

BIANCA CABRAL CALDEIRA

**AVALIAÇÃO MORFOFUNCIONAL DO TESTÍCULO E DO PROCESSO
ESPERMATOGÊNICO DO CACHORRO-DO-MATO
(*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) ADULTO**

Dissertação 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
2007**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C146a
2007

Caldeira, Bianca Cabral, 1978-

Avaliação morfofuncional do testículo e do processo
espermatogênico do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*,
Linnaeus, 1766) adulto / Bianca Cabral Caldeira.

– Viçosa, MG, 2007.

xi, 48f. : il. (algumas col.); 29cm.

Orientador: Tarcízio Antônio Rêgo de Paula.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Cão - Reprodução. 2. Cão - Morfologia. 3. Animais
silvestres. 4. Testículos - Fisiologia. 5. Espermatogênese
em animais. 6. Animais selvagens - Conservação.

I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 636.08926

BIANCA CABRAL CALDEIRA

**AVALIAÇÃO MORFOFUNCIONAL DO TESTÍCULO E DO PROCESSO
ESPERMATOGÊNICO DO CACHORRO-DO-MATO
(*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) ADULTO**

Dissertação 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 EM: 31 de julho de 2007

Prof.Sérgio Luis Pinto da Matta
(Co-orientador)

Prof. Cláudio César Fonseca
(Co-orientador)

Prof. Laércio dos Anjos Benjamin

Prof ^a. Flaviana Lima Guião Leite

Prof. Tarcízio Antônio Rêgo de Paula
(Orientador)

*“É tão bonito quando a gente pisa firme nessas linhas que estão nas palmas de
nossas mãos”.*

*“É tão bonito quando a gente vai à vida nos caminhos onde bate bem mais forte o
coração”...*

Guimarães Rosa

Àqueles que estiveram sempre ao meu lado, dedico:

A Deus, meu refúgio e fortaleza.

Ao Anderson, pelo amor, companheirismo incondicional.

Aos meus pais, Neuza e Leônidas, pelos ensinamentos, compreensão, amor e
confiança.

Às minhas irmãs Bruna e Brena, e ao meu irmão Douglas, por todo carinho.

A toda minha família, pela compreensão e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre ao meu lado.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Centro Universitário do Leste de Minas Gerais – UNILESTE – MG.

Às coordenadoras dos cursos de Pedagogia e Normal Superior do UNILESTE-MG, Aparecida Assis e Niura Sueli de Almeida Martins, pelo apoio e confiança.

Aos amigos e professores do UNILESTE-MG, Marlúcia, Mariana, Michele, Carla Brum, Gláucia, Sandra, Júlia, Cleyton, Flávia Márcia, pelo incentivo e confiança.

Aos meus amigos técnicos do UNILESTE-MG, Alice, Bruno, Gisele, José Márcio, Marcilene, Madailza, Suzane, Sheila, Renan e Wivian, pela amizade e incentivo.

Às amigas da república: Andréia, Nilma, Tatiane, Kellen, pela convivência ao longo desde tempo.

Ao diretor do Colégio Macedo Soares, José da Silva Oliveira, aos professores, funcionários e alunos, pela confiança, apoio e incentivo.

Ao professor Tarcízio Antônio Rêgo de Paula, pela oportunidade e pela orientação efetiva no desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Sérgio Luis Pinto da Matta pelas sugestões, conselhos e pela amizade.

À professora e amiga Larissa Pires Barbosa, pelo incentivo, sugestões e conselhos.

Ao professor Laércio dos Anjos Benjamin, pela amizade e sugestões.

Aos professores Cláudio Fonseca, José Domingos e Eduardo Paulino, pelos ensinamentos.

Ao Laboratório de Biologia Estrutural-UFV por ceder a estrutura para realização de algumas análises.

Aos meus amigos de mestrado, Bruna, Carlão, Eduardo, João Bosco, Juliano, Luís, Marcos, Maytê, Moacir, Rebeca e Tyara, pelos trabalhos realizados no CETAS-UFV e pela convivência.

Aos amigos Adolfo, Éder, Elaine, Nívia, Priscilla Sarti, Raquel e Eduardo (Dunga) pelo apoio e amizade.

Aos amigos do CETAS, Ana, Alexandre, Gabriela, Gediendson, Pablo, Mara e a todos estagiários. Parabéns pelo trabalho em equipe!

Às amigas Ana Carolina, Dani, Pâmella e Suelen, pela amizade e ajuda constante.

Aos funcionários Rosi, José Antônio, Nenzinho, Geraldinho, Margareti, Romão e a todos os demais, pela ajuda fornecida nestes anos.

Aos animais que participaram deste experimento.

BIOGRAFIA

BIANCA CABRAL CALDEIRA, filha de Leônidas Gracindo Amaro Caldeira e Neuza Maria Cabral Caldeira nasceu em Juiz de Fora, Minas Gerais, no dia 28 de junho de 1978.

Cursou o ensino fundamental na Escola Estadual Rotildino Avelino em Coronel Fabriciano-MG. Cursou o ensino médio na Escola Estadual Alberto Giovanini em Coronel Fabriciano-MG, onde concluiu em 1998 com a formação de Magistério.

Em 1999 ingressou no curso de Ciências Biológicas no Centro Universitário do Leste de Minas Gerais, Unileste-MG, concluindo o curso em 2003.

De 2003 a 2004 especializou-se em Docência do Ensino Superior pelo Centro Universitário do Leste de Minas Gerais, Unileste-MG.

Em agosto de 2005 ingressou no programa de pós-graduação em Medicina Veterinária com área de concentração em Morfologia, pelo Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, concluindo os requisitos necessários à obtenção do título de “Magister Scientiae” em julho de 2007.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT	x
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 - O cachorro-do-mato.....	3
2.2 - Os testículos.....	5
2.2.1 Compartimento tubular e as células de sustentação.....	6
2.2.2 Compartimento intertubular e as células de Leydig	7
2.3 - A biópsia testicular	7
2.4 - Referências bibliográficas.....	8
3 - MORFOMETRIA TESTICULAR E DE TÚBULOS SEMINÍFEROS DO CACHORRO-DO-MATO (<i>Cerdocyon thous</i> , Linnaeus, 1766) ADULTO	14
Resumo	14
Abstract.....	15
3.1 - Introdução.....	16
3.2 - Material e métodos	17
3.3 - Resultados e discussão.....	20
3.4 - Conclusões.....	26
3.5 - Referências bibliográficas.....	27
4 - ORGANIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS ELEMENTOS DO ESPAÇO INTERTUBULAR DO TESTÍCULO DO CACHORRO-DO-MATO (<i>Cerdocyon thous</i> , Linnaeus, 1766) ADULTO	33
Resumo	33
Abstract.....	34
4.1 - Introdução.....	35
4.2 - Material e métodos	37
4.3 - Resultados e discussão.....	39
4.4 - Conclusões.....	43
4.5 - Referências bibliográficas.....	43
5- CONSIDERAÇÕES FINAIS	47

RESUMO

CALDEIRA, Bianca Cabral, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2007.
Análise morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) adulto. Orientador: Tarcízio Antônio Rêgo de Paula. Co-orientadores: Sérgio Luís Pinto da Matta e Cláudio César Fonseca.

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), conhecido como graxaim, raposa-caranguejeira, lobinho, lobete e graxaim-do-mato, pertence à ordem Carnivora e família Canidae, sendo encontrado na maior parte do território brasileiro. Este animal não figura na lista de animais ameaçados de extinção do IBAMA (Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2007) e embora relativamente abundante, pouco é conhecido sobre sua biologia social e morfofisiológica, em especial quanto aos fundamentos básicos da sua fisiologia reprodutiva. O estudo de aspectos básicos da reprodução, em especial o processo espermatogênico, torna-se relevante para fornecer informações para o desenvolvimento de tecnologias de reprodução assistida. A análise quantitativa da espermatogênese pode ser utilizada no estabelecimento de padrões cinéticos, como a divisão e renovação de espermatogônias. Permite ainda estimar o coeficiente de eficiência do processo espermatogênico e quantificar a população das células germinativas e suas relações com a população das células de Sertoli em várias etapas do desenvolvimento ao longo do processo espermatogênico. O presente trabalho se propôs a definir alguns parâmetros volumétricos testiculares e correlacionar os dados de morfometria testicular e do túbulo seminífero à massa corporal, além de caracterizar e classificar o espaço intertubular do cachorro-do-mato. Foram utilizados seis cachorros-do-mato adultos, provenientes do Centro de Triagem de Animais Silvestres CETAS-UFV. Para a coleta das amostras foi realizada a biópsia testicular, que é uma metodologia eletiva para a coleta de material para o estudo da fisiologia e patologias reprodutivas em animais domésticos e selvagens, uma vez que fornece material suficiente para análise histológica, não apresentando quaisquer alterações sobre o processo espermatogênico em longo prazo. No presente trabalho, o peso corporal médio dos cachorros-do-mato foi de 6,53 Kg, dos quais cerca de 0,068% estão alocados em massa testicular e 0,042% especificamente em túbulos seminíferos, que

representaram cerca de 87,5% do parênquima testicular. A albugínea testicular representou cerca de 12,5% da massa testicular. O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi de 236 μm , e a espessura média do epitélio seminífero foi de aproximadamente 62,9 μm , apresentando 18 metros de túbulo seminífero por grama de testículo. Com relação ao parênquima testicular, 3,88% é ocupado por células de Leydig, 7,95% por tecido conjuntivo, 0,12% por vasos linfáticos e 0,72% por vasos sangüíneos. O volume médio da célula de Leydig foi de 1149 μm^3 e o seu diâmetro nuclear médio foi de 8,01 μm . Em cachorros-do-mato, as células de Leydig ocupam em média 0,0022% do peso corporal, com o número médio dessas células de 31 milhões por grama de testículo, que está dentro da amplitude descrita para a maioria dos mamíferos, entre 20 e 40 milhões.

ABSTRACT

CALDEIRA, Bianca Cabral, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July of 2007.
Morphofunctional assessments of testis and spermatogenic process of adult crab eating fox (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766). Adviser: Tarcízio Antônio Rêgo de Paula. Co-Advisers: Sérgio Luis Pinto da Matta and Cláudio César Fonseca.

The crab-eating fox (*Cerdocyon thous*), known as graxaim, lobinho, etc. belongs to the order Carnivora and family Canidae, being found at the most part of Brazil. This animal does not figure in the list of IBAMA's (Brazilian Institute of Environment and Renewable Natural Resources, 2007) threatened animals of extinguishing and even relatively abundant, little is known about its social, morphological and physiological biology, in special those related with the basic fundamentals of its reproductive physiology. The study of basic aspects of reproduction, in special the spermatogenic process, is relevant to provide informations for the development of technologies in attended reproduction. The quantitative analysis of spermatogenesis can be used to establish kinetic patterns of division and renewal of spermatogonias. It allows estimate the efficiency of the spermatogenic process, the quantification of germ cells population and its relationship with the Sertoli cells population, in some stages of the spermatogenic process development. The present work defines some testicular volumetric parameters and correlates the morphometry of testis and seminiferous tubule data with corporal weight. It also characterizes and classifies the intertubular space of crab-eating fox. In this way, it had been used six adults crab-eating fox, from the Wild Animals Selection Center (CETAS-UFV). To collect samples was chosen the testis biopsy, which is an appropriate methodology for sample collection for the study of the physiologic and reproductive pathologies in domestic and wild animals, as it provides sufficient material for histological analysis, not presenting any alteration in long term spermatogenic process. In this work, the average body weight of the crab-eating fox was 6.53 kg, of which 0.068% are allocated in testicular mass and 0.042% specifically in seminiferous tubules, which represented 87.5% of testicular parenchyma. The testicular albuginea represented 12.5% of testicular mass. The average diameter of seminiferous tubules was 236 μm , the average epithelium thickness was 629 μm , with 18 meters of seminiferous

tubule per gram of testis. In relation to the testicular parenchyma, 3.88% is occupied by Leydig cells, 7.95% by conjunctive tissue, 0.12% by lymphatic vessels and 0.72% by blood vessels. The average volume of Leydig cell was $1149 \mu\text{m}^3$ and the average nuclear diameter was $8.01 \mu\text{m}$. In crab-eating fox the Leydig cells are on average 0.0022% of body weight and its average number per gram of testis (31 million) is within the expected for mammals, between 20 and 40 million.

