



**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA**  
**VETERINÁRIA E BEM-ESTAR ANIMAL**

**RAPHAEL ROSETI LAVADO**

**AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA E CITOLOGIA TESTICULAR DE**  
**CORDEIROS PRÉ-PÚBERES DA RAÇA DORPER.**

**São Paulo**  
**2018**

**Programa de Pós-Graduação *Strictu Senso* em Medicina Veterinária e Bem-Estar Animal, Universidade de Santo Amaro/UNISA**

**AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA E CITOLOGIA TESTICULAR DE  
CORDEIROS PRÉ-PÚBERES DA RAÇA DORPER.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação *Strictu Senso* da Universidade de Santo Amaro - UNISA, como pré-requisito para a obtenção de título de Mestre em Medicina Veterinária, sob orientação do professor Dr. Kleber da Cunha Peixoto Junior.

**SÃO PAULO**

**2018**

**RAPHAEL ROSETI LAVADO**

**AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA E CITOLOGIA TESTICULAR DE  
CORDEIROS PRÉ-PÚBERES DA RAÇA DORPER.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação *Strictu Senso* da Universidade de Santo Amaro - UNISA, como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Kleber da Cunha Peixoto Junior

São Paulo, 10 de agosto de 2018.

**Banca Examinadora:**

Prof. Dr. Kleber da Cunha Peixoto Junior\_\_\_\_\_

Prof. Dr. André Maciel Crespilho\_\_\_\_\_

Prof. Dr. Sílvia Regina Kleeb\_\_\_\_\_

Conceito Final:\_\_\_\_\_

“Dedico este trabalho ao homem que dedicou sua vida à família, sendo exemplo de homem, pai e principalmente avô. Obrigado por tudo, tenha certeza que tenho todas as orientações guardadas com carinho, te amo Vô Nico!”

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me concedido a vida e principalmente saúde para lutar por ela.

À minha família, em especial, minha mãe, meu pai, meu irmão e minha esposa Mariana. Vocês são tudo pra mim, obrigado por me darem força sempre e em tudo.

Aos meus amigos que me ajudaram muito neste experimento, Bruno Sanseverino Takara e Lucas Sebastião, sem vocês tudo seria muito difícil. Ao Severino, muito obrigado por tudo!

Aos funcionários da Fazenda Dorper Campo Verde, em especial ao Manoel, Nequinho e Miguel, vocês foram demais.

Ao meu orientador e grande amigo Kleber da Cunha Peixoto Junior, meu muito obrigado! Inclusive pela paciência!

Agradecimento muito especial às minhas fontes de inspiração profissional, todos meus ex-professores que hoje se tornaram amigos e fontes de inspiração, Prof Nilton A. Zanco, Prof Sílvia Kleeb, Prof Kleber Peixoto Jr, Prof Thiago de A. Noronha, Prof Celso Pinto, Prof Guilherme Xavier, Prof Milton Kolber e Prof Cristiane Lopes. Talvez vocês não saibam, mas são meus exemplos profissionais a serem seguidos. Muito obrigado pelos últimos gratificantes anos de minha vida.

Ao meu recente, porém muito admirado amigo, Prof André Maciel Crespilho, por todo ensinamento, ajuda e amizade!

Por fim e nem um pouco menos importante, agradeço meus animais, que a mais de 22 anos são a razão de um despertar alegre e gratificante!

## RESUMO

Com o objetivo de relacionar a idade com a citologia testicular e medidas morfométricas, foram utilizados 25 ovinos machos Dorper, clinicamente saudáveis, entre 01 e 09 meses de idade, para realizar mensurações morfométricas (Circunferência escrotal (CE), comprimento do testículo direito (CTD), largura do testículo direito (LTD), profundidade do testículo direito (PTD), Comprimento do testículo esquerdo (CTE), largura do testículo esquerdo (LTE), profundidade do testículo esquerdo (PTE) mensais entre 30 e 240 dias de idade e 3 amostras de citologia oriunda de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) aos 90, 180 e 270 dias de idade. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com medidas repetidas no tempo (PROC GLM do SAS, 2001) onde se verificou o efeito da idade sobre a morfometria testicular e os variáveis números de células de linhagem espermática, sendo, em seguida, utilizado o teste de comparação de médias TUKEY. Os dados foram submetidos também à análise de correlação de Pearson (PROC CORR) e a análise de regressão linear e quadrática (PROC REG) para obtenção da equação de predição. Observou-se que todas as variáveis morfométricas avaliadas aumentaram até os 270 dias de idade, com exceção da profundidade do testículo direito e esquerdo que não variou entre as idades de 190 a 240 dias. Ao realizar análise de regressão avaliando o efeito da idade sobre a morfometria testicular observou-se, regressão positiva e quadrática sobre todos os parâmetros avaliados. Na análise da citologia testicular observa-se que a quantidade de espermatogônias foi inferior nos animais com 270 dias de idade comparado aos 180 dias, as espermatídes finais aumentaram com o aumento da idade e as células de Sertolli diminuíram com o aumento da idade. Assim, conclui-se que as medidas morfométricas dos testículos de ovinos aumentam até 270 dias de idade, com exceção da profundidade que estabiliza entre 150 e 190 dias de idade, que com o avanço da idade o número de células de Sertolli diminui, e a quantidade de Espermatogônias diminui a partir de 180 dias de idade e que o número espermatócito primário, secundário, espermatíde inicial e células de Leydig não alteram até os 270 dias de idade.

**Palavras chave:** Reprodução, Ovino, Testículo, Citologia.

## ABSTRACT

With the objective of listing the age with the testicular cytology and morphometric measures, 25 male dorper sheep were used, clinically healthy, between 01 and 09 months old, to realize morphometric measurements (scrotal circumference (SC), right testicle length (RTL), right testicle width (RTW), right testicle depth (RTD), left testicle length (LTL), left testicle width (LTW), left testicle depth (LTD)), monthly between 30 and 240 days old and 3 samples of cytology originating from aspiration puncture by fine needle (APFN) at 90, 180 and 270 days old. The data obtained were submitted to variance analysis with measures repeated over time, where it occurred the effect of age on testicular morphometric and the variable number of cells from sperm line, being then used the means comparison test TUKEY. The data were submitted to correlation analysis of PEARSON and the linear and quadratic regression analysis to obtain the prediction equation.

It was observed that all morphometric variable evaluated increased to 270 days of age, with exception of right and left testicle depth, unchanged between 190 and 240 days. When performing regression analysis, evaluating the effect of age on testicle morphometry, it was observed, positive and quadratic regression over all evaluated parameters. In the testicular cytology analysis, it is observed that the quantity of spermatogonies was lower in animals with 270 days of age comparing to 180 days, the final spermatids increased with increasing age and the sertolli cells decreased with increasing age. Thus, it is concluded that the morphometric measures of sheep testicle increases until 270 days of age, with exception of depth, that stabilizes between 150 and 190 days of age, that the advancing age the number of sertolli cells decreases, that the quantity of spermatogonies decreases from 180 days of age and that the primary sperm number, secondary, initial spermatid and Leydig cells do not change until 270 days of age

KEY WORDS: Reproduction, sheep, testicle, cytology.

