEZ S., SCARDAPANE L., GUZMAN J., CAVICCHIA J.C., PIEZZI R.S. 1998. Stages of the cycle of the seminiferous epithelium of the viscacha (*Lagostomus maximul maximus*). *Anat. Rec.*, v. 252, p. 8-16.
- NSEYO, U.O., ENGLANDER, L.S., HUBEN, R.P., PONTES, J.E. 1984. Aspiration biopsy of testis: another method for histologic examination. *Fertil. Steril.*, v. 42, n. 2, p. 281-284.
- NOWELL, K., JACKSON, P. 1996. Wild Cats: Status, Surgery and Conservation Action Plan, IUCN/SSC Cat Specialist Group, IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 382 p.
- OLIVEIRA, T.G. 1994. *Neotropical cats: ecology and conservation*, São Luís, EDUFMA. p. 221.
- OLIVEIRA, T.G., CASSARO, K. 1999. *Guia de identificação de felinos brasileiros*. 2 ed. São Paulo: Sociedade de Zoológicos, Brasil, 60p.

- ORTAVANT, R., COUROT, M., HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T. 1977. Spermatogenesis in domestic mammals. In: COLE, H.H., CUPPS, P.T. (eds). *Reproduction in domestic animals*. 3 ed. New York: Academic Press. cap. 8, p. 203-227.
- ORTH, J.M., GUNSALUS, G.L., LAMPERTI, A.A. 1988. Evidentce from Setoli cell-depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal developmente. *Endocrinol.*, v. 122, p. 787-794.
- PARKS, J.E., LEE, D.R., HUANG, S., KAPROTH, M.T. 2003 Prospects for spermatogenesis in vitro. *Theriogenol.*, v. 59, p. 73-86.
- PAULA, T.A.R. Avaliação Histológica e Funcional do Testículo de Capivaras Adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Belo Horizonte: UFMG. Tese (Doutorado em Morfologia). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 1999, 84p.
- PITMAN, M. R.P.L., OLIVEIRA, T.G., PAULA, R.C., INDRUSIAK, C. 2002. *Manual de identificação, prevenção e controle de predação por carnívoros*. Brasília: Edições IBAMA, p. 11.
- ROOSEN-RUNGE, E.C., GIESEL Jr., L.O. 1950. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. *Am. J. Anat.*, v. 87, n. 1, p. 1-30.
- ROOSEN- RUNGE, E.C. 1973. Germinal-cell loss in normal metazoan spermatogenesis. *J. Reprod. Fertil.*, v. 35, p. 339-348.
- ROOSEN-RUNGE E.C. 1977. *The process of spermatogenesis in animals*. Cambridge: University Press. p. 32-78.
- ROSER, J.F. 2000. *Reproductive endocrinology of the stallion*. In: SAMPER, J.C. (Ed.),

- Equine Breeding Management and Artificial Insemination. Saunders Company, Philadelphia, p. 123-132.
- ROTH, T.L. 1993. Gamete biotechnology for assisting reproduction in endangered species. In: American Association of Zoo Veterinarians Annual Meeting, *Proceedings*: p. 277-280.
- RUSSELL, L.D. 1996. *Mammalian Leydig cell structure*. In: PAYNE, A. H., HARDY, M. P., RUSSELL, L. D. (eds). *The Leydig cell*. Cache River Press. Vienna, IL, cap. 10, p. 218-222.
- RUSSELL, L.D., CHANDRASHEKAR, V., BARTKE, A., SINHA-HIKIM, A P. 1994. The hamstes Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. *Int. J. Androl.*, v. 17, n. 2, p. 93-106.
- RUSSELL, L.D., CLERMONT, Y. 1977. Degeneration of germ cells in normal, hypophysectomized and hormone treated hypophysectomized rats. *Anat. Rec.*, v. 187, p. 347-366.
- RUSSELL, L.D., ETTLIN, R.A., SINHA HIKIM, E.P., CLEGG, E.D. 1990. *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Cleanwater, FL, Cache River Press, 286p.
- RUSSELL, L.D., GRISWOLD, M.D. 1993. *The Sertoli cell*. (ed) Cache River Press, Clearwater, Florida, 801p.
- RUSSELL, L.D., PETERSON, R.N. 1984. Determination of the alongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals. *J. Reprod. Fert.*, v. 70, p. 635-641.
- SANTOS, R.L. 1999. Morte celular por apoptose no testículo. *Revista Brasileira de Rep. Anim.*, v. 23, n. 4, p. 486-499.