1 - INTRODUÇÃO

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), conhecido como graxaim, raposa-caranguejeira, lobinho, lobete e graxaim-do-mato, pertence à ordem Carnívora e família Canidae, sendo encontrado na Colômbia, Venezuela, Guiana Francesa, Suriname, Leste do Peru, Leste da Bolívia, Paraguai, Uruguai, norte da Argentina e na maior parte do Brasil (FOWLER, 2001). Ocupa principalmente os biomas do Cerrado, Caatinga, Pantanal, Mata Atlântica e Campos Sulinos, utilizando bordas de matas além de áreas alteradas e habitadas pelo homem (FONSECA et al., 1996). Apesar da maior parte da literatura sobre a espécie não considerar sua ocorrência na bacia amazônica, recentemente foi registrado no norte do Mato Grosso, região sul da Floresta Amazônica, em áreas de floresta impactada por desmatamentos (MICHALSHI & PERES, 2005).

Com a fragmentação das matas, diminuição de presas e aumento na disponibilidade de animais domésticos em áreas agrícolas, alguns carnívoros passam a utilizar desse novo recurso alimentar entrando em conflito com os proprietários rurais e mesmo na periferia de cidades. É possível a visualização de cachorros-do-mato como animais sinantrópicos, sobrevivendo de restos alimentares no período noturno em cidades e estradas, o que gera uma grande ocorrência de atropelamentos (CASELLA et al., 2006).

Atualmente, a extinção de algumas espécies de plantas e animais tem sido associada a diversas causas, sendo o processo de seleção natural das diferentes espécies e a interferência humana as mais implicadas. O cachorro-do-mato não figura na lista de animais ameaçados de extinção do IBAMA (Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2007) e embora relativamente abundantes, pouco é conhecido sobre sua biologia social e morfofisiológica. As espécies que conseguem escapar dos riscos de extinção ainda podem estar sujeitas aos efeitos da endogamia que ocasiona normalmente baixa eficiência reprodutiva (WILDT et al., 1987). Poucas informações sobre o cachorro-do-mato são obtidas na literatura, em especial quanto aos fundamentos básicos da fisiologia reprodutiva. Em outras espécies de carnívoros silvestres da fauna brasileira, trabalhos detalhados sobre o processo espermatogênico foram desenvolvidos, como na jaguatirica (SARTI, 2006), onça pintada (AZEVEDO et

al., 2006), na onça parda (GUIÃO- LEITE et al., 2006), e no lobo-guará (BITTENCOURT et al., 2007).

Uma grande dificuldade encontrada pelos pesquisadores que trabalham com animais silvestres reside nas restrições de acesso aos espécimes de vida livre e cativeiro, fazendo com que o número reduzido de indivíduos dificulte a obtenção de informações estatisticamente significativas. O estudo de aspectos básicos da reprodução, em especial o processo espermatogênico é importante para fornecer informações que auxiliem no desenvolvimento de tecnologias em reprodução assistida (WILDT, 1989).

Segundo CASTRO et al. (1997), a análise quantitativa da espermatogênese, pode ser utilizada no estabelecimento de padrões cinéticos, como a divisão e renovação de espermatogônias e permitem ainda estimar o coeficiente de eficiência do processo espermatogênico, a quantificação da população das células germinativas e suas relações com a população das células de Sertoli, em várias etapas do desenvolvimento ao longo do processo espermatogênico.

Neste sentido o estudo do processo espermatogênico do cachorro-do-mato permitirá o estabelecimento de padrões qualitativos e quantitativos espécie-específicos, importantes na definição de protocolos de reprodução assistida.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - O cachorro-do-mato

Os representantes atuais da família Canidae são tradicionalmente agrupados em três subfamílias: a) subfamília *Caninae*, com os gêneros *Canis*, *Alopex*, *Vulpes*, *Fennecus*, *Urocyon*, *Nyctereutes*, *Dusicyon*, *Cerdocyon*, *Atelocynus* e *Chrysocyon*; b) subfamília *Simocyoninae*, com os gêneros *Speothos*, *Cuon* e *Lycaon*; e c) subfamília *Otocyoninae*, com o gênero *Otocyon* (FOWLER, 2001).

Canídeos são principalmente carnívoros, mas a maioria das espécies neotropicais tem hábitos onívoros, usando grande variedade de ecossistemas. Assim, adaptam-se a condições climáticas extremas, desde desertos quentes a regiões geladas do Ártico e de zonas alpinas de montanhas elevadas (FOWLER, 2001). A abundância do *Cerdocyon thous*, (Figura 1), é favorecida pela grande adaptabilidade, principalmente do seu hábito alimentar, que inclui desde insetos, roedores, répteis, pássaros, caranguejos de rios, ovos e até frutas (BISBAL & OJASTI 1980).



Figura 1 – Cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*).

A Figura 2 representa a distribuição de *Cerdocyon thous* na América do Sul. No Brasil ocupa principalmente os biomas do Cerrado, Caatinga, Pantanal,

Mata Atlântica e Campos Sulinos, utilizando bordas de matas além de áreas alteradas e habitadas pelo homem (FONSECA et al., 1996). *Cerdocyon thous* é citado no apêndice II da CITES (Conservation on International Trade in Endangered Species, 2007) que o classifica como fora da lista de animais em extinção. Segundo VIEIRA (1996), a morte de indivíduos de cachorro-do-mato por atropelamento ocorre em quantidade considerável, e possivelmente contribui para grandes impactos populacionais nesta espécie.



Figura 2 - Distribuição de *Cerdocyon thous* na América do Sul (Berta, 1982).

Esses animais também são conhecidos como graxaim, raposa-caranguejeira, lobinho, lobete etc. Seu peso pode variar entre 5 e 8 kg, possui 65 cm de comprimento e cauda com cerca de 30 cm. Sua pelagem pode variar de cinza a castanho, com faixa de pêlos pretos da nuca até a ponta da cauda. Na idade adulta, estes animais formam casais e a fêmea é capaz de produzir duas ninhadas anualmente, com a gestação de duração de cerca de 55 dias. A média de filhotes é de 3 a 6, que nascem com 120 a 160 gramas cada e permanecem com o casal até 5 a 8 meses de idade (BRADY, 1979), podendo permanecer no território dos pais nos seus primeiros anos de vida (MACDONALD & COURTENA, 1996).

2.2 - Os testículos

O testículo dos mamíferos é um órgão oval ou arredondado geralmente localizado fora da cavidade abdominal, em uma prega cutânea denominada escroto. Esta localização testicular é importante na maioria das espécies de mamíferos devido à necessidade de uma temperatura inferior à temperatura abdominal, para a manutenção das funções testiculares (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2005).

Os testículos apresentam tanto função endócrina quanto exócrina, ambas governadas pelos hormônios gonadotróficos hipofisários. O hormônio folículo estimulante (FSH) está diretamente relacionado com o início e manutenção da atividade gametogênica dos túbulos seminíferos. O hormônio luteinizante (LH) controla a atividade endócrina das células de Leydig, as quais produzem a testosterona, que além de dar suporte à atividade gametogênica, é responsável pelos caracteres sexuais secundários no macho adulto (ASHDOWN & HANCOCK, 1988).

De acordo com alguns autores, há correlação positiva entre o peso testicular e a produção espermática (AMANN, 1970; OLAR et al., 1983; FRANÇA & RUSSELL, 1998). Porém, o tamanho testicular não acompanha proporcionalmente o tamanho corporal, ou seja, o investimento somático em massa gonadal é maior em animais de pequeno porte em relação àqueles de maior porte corporal (KENAGY & TROMBULAK, 1986). A quantidade de espermatozóides produzidos é sempre muito maior que o número necessário para a fecundação, e o fato de o tamanho do testículo não necessariamente acompanhar o tamanho corporal é um contribuinte para a economia energética uma vez que animais de grande porte produziram quantidades excessivamente altas de espermatozóides (PAULA, 1999).

A espermatogênese é um processo sincrônico e regular de diferenciação e divisão celular, pelo qual uma espermatogônia-tronco gradativamente se diferencia numa célula haplóide altamente especializada, o espermatozóide (JOHNSON, 1991; FRANÇA & RUSSELL, 1998). Esta diferenciação complexa e organizada envolve três fases, baseando-se em considerações morfológicas e funcionais: (1) a fase proliferativa (espermatogonial) na qual as células sofrem rápidas e sucessivas divisões mitóticas; (2) fase meiótica (espermatócitos), na

qual o material genético é duplicado e passa por recombinação genética; e (3) fase de diferenciação ou espermatogênica (espermátides), na qual as espermátides sofrem intensas modificações, transformando-se em espermatozóides. É um processo contínuo em que cada fase é caracterizada por mudanças morfológicas e bioquímicas dos componentes do citoplasma e do núcleo (COUROT et al., 1970).

2.2.1 Compartimento tubular e as células de sustentação

O túbulo seminífero apresenta grande variação na densidade volumétrica no testículo entre as diferentes espécies. Apesar disso, é geralmente o componente mais abundante do parênquima testicular (FRANÇA & RUSSELL, 1998). Parâmetros quantitativos diretamente relacionados com o túbulo seminífero, como diâmetro tubular, espessura do epitélio seminífero e comprimento total de túbulos seminíferos, apresentam relação positiva com a atividade espermatogênica, fornecendo informações para o estabelecimento da mesma, em uma dada espécie (FRANÇA & RUSSELL, 1998; PAULA, 1999).

O epitélio seminífero compõe-se de quatro camadas de gerações distintas de células germinativas. Na camada basal do epitélio seminífero observam-se espermatogônias e espermátócitos primários iniciais; nas camadas intermediárias observam-se gerações de espermátócitos primários mais desenvolvidos e espermátócitos secundários; e na camada adluminal, espermátides, sustentadas por uma célula somática denominada célula de Sertoli (RUSSELL et al., 1990). Estas desempenham papel fundamental na regulação da espermatogênese (RUSSELL & GRISWOLD, 1993), realizando a mediação da ação do FSH e da testosterona no processo espermático. Dentre outras funções, a célula de Sertoli destaca-se no suporte e nutrição das células germinativas em desenvolvimento, na compartimentalização do epitélio seminífero, na liberação de espermatozóides no lume tubular, na secreção de fluidos e na fagocitose de células germinativas em degeneração e do excesso de citoplasma das espermátides em espermição (FRANÇA & RUSSELL, 1998).

2.2.2 Compartimento intertubular e as células de Leydig

Preenchendo o espaço entre os túbulos seminíferos, encontram-se tecido conjuntivo, nervos, vasos sanguíneos e linfáticos, porém o principal componente celular deste compartimento é a célula de Leydig (HOOKER, 1970), cuja forma varia de irregular a poliédrica.

As células de Leydig iniciam a secreção de testosterona ainda na vida fetal, para a diferenciação embriológica dos órgãos genitais masculinos. Porém é durante a puberdade que as células intersticiais de Leydig tornam-se mais evidentes e funcionais. A densidade populacional das células de Leydig pode variar entre indivíduos de espécies diferentes e mesmo entre indivíduos da mesma espécie. Dentre os inúmeros fatores que podem influenciar na sua quantidade por animal, estão a quantidade de LH disponível, o número de receptores de LH por células, a quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar por uma unidade de tempo, a velocidade pela qual a testosterona deixa o testículo via vasos linfáticos, vasos sanguíneos e fluidos seminais, o volume sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (RUSSELL et al., 1994; RUSSELL, 1996).

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). Neste sentido, COSTA et al., 2006 observaram que os níveis séricos de testosterona em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), apresentaram correlação positiva e significativa com o volume individual de células de Leydig e não com a sua proporção total ou o número das mesmas por testículo.

2.3 - A biópsia testicular

A biópsia incisional testicular é um procedimento bastante útil na verificação do processo espermatogênico em animais e humanos para diagnóstico de patologias relacionadas à infertilidade, determinando seguramente alterações patológicas mais comuns, como a aplasia de células germinativas, a

hipoespermatogênese, o hipogonadotropismo, condições inflamatórias e neoplasias (LOPATE et al., 1989).

As possíveis complicações da biópsia testicular são os danos ao parênquima devido ao ato cirúrgico, que pode interromper a espermatogênese localmente, podendo induzir a formação de anticorpos antiespermatozóides, mas não o suficiente para interferir na produção e na motilidade destes de forma negativa (ATTIA et al., 2000). Estudos recentes sobre os efeitos da biópsia testicular em mamíferos e aves demonstraram que a redução da produção de espermatozóides não ocorre, ou é apenas transitória, não interferindo na capacidade reprodutiva dos animais (ATTIA et al., 2000; CROSTA et al., 2002; CROSTA et al., 2003;).