## LISTA DE ABREVIATURAS

FSH – Hormônio folículo estimulante

GnRH- Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

LH - Hormônio luteinizante

ml - Mililitro

PAAF - Punção aspirativa por agulha fina

PBA - Punção biópsia aspirativa

CE – Circunferência escrotal

CTD – Comprimento do testículo direito

LTD – Largura do testículo direito

PTD – Profundidade do testículo direito

CTE – Comprimento do testículo esquerdo

LTE – Largura do testículo esquerdo

PTE – Profundidade do testículo esquerdo

Kg – Kilograma

LT – Largura testicular

SAS – Statistical Analysis System

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	12
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
3.1 ANATOMIA DO APARELHO REPRODUTOR MASCULINO .....	13
3.1.1 Células de Sertoli.....	14
3.1.2 Células de Leydig.....	15
3.2 DESENVOLVIMENTO TESTICULAR.....	16
3.3 ESPERMATOGÊNESE.....	18
3.4 EXAMES COMPLEMENTARES DA AVALIAÇÃO REPRODUTIVA .....	19
3.4.1 Biópsia Testicular.....	20
3.4.2 PAAF (Punção aspirativa por agulha fina).....	20
3.4.3 Circunferência escrotal e morfometria testicular .....	22
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	23
4.1 LOCAL.....	23
4.2 ANIMAIS.....	23
4.3 EXAMES COMPLEMENTARES.....	24
4.3.1 PAAF (Punção aspirativa por agulha fina).....	24
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	24
<b>5 RESULTADOS</b> .....	25
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	27
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	31
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	32
<b>ANEXOS</b> .....	36

## 1 INTRODUÇÃO

O mercado de carne ovina no Brasil vem crescendo e fatores como o aumento da renda da população, a ampliação da comercialização da carne ovina em nichos e seu papel como produto nobre no mercado de carnes, estimulam a demanda pelo produto no mercado interno, fazendo com que a ovinocultura apresente consistente crescimento, principalmente nas regiões Nordeste e Centro Oeste do Brasil, importantes pólos produtores de carne desta espécie. O aumento do consumo interno e a desestruturação da cadeia produtiva fazem com que o mercado de carne ovina do Brasil apresente um consumo maior do que a produção interna, necessitando de importações do produto para atingir um equilíbrio entre oferta e demanda no cenário nacional(VIANA, 2015).

O mercado interno carece de carne ovina, tanto em quantidade como em qualidade e a introdução de raças superiores em qualidade de carcaça, precocidade e conversão alimentar, foi de primordial importância na melhoria deste cenário. A principal raça ovina introduzida no país nas últimas décadas foi a raça Dorper.

O Dorper é uma das raças mais férteis dentre os ovinos, tendo como maior expressão o comprimento do corpo e o desenvolvimento muscular. Apresenta também alta adaptabilidade a diferentes climas e sistemas de criação, habilidade materna e elevadas taxas de fertilidade e crescimento, podendo alcançar 35 kg por volta dos 110 dias de idade (ROSANOVA, 2005).

A popularização da raça Dorper no Brasil, fez com que a demanda por estes animais aumentasse muito, principalmente por machos superiores geneticamente, oriundos de rebanhos produtores de carne ovina. A raça vem sendo fundamental no sistema de criação de ovinos de corte, agregando genética produtiva aos animais já existentes nos rebanhos brasileiros.

Considerando que o macho é o principal responsável pelo melhoramento genético do rebanho por ser passível de maior pressão de seleção, a escolha de um bom reprodutor deve-se basear em sua produção, considerando-se o teste de progênie e exame clínico-andrológico minucioso (MARTINS, 2006).

Esforços concentrados no melhoramento genético promovem a mudança nos genótipos existentes de forma a permitir avanços produtivos. Assim, o melhoramento genético é a mola propulsora do desenvolvimento de uma exploração pecuária (LOBO, 2007).

O conhecimento do perfil celular nas fases pré-púberes, púberes e pós-púberes, pode ser de grande importância para determinação da maturação sexual dos reprodutores. Visto que a raça dorper apresenta alta demanda no mercado atual, a identificação precoce da maturação sexual destes indivíduos surge como hipótese para acelerar o fornecimento de reprodutores ao mercado produtor de carne ovina.

Um bom entendimento da espermatogênese, dos diferentes tipos celulares que constituem o epitélio seminífero e de que forma esses elementos celulares aparecem nos exames citológicos são essenciais para a interpretação de um exame citológico de testículo (LEME, 2004).

Técnicas de biópsia, caracterizadas pela remoção de segmentos de órgãos e tecidos para análise histopatológica, não são indicadas no auxílio diagnóstico de alterações testiculares para animais ameaçados de extinção e em animais com exigência reprodutiva intensa, por não serem totalmente isentas de riscos. Neste sentido, é de grande interesse que se desenvolvam técnicas de biópsia testicular cada vez mais seguras e com o mínimo de conseqüências negativas, a técnica de punção aspirativa por agulha fina, se mostra viável para análise citológica deste tecido (PAZ, 2003).

A punção biópsia aspirativa (PBA) ou punção aspirativa por agulha fina (PAAF) é um método objetivo para o exame complementar do aparelho reprodutivo masculino, recomendado para a avaliação da saúde testicular e da espermatogênese, sendo pouco invasivo, rápido e de fácil execução, permitindo análise quantitativa dos diferentes tipos celulares que compõe a gônada masculina (PAPA; LEME, 2002).

As dimensões testiculares são um bom indicador da dinâmica espermatogênica, podendo ser utilizada como uma ferramenta de seleção visando aprimorar o potencial reprodutivo dos animais (MARTINS, 2006).

Segundo Silva (2002), a circunferência escrotal, além de fácil mensuração, apresenta considerável herdabilidade e alta repetibilidade, já Boligon (2007), define a medida do perímetro escrotal como uma das características mais utilizadas como critério de seleção para melhorar a eficiência reprodutiva em gado de corte, principalmente por ser de fácil mensuração e por apresentar magnitude de herdabilidade média a alta.

## **2 OBJETIVOS**

O objetivo do presente trabalho foi relacionar a idade com a citologia testicular e medidas morfométricas de ovinos da raça Dorper.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 ANATOMIA DO APARELHO REPRODUTOR MASCULINO

O aparelho reprodutor masculino é constituído por testículos epidídimo, ducto deferente, glândulas acessórias, pênis e prepúcio (CASTILLO GRANADOS; BURLA DIAS; PESANHA DE SALES, 2006). O desenvolvimento dos testículos na fase embrionária apresenta semelhança com o dos ovários, as células germinativas migram para a crista genital e povoam os cordões sexuais que se formam a partir de uma invaginação da superfície epitelial. As células de Sertoli (contra partidas das células da granulosa nas fêmeas) desenvolvem-se a partir dos cordões sexuais, e as células de Leydig (contrapartida feminina das células da teca) desenvolvem-se do mesênquima da crista genital (CUNNINGHAM, 1997).

Os testículos são órgãos pares, ovalados e pendulosos, com um peso variando entre 50 e 150 gramas, simétricos e de consistência firme, localizados dentro do escroto e têm como funções a espermatogênese e secreção hormonal. São constituídos pela túnica albugínea, de tecido conjuntivo denso, que emite septos dividindo o órgão em lobos piramidais. Cada lobo piramidal possui de três a cinco túbulos seminíferos que se convergem no centro, formando o mediastino testicular (RICARTE, 2010).

O parênquima testicular é formado principalmente por túbulos seminíferos e tecido conjuntivo. Na porção central do órgão está o mediastino testicular, massa de tecido fibroso contendo numerosos túbulos finos (OLIVEIRA, 2013).