- SCHLATT, S., MEINHARDT, A. AND NIESCHLAG, E. 1997. Paracrine regulation of cellular interactions in the testis, factors in search of a function. *Eur. J. Endocrinol.*, v. 137, p. 107-117.
- SHARPE, R.M. 1994. *Regulation of spermatogenesis*. In: KNOBIL, E. & NEIL, J. D. (eds) *The physiology of reproduction*, 2ed. Raven Press, N.Y. p. 1363-1434.
- SHORT, R.V. 1997. The testis: the witness of the mating system, the site of mutation and the engine of desire. *Acta Paediatr. Suppl.*, v. 422, p. 3-7.
- SIMON, F., CASSARO, K., QUILLEN, P. 1997. Small felis breeding Project at São Paulo Zoo. *International Zoo Yearbook*. v. 35, p. 159-164.
- SINHA-HIKIM, A.P., SINHA-HIKIM, I.S., AMADOR, A.G., BARTKE, A., WOOLF, A., RUSSELL, L.D. 1991. Reinitiation of spermatogenesis by exogenous gonadotropins in a seasonal breeder, the woodchuck (*Marmota monax*), during gonadal inactivity. *Am. J. Anat.*, v. 192, p. 194-213.
- STEINBERGER, A., STEINBERGER, E. 1971. Replication pattern of Sertoli cells in maturing rat testis in vivo and in organ culture. *Biol. Reprod.*, v. 4, p. 84-87.
- SWANSON, W.F.; WILDT, D.E. 1997. Strategies and progress in reproductive research involving small cat species. *International Zoo Yearbook*, v. 35, p. 152-159.
- SWERDLOFF, R.S., LUE, Y., WANG, C., RAJAVASHISTH, T., SINHA-HIKIN, A. 1998. *Hormonal regulation of germ cell apoptosis*. In: ZIRKIN, B. R. (ed). *Germ cell development, division, disruption and death*. New York. Inc. Springer-Verlag.
- SYKES, J.F., WRENN, T.R., MOORE, L.A., UNDERWOOD, P.C., SWEETMAN, W. 1949. J. The effects of testis biopsy on semen characteristics of bulls. *J. Dairy J.*, n. 32, p. 327-333.

- TEWES, M.E. 1986. Ecological and behavioural correlates of ocelot spatial patterns. Ph.D. Dissertation, Univ. Idaho, Moscow. 128p.
- THRELFALL, W.R., LOPATE, C. 1993. *Testicular biopsy*. In: MC KINNON, A.O., VOSS, J.L. *Equine Reproduction*. Lea & Febiger. Philadelphia, London, cap. 104, p. 943-949.
- WIELOCH, D.R., VEADO, B.V., FURTADO, D.B. 1997. Cadernos da Fundação Zoo-Botânica I - Animais do Zoológico, Fundação ZooBotânica de Belo Horizonte, Serviço de educação ambiental, Belo Horizonte, p. 165-166.
- WILDT, D.E., BUSH, M., GOODROWE, K.L., PACKER, C., PUSEY, A.E., BROWN, J.L., JOSLIN, P., O'BRIEN, S. J. 1987. Reproductive and genetic consequences of founding isolated lion population. *Natur.*, v. 329, p. 328-331.
- WILDT, D.E. 1989. Strategies for the practical application of reproductive technologies to endangered species. *Zoo Biol. Supplem.*, v.1, p. 17-20.
- WING T.Y., CHRISTENSEN A.K. 1982. Morphometric studies on rat seminiferous tubule. *Am. J. Anat*, v. 165, p. 13-25.
- YE, S.J., YING, L., SUSHMITA, G., FRANÇA, L R., RUSSELL, L.D. 1993. Cell cycle: a re-examination of the structural changes during the cycle of the seminiferous epithelium of the rat. *Anat. Rec.* v. 237, p. 187-198.
- ZIRKIN, B.R., EWING, L.L., KROMANN, N., COCHRAN, R.C. 1980. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro, Correlation with Leydig cell ultrastructure. *Endocrinol.*, v. 107, p.1867-1874