MASCARENHAS et al., (2006) afirmaram que, a biópsia testicular incisional unilateral em cães sem raça definida (SRD) não revelou quaisquer alterações sobre a população celular, o rendimento intrínseco do processo espermatogênico e os índices de células de Sertoli, seja no testículo biopsiado, seja no testículo contralateral após um período de 60 dias. A biópsia testicular é uma metodologia eletiva para a coleta de material para o estudo da fisiologia e patologias reprodutivas em animais domésticos e selvagens, uma vez que fornece material suficiente para análise histológica (LOPATE et al., 1989; THRELFALL & LOPATE, 1993; ATTIA et al., 2000; CROSTA et al., 2002; CROSTA et al., 2003; AZEVEDO et al., 2006; MASCARENHAS et al., 2006; GUIÃO-LEITE et al., 2006; BITTENCOURT et al., 2007).

2.4 - Referências bibliográficas

- AMANN, R.P. Sperm production rates. In: JOHNSON, A.D., GOMES, W.R., VANDEMARK, N.L. (eds). **The testis**. New York: Academic Press. p. 433-482, 1970.
- ASHDOWN, R.R., HANCOCK, J.L. Anatomia funcional da reprodução masculina, In: **Reprodução Animal**, 4. ed. São Paulo: Manole, cap. 2, p. 7-31, 1988.
- ATTIA, K. A.; ZAKI, A.A.; EILTS, B.E.; PACCAMONT, D.L., HOSGOOD, G., DIETRICH, M.A., HOROHOV, D.W., BLOWIN, D.C. Anti-sperm antibodies and seminal characteristics after testicular biopsy or epididymal aspiration in dogs. **Theriogenology**, n. 53, p.1355-1363, 2000.

- AZEVEDO, M.H.F., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., FONSECA, C.C., NEVES, M.T.D. Morfometria testicular e o túbulo seminífero da onça pintada (*Panthera onca*). **Revista CERES**, v. 53, n. 307, p.374-381, 2006.
- BERTA, A. *Cerdocyon thous*. **Mammalian Species**, 186, 1-4, 1982.
- BISBAL, F.J., J. OJASTI. **Nicho trófico del zorro *Cerdocyon thous* (Mammalia, Carnivora)**. Venezuelica, 10, p. 469-496, 1980.
- BITTENCOURT, V.L., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., FONSECA, C.C., COSTA, D.S., BENJAMIN, L.A., COSTA, E.P. The seminiferous epithelium cycle and daily spermatogenic production in the adult maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811). **Micron**, v. 38, p. 584-589, 2007.
- BRADY, C.A. Observations on the behavior and ecology of the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). In: **Vertebrate ecology in the Northern Neotropics**. Washington: Smithsonian Institution Press, 271p, 1979.
- CASELLA, J.; CÁCERES, N.C.; GOULART, C.S.; PARANHOS FILHO, A.C. Uso do sensoriamento remoto e análise espacial na interpretação de atropelamentos de fauna entre Campo Grande e Aquidauana, MS. In: SIMPÓSIO DE GEOTECNOLOGIAS NO PANTANAL, 1, 2006, Campo Grande. **Anais...** p. 321-326.
- CASTRO, A.C.S., BERNDTSON, W.E., CARDOSO, F.M. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em estudo de reprodução de mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, n. 1, p. 25-34, 1997.
- CITES (Conservation on International Trade in Endangered Species) Protected species. Disponível em: <http://www.cites.org/CITES/eng/append>. Acesso em 15 de março de 2007.
- COROUT, M., HOCHEREAU-DE-REVIERS, M. T., ORTAVANT, R., Spermatogenesis. In: JOHSON, A.D., GOMES, W.R., VANDEMARK, N.L. (eds). **The testis**. New York: Academic Press. p. 339-432, 1970.

- COSTA, D.S., PAULA, T.A.R., MATTA., S.L.P. The intertubular compartment morphometry in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. **Animal Reproduction Science**, 91, p. 173-179, 2006.
- CROSTA, L., GERLACH, H., BÜRKLE, H.M. Endoscopic testicular biopsy technique in psittaciformes. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.16, n.2, p.106-110, 2002.
- CROSTA, L., GERLACH, H., BÜRKLE, H.M., TIMOSSO, L. Physiology, diagnosis, and diseases of the avian reproductive tract. **The Veterinary Clinics Exotic Animal Practice**, v.6, p.57-83, 2003.
- EWING, L.L., ZIRKIN, B.B., COCHRAN, R.C., KROMANN, N. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell mass. **Endocrinology**, v.105, p. 1135-1142, 1979.
- FONSECA, G.A.B., HERMANN, G., LEITE, Y.L.R., MITTERMEIER, R.A., RYLANDS, A.B., PATTON, J.L. Lista anotada de mamíferos do Brasil. **Occasional Papers in Conservation Biology**, v. 4, p.1-38, 1996.
- FOWLER, M.E. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa State University Press. 2001. 536 p
- FRANÇA, L.R., RUSSELL, L.D. The testis of domestic animals. In: **Male reproduction. A multidisciplinary overview**. Madrid: Churchill Livingstone. p.197-219, 1998.
- GUIÃO-LEITE, F.L., PAULA, T.A.R.; MATTA, S.L.P.; FONSECA, C.S.; das NEVES, M.T.; BARROS, J.B.G. Cycle and duration of the seminiferous epithelium in puma (*Puma concolor*). **Animal Reproduction Science**, 91, p. 307-316, 2006.
- HOOKE, C.W. The intertubular tissue of the testis In: **The testis Development, anatomy and physiology**. Nova Iorque: Academic Press, v.1, cap. 8, p. 483-550, 1970.

- 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 março de 2007.
- JOHNSON, L. Spermatogenesis. In: **Reproduction in domestic animals**. 4. ed. New York: Academic Press. p. 173-219. 1991.
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO. J. Aparelho Reprodutor Masculino. In: JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO. J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 11 ed., cap. 21, p. 323-334, 2005.
- KENAGY, G.J., TROMBULAK, S.C. Size and function of mammalian testes in relation to body size. **Journal of Mammalogy**. n.67, v.1, p.1-22, 1986.
- LOPATE, C., THRELFALL, W.R., ROSOL, T.J. Histopatologic and gross effects of testicular biopsy in the dog. **Theriogenology**, v.32, p.585-602, 1989.
- MACDONALD, D.W & COURTENA, O. Enduring social relationships in a population of *Cerdocyon thous*, in Amazonian Brazil (Carnivora, Canidae). **Journal of Zoology**, 239, p.329-355, 1996.
- MASCARENHAS, R.M., PAULA T.A.R., CARRETA, JR.M., RIBEIRO, E.C.S., BORBOLETA, L.R., MATTA, S.L.P. Efeitos da biópsia incisional testicular sobre o rendimento intrínseco da espermatogênese e índices de células de Sertoli em cães. **Revista CERES**, n. 53, v. 305, p.100-105, 2006.
- MICHALSKI, F., PERES, C. Anthropogenic determinants of primate and carnivore local extinctions in a fragmental forest landscape of southern Amazonia. **Biological Conservation**. 124. p. 383-396. 2005.
- OLAR, T.T., AMANN, R.P., PICKETT, B.W. Relationships among testicular size, daily production and output of spermatozoa and extragonadal spermatozoa reserves of the dog. **Biology of Reproduction**, v. 29, p. 1114-1120, 1983.
- PAULA, T.A.R. **Avaliação histológica e funcional do testículo de capivaras adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*)**. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 84 p. 1999.

- RUSSELL, L.D. Mammalian Leydig cell structure. In: PAYNE, A.H., HARDY, M.P., RUSSELL, L.D. (eds). **The Leydig cell**. Vienna: Cache River Press, cap. 10, p. 218-222, 1996.
- RUSSELL, L.D., CHANDRASHEKAR, V., BARTKE, A., SINHA-HIKIM, A.P. The hamsters' Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. **International Journal of Andrology**, v. 17, n. 2, p. 93-106. 1994.
- RUSSELL, L.D., ETTLIN, R.A., SINHA HIKIM, E.P., CLEGG, E.D. **Histological and histopathological evaluation of the testis**. New York: Cache River Press, 286p. 1990.
- RUSSELL, L.D., GRISWOLD, M.D. **The Sertoli cell**. New York: Cache River Press, 801p. 1993.
- SARTI, P. **Avaliação morfométrica do testículo e da espermatogênese de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) adultas**. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 56p. 2006.
- THRELFALL, W.R., LOPATE, C. Testicular biopsy. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Blackwell Publishing Limited, p. 943-949, 1993.
- VIEIRA, E.N. Highway mortality of mammals in Central Brazil. **Ciência e Cultura**. v. 48, n. 4, p. 270-272, 1996.
- WILDT, D.E. Strategies for the practical application of reproductive technologies to endangered species. **Zoo Biology Supplement**, v. 1, p. 17-20, 1989.
- WILDT, D.E., BUSH, M., GOODROWE, K.L., PACKER, C., PUSEY, A.E., BROWN, J.L., JOSLIN, P., O' BRIEN, S.J. Reproductive and genetic consequences of founding isolated lion population. **Nature**, v. 329, p. 328-331, 1987.

ZIRKIN, B.R., EWING, L.L., KROMANN, N., COCHRAN, R.C. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testis perfused in vitro, correlation with Leydig cell ultrastructure. **Endocrinology**, v. 107, p. 1867-1874, 1980.

3 - MORFOMETRIA TESTICULAR E DE TÚBULOS SEMINÍFEROS DO CACHORRO-DO-MATO (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) ADULTO

Resumo

Os parâmetros de biometria corporal e testicular são de grande importância no estabelecimento dos padrões reprodutivos e, conseqüentemente, no desenvolvimento de protocolos para a reprodução assistida nas diferentes espécies. Uma correlação direta entre o peso do testículo e a população espermática é observada nas diferentes espécies já estudadas, uma vez que o tamanho do testículo reflete principalmente o volume total do túbulo seminífero, seu principal componente. O presente trabalho tem como objetivos definir parâmetros volumétricos testiculares e correlacionar os dados de morfometria testicular e do túbulo seminífero à massa corporal em seis cachorros-do-mato adultos. O peso corporal médio dos cachorros-do-mato do presente experimento foi de 6,53 Kg, dos quais cerca de 0,068% são alocados em massa testicular e 0,042% especificamente em túbulos seminíferos, que representam 87,5% do parênquima testicular. A albugínea testicular representa 12,5% da massa testicular. O diâmetro médio dos túbulos seminíferos em cachorro-do-mato foi de 236 μm , e a espessura média do epitélio seminífero foi de 62,9 μm , apresentando cerca de 18 metros de túbulo seminífero por grama de testículo.

Palavras-chave: testículo, túbulo seminífero, cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous*, índice gonadossomático.

Abstract

The body and testis biometric parameters are very important to establish the reproductive patterns and the development of protocols for assisted reproduction in different species. The relationship between testis weight and spermatic population was observed in different species already studied, because the testis size is proportional to the volume of the seminiferous tubules, its main component. The aims of this work were define some testis volumetric parameters and correlate the data of testis and seminiferous tubule morphometry with the body weight in six adults crab-eating fox. The average body weight in this work was 6.53 kg, of which 0.068% was allocated in testis mass and 0.042% specifically in seminiferous tubule. The testis albuginea represented 12.5% of the testis mass. The seminiferous tubules represented 87.5% of the testis parenchyma. The average diameter of seminiferous tubule in crab-eating fox was 236 μm , and the seminiferous epithelium average thickness was 62.9 μm . The crab-eating fox had about 18 meters of seminiferous tubule per gram of testis.

Key words: testis, seminiferous tubule, crab-eating fox, *Cerdocyon thous*, gonadosomatic index.

3.1 - Introdução

Cerdocyon thous, conhecido como cachorro-do-mato, raposa-caranguejeira, lobinho, lobete e graxaim-do-mato, pode ser encontrado na Colômbia, Venezuela, Guiana Francesa, Suriname, Leste do Peru, Leste da Bolívia, Paraguai, Uruguai, norte da Argentina e na maior parte do Brasil (FOWLER, 2001). Ocupa principalmente os biomas do Cerrado, Caatinga, Pantanal, Mata Atlântica e Campos Sulinos utilizando bordas de matas, além de áreas alteradas e habitadas pelo homem (FONSECA et al., 1996). A abundância do *Cerdocyon thous* é devida, em parte, ao seu hábito alimentar. É uma espécie onívora, cuja dieta inclui desde insetos, roedores, répteis, pássaros, caranguejos de rios, ovos e frutos (BISBAL & OJASTI, 1980). Devido ao alto consumo de frutos os exemplares desta espécie podem agir como dispersores de sementes (ROCHA et al., 2004).