O epidídimo está intimamente inserido ao testículo ao longo da borda caudal do mesmo (CAMELA, 2015). Os epidídimos estão aderidos aos testículos e são divididos em cabeça, corpo e cauda. A primeira porção está localizada dorsalmente ao testículo, enquanto o corpo epididimário encontra-se contornando lateralmente o parênquima testicular. Por fim, a porção da cauda está posicionada na extremidade distal do testículo, o epidídimo possui a função de transporte, maturação e armazenamento de espermatozóides (OLIVEIRA, 2013).

Os testículos e o epidídimo são supridos com o sangue da artéria testicular, que se origina da aorta abdominal. No cordão espermático, ela atinge os testículos antes de se ramificar até o epidídimo (CAMELA, 2015).

Os ductos deferentes são responsáveis por transportar os espermatozóides desde a cauda do epidídimo até a porção pélvica da uretra. A dilatação de cada ducto deferente ao final de sua trajetória é denominada ampola e serve de reservatório espermático (OLIVEIRA, 2013).

A partir da túnica albugínea, projetam-se septos conjuntivos menores (septos testiculares) para o interior do testículo, que dividem o parênquima testicular em lóbulos com forma de pirâmide. Esses septos conjuntivos unem-se no eixo do testículo ou são um pouco deslocados para o epidídimo, formando o mediastino testicular. Cada lóbulo inclui aproximadamente dois a cinco túbulos seminíferos que atuam na formação das células germinativas masculinas. A parede do túbulo possui células de sustentação (células de Sertoli) e células epiteliais germinativas (KONIG; LIEBICH, 2004).

### 3.1.1 Células de Sertoli

As células de Sertoli são grandes e estão situadas no interior dos túbulos seminíferos, têm longos processos que contornam os espermatócitos e espermátides, provêm uma estreita interação com as células germinais através de todo o seu desenvolvimento e são importantes para o controle do desenvolvimento das células germinais tanto a respeito da função nutritiva quanto reguladora (STABENFEDT; EDQVIST, 1996). Estendem-se da base do túbulo ao lúmen de modo que fica sempre em contato com as células germinativas em todos os estágios do desenvolvimento, fornecendo ambiente apropriado à espermatogênese (SWENSON, 1996).

Os espermatócitos deslocam-se através das *tightjunctions* formadas entre as células de Sertoli e terminam seu desenvolvimento no compartimento adluminal (central) do túbulo (; EDQVIST, 1996). A atividade secretória da célula de Sertoli é

controlada pelo hormônio folículo estimulante (FSH). A célula de Sertoli converte a testosterona produzida pela célula de Leydig em estrogênios, que vão para dentro do compartimento adluminal e compartimento basal dos testículos. A partir deste último compartimento os estrogênios podem ir para o sistema vascular sanguíneo (STABENFEDT; EDQVIST, 1996).

### 3.1.2. Célula de Leydig

O tecido intersticial é responsável pela função endócrina, onde estão localizadas as células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, células e fibras do tecido conjuntivo e uma população variável de outras células, como macrófagos e mastócitos, sendo as células de Leydig, o tipo celular mais freqüente neste compartimento (THIBAULT; LEVASSEUR, 1992).

A principal função da célula de Leydig é a produção da testosterona, hormônio importante para o desenvolvimento e manutenção da espermatogênese e das características masculinas (STABENFEDT; EDQVIST, 1996).

A produção de testosterona pela célula de Leydig é controlada pela Gonadotropina, hormônio luteinizante (LH), que além estimular a hipertrofia das células de Leydig, se liga especificamente às membranas destas células e ativa a adenosina-monofosfato cíclica. Este processo dá início à ativação das proteínas-quinases, que catalisam a fosforilação das proteínas intracelulares e mobilização dos precursores dos esteróides, principalmente através da conversão do colesterol a pregnenolona. Um sensível sistema de *feedback* negativo opera entre a secreção de LH em testosterona. Aumentos na secreção de LH são seguidos, dentro de 30 a 60 minutos, por níveis aumentados de testosterona, que duram de 1 até várias horas. A inibição por *feedback* negativo da secreção do LH pela testosterona é seguida por um conseqüentedeclínio na síntese de testosterona (STABENFEDT; EDQVIST, 1996).

### 3.2 DESENVOLVIMENTO TESTICULAR

O crescimento testicular em carneiros segue uma curva sigmoide, com duas fases características. Nas fases pré-púbere e púbere, o perímetro escrotal aumenta rapidamente de tamanho, paralelamente ao peso do animal, devido principalmente ao rápido desenvolvimento do parênquima testicular. Por outro lado, na fase de pós-puberdade ocorre crescimento testicular lento, tendendo à estabilização (URT, 2014)

A avaliação da morfologia dos testículos, incluindo as medidas de circunferência escrotal (CE) e da largura testicular (LT), permite escolher precocemente animais que podem ser destinados à reprodução, devido à alta correlação entre esta característica e a produção total de sêmen e o desempenho reprodutivo (SANTANA, 1996).

Do ponto de vista morfofuncional, o testículo divide-se em dois compartimentos distintos. O primeiro deles é composto pelos túbulos seminíferos, os quais são estruturas enoveladas contendo em seu interior o epitélio germinativo que ocupa de 85 a 86% do volume testicular (QUEIROZ & CARDOSO, 1989; WROBEL et al., 1995). O outro compartimento consiste no espaço intertubular, composto por tecido conjuntivo, onde se localizam os vasos sanguíneos, linfáticos, nervos e células de Leydig, que é o tipo celular mais freqüente no espaço intersticial, sendo responsável pela produção de testosterona e de diversos outros andrógenos (SETCHELL, 1991).

Segundo CastilloGranados, Burla Dias e Pesanha de Sales (2006), os machos caprinos e ovinos são animais muito precoces, os quais, aos quatro meses de idade podem entrar na puberdade e atingir a maturidade sexual entre seis e sete meses, podendo ser considerado adulto a partir de dois anos de idade, quando atinge o peso ideal, desenvolvimento corporal e produção espermática adequada. A puberdade acontece no macho quando ele se torna hábil a produzir uma quantidade suficiente de espermatozoides (OLIVEIRA, 2013). Segundo Cunningham (1997), puberdade no macho compreende o momento em que ele se torna capaz, pela primeira vez, de produzir número suficiente de espermatozoides para emprenhar

uma fêmea, isto poderia ser definido como a idade em que o ejaculado contém  $50 \times 10^6$  espermatozoides, dos quais 10% ou mais são móveis.

A puberdade nos machos ovinos ocorre entre 4 e 7 meses de idade e é influenciada por fatores intrínsecos e extrínsecos como raça, interação social (presença de outros machos e fêmeas púberes no lote), clima, nutrição, taxa de crescimento e peso do animal (OLIVEIRA, 2013). É o evento final de um processo contínuo de alterações endócrinas que se iniciam logo após o nascimento (CUNNINGHAM, 1997).

Alguns pesquisadores defendem a teoria de que a puberdade ocorre quando o complexo hipotalâmico-hipofisário do animal se torna dessensibilizado à inibição por retroalimentação dos esteróidesgonádicos. Aparentemente esta dessensibilização permitiria um aumento da carga de GnRH a partir do hipotálamo e uma resposta maior da hipófise ao GnRH (CUNNINGHAM, 1997).

Notteret *al.* (1981) analisaramas medidas testiculares em cordeiros jovens, e concluíram que o PE é um bom indicador do tamanho testicular e conseqüentemente da função gametogênica.