O cachorro-do-mato é listado no apêndice II da CITES (Conservation on International Trade in Endangered Species, 2007). Apresenta grande ocorrência na natureza e é tido como espécie de menor preocupação quanto ao risco de extinção. Porém, segundo VIEIRA (1996), a morte de indivíduos de cachorro-do-mato por atropelamento ocorre em quantidade considerável e possivelmente contribui para grandes impactos populacionais nesta espécie.

Com relação aos aspectos reprodutivos, há correlação positiva entre o peso testicular e a produção espermática (AMANN, 1970; OLAR et al., 1983; FRANÇA & RUSSELL, 1998). Porém, o tamanho testicular não acompanha proporcionalmente o tamanho corporal, ou seja, o investimento somático em massa gonadal é maior em animais de pequeno porte em relação àqueles de maior porte corporal (KENAGY & TROMBULAK, 1986). A quantidade de espermatozóides produzidos é sempre muito maior que o número necessário para a fecundação, e o fato de o tamanho do testículo não necessariamente acompanhar o tamanho corporal é um contribuinte para a economia energética uma vez que animais de grande porte produziram quantidades excessivamente altas de espermatozóides (PAULA, 1999).

Segundo KENAGY & TROMBULAK (1986), o tamanho relativo dos testículos pode fornecer informações quanto à fisiologia reprodutiva e até mesmo

quanto ao seu sistema de acasalamento. Assim, o tamanho testicular está diretamente relacionado ao comportamento reprodutivo, uma vez que animais com comportamentos monogâmicos e poligâmicos apresentam menor índice gonadossomático em relação às espécies com comportamentos promíscuos ou poliândricos. No primeiro caso, o pequeno investimento testicular é reflexo da formação de casais ou haréns onde um único macho é responsável pela cópula. Já entre os animais promíscuos ou poliândricos, vários machos têm acesso à cópula com a mesma fêmea, sendo mais aptos à paternidade aqueles animais com destacada produção espermática e, conseqüentemente, maior tamanho testicular.

Com relação ao parênquima testicular, o túbulo seminífero é geralmente o componente mais abundante. Todos os parâmetros quantitativos relacionados com túbulo seminífero, como diâmetro tubular, espessura do epitélio seminífero e o comprimento total e por grama de testículo, apresentam uma relação positiva com a atividade espermatogênica (FRANÇA & RUSSELL, 1998; PAULA, 1999). Desta forma, a mensuração tubular é a abordagem geralmente utilizada como indicador da atividade espermatogênica em investigações envolvendo a função testicular (NAVARRO et al., 2004; SOUZA et al., 2005; SILVA Jr et al., 2006; MASCARENHAS et al., 2006).

Assim, o estudo da morfofisiologia testicular e da biometria corporal em animais silvestres permite o estabelecimento de padrões fisiológicos e comportamentais, importantes para o conhecimento de particularidades sobre a biologia reprodutiva das diferentes espécies, com as quais é possível o desenvolvimento de protocolos visando à reprodução assistida. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi estabelecer alguns parâmetros volumétricos do testículo e correlacionar dados de morfometria testicular e do túbulo seminífero com a massa corporal em cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) adultos.

3.2 - Material e métodos

Foram coletados fragmentos de testículo de seis cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) adultos. Estes animais são rotineiramente encontrados atropelados em rodovias circunvizinhas e, casuisticamente, são

encaminhados ao Centro de Triagem de Animais Silvestres da Universidade Federal de Viçosa (CETAS-UFV). Os animais que sobrevivem aos traumas do atropelamento são reabilitados e quando possível soltos próximo às áreas de ocorrência. Os procedimentos adotados na metodologia deste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa-UFV, através do processo Nº. 65/2007. Devido ao fato da licença de pesquisa ter sido solicitada junto ao IBAMA-MG e o órgão ter demorado mais de 60 dias para dar parecer sobre o pedido da autorização, a pesquisa foi considerada de “caráter precário”, segundo a legislação ambiental em vigor (Portaria IBAMA número 332, de 13 de março de 1990, Art. 5º parágrafo único).

Dois animais foram recuperados e submetidos à anestesia geral, pelo uso de dardos anestésicos, com a utilização da associação tiletamina/zolazepan, na dose de 10 mg/kg. Todo o procedimento foi monitorado, aferindo-se a temperatura, os movimentos respiratórios e os batimentos cardíacos em intervalos de 10 minutos. Os animais foram então pesados e ambos os testículos mensurados quanto à largura, espessura e comprimento, utilizando-se paquímetro digital.

Para a determinação do volume testicular, utilizou-se a fórmula $\frac{4}{3}\pi ABC$, onde A= metade da largura, B= metade da espessura e C= metade do comprimento (MOREIRA, 1995; GUIÃO-LEITE et al., 2006; SARTI, 2006; MASCARENHAS et al., 2006; BITTENCOURT et al., 2007; BARROS et al., 2007). O volume testicular foi diretamente convertido em gramas, visto que a densidade volumétrica do testículo de mamíferos é muito próxima a um (JOHNSON et al., 1981; PAULA, 1999). Inferindo-se o peso corporal ao peso de ambos os testículos, foi calculado o índice gonadossomático (IGS), que representa o percentual de massa corporal alocado em testículos.

Após a tricotomia e anti-sepsia local, a pele do escroto foi incisada e, com o uso de um bisturi circular de 4 mm de diâmetro, foi obtido um fragmento da região média do testículo direito ou esquerdo. A lesão foi suturada em planos distintos, com fio sintético absorvível, sendo na pele utilizada sutura intradérmica com as extremidades embutidas. Como tratamento pós-operatório, cada animal recebeu agentes antiflogísticos e antibióticos.

Os animais que vieram a óbito durante o internamento, foram pesados e deles removidos os testículos, que foram mensurados segundo metodologia citada e recolhidos fragmentos de sua região média.

Os fragmentos foram imediatamente imerso em fixador Karnovsky (paraformaldeído 4% e glutaraldeído 4% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4) à temperatura ambiente, por no mínimo duas horas, sendo posteriormente armazenado sob refrigeração no mesmo tampão.

Estes foram processados para estudos em microscópio de luz, sendo desidratados em bateria com concentrações crescentes de álcool etílico (70%, 80%, 90% e 100% GL), com trocas a cada trinta minutos, com posterior infiltração de resina plástica (Historesin® Leica) em dois banhos e incluídos na mesma resina com adição de endurecedor. Após inclusão dos fragmentos, estes foram devidamente identificados e mantidos em frascos contendo sílica gel até ficarem completamente secos. Os fragmentos foram posicionados de modo a oferecer uma secção transversal da albugínea testicular. Foram obtidos cortes histológicos, com 3 µm de espessura, de modo seqüencial quando possível, utilizando-se micrótomo rotativo (Leica RM2155) dotado de navalha de vidro. Os cortes foram corados com azul de toluidina/borato de sódio 1% por um minuto. O procedimento histológico foi realizado no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV.

Utilizando-se ocular micrométrica, em aumento de 20 vezes ao microscópio de luz, a espessura média da albugínea testicular foi obtida a partir de 20 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 último foi calculado também por meio da fórmula do volume da elipse, utilizando a diferença entre as dimensões testiculares e a espessura da albugínea. Quando possível, a albugínea testicular foi dissecada e sua espessura mensurada por meio de paquímetro digital com precisão centesimal de milímetro, e os dados obtidos não apresentaram diferença significativa dos valores obtidos pela mensuração com o uso de microscópio de luz.

Para o cálculo da proporção volumétrica ocupada pelos túbulos seminíferos e espaço intertubular, foram obtidas dez imagens histológicas aleatórias por meio de fotomicroscópio, com aumento de 200 vezes. Uma gráticula composta de 400 intersecções foi aplicada sobre as imagens. As intersecções foram computadas

como pontos coincidentes ao túbulo seminífero e ao espaço intertubular. Com a proporção volumétrica do túbulo seminífero e do espaço intertubular, foi possível o cálculo do volume total destes componentes testiculares.

O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi obtido por meio de medidas de 20 secções transversais de túbulos, de contorno o mais circular possível, para cada um dos animais. As medidas foram feitas com o auxílio de ocular micrométrica e objetiva de 20X em microscópio de luz. Na mesma secção em que se obteve o diâmetro tubular, mediu-se também a altura do epitélio seminífero, desde a membrana basal até a borda luminal. O comprimento do túbulo seminífero foi calculado com base na fórmula do volume de um cilindro, onde seu comprimento representa o volume dividido pela área da base. Assim, o volume total de túbulos seminíferos dividido pelo valor calculado da área de sua secção transversal, corresponde ao comprimento total de túbulos seminíferos por testículo, o qual pode ser também convertido em metros por grama de testículo.

Sobre o valor calculado para o índice gonadosomático, foi inferido o percentual ocupado pelo túbulo seminífero, para a estimativa do percentual do peso corporal alocado em túbulos seminíferos, ou seja, o índice túbulossomático (ITS).

Os dados foram analisados quanto à média, desvio padrão e em alguns casos coeficiente de variação, segundo função estatística do programa Microsoft Office Excel 2003.

3.3 - Resultados e discussão

O peso corporal médio dos animais estudados foi de 6,53 kg (Tabela 1), dentro da faixa considerada normal para a espécie, que pode variar de 5 a 8 kg (BRADY, 1970). O peso testicular foi estimado a partir de suas dimensões, uma vez que, para este trabalho, foram realizadas coletas de fragmentos através de biópsia testicular. A biópsia testicular é o processo eletivo para o estudo da morfofisiologia reprodutiva em animais silvestres (AZEVEDO et al., 2006; GUIÃO-LEITE et al., 2006; SARTI, 2006), por ser um método conservativo da capacidade reprodutiva, não apresentando efeitos deletérios na produção espermática em longo prazo (LOPATE et al., 1989; THRELFALL & LOPATE, 1993; ATTIA et al., 2000). A biópsia testicular incisional unilateral em cães SRD não revelou

quaisquer alterações sobre a população celular, o rendimento intrínseco do processo espermatogênico e os índices de células de Sertoli, seja no testículo biopsiado, seja no testículo contralateral, após um período de 60 dias (MASCARENHAS et al., 2006).

Segundo KENAGY & TROMBULAK (1986), a maior alocação em massa testicular é observada em animais de menor porte, em relação a animais de maior massa corporal. Isto explica a proximidade do índice gonadossomático no cachorro-do-mato (0,068%, Tabela 1) ao encontrado em gatos domésticos (0,07%, GODINHO, 1999) e superiores ao observado para animais de maior porte como o lobo-guará (0,04%, BITTENCOURT et al, 2007), a onça pintada (0,034%, AZEVEDO et al., 2006), o leão africano (0,015%, BARROS, 2005) e o puma (0,03%, GUIÃO-LEITE & PAULA, 2003).

KENAGY & TROMBULAK (1986) citam ainda que o tamanho relativo dos testículos seja também um reflexo do sistema de acasalamento apresentado por uma dada espécie, ou seja, o tamanho testicular está diretamente relacionado com o comportamento reprodutivo. Animais com comportamentos monogâmicos e poligâmicos apresentam menor índice gonadossomático em relação às espécies com comportamentos promíscuos ou poliândricos. No primeiro caso (monogamia e poligamia) a competição masculina para a produção de descendência genética é no acesso à fêmea. Já nas espécies promíscuas e poliândricas, a competição masculina para a produção de filhotes se dá no interior do trato genital feminino, sendo, desta forma, mais aptos à paternidade aqueles machos com destacada produção espermática e, conseqüentemente, com maior tamanho relativo testicular. O cachorro-do-mato é uma espécie monogâmica, onde o acasalamento pode ocorrer em qualquer época do ano (CHEIDA et al., 2006), e assim, espera-se que, em relação a espécies que apresentem comportamento promíscuo ou poliândrico, o índice gonadossomático do cachorro-do-mato seja inferior, como é o caso do cachorro doméstico, que mesmo apresentando tamanho corporal médio superior ao cachorro-do-mato, apresenta IGS superior (0,1%, MASCARENHAS et al., 2006). Este também parece ser o caso do observado em jaguatiricas, que mesmo apresentando peso corporal duas vezes maior que o observado no cachorro-do-mato, apresenta IGS muito superior (0,12%, SARTI, 2006). Porém maiores estudos etológicos nesta espécie são necessários para validar esta afirmativa.

Tabela 1. Peso corporal, peso do testículo direito, peso do testículo esquerdo, peso de ambos os testículos e índice gonadossomático de cachorros-do-mato adultos.

Animal	Peso corporal (kg)	Peso testículo direito (g)	Peso testículo esquerdo (g)	Peso de ambos testículos (g)	Índice gonadossomático (%)
1	9,85	3,53	3,68	7,22	0,073
2	6,00	1,95	1,76	3,71	0,062
3	4,60	2,10	2,10	4,20	0,091
4	4,20	1,90	1,90	3,80	0,090
5	6,53	1,52	1,65	3,18	0,049
6	8,00	1,58	1,70	3,28	0,041
Média± dp	6,53± 2,13	2,09± 0,73	2,13± 0,78	4,23± 1,51	0,068± 0,021
*CV	32,6	35,1	36,5	35,7	31,0

* Coeficiente de variação

Na maioria das espécies domésticas, a proporção volumétrica da albugínea e mediastino testicular está em torno de 10% (FRANÇA & RUSSELL, 1998). Os animais utilizados no presente experimento apresentaram proporção volumétrica média da albugínea testicular de 12,5% (Tabela 2), muito próximo ao observado em lobos-guarás (11%, BITTENCOURT, 2003). Porém, outros carnívoros já estudados apresentam maior proporção de albugínea testicular, sendo observado em gato doméstico valores próximos de 18% (GODINHO, 1999). Valores similares foram descritos por MASCARENHAS et al. (2006), para cães SRD, e por BARROS (2005), para leões africanos. Já a jaguatirica apresenta a maior proporção de albugínea entre as espécies de carnívoros estudados, com média de 23,42% (SARTI, 2006).

Tabela 2 – Valores médios de volume do parênquima testicular, espessura da albugínea, volume da albugínea e albugínea, de cachorros-do-mato adultos.

Parâmetro	Médias $\pm$ desvios-padrão
Volume do parênquima testicular (mL)	3,70 $\pm$ 1,77
Espessura da albugínea (cm)	0,034 $\pm$ 0,003
Volume da albugínea (mL)	0,53 $\pm$ 0,17
Albugínea (%)	12,5 $\pm$ 1,4

N= 6

Embora parênquima testicular não seja um termo totalmente adequado para citar o testículo desprovido de albugínea e mediastino testiculares, este é amplamente mencionado na literatura (BERNDTSON, 1977; JOHNSON et al., 1981; RUSSELL et al., 1990a; JOHNSON et al., 2000). O parênquima testicular pode ser dividido em dois compartimentos: o tubular e o intertubular (AMANN, 1970; FAWCET et al., 1973; AMANN & SCHANBACHER, 1983; RUSSELL et al., 1990). O compartimento intertubular é composto pelas células de Leydig, vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervos e uma variada população de células que inclui fibroblastos, macrófagos e mastócitos (RUSSELL, 1996). O cachorro-do-mato aloca 12,7% em tecido intertubular (Tabela 3), inferior aos valores observados em jaguatiricas (19,39% SARTI, 2006), ao lobo-guará, (19,97% BITTENCOURT et al., 2007), ao puma (21,88% GUIÃO-LEITE et al., 2006), onça pintada (22,7% AZEVEDO et al., 2006) e leão africano (24,3% BARROS, 2005). O compartimento tubular é o principal componente do testículo na grande maioria dos mamíferos, exercendo grande influência sobre o peso testicular e sobre a produção espermática (AMANN, 1970; FRANÇA & RUSSELL, 1998; PAULA et al., 2007). Com exceção dos baixos valores descritos para marmota e capivara (RUSSELL et al., 1990b; PAULA et al., 2007), a maioria dos animais investigados apresenta entre 70 e 90% de túbulo seminífero no parênquima testicular (FRANÇA & RUSSELL, 1998). O volume médio de túbulo seminífero observado no cachorro-do-mato foi de 3,23 mL em ambos os testículos, representando em média 87,5% do parênquima testicular (Tabela 3), próximo aos 90% observado em gato doméstico (GODINHO, 1999) e superior aos valores observados em jaguatiricas (80,58% SARTI, 2006), ao lobo-guará, (79,3% BITTENCOURT et al.,

2007), ao puma (78% GUIÃO-LEITE et al., 2006), onça pintada (77,7% AZEVEDO et al., 2006) e leão africano (75,6% BARROS, 2005).

Tabela 3 – Valores médios para a proporção volumétrica de túbulo seminífero, proporção volumétrica de tecido intertubular, volume total do túbulo seminífero e volume total de intertúbulo.

Parâmetro	Médias $\pm$ desvios padrão
Proporção volumétrica de túbulo seminífero (%)	87,5 $\pm$ 5,2
Proporção volumétrica de espaço intertubular (%)	12,7 $\pm$ 5,3
Volume total do túbulo seminífero (mL)	3,23 $\pm$ 1,28
Volume total de intertúbulo (mL)	0,47 $\pm$ 0,05

N= 6

O índice tubulossomático (ITS) é um parâmetro que visa quantificar o investimento em túbulos seminíferos com relação à massa corporal. Este parâmetro permite maior discussão sobre a influência do comportamento reprodutivo na morfologia testicular. Assim, espécies sabidamente monogâmicas ou poligâmicas como o lobo-guará e os grandes felinos, apresentam menor investimento tubulossomático que aquelas espécies promíscuas ou poliândricas, como o cão e o gato doméstico (Tabela 4). O cachorro-do-mato aloca em média 0,042% do peso corporal em túbulos seminíferos (Tabela 4), valor este, conforme esperado, mais próximo aos observados naquelas espécies com comportamento monogâmico e poligâmico do que naquelas promíscuas e poliândricas (Tabela 4). A jaguatirica apresenta os maiores valores do ITS entre os carnívoros silvestres já estudados, média de 0,074% (SARTI, 2006), valor este superior aos 0,063% encontrado em gato doméstico (GODINHO, 1999), refletindo desta forma o maior investimento na produção espermática do que o esperado para um animal deste porte, reforçando a necessidade de um maior estudo do seu comportamento reprodutivo.

Tabela 4. Tabela comparativa de índice gonadosomático (IGS) e índice túbulossomático (ITS), entre espécies monogâmicas ou poligâmicas e espécies promíscuas ou poliândricas.

	Parâmetros	IGS (%)	ITS (%)
Espécies monogâmicas ou poligâmicas	Cachorro-do-mato	0,068	0,042
	Lobo- guará ¹	0,04	0,03
	Onça- parda ²	0,03	0,02
	Onça-pintada ³	0,034	0,022
	Leão- Africano ⁴	0,015	0,009
Espécies promíscuas ou poliândricas	Cão-Doméstico ⁵	0,1	0,08
	Gato-Doméstico ⁶	0,07	0,06
	Jaguaririca ⁷	0,12	0,074

1- BITTENCOURT, 2003; 2- GUIÃO-LEITE, 2002; 3- AZEVEDO, 2004; 4- BARROS, 2005; 5-PAULA & CARDOSO, 1994; 6- GODINHO, 1999; 7- SARTI, 2006.

A mensuração tubular é uma das abordagens utilizadas como indicadores da atividade espermatogênica em experimentos relacionados à função testicular (NAVARRO et al., 2004; SOUZA et al., 2005; SILVA JR et al., 2006; MASCARENHAS et al., 2006).

Embora o diâmetro tubular médio possa chegar a 550 μm em algumas espécies de masurpias (WOOLLEY, 1975), o valor tipicamente observado para a maioria dos amniotas varia de 180 a 300 μm (ROOSEN-RUNGE, 1977). O diâmetro do túbulo seminífero permanece relativamente constante nos animais não sazonais e sexualmente maduros (PAULA, 1999; GUIÃO-LEITE, 2002). O valor tipicamente observado nos animais domésticos de produção apresenta uma variação de 170 a 277 μm (FRANÇA & RUSSELL, 1998). O cachorro-do-mato apresenta média de 236 μm (Tabela 5), valor próximo aos encontrados na onça parda (227,37 μm ; GUIÃO-LEITE, 2002), no lobo-guará (227,35 μm ; BITTENCOURT, 2003), na jaguaririca (211,35 μm ; SARTI, 2006), na onça pintada (257,07 μm ; AZEVEDO, 2004) e em leões africanos (252,72 μm ; BARROS, 2005).

Segundo WING & CHRISTENSEN (1982), a mensuração do epitélio seminífero é mais efetiva que o diâmetro tubular para a avaliação da produção espermática. No cachorro-do-mato, a espessura média do epitélio seminífero foi de 62,9 μm (Tabela 5), encontrando-se dentro da amplitude observada para

animais domésticos (60 a 100 μ m; FRANÇA & RUSSELL, 1998). Valores maiores que do cachorro-do-mato foram observados em felinos: 67 μ m na onça parda (GUIÃO-LEITE, 2002), 75,4 μ m na jaguatirica (SARTI, 2006), 81 μ m no gato doméstico (GODINHO, 1999), 90,3 μ m na onça pintada (AZEVEDO, 2004) e 93,2 μ m no leão africano (BARROS, 2005).

O cachorro-do-mato apresenta em média 80,5 metros de túbulo seminífero em ambos os testículos (Tabela 5). Entre diferentes espécies, existe uma grande variação no tamanho testicular e por isto, não é significativa comparação levando-se em conta o comprimento total de túbulo seminífero, sendo o comprimento tubular por grama de testículo um parâmetro mais significativo para a comparação interespecífica. O cachorro-do-mato apresenta 18,1 metros de túbulo seminífero por grama de testículo (Tabela 5), próximo aos valores observados em onça parda (18,2m/g; GUIÃO-LEITE, 2002), no lobo-guará (18m/g; BITTENCOURT, 2003), na jaguatirica (17,81m/g; SARTI, 2006), e menor que os valores observados em gato doméstico (23m/g; GODINHO, 1999), porém, maior que os valores descritos para onça pintada (12,2m/g; AZEVEDO, 2004) e leão africano (12,4m/g; BARROS, 2005).

Tabela 5. Diâmetro do túbulo seminífero, espessura do epitélio seminífero, comprimento do túbulo seminífero por grama de testículo, comprimento total do túbulo seminífero, em cachorros-do-mato adultos.

Parâmetro	Média $\pm$ desvio-padrão
Diâmetro do túbulo seminífero (μ m)	236 $\pm$ 22
Espessura do epitélio seminífero (μ m)	62,9 $\pm$ 9,1
Comprimento do túbulo seminífero por grama de testículo (m/g)	18,1 $\pm$ 4,1
Comprimento total do túbulo seminífero (m)	80,5 $\pm$ 46,1

N= 6

3.4 - Conclusões

O peso corporal médio dos cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) adultos do presente experimento foi de 6,53 Kg, dos quais cerca de 0,068% são alocados em massa testicular e 0,042% especificamente em túbulos seminíferos que

representaram cerca de 87,5% do parênquima testicular, dentro dos padrões esperados para animais monogâmicos de porte médio. A albugínea testicular representa cerca de 12,5% da massa testicular. O diâmetro médio dos túbulos seminíferos em cachorro-do-mato foi de 236 μm , e a espessura média do epitélio seminífero foi de aproximadamente 62,9 μm , apresentando cerca de 18 metros de túbulo seminífero por grama de testículo. Os valores para os parâmetros tubulares indicam uma produtividade espermática próxima àquelas observadas nos carnívoros já estudados.

3.5 - Referências bibliográficas

- AMANN, R.P. Sperm production rates. In: JOHSON, A.D., GOMES, W.R., VANDEMARK, N.L. (eds). **The testis**. New York: Academic Press., p. 433-482, 1970.
- AMANN, R.P., SCHANBACHER, B.D. Physiology of male reproduction. **Journal of Animal Science Supplement**. v. 57, p. 380-403, 1983.
- ATTIA, K. A., ZAKI, A.A., EILTS, B.E., PACCAMONT, D.L., HOSGOOD, G., DIETRICH, M.A., HOROHOV, D.W., BLOWIN, D.C. Anti-sperm antibodies and seminal characteristics after testicular biopsy or epididymal aspiration in dogs. **Theriogenology**, n. 53, p.1355-1363, 2000.
- AZEVEDO, M.H.F. **Análise morfofuncional do testículo da onça pintada (*Panthera onca*) adulta**. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- AZEVEDO, M.H.F., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., FONSECA, C.C., NEVES, M.T.D. Morfometria testicular e o túbulo seminífero da onça pintada (*Panthera onca*). **Revista Ceres**, v. 53, n. 307, p.374-381, 2006.
- BARROS, J.B.G. **Análise morfofuncional do testículo e espermatogênese de leões africanos (*Panthera leo*, Linnaeus, 1758) adultos**. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 65p.