A maior parte do parênquima testicular é composta por túbulo seminíferos, perfazendo cerca de 90% no cão, 85% no carneiro, no coelho e no suíno, 80% no búfalo e nos caprinos, 75% no touro, 70% no garanhão e 60% no camelo (FRANÇA *et al.*, 1998). Os túbulos seminíferos são formados por elementos acelulares que compõem a membrana basal (colágeno tipo IV, laminina entre outros) e células ricas em actina, miosina e fibronectina (THIBAUT; LEVASSEUR, 1992).

Existe uma grande variação entre as espécies no que tange ao percentual de parênquima testicular ocupado pelas células de Sertoli. Um número total elevado de células de Sertoli é favorável a uma alta produção espermática, entretanto, estas células não devem ocupar um percentual muito grande do parênquima, pois existe correlação negativa e alta entre a proporção volumétrica das células de Sertoli no parênquima e a produção espermática. Em ruminantes, cerca de um terço do túbulo seminífero é ocupado pelas células de Sertoli (FRANÇA; RUSSEL, 1998).

### 3.3 ESPERMATOGÊNESE

A espermatogênese é um processo em que células primordiais diplóides (espermatogônias) existentes na base dos túbulos seminíferos se dividem por mitose para manter seus próprios números e produzir ciclicamente progênie que sofre divisão meiótica adicional e diferenciação em espermátides haplóides, que são liberadas como espermatozóides (CUNNINGHAM, 1997). Este processo inicia-se na parede dos túbulos seminíferos, a qual é revestida por espermatogônias e termina com a liberação de espermatozóides maduros no lúmen dos túbulos seminíferos (STABENFEDT; EDQVIST, 1996).

No carneiro, as espermatogônias dividem-se a cada 10,4 dias, e poderiam gerar, oito dias depois, em teoria, 64 espermatócitos I, cuja prófase dura 14 dias. Estes entram em meiose, a qual dura cerca de 24 horas, originando potencialmente 256 espermátides que gerarão, após 14 dias, igual número de espermatozóides (COURTENS, 1983).

A mitose tem um número espécie-específico de divisões. Durante a fase Mitótica ou proliferativa, as células tronco dão origem a duas células filhas de semelhante número cromossomial, uma servirá para a renovação da população de células tronco e a outra entra no processo espermatogênico dando origem ao espermatócito primário (O' DONNEL *et al.*, 2001). Ao término da divisão mitótica final, são formadas 16 espermatócitos primários, que entram na primeira fase de prófase da meiose, onde o desenvolvimento é paralisado por tempo variável (STABENFEDT; EDQVIST, 1996).

A meiose é o segundo passo da espermatogênese, tem como função redução do número de cromossomos da célula geminal para o estado haplóide, essencial para permitir a união de espermatozóides e oócitos haplóides para formar indivíduos com o número correto de cromossomos (O'DONNEL *et al.*, 2001)

O primeiro estágio da meiose é completado com a divisão celular e uma redução de 50% no número de cromossomos e a formação do espermatócito secundário (STABENFEDT; EDQVIST, 1996). Na primeira divisão meiótica, os cromossomos homólogos segregam-se em duas células resultantes, criando uma

condição haplóide. No macho, as células haplóides resultantes são os espermatócitos secundários com cromátides duplicadas. Logo após sua formação, os espermatócitos secundários dividem-se para formar espermátides contendo uma cromátide de cada um dos cromossomos haplóides (CUNNINGHAM, 1997).

A terceira e última etapa da espermatogênese envolve a maturação das espermátides para espermatozóides, processo chamado de espermiogênese (STABENFEDT; EDQVIST, 1996). As espermátides formadas na meiose continuam a diferenciar-se sem dividir-se para formar espermátides maduras através do processo de espermiogênese. Esta ocorre logo após a liberação de espermátides como espermatozóides na superfície luminal do túbulo seminífero (CUNNINGHAM, 1997). A maturação envolve a formação da cauda, da mitocôndria para fornecer energia durante o movimento no trato feminino e do acrossoma, que possibilita a penetração no oócito (STABENFEDT; EDQVIST, 1996).

Cada espermatozóide consiste de um núcleo haplóide, um sistema de propulsão e uma vesícula de enzimas que permitem ao seu núcleo penetrar no oócito. A formação do espermatozóide se completa com diferenciações morfológicas onde ocorre completa condensação nuclear assumindo sua forma definitiva, mitocôndrias ordenam-se ao redor da peça intermediária formando a bainha mitocondrial, e parte do citoplasma é expelida em forma de corpo residual. Ocorre em seguida a espermição, que é a liberação das espermátides maduras para o lúmen tubular (GILBERT, 2000). Considerando-se o tempo de trânsito no epidídimo, o período aproximado para a formação do espermatozóide, iniciando-se com a espermatogônia tipo A e encerrando-se com o ejaculado é 60 a 70 dias no carneiro (CUNNINGHAM, 1997).

### 3.4 EXAMES COMPLEMENTARES DA AVALIAÇÃO REPRODUTIVA

As principais características testiculares pesquisadas e abordadas na literatura são volume, peso, comprimento e largura, além do CE (circunferência

escrotal). Estas mensurações testiculares podem ser afetadas por diversos fatores, como idade e peso corporal (SOUZA *et al.*, 2001).

Para escolha do reprodutor deve-se fazer um exame andrológico, que é composto de avaliação clínica, comportamental e de aspectos seminais e tem como princípio caracterizar o potencial reprodutivo dos machos (CAMELA, 2015). No entanto, o diagnóstico da função reprodutiva de machos tem sido limitado à palpação, circunferência escrotal e análise do sêmen, sendo que a punção aspirativa por agulha fina mostra-se uma excelente opção para a avaliação reprodutiva (PAZ, 2003).

#### 3.4.1 BIÓPSIA TESTICULAR

A biópsia testicular, por não ser um procedimento totalmente isento de riscos, pode trazer consequências indesejáveis à vida reprodutiva do animal, visto o grau de trauma tecidual e perda funcional da estrutura, é de uso desaconselhável em animais em vias de extinção ou de alto valor reprodutivo, principalmente quando linhas genéticas não podem ser perdidas. A Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF), por ser um método simples, rápido, pouco invasivo e seguro na obtenção de amostras de órgãos e tecidos, vem se mostrando uma opção viável para amostras teciduais (PAZ, 2003)

Segundo Piatonet *al.* (1995) uma alternativa à biópsia incisional testicular na investigação das afecções reprodutivas é a opção pela biópsia por punção aspirativa com agulha fina (PAAF), porém tem sido pouco utilizada desde a publicação original de HUHNER (1928).

#### 3.4.2 PAAF (Punção aspirativa por agulha fina)

De acordo com Papa e Leme (2002) a punção biopsia aspirativa (PBA) ou punção aspirativa por agulha fina (PAAF) é um método objetivo para o exame

complementar do aparelho reprodutivo masculino, recomendado para a avaliação da saúde testicular e da espermatogênese, sendo um método pouco invasivo, rápido e de fácil execução, permitindo a análise quantitativa dos diferentes tipos celulares que compõe a gônada masculina.

Persson,Ahrén e Obrant (1971) compararam a biópsia PAAF com a incisional no homem, encontrando completa concordância entre os resultados em testículos normais.Em eqüinos, a PAAF testicular foi utilizada para avaliar as características celulares após aquecimento dos testículos (LEME; PAPA, 1999), quando se comparou diferentes métodos de coloração utilizados na citologia aspirativa e a influência da estação de monta nas células espermatogênicas e de Sertoli (LEME; PAPA; TRINCA, 2002).