- BARROS, J.B.G., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., FONSECA, C.C., LEITE, F.L.G., JÚNIOR, J.L.R., OLIVEIRA, P.C., COSTA, E.P. **Sertoli cell index and spermatic reserves in adult captive african lions (*Panthera leo*, Linnaeus, 1758)**, Animal Reproduction Science. [doi:10.1016/j.anireprosci.2007.04.002](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.04.002)
- BERNDTSON, W.E. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **Journal of Animal Science**. v. 44, n. 5, p. 818-83, 1977.
- BISBAL, F.J., J. OJASTI. **Nicho trófico del zorro *Cerdocyon thous* (Mammalia, Carnivora)**. Venezolana, 10, p. 469-496. 1980.
- BITTENCOURT, V.L. **Avaliação morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811), adulto**. Dissertação Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2003.
- BITTENCOURT, V.L, PAULA T A R, MATTA S L P, FONSECA C C, COSTA D S, BENJAMIN L A, COSTA E P. The seminiferous epithelium cycle and daily spermatid production in the adult maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811). **Micron**, 38, p. 584-589. 2007.
- CITES (Conservation on International Trade in Endangered Species) Protected species. Disponível em: <http://www.cites.org/CITES/eng/append>. Acesso em 15 de março de 2007.
- CHEIDA, C.C., NAKANO-OLIVEIRA, E., COSTA, F.R., ROCHA-MENDES, F., QUADROS, J. In: **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Nélcio R. dos Reis. p. 244-245. 2006.
- FAWCETT, D.W., NEAVES, W.B., FLORES, M.N. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. **Biology of Reproduction**, v.9, p. 500-532, 1973.
- FRANÇA, L.R., RUSSELL, L.D. The testis of domestic animals. In: **Male reproduction: A multidisciplinary overview**. Madrid: Churchill Livingstone. p.197-219, 1998.

- FONSECA, G.A.B., HERMANN, G., LEITE, Y.L.R., MITTERMEIER, R.A., RYLANDS, A.B., PATTON, J.L. Lista anotada de mamíferos do Brasil. **Occasional Papers in Conservation Biology**. v. 4, p.1-38. 1996.
- FOWLER, M.E. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa State University Press, 2001, 536 p.
- GODINHO, C.L. **Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*) sexualmente maduros**. Dissertação de Mestrado, Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais. 123p. 1999.
- GUIÃO-LEITE, F.L. **Análise morfológica do testículo e do processo espermatogênico da onça parda (*Puma concolor*) adulta**. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2002. 64p.
- GUIÃO-LEITE, F.L., PAULA, T.A.R. **Rendimento intrínseco da espermatogênese, o índice de células de Sertoli e a produção espermática diária da onça parda (*Puma concolor*)**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, 27, p. 21-26, 2003.
- GUIÃO-LEITE, F.L., PAULA, T.A.R.; MATTA, S.L.P.; FONSECA, C.S.; das NEVES, M.T.; BARROS, J.B.G. Cycle and duration of the seminiferous epithelium in puma (*Puma concolor*). **Animal Reproduction Science**, 91, 307-316, 2006.
- 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 março de 2007.
- JOHNSON, L., PETTY, C.S., HEAVES, W.B. A new approach to qualification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermatogenesis. **Biology of Reproduction**, v. 25, p. 217-226, 1981.
- JOHNSON, L., VARNER, D.D., ROBERTS, M.E., SMITH, T.L., KEILLOR, G.E., SCRUTCHFIELD, W.L. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**. v. 60-61, p. 471-480, 2000.

- KENAGY, G.J., TROMBULAK, S.C. Size and function of mammalian testes in relation to body size. **Journal of Mammalogy**. n.67, v.1, p.1-22, 1986.
- LOPATE, C., THRELFALL, W.R., ROSOL, T.J. Histopatologic and gross effects of testicular biopsy in the dog. **Theriogenology**, v.32, n.4, 1989.
- MASCARENHAS, R.M., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., LANNA, L.L., FONSECACC., NEVES, M.T.D. Morfometria macro e microscópica e índices somáticos dos componentes testiculares de cães sem raça definida, da puberdade à senilidade. **Revista CERES**, n. 53. v. 305, p. 106-112, 2006.
- MOREIRA, J.R. **The reproduction, demography and management of capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) on Marajó Island - Brazil**. Tese de Doutorado, Oxford: University of Oxford, 1995.
- NAVARRO, R.D., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., FONSECA, C.C., NEVES, M.T.D. Efeito da exposição pré e pós-natal ao ultra-som de baixa intensidade sobre a célula de Leydig e demais componentes do espaço intertubular do testículo de camundongos adultos. **Revista CERES**, n. 51, v. 296, p. 445-455, 2004.
- OLAR, T.T., AMANN, R.P., PICKETT, B.W. Relationships among testicular size, daily production and output of spermatozoa and extragonadal spermatozoa reserves of the dog. **Biology of Reproduction**, v. 29, p. 1114-1120, 1983.
- PAULA, T.A.R. **Avaliação histológica e funcional do testículo de capivaras adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*)**. Tese de Doutorado. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 84p. 1999.
- PAULA, T.A.R., CARDOSO, F.M. Alterações etárias na espermatogênese do cão. I. Análise histométrica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 46, p. 19-30, 1994.

- PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., SILVA, JR V.A, COSTA, D.S., FONSECA, C.C., NEVES, M.T.D. Intertubular space characterization in adult capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. **Brazilian Archives of Biology Technology**. p. 289-297, 2007.
- ROCHA, V.J., REIS, N.R., SEKIAMA, M.L. Dieta e dispersão de sementes por *Cerdocyon thous* (Linnaeus) (Carnivora, Canidae) em um fragmento florestal no Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 21, n.4. p. 871-876, 2004.
- ROOSEN-RUNGE E.C. **The process of spermatogenesis in animals**. Cambridge: University Press. p. 32-78, 1977.
- RUSSELL, L.D. Mammalian Leydig cell structure. In: PAYNE, A.H., HARDY, M.P., RUSSELL, L.D. (eds). **The Leydig cell**. Vienna: Cache River Press, cap. 10, p. 218-222, 1996.
- RUSSELL, L.D., REN, H.P., SINHA HIKIM, I., SCHULZE, W., SINHA HIKIM, A.P. A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. **American Journal of Anatomy**, v. 188, n.1, p.21-30, 1990a.
- RUSSELL, L.D., ETTLIN, R.A., SINHA HIKIM, E.P., CLEGG, E.D. **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Clearwater: Cache River Press, 286p, 1990b.
- SARTI, P. **Avaliação morfométrica do testículo e da espermatogênese de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) adultas**. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 56p.
- SILVA JR, V.A., VIEIRA, C.F.P., PAULA, T.A.R., PALMA, M.B., AMORIM, A.A., MANHÃES, R.C. Neonatal treatment with naloxone increases the population of Sertoli cells and sperm production in adult rats. **Reproduction Nutrition Development**. 46, p.157-166. 2006.

- SOUZA, P.C., PAULA, T.A.R., NATALI, A.J., MATTA, S.L.P., COSTA, D.S., FONSECA, C.C., SARTI, P. Efeito do exercício crônico voluntário e do sedentarismo, com e sem o uso do esteróide anabólico nandrolona, sobre os componentes do parênquima testicular de ratos adultos. **Revista CERES**, n. 53, v.300, p. 305-316, 2005.
- THRELFALL, W.R., LOPATE, C. Testicular biopsy. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Blackwell Publishing Limited, p. 943-949, 1993.
- VIEIRA, E.N. Highway mortality of mammals in Central Brazil. **Ciência e Cultura**. São Paulo, v. 48, n. 4, p. 270-272, 1996.
- WING T.Y., CHRISTENSEN A.K. Morphometric studies on rat seminiferous tubule. **American Journal of Anatomy**. v. 165, p.13-25, 1982
- WOOLLEY, P. The seminiferous tubules in dasyurid marsupials. **Journal of Reproduction Fertility**, 45, p. 255-261, 1975.

4 - ORGANIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS ELEMENTOS DO ESPAÇO INTERTUBULAR DO TESTÍCULO DO CACHORRO-DO-MATO (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) ADULTO

Resumo

O espaço intertubular ou tecido intertubular é constituído por células conjuntivas, leucócitos, vasos sangüíneos e linfáticos, juntamente com as células de Leydig, que representa a porção endócrina dos testículos dos mamíferos. O arranjo e a proporção destes componentes variam nas diferentes espécies de mamíferos, formando mecanismos que mantêm o nível de testosterona, principal produto da célula de Leydig, duas a três vezes maiores no fluido intersticial que nos vasos sangüíneos testiculares e de 40 a 250 vezes maior nestes em relação ao sangue periférico. Grandes diferenças são observadas entre as espécies animais quanto à abundância de células de Leydig, tecido conjuntivo, grau de desenvolvimento e localização dos vasos linfáticos intersticiais e suas relações topográficas com os túbulos seminíferos. O cachorro-do-mato apresenta 3,88% do parênquima testicular ocupado por células de Leydig, 7,95% por tecido conjuntivo, 0,12% por vasos linfáticos e 0,72% por vasos sangüíneos. O volume médio da célula de Leydig foi de $1149 \mu\text{m}^3$ e o seu diâmetro nuclear médio $8,01 \mu\text{m}$. Em cachorros-do-mato as células de Leydig ocupam em média 0,0022% do peso corporal e seu número médio por grama de testículo apresentou-se dentro da amplitude descrita para a maioria dos mamíferos, entre 20 e 40 milhões.

Palavras-chave: célula de Leydig, intertúbulo, cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous*.

Abstract

The intertubular space or intertubular tissue is constituted by conjunctive cells, leukocytes, blood and lymphatic vessels, together with Leydig cells, representing the endocrine portion of the mammals' testis. The arrangement and ratio of these components are different among species of mammals, with mechanisms that keep the testosterone level, main product of Leydig cell, two or three times higher in the interstitial fluid than in the testis blood vessels and 40 to 250 times higher in the latter than in peripheral blood. Great differences are observed between animal species in terms of Leydig cells abundance, conjunctive tissue, localization and development degree of interstitial lymphatic vessels and their topographical relationships with seminiferous tubules. In the crab-eating fox 3.88% of testicular parenchyma is occupied by Leydig cells, 7.95% by conjunctive tissue, 0.12% by lymphatic vessels and 0.72% by blood vessels. The average volume of the Leydig cells was $1149 \mu\text{m}^3$ and its average nuclear diameter was $8.01 \mu\text{m}$. In crab-eating fox the Leydig cells occupy on average 0.0022% of the body weight and its average number per gram of testis was within the described amplitude for the majority of the mammals, between 20 and 40 million.

Key-words: Leydig cell; intertubule; crab-eating fox; *Cerdocyon thous*.

4.1 - Introdução

A maioria das espécies de carnívoros brasileiros apresenta-se, de alguma forma, ameaçada de extinção. Algumas poucas espécies, como o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766), ainda apresenta situação menos preocupante quanto ao *status* de risco, porém, ainda estão sujeitas a desafios à sua sobrevivência, como a redução do habitat, os efeitos da endogamia que ocasiona normalmente baixa eficiência reprodutiva (WILDT et al., 1987) e por sofrerem impactos consideráveis por ação humana. O cachorro-do-mato apresenta um grande índice de atropelamento em rodovias (VIEIRA, 1996). Estes animais são conhecidos como graxaim, lobinho e pertencem à ordem Carnivora e à família Canidae. Seu peso pode variar entre 5 e 8 kg, com 65 cm de comprimento e sua cauda mede cerca de 30 cm. Sua pelagem pode variar de cinzenta ao castanho, com faixa preta de pêlos da nuca até a extremidade da cauda. Na idade adulta, estes animais formam casais e a fêmea é capaz de produzir duas ninhadas anualmente, sendo a gestação de aproximadamente 55 dias, com média de 3 a 6 filhotes, que nascem com peso médio de 120 a 160 gramas cada. Eles permanecem com o casal até os 5 a 8 meses de idade (BRADY, 1979), podendo habitar no território dos pais nos seus primeiros anos de vida (MACDONALD & COURTENA, 1996).