Segundo Bastos (2015), a técnica de PBA é realizada através de punções testiculares com agulhas hipodérmicas, onde são realizadas leves escarificações para a colheita de material que é utilizado para a produção de esfregaços em lâminas de vidro para a avaliação sob microscopia de luz.

Com o objetivo de se determinar o impacto de punções sucessivas no testículo de gatos, Gouletsou (2012) realizou PAAF em 27 animais, movimentando a agulha em 3 direções diferentes no testículo esquerdo e em 8 direções diferentes no testículo direito e, através dos achados histológicos, conclui que a punção representa um método seguro para a avaliação testicular e que o maior número de punções não altera a incidência ou severidade de lesões, restrita a apenas, hematomas, edema e dilatação do epidídimo, no trajeto da agulha.

Segundo Ravivet *al.* (2016), a PAAF é segura e pode ser utilizada repetidamente a cada 6 a 8 semanas.

A partir de esfregaços citológicos confeccionados com material recuperado de PBAs todas as células de linhagem espermatogênica podem ser visualizadas. No entanto, os tipos celulares mais encontrados no exame citológico dos testículos de bovinos adultos e hípidos, são as células de Sertolli e espermátide finais (31,15% e 61,05%, respectivamente) representando, portanto, marcadores da higidez e da maturidade reprodutiva de touros (BASTOS, 2015).

Segundo Leme (2018), diferenças significativas foram obtidas na análise citológica de testículo de alpacas, quando coletadas por punção aspirativa por agulha fina em comparação a técnicas não aspirativas.

### 3.4.3 CIRCUNFERÊNCIA ESCROTAL E MORFOMETRIA TESTICULAR.

A circunferência escrotal, além de fácil mensuração, apresenta considerável herdabilidade e alta repetibilidade. Ainda, outro fator a ser considerado é a correlação positiva com o peso corporal em varias idades apresentada pela circunferência escrotalao sobreano. Isto indica o potencial da circunferência escrotal como um dos fatores de seleção de touros (SILVA, 2002).

Segundo Boligon (2007), atualmente, a medida do perímetro escrotal é uma das características mais utilizadas como critério de seleção para melhorar a eficiência reprodutiva em gado de corte, principalmente por ser de fácil mensuração e por apresentar magnitude de herdabilidade média a alta.

Segundo Rezende (2010), os valores de peso, comprimento, largura, perímetro, e volume da porção glandular dos testículos, não apresentam diferenças estatísticas entre as mensurações dos testículos direitos e esquerdos, o que evidenciou a simetria dos testículos.

Observa-se efeito significativo do sistema alimentar sobre o ganho em perímetro escrotal *in vivo* em favor do grupo de alto nível de suplementação, que ganhou 5,93 cm versus 3,71 cm do grupo não suplementado. Não foi observado efeito significativo do nível alimentar sobre as medidas glandulares dos testículos, sendo estas características determinadas pelo estágio de desenvolvimento sexual e não pelo nível alimentar e que as medidas testiculares não devem ser utilizadas isoladamente como critério de estimativa do desempenho de mestiços jovens (REZENDE, 2010).

Segundo estudo realizado por Silva (2002) nota-se que nos touros jovens o tamanho da CE é diretamente relacionado à qualidade do sêmen, portanto pode ser utilizado como um dos critérios na seleção de animais de alto potencial reprodutivo.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL

A pesquisa foi desenvolvida de forma multicêntrica junto à Fazenda Campo Verde, situada em Jarinú-SP, e no Laboratório de Reprodução Animal da Universidade de Santo Amaro (UNISA) Campus I, São Paulo-SP e no laboratório privado Vetsemen® situado em Barueri.

### 4.2 ANIMAIS

O presente experimento utilizou 25 ovinos machos, clinicamente sadios, entre 01 e 09 meses de idade, da raça Dorper devidamente registrados em sua associação de raça (ABCDorper), pertencentes a criatório especializado na raça, na cidade de Jarinú, São Paulo, local este onde foram realizados os exames de mensurações morfométricas dos testículos e punção aspirativa por agulha fina (PAAF).

Os animais foram identificados por tatuagem realizada na orelha e microchip implantado no pescoço e alimentados com leite materno e concentrado até sua desmama (80 dias de vida) e após este período, alimentados com feno de Coast-Cross, concentrado com níveis nutricionais balanceados para a fase de crescimento, água de boa qualidade e suplementação mineral adequada.

### 4.3 EXAMES COMPLEMENTARES

#### 4.3.1 PAAF

Trimestralmente, a partir dos 90 dias de vida, foi realizado uma única punção aspirativa por agulha fina (PAAF) do testículo direito com agulha hipodérmica de dimensão 30 x 0,8 mm acoplada à seringa de 10 ml, permitindo a coleta de material para citologia. Estas células foram armazenadas em lâminas de vidro, duas por aspirado citológico, secas à temperatura ambiente e posteriormente coradas pelo método Panótico. A leitura foi realizada em microscópio óptico em aumento de 100x, sendo que foram contadas 200 células em sequência, em lâminas com quantidade inferior a 200 células, uma segunda lâmina foi utilizada.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2001), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo Teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE) e a homogeneidade das variâncias comparadas pelo Teste QUI QUADRADO (Comando SPEC do PROC GLM). Os dados foram submetidos à análise de variância com medidas repetidas no tempo (PROC GLM) onde se verificou o efeito da idade sobre a morfometria testicular e as variáveis número de células de linhagem espermática, sendo, em seguida, utilizado o teste de comparação de médias TUKEY. Os dados foram submetidos também à análise de correlação de Pearson (PROC CORR), sendo que as associações que apresentarem significâncias estatísticas, serão submetidos a análise de regressão linear e quadrática (PROC REG) para obtenção da equação de predição. Foi adotado o nível de significância de 5% para todas as análises realizadas.

## 5 RESULTADOS

Os resultados deste trabalho podem ser visualizados nas tabelas de 1 a 4 (anexo).

Ao realizar análise de variância para verificar o efeito da idade sobre a morfometria testicular (Circunferência escrotal (CE), comprimento do testículo direito (CTD), largura do testículo direito (LTD), profundidade do testículo direito (PTD), Comprimento do testículo esquerdo (CTE), largura do testículo esquerdo (LTE), profundidade do testículo esquerdo (PTE), encontrou-se aumento de todas as variáveis avaliadas com a elevação da idade, com exceção da profundidade do testículo direito e esquerdo que não variou entre as idades de 190 a 240 dias (tabela 1).

Por outro lado, ao realizar análise de regressão avaliando o efeito da idade sobre a morfometria testicular observou-se, regressão positiva e quadrática sobre todos os parâmetros avaliados ( $p < 0,0001$ ) ( $CE = 8,35 + 0,16748x - 0,000266x^2$ ;  $CTD = 2,83 + 0,04899x - 0,00004161x^2$ ;  $LTD = 0,72731 + 0,04712x - 0,00010464x^2$ ;  $PTD = 0,49453 + 0,04269x - 0,00008402x^2$ ;  $LTE = 0,92442 + 0,04130x - 0,00008196x^2$ ;  $PTE = 0,50254 + 0,04214x - 0,00007915x^2$  e  $CTE = 3,14034 + 0,04407x - 0,00002795x^2$ ).

Como descrito na tabela 2, ao analisar a correlação entre idade, peso, CE, CTD, LTD, PTD, CTE, LTE e PTE, notou-se correlação alta e positiva para todos os itens analisados ( $p < 0,0001$ ).

Ao realizar a citologia testicular nos cordeiros aos 90, 180 e 270 dias de idade, não se observou efeito da idade sobre a proporção de espermátocito primário, secundário, espermátide inicial e células de Leydig. Por outro lado, a quantidade de espermátogônias foi inferior nos animais com 270 dias de idade comparado aos 180 dias, as espermátides finais aumentaram com o aumento da idade e as células de Sertoli diminuíram com o aumento da idade.

Ao realizar análise de regressão para avaliar o efeito da idade sobre as células testiculares, observou-se regressão quadrática positiva da idade sobre a quantidade de espermátogônias ( $Y = 0,625 + 0,48681X - 0,00154X^2$ ;  $p = 0,0123$ ) e

células de sertolli ( $Y = 312,875 - 2,1111X + 0,00424X^2$   $p < 0,0001$ ) e negativa sobre espermatíde inicial ( $Y = - 5,25 + 0,07778X - 0,00021605X^2$   $p = 0,05$ ) e espermatíde final ( $Y = - 109,37 + 1,53958X + 0,00249X^2$   $p < 0,0001$ ). Não houve efeito da idade sobre espermatócito 1 ( $p = 0,1567$ ), espermatócito 2 ( $p = 0,5654$ ) e células de Leydig ( $p = 0,3496$ ).

Ao avaliar a correlação entre idades e as células testiculares, observou-se correlação alta e positiva entre idade e espermatíde final ( $r = 0,86363$ ;  $p < 0,0001$ ) e alta e negativa entre Células de Sertolli e idade ( $r = - 0,83471$ ;  $p < 0,0001$ ) e Células de Sertolli e espermatíde final ( $r = - 0,96941$ ;  $p < 0,0001$ ).

## 6 DISCUSSÃO

Segundo Silva (2002), existe correlação positiva entre o peso corporal em varias idades quando comparado à circunferência escrotalao sobreano. Isto indica o potencial da circunferência escrotal como um dos fatores de seleção de reprodutores, o que corrobora com os resultados obtidos neste trabalho, que observou efeito da idade sobre a morfometria testicular (Circunferência escrotal (CE), comprimento do testículo direito (CTD), largura do testículo direito (LTD), profundidade do testículo direito (PTD), Comprimento do testículo esquerdo (CTE), largura do testículo esquerdo (LTE), profundidade do testículo esquerdo (PTE), encontrando aumento de todas as variáveis avaliadas com a elevação da idade.

Boligon (2007), apontou a medida do perímetro escrotal como uma das principais características utilizadas como critério de seleção para melhorar a eficiência reprodutiva em machos, principalmente por ser de fácil realização e por apresentar magnitude de herdabilidade média a alta.

As variáveis profundidade do testículo direito (PTD) e profundidade do testículo esquerdo (PTE) encerraram o crescimento entre as idades de 190 a 240 dias, visto que não encontrou-se efeito idade sobre PTD e PTE nestas idades. Este resultado pode ser explicado por Urt (2014), que define a fase de pós-puberdade como a fase caracterizada por lento crescimento testicular, tendendo à estabilização e por Yarney et al. (1990) que relatou elevada correlação entre o volume testicular e produção espermática na fase púbere, Segundo os autores, existe correlação positiva entre produção espermática diária aos 13 meses e tamanho testicular entre 150 e 190 dias de idade ( $r>0,54$ ) e entre total de espermatozóides no ejaculado aos 17 meses com tamanho testicular entre 170 e 190 dias de idade ( $r>0,56$ ).

Os achados citológicos deste experimento mostram um grande aumento na quantidade de espermátides finais, obtidas nas punções aspirativas, a partir dos 180 dias de idade. Esta elevação quantitativa de espermátides finais associado à estabilização da profundidade testicular a partir dos 180 dias de idade sugerem que os animais utilizados neste trabalho encontravam-se em fases púberes e pós púberes aos 190 dias de idade.

Segundo Sharpe (1994), existe uma maior quantidade de células de Sertolli até 40 dias antes do início da espermatogênese e seu declínio pode indicar o início da fase púber. Esta afirmação pode ser confirmada pelos resultados obtidos neste trabalho que sugere o início da fase pré púber dos cordeiros em idade inferior a 180 dias de vida, já que nesta idade, o número de células de Sertolli encontradas na citologia por punção aspirativa, apresenta queda significativa.

Achados similares foram obtidos por Leme (2017), em experimento realizado com gatos em fases púberes e pós púberes, onde se observou proporção maior de células de Sertolli aos 180 dias quando comparados com animais com um ano de idade ou mais.

Neste trabalho, a proporção de células de Sertolli encontradas na citologia testicular dos cordeiros aos 270 dias foi 26% (52 células em 200 contadas), número muito superior ao descrito por Leme (2004), que apontou média de 8,5% em citologia de ovinos adultos. Isso sugere que, apesar de púberes e férteis nesta idade, os animais utilizados neste trabalho ainda não atingiram a maturidade sexual plena aos 270 dias, idade da última coleta de dados.

A queda no número de células de Sertolli nas idades de 180 e 270 dias de vida (157 aos 90 dias, 70 aos 180 e 52 aos 270 dias de idade), corroboram com o proposto por França (1998), que encontrou correlação fortemente negativa entre a proporção volumétrica das células de Sertoli no parênquima e a produção espermática e concluiu que estas células não devem ocupar um percentual muito elevado do parênquima. Isto reforça o resultado obtido por Leme (2017), que embora tenha trabalhado com outra espécie animal, relatou um maior número de células de Sertolli em gatos entre 180 e 360 dias de vida quando comparados com gatos com idade superior a 360 dias de vida, reforçando a hipótese de que apesar de púberes esses indivíduos mais jovens, ainda não atingiram a maturidade sexual plena.

Os achados citológicos de células de Leydig, não apontam correlação positiva ou negativa com idade ou desenvolvimento corpóreo, o que corrobora com os achados obtidos por Santos (2015), que concluiu que as células de Leydig são os únicos componentes celulares que não alteram sua proporção no testículo, mesmo quando o testículo é exposto a mudanças de temperatura.

A identificação de células de Leydig apenas aos 180 dias de vida nos ovinos deste trabalho indica que estes animais já estavam púberes com esta idade e, como as medidas foram tomadas a cada 90 dias, que o início da maturidade sexual ocorreu entre 90 e 180 dias de vida. Estes resultados são explicados por Stabenfeldt e Edqvist (1996), que definem como principal função da célula de Leydig a produção da testosterona, hormônio importante para o desenvolvimento e manutenção da espermatogênese e das características sexuais masculinas, características essas que surgem na maturidade sexual.

Embora o número de espermátócitos primários tenha aumentado aos 180 e 270 dias de idade, não houve diferença estatística entre as idades, visto que o número de células encontradas na citologia foi muito baixa, 0,5% das células aos 90 dias e 1% das células aos 180 e 270 dias de idade. Resultados estes, mais próximos aos obtidos por Leme (2004), em experimento realizado com ovinos adultos, onde o autor identifica 4% destas células em citologia testicular de ovinos adultos. Tal fato pode indicar um aumento desta linhagem celular mesmo após a fase púber, estabilizando seu aumento somente na idade adulta. Tais resultados divergem dos obtidos pelo mesmo autor em 2017, quando avaliou gatos antes e após 1 ano de idade e observou 12% de espermátócitos primários em gatos entre 6 meses e 1 ano de idade e 7% acima de 1 ano de vida, o que sugere uma variação considerável entre espécies e uma possível necessidade de padronização de técnica para melhor visualização destas células. Leme (2017) observou um declínio no número de espermátócitos primários em gatos, em relação aos indivíduos de 180 e 360 dias e o grupo acima de 360 dias. O mesmo autor também descreve a dificuldade da identificação da mesma em alguns momentos, visto seu citoplasma escasso, o que talvez pode explicar a grande divergência de resultados entre autores.