O conhecimento da biologia reprodutiva de uma determinada espécie, principalmente em seus aspectos básicos, é uma importante contribuição para a conservação destas espécies, uma vez que gera subsídios para o desenvolvimento de técnicas em reprodução assistida.

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

O principal componente celular do compartimento intertubular é a célula intersticial de Leydig (HOOKER, 1970), cuja forma varia de irregular a poliédrica.

São encontradas entre os túbulos seminíferos e sua população pode variar de acordo com a idade e a espécie, sendo responsáveis pela síntese e armazenamento de testosterona.

As células de Leydig iniciam a secreção de testosterona ainda na vida fetal, para a diferenciação embrionária dos órgãos genitais masculinos, porém é durante a puberdade que as células intersticiais de Leydig tornam-se mais evidentes e funcionais. A densidade populacional das células de Leydig pode variar entre indivíduos de espécies diferentes e mesmo entre indivíduos da mesma espécie. Dentre os inúmeros fatores que podem influenciar na quantidade de células de Leydig por animal, estão: a quantidade de LH disponível; o número de receptores de LH por células; a quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar por unidade de tempo; a velocidade pela qual a testosterona deixa o testículo via vasos linfáticos, vasos sangüíneos e fluido seminal; o volume sangüíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (RUSSELL et al., 1994; RUSSELL, 1996). As células de Leydig, juntamente com as células conjuntivas, leucócitos, vasos sangüíneos e linfáticos, formam o espaço intertubular ou tecido intertubular, porção endócrina do testículo dos mamíferos.

Segundo FAWCETT et al. (1973), a drenagem linfática, aliada à quantidade de células de Leydig e tecido conjuntivo frouxo no espaço intertubular, nas diferentes espécies de mamíferos segue, em geral, três padrões distintos: 1) 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 interpostos aos túbulos seminíferos; 2) espécies que apresentam grupos de células de Leydig espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo edemaciado, o qual é drenado por um vaso linfático localizado central ou excentricamente no espaço intertubular; 3) 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) especularam que as mesmas provavelmente estejam relacionadas com a habilidade dos vasos linfáticos de mover para fora dos testículos substâncias vascularmente secretadas, além de manter as concentrações adequadas de andrógenos no testículo e nos vasos

sanguíneos. Assim, o presente trabalho teve como objetivos caracterizar e classificar o espaço intertubular do testículo do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766), quantificar os diferentes constituintes do espaço intertubular e determinar a população de células de Leydig por unidade de massa testicular, relacionando seu volume com a massa corporal.

4.2 - Material e métodos

Foram coletados fragmentos de testículo de seis cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) adultos. Estes animais são rotineiramente encontrados atropelados em rodovias circunvizinhas e, casuisticamente, são encaminhados ao Centro de Triagem de Animais Silvestres da Universidade Federal de Viçosa (CETAS-UFV). Os animais que sobrevivem aos traumas do atropelamento são reabilitados e quando possível soltos próximo às áreas de ocorrência. Os procedimentos adotados na metodologia deste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa-UFV, através do processo Nº. 65/2007. Devido ao fato da licença de pesquisa ter sido solicitada junto ao IBAMA-MG e o órgão ter demorado mais de 60 dias para dar parecer sobre o pedido da autorização, a pesquisa foi considerada de “caráter precário”, segundo a legislação ambiental em vigor (Portaria IBAMA número 332, de 13 de março de 1990, Art. 5º parágrafo único).

Dois animais foram recuperados e submetidos à anestesia geral, pelo uso de dardos anestésicos, com a utilização da associação tiletamina/zolazepan, na dose de 10 mg/kg. Todo o procedimento foi monitorado, aferindo-se a temperatura, os movimentos respiratórios e os batimentos cardíacos em intervalos de 10 minutos. Os animais foram então pesados e ambos os testículos mensurados quanto à largura, espessura e comprimento, com paquímetro digital. Após a tricotomia e anti-sepsia local, a pele do escroto foi incisada e, com o uso de um bisturi circular de 4 mm de diâmetro, foi obtido um fragmento da região média do testículo direito ou esquerdo. A lesão foi suturada em planos distintos, com fio sintético absorvível, sendo que na pele foi utilizada sutura intradérmica com as extremidades embutidas. Como tratamento pós-operatório, cada animal recebeu agentes antiflogísticos e antibióticos.

Os animais que vieram a óbito durante o internamento foram pesados e deles removidos os testículos, que foram mensurados segundo metodologia citada e recolhidos fragmentos de sua região média.

Os fragmentos foram imediatamente imersos em fixador Karnovsky (paraformaldeído 4% e glutaraldeído 4% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4) em temperatura ambiente, por no mínimo duas horas, sendo posteriormente armazenados sob refrigeração no mesmo tampão.

Estes foram processados para estudos em microscópio de luz, sendo desidratados em bateria com concentrações crescentes de álcool etílico (70%, 80%, 90% e 100% GL), com trocas a cada trinta minutos, com posterior infiltração de resina plástica (Historesin® Leica) em dois banhos e incluídos na mesma resina com adição de endurecedor. Após inclusão dos fragmentos, estes foram devidamente identificados e mantidos em frascos contendo sílica gel até ficarem completamente secos. Os fragmentos foram posicionados de modo a oferecer uma secção transversal da albugínea testicular. Foram obtidos cortes histológicos, com 3 µm de espessura, de modo sequencial quando possível, utilizando-se micrótomo rotativo (Leica RM2155) dotado de navalha de vidro. Os cortes foram corados com azul de toluidina/borato de sódio 1% por um minuto. O procedimento histológico foi realizado no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV.

Os componentes do espaço intertubular foram analisados quanto à sua morfologia individual e relações topográficas com os túbulos seminíferos. Uma grátícula composta de 400 intersecções foi aplicada sobre os túbulos seminíferos e do espaço intertubular no parênquima testicular. Estas intersecções foram computadas como pontos coincidentes sobre: núcleo de células de Leydig, citoplasma de células de Leydig, vasos linfáticos, vasos sangüíneos, tecido conjuntivo e túbulo seminífero no parênquima testicular. Inferindo-se a estas proporções o volume total do parênquima testicular, foram obtidos os volumes totais de cada componente testicular em todos os animais, através de dez campos aleatoriamente obtidos com aumento de 200 vezes e um zoom de 2X (Fotomicroscópio Olympus Provis AX70, do Departamento de Botânica da UFV), sobre a extensão do corte histológico.

O diâmetro médio do núcleo das células de Leydig foi mensurado, para o cálculo do seu volume, utilizando-se a fórmula $\frac{4}{3} \pi r^3$, onde r é o raio nuclear

médio encontrado. Para isto, 10 secções medianas de células de Leydig, com os maiores contornos nucleares, foram medidas em cada animal, utilizando-se uma ocular micrométrica. Com o volume do núcleo obtido e sua proporção no volume total da célula de Leydig, calculou-se o volume de uma célula, inferindo-se este valor ao volume total de células de Leydig por testículo, obtendo-se então o seu número por testículo e conseqüentemente por grama de testículo. Os dados foram analisados quanto à média, desvio padrão e em alguns casos o coeficiente de variação, segundo função estatística do programa Microsoft Office Excel 2003.

4.3 - Resultados e discussão

O arranjo e a proporção dos componentes do tecido intertubular variam nas diferentes espécies de mamíferos, formando mecanismos que mantêm o nível de testosterona, principal produto da célula de Leydig, duas a três vezes maiores no fluido intersticial que nos vasos sangüíneos testiculares e de 40 a 250 vezes maior nestes em relação ao sangue periférico (SHARPE, 1994). O cachorro-do-mato apresenta o padrão do tipo II da classificação de FAWCETT et al. (1973), onde são observados grupos de células de Leydig espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo edemaciado, o qual é drenado por um vaso linfático localizado central ou excentricamente no espaço intertubular (Figura1). O mesmo foi observado no gato doméstico (GODINHO, 1999), na onça parda (GUIÃO-LEITE, 2002), na onça pintada (AZEVEDO, 2004), no leão africano (BARROS, 2005) e na jaguatirica (SARTI, 2006).

No cachorro-do-mato, o tecido conjuntivo é o componente mais abundante do tecido intertubular, representando, em média, 7,95% do parênquima testicular (Tabela 1). O mesmo pode ser observado na onça parda, onde 9,5% do parênquima testicular está alocado em tecido conjuntivo (GUIÃO-LEITE, 2002). Quanto à volumetria proporcional de vasos linfáticos, o cachorro-do-mato, apresentou cerca de 0,12%. Valores maiores foram encontrados para o gato doméstico, cerca de 0,2% (GODINHO, 1999), 0,3% em onça parda (GUIÃO-LEITE, 2002) e em onça pintada (AZEVEDO, 2004), 7,1% no leão africano (BARROS, 2005) e 2,20% na jaguatirica, referente ao volume total de vasos linfáticos e sangüíneos (SARTI, 2006). Quanto a volumetria de vasos sangüíneos no parênquima testicular, observou-se no cachorro-do-mato 0,72% (Tabela 1).

Já nos demais carnívoros estudados, o principal componente do espaço intertubular é a célula de Leydig. A proporção volumétrica de células de Leydig no parênquima testicular ocupa cerca de 6% no gato doméstico (GODINHO, 1999), 8,2% em onça parda (GUIÃO-LEITE, 2002), 13% na onça pintada (AZEVEDO, 2004), 16% no leão africano (BARROS, 2005) e 3,9% na jaguatirica (SARTI, 2006). No presente trabalho o cachorro-do-mato apresenta proporção média de 3,88% (Tabela 1).

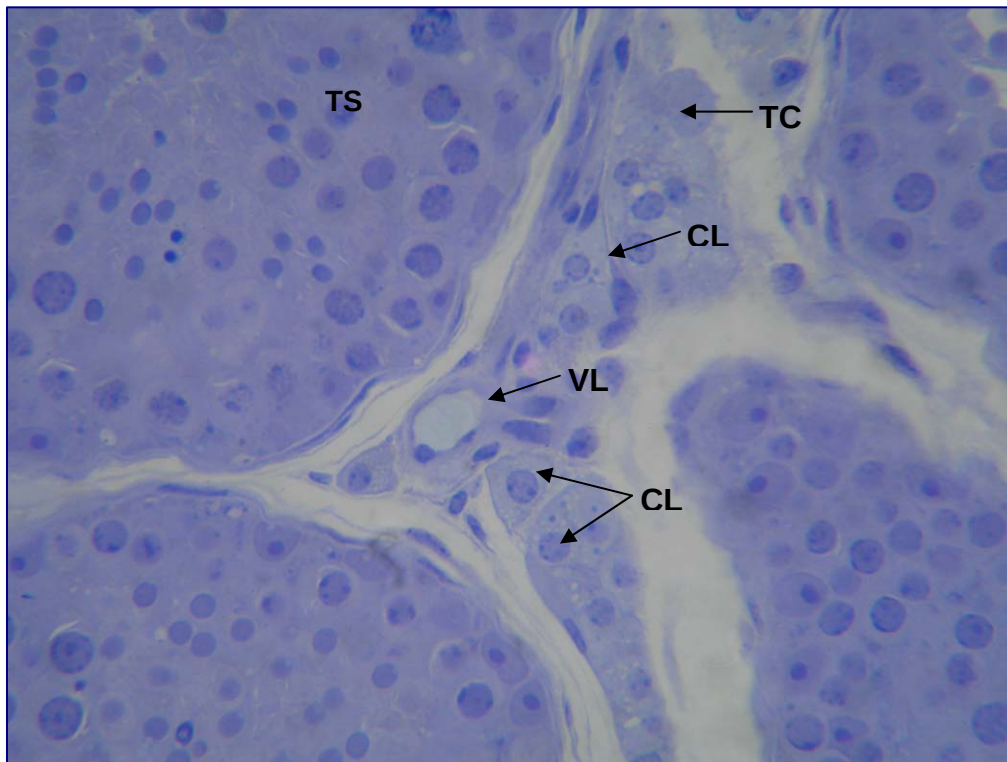


Figura 1 – Tecido intertubular de cachorro-do-mato adulto: CL - células de Leydig; TC - tecido conjuntivo; TS - Túbulo seminífero; VL – vaso linfático (600 x). Corante: Azul de toluidina.