Em relação à espermátócitos secundários, apenas alguns animais apresentaram células, sendo que na maioria dos ovinos avaliados não apresentou esta célula na citologia. Este resultado pode ser explicado por Leme (2004); Leme, (2017) e Paz (2003), que apontam um baixo número de células desta linhagem encontradas na citologia aspirativa, o que, segundo os mesmos autores, deve-se ao fato da fase de divisão celular ser curta, fazendo com que estas células fiquem disponíveis por pouco tempo. Essa mesma hipótese é reforçada por Cunningham

(1997), ao afirmar que menos de um dia após sua formação, os espermatócitos secundários dividem-se para formar espermátides.

A presença de espermátides iniciais nas lâminas de citologia do grupo de cordeiros de 180 dias de idade reforçando os indícios de que o início da puberdade dos cordeiros avaliados ocorreu em idade inferior aos 180 dias. A proporção destas células permaneceu similar ao encontrado no experimento de Braz (2015), que trabalhou com bodes adultos e observaram uma proporção consideravelmente superior de espermátides finais em relação às espermátides iniciais.

Com o avanço da idade dos cordeiros do experimento obteve-se uma elevação significativa do número de espermátides finais obtidas através da punção aspirativa. Este resultado condiz com o encontrado por Leme (2004) que também utilizou ovinos e muito similar ao por Paz (2003) que utilizou onças pintadas e Leme (2017) com gatos. Bastos (2015), observou que as espermátides finais são as células encontradas em maior número nas punções aspirativas de testículos de bovinos púberes. Estes resultados coesos nos apontam como fidedigno o padrão de aumento considerável de espermátides finais e a manutenção destes níveis na fase de puberdade e pós- puberdade, sugerindo que a identificação destas células através da punção aspirativa, pode ser um excelente marcador para avaliação da maturidade sexual de cordeiros.

Contraopondo o avanço das espermátides finais em relação à da idade, o número de espermatogônias se manteve muito similar nas avaliações aos 90 e 180 dias de vida, diminuindo consideravelmente quando avaliada aos 270 dias de vida (tabela 3). Estes resultados corroboram com os obtidos por Leme (2004) e divergem de Leme (2018) que avaliou gatos e de Paz (2003) com onças pintadas, indicando maior quantidade de espermatogônias encontradas na espécie ovina.

## 7 CONCLUSÃO

Através do presente experimento, podemos concluir que as medidas morfométricas dos testículos de ovinos aumentam até 270 dias de idade, com exceção da profundidade que estabiliza entre 150 e 190 dias de idade. Com o avanço da idade o número de células de Setolli diminuem, a quantidade de espermatogônias diminuem a partir de 180 dias de idade e o número de espermatócitos primários, secundários, espermatides iniciais e células de Leydig não alteram até os 270 dias de idade.

## REFERENCIAS

- BASTOS, Y.H.G.B. *et al.* Avaliação de diferentes técnicas de coloração de esfregaços obtidos por punção biópsia aspirativa testicular de bovinos. **Revista Saúde**, v. 6, n. 2, p. 5-10, 2015.
- BOLIGON, A. A. *et al.* Correlações genéticas entre medidas de perímetro escrotal e características produtivas e reprodutivas de fêmeas da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.565-571, 2007.
- BRAZ, K.G. Influência da bipartição escrotal sobre a capacidade de termorregulação e hemodinâmica testicular em caprinos: resultados preliminares. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 21, 2015, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte, MG: CBRA, 2015.
- CAMELA, E. S. **Ultrassonografia de glândulas genitais acessórias em carneiros da raça Dorper**: caracterização e correlações reprodutivas. 2015. 78 f. Dissertação (Mestrado em Medicina veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2015.
- CASTILLO GRANADOS, L. B.; BURLA DIAS, A. J.; PESANHA DE SALES, M. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos**. Campos dos Goytacazes: Projeto PROEX/UENF, 2006.
- COURTENS, J.L. **Ultra-structural and cytochemical study of the spermiogenesis of any domestic mammal**. Definition of any of these factors in the morphogenesis of spermatozoa. 1983. 250 f. Tese (Doutorado) - The University François-Rabelais of Tours. Tours, FR, 1983.
- CUNHA, G. N. **Estudo da viabilidade do uso da punção biópsia aspirativa por agulhas fina comparada ao da "tru-cut", em testículo de cães**. 2009. 61 f. Tese (Doutorado em Cirurgia veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2009.
- CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
- FRANÇA, L.R.; RUSSEL, L.D. The testis of domestic animals. *In*: MARTINEZ-GARCIA, F.; REGADERA, J. **Male reproduction**: a multidisciplinary overview. Madri: Churchill Livingstone, 1998. p. 197-219.
- GILBERT, S. F. **Developmental biology**. 6.ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2000.
- GOULETSOU, P. G. *et al.* Impact of fine needle aspiration (FNA) and of the number of punctures on the feline testis: Clinical, gross anatomy and histological assessment. **Theriogenology**, v. 78, n. 1, p. 172-181, July 2012.

HUHNER, M. Aspiration of the testicle in the diagnosis and prognosis of sterility. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 19, n. 1, p. 31-41, Jan. 1928.

KONIG, H.E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos**: texto e atlas colorido. Porto Alegre: Artmed, 2004. 2 v.

LEME, D. P., PAPA, F. O. Características citológicas de testículo de garanhões após estresse calórico testicular induzido. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 23, n. 3, p. 451-453, 1999.

LEME, D. P.; PAPA, F. O.; TRINCA, L. A. Assessment of seasonal influence on equine spermatogenic cells and Sertoli cells by testicular fine needle aspiration cytology. **Theriogenology**, v. 58, n. 2-4, p. 269-272, Aug. 2002.

LEME, D. P. Citologia do epitélio seminífero de carneiros. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 2, p. 1-4, jan. 2004.

LEME, D. P. *et al.* Testicular cytology by fine needle aspiration in domestic cats. **Theriogenology**, v. 15, n. 106, p. 46-52, Jan. 2018.

LOBO, R.N.B., LOBO, A.B.O. Melhoramento genético como ferramenta para o crescimento e o desenvolvimento da ovinocultura de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.247-253, abr./jun. 2007.

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

NOTTER, D.R. *et al.* Breed group differences in testicular growth patterns in spring-born ram lambs. **Journal of Animal Science**, v.15, n. 2, p. 227-231, 1981.

O'DONNELL, L. *et al.* Estrogen and Spermatogenesis. **Endocrine Reviews**, v.22, n.3, p.289-318, June 2001.

OLIVEIRA, M.E.F. *et al.* **Ultrasonografia na reprodução animal**. 2. ed. São Paulo: MedVet, 2013.

PAPA, F.O.; LEME, D.P. Testicular fine needle aspiration cytology from a stallion with testicular degeneration after external genitalia trauma. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 22, n. 3, 121-124, 2002.

PAZ, R. C. R. *et al.* Citologia aspirativa por agulha fina (CAAF), em testículo de onça pintada (*Panthera onca*), utilizada como ferramenta no diagnóstico de infertilidade. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, n. 40, p. 100-107, 2003.