As células de Leydig são as principais responsáveis pela produção de esteróides masculinos. A enorme variação observada para o percentual ocupado por estas células no testículo não está totalmente elucidada. Estudos relacionados à estrutura e 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 relacionada à quantidade de retículo endoplasmático liso presente na célula de Leydig (ZIRKIN et al., 1980). COSTA et al. (2006)

observaram, em capivaras adultas, uma forte correlação entre o volume individual das células de Leydig com o nível plasmático de testosterona. Segundo CASTRO (2002) há também uma forte correlação entre o percentual volumétrico do núcleo de células de Leydig e os níveis plasmáticos de testosterona em coelhos adultos.

Tabela 1. Proporção volumétrica dos elementos constituintes do espaço intertubular de testículos de cachorro-do-mato adulto.

Animal	Células de Leydig (%)	Tecido conjuntivo (%)	Vasos sangüíneos (%)	Vasos linfáticos (%)
1	5,7	14,3	0,4	0,13
2	4,5	11,5	1,8	0,03
3	4,2	5,3	0,6	0,15
4	2,2	4,4	0,5	0,16
5	2,8	5,6	0,2	0,03
6	3,9	6,6	0,8	0,20
Média $\pm$ dp*	3,88 $\pm$ 1,26	7,95 $\pm$ 3,99	0,72 $\pm$ 0,56	0,12 $\pm$ 0,08
CV (%)**	32,6	50,2	79,1	67,1

*dp = desvio padrão

**CV = Coeficiente de variação

Neste trabalho, o volume médio da célula de Leydig é de 1149 μm^3 (Tabela 2), superior ao valor observado em jaguatiricas adultas (913 μm^3 ; SARTI, 2006) e inferior em relação ao observado no gato doméstico (2044 μm^3 ; GODINHO, 1999), na onça pintada (2386 μm^3 ; AZEVEDO, 2004) e em leões africanos (2570 μm^3 ; BARROS, 2005). Já o diâmetro e o volume nuclear médio das células de Leydig do cachorro-do-mato foram de 8,01 μm e 269 μm^3 respectivamente (Tabela 2), mostrando-se próximos aos valores encontrados em gato doméstico (7,9 μm e 261 μm^3 ; GODINHO, 1999), onça pintada (7,7 μm e 240 μm^3 ; AZEVEDO, 2004), leões africanos (7,1 μm e 144,8 μm^3 ; BARROS, 2005) e jaguatiricas (8,48 μm e 320,25 μm^3 ; SARTI, 2006). Na maioria dos animais estudados, o núcleo da célula de Leydig corresponde de 10 a 19% do volume total da célula (FRANÇA & RUSSELL, 1998). No cachorro-do-mato este parâmetro corresponde a 24,1% (Tabela 2), valor menor que o encontrado em jaguatiricas adultas (35,11%; SARTI, 2006) e acima do observado para onça pintada (10%, AZEVEDO; 2004) e para o leão africano (7,1%; BARROS, 2005).

Tabela 2. Valores médios para diâmetro nuclear, volume do núcleo de células de Leydig, proporção nuclear da célula de Leydig e volume unitário da célula de Leydig de cachorro-do-mato adulto.

Parâmetro	Média ± DP*
Diâmetro nuclear (μm)	8,0 ± 0,19
Volume nuclear (μm^3)	269 ± 20
Proporção nuclear (% da célula)	24,1 ± 3,9
Volume celular (μm^3)	1149 ± 229

N=6 *DP = Desvio Padrão

O volume total médio das células de Leydig, em ambos os testículos do cachorro-do-mato adulto, foi de aproximadamente 1,15 mL. No intuito de se avaliar a variação individual destas células em cachorro-do-mato, inferiu-se à massa corporal a proporção volumétrica de células de Leydig, obtendo-se o índice leydigossomático, que representa o percentual da massa corporal alocada em células de Leydig. Em cachorro-do-mato, ocupam em média 0,0022% do peso corporal com uma amplitude de 0,0012 a 0,0038% (Tabela 3), reforçando a idéia de uma necessidade individual no requerimento dessas células. Apesar da grande variação no número total de células de Leydig em ambos os testículos, o número médio por grama de testículo de cachorro-do-mato, $31,2 \times 10^6$, (Tabela 3), apresentou-se dentro da amplitude descrita para a maioria dos mamíferos, entre 20 e 40 milhões (RUSSELL, 1996; FRANÇA & RUSSELL, 1998), próximo ao encontrado em jaguatiricas ($33,39 \times 10^6$; SARTI, 2006). Desta forma, a quantidade de células de Leydig parece variar bastante entre os indivíduos e entre espécies de mamíferos, não sendo esta variação encontrada para outras glândulas endócrinas (FAWCETT et al., 1973; PAULA, 1999).

Tabela 3. Peso corporal, peso de ambos os testículos, volume total de células de Leydig em ambos os testículos, número de células de Leydig em ambos os testículos (10^6), número de células de Leydig por grama de testículo e índice leydigossomático, em cachorros-do-mato adultos.

Parâmetro	Média $\pm$ desvio padrão
Peso corporal (kg)	6,5 $\pm$ 2,1
Peso de ambos os testículos (g)	4,2 $\pm$ 1,5
Volume total de células de Leydig em ambos os testículos (mL)	1,15 $\pm$ 0,23
Número de células de Leydig em ambos os testículos (10^6)	147 $\pm$ 110
Número de células de Leydig por grama de testículo (10^6)	31,2 $\pm$ 11,2
Índice leydigossomático (%)	0,0022 $\pm$ 0,0012

N=6

4.4 - Conclusões

Em cachorros-do-mato, 3,88% do parênquima testicular é ocupado pelas células de Leydig, 7,95% por tecido conjuntivo, 0,72% de vasos sanguíneos, 0,12% de vasos linfáticos. O volume médio e o diâmetro nuclear das células de Leydig foram, respectivamente, 269,7 μm^3 e 8,01 μm . O índice Leydigossomático nestes animais foi de 0,0022% e o número médio de células de Leydig por grama de testículo foi 31,2 milhões, apresentando-se dentro da amplitude descrita para a maioria dos mamíferos.

4.5 - Referências bibliográficas

- AZEVEDO, M.H.F. **Análise morfofuncional do testículo da onça pintada (*Pantera onça*) adulta**. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 63p.
- BARROS, J.B.G. **Análise morfofuncional do testículo e espermatogênese de leões africanos (*Panthera leo*, Linnaeus, 1758) adultos**. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 65p.

- BRADY, C.A. Observations on the behavior and ecology of the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). In: **Vertebrate ecology in the Northern Neotropics**. Washington: Smithsonian Institution Press, 271p, 1979.
- CASTRO, A.C.S., BERNDTSON, W.E., CARDOSO, F.M. Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cell and spermatogenic efficiency of rabbits. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 493-498, 2002.
- COSTA, D.S., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P. The intertubular compartment morphometry in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. **Animal Reproduction Science**, v. 91, p. 173-179, 2006.
- EWING, L.L., ZIRKIN, B.B., COCHRAN, R.C., KROMANN, N. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused *in vitro*: correlation with Leydig cell mass. **Endocrinology**, v.105, p. 1135-1142, 1979.
- FAWCETT, D.W., NEAVES, W.B., FLORES, M.N. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. **Biology of Reproduction**, v.9, p. 500-532, 1973.
- FRANÇA, L.R., RUSSELL, L.D. The testis of domestic animals. In: **Male reproduction. A multidisciplinary overview**. Madrid: Churchill Livingstone. p.197-219, 1998.
- GODINHO, C.L. **Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*) sexualmente maduros**. Dissertação de Mestrado, Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1999. 123p.
- GUIÃO-LEITE, F.L. **Análise morfológica do testículo e do processo espermatogênico da onça parda (*Puma concolor*, Wozencraft) adulta**. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2002. 64p.
- HOOKE, C.W. The intertubular tissue of the testis In: **The testis development, anatomy and physiology**. Nova York: Academic Press, v.1, cap. 8, p. 483-550, 1970.

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 março de 2007.

MACDONALD, D.W & O. COURTENA. Enduring social relationships in a population of *Cerdocyon thous*, in Amazonian Brazil (Carnivora, Canidae). **Journal of Zoology**, p. 239, 1996.

MOREIRA, J.R. **The reproduction, demography and management of capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) on Marajó Island - Brazil.** Tese de Doutorado, Oxford: University of Oxford, 1995. 198p.

PAULA, T.A.R. **Avaliação histológica e funcional do testículo de capivaras adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*).** Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais. 1999. 84p.

RUSSELL, L.D. Mammalian Leydig cell structure. In: PAYNE, A.H., HARDY, M.P., RUSSELL, L.D. (eds). **The Leydig cell.** Vienna: Cache River Press, cap. 10, p. 218-222, 1996.

RUSSELL, L.D., CHANDRASHEKAR, V., BARTKE, A., SINHA-HIKIM, A.P. The hamster Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. **International Journal of Andrology**, v. 17, n. 2, p. 93-106, 1994.

SARTI, P. **Avaliação morfométrica do testículo e da espermatogênese de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) adultas.** Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 56p.

SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In: KNOBIL, E, NEILL, J.D. (Org.) **The physiology of reproduction**, New York: Raven Press, cap. 22, p. 1363-1434, 1994.

VIEIRA, E.N. Highway mortality of mammals in Central Brazil. **Ciência e Cultura**. V. 48, n. 4. p. 270-272, 1996

WILDT, D.E., BUSH, M., GOODROWE, K.L., PACKER, C., PUSEY, A.E., BROWN, J.L., JOSLIN, P., O' BRIEN, S.J. Reproductive and genetic consequences of founding isolated lion population. **Nature**, v. 329, p. 328-331, 1987.

ZIRKIN, B.R., EWING, L.L., KROMANN, N., COCHRAN, R.C. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes in vitro: correlation with Leydig cells ultrastructure. **Endocrinology**, v. 107, p. 1867-1874, 1980.

5- CONSIDERAÇÕES FINAIS

1- O peso corporal médio dos animais estudados apresenta-se dentro da faixa considerada normal para a espécie.

2- A maior alocação em massa testicular é observada em animais de menor porte, em relação a animais de maior massa corporal. Isto explica a proximidade do índice gonadossomático do cachorro-do-mato ao encontrado em gatos domésticos e superiores ao observado para animais de maior porte.

3- A proporção volumétrica média da albugínea testicular do cachorro-do-mato é de 12,5%.

4- O volume médio de túbulo seminífero observado no cachorro-do-mato foi de 3,23 mL em ambos os testículos, representando em média 87,5% do parênquima testicular.

5- O cachorro-do-mato aloca em média 0,042% do peso corporal em túbulos seminíferos, valor este, conforme esperado, mais próximos aos observados em espécies com comportamento monogâmico e poligâmico do que naquelas promíscuas e poliândricas.

6- O diâmetro tubular e a altura do epitélio seminífero foram em média 236 μm e 62,9 μm respectivamente.

7- O cachorro-do-mato apresenta 18 metros de túbulo seminífero por grama de testículo.

8- As células de Leydig apresentam-se espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo edemaciado, o qual é drenado por um vaso linfático localizado central ou excentricamente no espaço intertubular.

9- Quanto à volumetria dos elementos do parênquima testicular, o tecido conjuntivo é o componente mais abundante, já nos demais carnívoros estudados, o principal componente do espaço intertubular é a célula de Leydig.

10- A proporção volumétrica de células de Leydig no parênquima testicular ocupa cerca de 3,88%, sendo o índice Leydigossomático, que representa o percentual da massa corporal alocada em células de Leydig ocupam em média 0,0022% do peso corporal.

11- O volume médio da célula de Leydig é de $1149 \mu\text{m}^3$ inferior em relação ao observado na maioria dos felinos já estudados.

12- Já o diâmetro e o volume nucleares médios das células de Leydig do cachorro-do-mato foram de $8,01 \mu\text{m}$ e $269 \mu\text{m}^3$ respectivamente.

13- Na maioria dos animais estudados, o núcleo da célula de Leydig corresponde de 10 a 19% do volume total da célula. No cachorro-do-mato este parâmetro corresponde a 24,1%.

14- O volume médio total de células de Leydig, em ambos os testículos foi de aproximadamente 1,15 mL.

15- Apesar da grande variação no número total de células de Leydig em ambos os testículos, o número médio por grama de testículo de cachorro-do-mato, $31,21 \times 10^6$, apresentou-se dentro da amplitude descrita para a maioria dos mamíferos.