PERSSON, S. P., AHRÉN, C., OBRANT, K. O. Aspiration biopsy smear of testis in azoospermia. **Scandinavian Journal of Urology and Nephrology**, Stockholm, v. 5, n. 1, p. 22-26, 1971.

PIATON, E. *et al.* Clinical value of fine-needle aspiration cytology and biopsy in the evaluation of male infertility. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, Chicago, v. 119, p. 722-726, 1995.

QUEIROZ, G.C.; CARDOSO, F.M. Avaliação histológica do rendimento da espermatogênese de carneiros deslanados adultos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.13, n.2, p. 99-108, 1989.

RAVIV, G. *et al.* Sonographic evidence of minimal and short-term testicular damage after testicular sperm aspiration procedures. **Fertility and Sterility**, v. 82, p. 442-444, 2004.

REZENDE, P. L. P. *et al.* Morfometria testicular de bovinos mestiços jovens submetidos a diferentes estratégias de suplementação energética de pastagem de *Brachiaria brizantha*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 4, p. 817-824, out./dez. 2010.

RICARTE, A. R. F. Morfofisiologia da reprodução de caprinos: revisão de literatura. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, supl., p.S8-S13, 2010.

ROSANOVA, C. *et al.* A raça Dorpere sua caracterização produtiva e reprodutiva. **Veterinária Notícias**, v.11, n.1, 2005.

SANTANA, A. F. *et al.* **Correlação entre circunferência escrotal e características de crescimento em ovinos deslanados no Ceará**. 1996. 85 f. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 1996.

SANTOS J.D.F. Influence of the year's season on the testicular structure in sheep bred in southern Piauí. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 11, p. 933-939, nov. 2015.

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

SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In: KNOBIL, E; NEILL, J.D. **The physiology of reproduction**. 2. ed. New York: Raven Press, 1994. p. 1364-1434.

SILVA, A. E. D. F. Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em touros da raça Nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1157-1165, 2002.

SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **DUKES**: fisiologia dos animais domésticos. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. cap. 38, p.623-625.

SOUZA, C.E.A.; MOURA, A.A.; LIMA, A.C.B. Circunferência escrotal e características seminais em carneiros Santa Inês. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n. 25, p. 196-199, 2001.

STABENFEDT, G.H.; EDQVIST,L. Processos reprodutivos do macho. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes**: fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. cap. 35, p.603-614.

THIBAULT, C.; LEVASSEUR, M.C. **Reproduction in mammals and humans**. S. l.: Ellipses: INRA, 1992. 720 p.

URT, M. A. G. **Ecotextura testicular e qualidade seminal em ovinos da raça Texel**.Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal,Campo Grande, 2014.

VIANA, J.A.*et al*.Dinâmica das importações de carne ovina no Brasil:análise dos componentes temporais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 3,supl.1, p. 2223-2234, 2015

YARNEY, T.A.; SANFORD, L.M.; PALMER, W.M. Pubertal development of ram lambs: body weight and testicular size measurements as indices of post-pubertal reproductive function. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 70, p. 139, 1990.

# **ANEXOS**

Tabela 1. Efeito da idade (meses) sobre a Circunferência escrotal (CE), o comprimento do testículo direito (CTD) e esquerdo (CTE), a largura do testículo direito (LTD) e esquerdo (LTE) e a profundidade do testículo direito (PTD) e esquerdo (PTE).

Idade	CE (cm)	CTD (cm)	LTD (cm)	PTD (cm)	CTE (cm)	LTE (cm)	PTE (cm)
30	13,02 <sup>A</sup>	4,24 <sup>A</sup>	1,97 <sup>E</sup>	1,67 <sup>E</sup>	4,39 <sup>A</sup>	2,03 <sup>A</sup>	1,70 <sup>E</sup>
70	18,64 <sup>B</sup>	6,04 <sup>B</sup>	3,61 <sup>D</sup>	3,10 <sup>D</sup>	6,10 <sup>B</sup>	3,49 <sup>B</sup>	2,99 <sup>D</sup>
110	24,32 <sup>C</sup>	7,82 <sup>C</sup>	4,71 <sup>C</sup>	4,24 <sup>C</sup>	7,80 <sup>C</sup>	4,53 <sup>C</sup>	4,32 <sup>C</sup>
150	27,12 <sup>D</sup>	9,16 <sup>D</sup>	5,39 <sup>B</sup>	4,95 <sup>B</sup>	9,05 <sup>D</sup>	5,23 <sup>D</sup>	4,99 <sup>B</sup>
190	30,09 <sup>E</sup>	10,61 <sup>E</sup>	5,80 <sup>AB</sup>	5,52 <sup>A</sup>	10,38 <sup>E</sup>	5,72 <sup>E</sup>	5,60 <sup>A</sup>
240	33,11 <sup>F</sup>	11,92 <sup>F</sup>	6,11 <sup>A</sup>	5,91 <sup>A</sup>	11,88 <sup>F</sup>	6,15 <sup>F</sup>	6,04 <sup>A</sup>

\*Letras iguais na mesma coluna indicam semelhança estatística ( $p > 0,005$ )



Tabela 3. Efeito da idade sobre a celularidade do parênquima testicular em análise citológica, pós punção aspirativa por agulha fina (PAAF), contagem de 200 c

Idade	Espermatogônia	Esperm. Prim.	Esperm. Sec.	Esperm. Inic.	Esperm. Final	Sertoli	Leydig
90	32 <sup>AB</sup>	1 <sup>A</sup>	0,75 <sup>A</sup>	0A	9 <sup>a</sup>	157 <sup>A</sup>	0 <sup>A</sup>
180	38,5 <sup>A</sup>	2 <sup>A</sup>	0,125 <sup>A</sup>	1,75 <sup>a</sup>	87 <sup>B</sup>	70 <sup>B</sup>	0,25 <sup>A</sup>
270	20,12 <sup>B</sup>	2,37 <sup>A</sup>	0,5 <sup>A</sup>	0A	124 <sup>C</sup>	52 <sup>C</sup>	0,125 <sup>A</sup>

\*Letras iguais na mesma coluna indicam semelhança estatística ( $p > 0,005$ )

Tabela 4. . Correlação de Pearson entre a idade e células do parênquima testicular (espermatogônia, espermatócito primário, espermatócito secundário, espermatíde inicial, espermatíde final, células de Sertoli e células de Leydig), obtidas após PAAF (punção aspirativa por agulha fina).

	Idade	Espermat.	Esperm. Prim.	Esperm. Sec.	Esperm. Inic.	Esperm. Final	Sertoli	Leydig
Idade	1							
Espermat	-0,37274 P=0,0728	1						
Esperm. Prim.	0,38907 P=0,0602	-0,04432] P=0,8328	1,00					
Esperm. Sec.	-0,09135 P=0,6712	-0,08686 P=0,6865	0,34357 P=0,1002	1				
Esperm. Inic.	0 P=1	0,23808 P=0,2626	0,5086 p=0,8134	-0,12197 P=0,5702	1			
Esperm. Final	0,86363 P<0,0001	-0,39151 P=0,0585	0,2466 P=0,2454	-0,03613 P=0,8669	-0,12362 p=0,5649	1		
Sertoli	-0,83471 P<0,0001	0,15867 P=0,4590	-0,28936 P=0,1702	0,03398 P=0,8748	0,04013 P=0,8523	-0,96941 p<0,001	1	
Leydig	0,1543 P=0,4716	0,03269 P=0,8795	0,1419 P=0,5083	-0,15505 P=0,4694	0,01902 P=0,9297	0,32588 P=0,1202	-0,3627 P=0,081	1