

1 **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**  
2 **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**  
3 **CURSO DE MESTRADO**  
4

5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15 **AVALIAÇÃO DO PROCESSO ESPERMATOGÊNICO DE**  
16 **TOUROS GIR**  
17

18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25 **Daniel França Mendonça Silva**  
26

27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34 Campo Grande, MS – 2017.

35 **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**  
36 **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**  
37 **CURSO DE MESTRADO**  
38

39  
40  
41  
42  
43  
44  
45 **AVALIAÇÃO DO PROCESSO ESPERMATOGÊNICO DE**  
46 **TOUROS GIR**  
47

48 *Evaluation of the spermatogenesis of bulls Gir (bos taurus indicus)*  
49

50  
51  
52  
53  
54 **Daniel França Mendonça Silva**  
55

56 **Orientador: Prof. Dr. Deiler Sampaio Costa**  
57

58 **Co-orientador: Prof. Dr. Fábio José Carvalho Faria**  
59

60  
61 Dissertação apresentada ao programa de  
62 Pós-Graduação em Ciência Animal da  
63 Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,  
64 curso mestrado.  
65

66 Área de concentração: Produção animal.  
67  
68  
69  
70  
71

72 Campo Grande, MS – 2017.

Certificado de aprovação

**DANIEL FRANÇA MENDONÇA SILVA**

**Avaliação do processo espermatogênico de touros GIR**

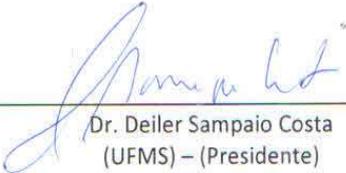
**Evaluation of the spermatogenesis of bulls Gir (bos taurus indicus)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Mato Grosso  
do Sul, como requisito à obtenção do  
título de mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção  
Animal.

Aprovado(a) em: 31-07-2017

BANCA EXAMINADORA:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Deiler Sampaio Costa  
(UFMS) – (Presidente)

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Breno Fernandes Barreto Sampaio  
UFMS

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Paulo Antonio Terrabuio Andreussi  
UFMS

74 **AVALIAÇÃO DO PROCESSO ESPERMATOGÊNICO DE**  
75 **TOUROS GIR**  
76

77 *Evaluation of the spermatogenesis of bulls Gir (bos taurus indicus)*  
78

79 **RESUMO**

80 Objetivou-se com esta pesquisa avaliar a morfologia funcional da espermatogênese de touros da  
81 raça Gir, dando ênfase na biometria do testículo e na histomorfometria do parênquima testicular.  
82 Utilizaram-se fragmentos testiculares de oito touros da raça Gir. Os fragmentos foram fixados por  
83 perfusão tecidual com solução de Karnovisck. Em seguida, a inclusão foi realizada com glicol  
84 metacrilato. Foram realizados cortes histológicos de 4 µm de espessura que foram corados com  
85 solução de azul de toluidina - borato de sódio a 1%. A idade média dos touros foi de  $8,0 \pm 1,3$  anos  
86 e o peso corporal médio foi  $467,5 \pm 26,7$  kg. O peso testicular foi  $289,2 \pm 30,5$  g em média. O  
87 índice gonadossomático foi de  $0,12 \pm 0,02\%$ . Os túbulos seminíferos, as células de Leydig, o  
88 estroma e o tecido intertubular ocuparam, respectivamente,  $80,9 \pm 1,7\%$ ,  $5,4 \pm 1,3\%$ ,  $13,7 \pm 1,1\%$ ,  
89  $19,1 \pm 1,7\%$ . O comprimento médio de túbulo seminífero por grama de testículo foi de  $17 \pm 0,8$  m.  
90 As perdas durante a mitose espermatogonial foram em média de  $75,5 \pm 3,22\%$ , enquanto na fase  
91 meiótica ficou em  $30,6 \pm 8,17\%$ , o que proporcionou uma perda total de  $81,49 \pm 2,58\%$  de células  
92 durante toda a espermatogênese. A média da produção espermática diária por grama de parênquima  
93 foi de  $28,0 \times 10^6$  células. Conclui-se que a histometria dos parâmetros testiculares da raça Gir  
94 encontram-se inseridos na média relatada para bovinos de raças zebuínas.

95 Palavras-chave: Espermatogônia, Leydig, Sêmen, Sertoli, Testículo

96 **ABSTRACT**

97 The objective of this research was to evaluate the functional morphology of spermatogenesis of Gir  
98 bulls, with emphasis on testicular biometry and testicular parenchyma histomorphometry. Testicular  
99 fragments of eight Gir sires were used. The fragments were fixed by tissue perfusion with  
100 Karnovisck's solution. Then the inclusion was performed with glycol methacrylate. Histological  
101 sections of 4 µm thickness were stained with 1% sodium toluidine - borate blue solution. The mean  
102 age of the bulls was  $8.0 \pm 1.3$  years and the mean body weight was  $467.5 \pm 26.7$  kg. The testicular  
103 weight was  $289.2 \pm 30.5$  g on average. The gonadosomatic index was  $0.12 \pm 0.02\%$ . The  
104 seminiferous tubules, Leydig cells, stroma and intertubular tissue occupied, respectively,  $80.9 \pm$   
105  $1.7\%$ ,  $5.4 \pm 1.3\%$ ,  $13.7 \pm 1.1\%$ ,  $19.1 \pm 1.7\%$ . The mean length of seminiferous tubule per gram of

106 testis was  $17 \pm 0.8$  m. The losses during spermatogonial mitosis were on average  $75.5 \pm 3.22\%$ ,  
107 whereas in the meiotic phase it was  $30.6 \pm 8.17\%$ , which gave a total loss of  $81.49 \pm 2.58\%$  of Cells  
108 throughout spermatogenesis. The mean daily sperm production per gram of parenchyma was  $28.0 \times$   
109  $10^6$  cells. It is concluded that the histometry of the testicular parameters of the Gir breed are inserted  
110 in the mean reported for cattle of zebu breeds.

111 Keywords: Leydig, Semen, Sertoli, Spermatogonia, Testis

## 112 **INTRODUÇÃO**

113 O rebanho bovino brasileiro no século XIX era formado por animais sem raça definida.  
114 Estes animais, oriundos de países europeus (Península Ibérica), vieram com os primeiros  
115 colonizadores do Brasil. A multiplicação destes animais, sem nenhum critério, produziram  
116 indivíduos com baixo desempenho produtivo e reprodutivo, verificados na época. Além disso, com  
117 genética predominantemente taurina eram desafiados por enormes problemas com endo e ecto  
118 parasitas que preocupavam sobremaneira os produtores rurais. Neste cenário, surgiu a necessidade  
119 de importar gado de origem indiana, estes mais adaptados e rústicos ao ambiente tropical  
120 (Andreussi et al., 2014).

121 No início até meados do século XX, no Brasil, foram feitas as maiores importações da Índia  
122 de gado zebu. Estas importações geraram um enorme impacto na pecuária brasileira (Santiago,  
123 1983; Santos, 1998). Atualmente, cerca de 80% do rebanho nacional é de origem zebuína  
124 (Bergmann, 1993). A raça Gir, especificamente, chegou ao Brasil em 1911 e está plenamente  
125 inserida neste contexto histórico de desenvolvimento no país. O Brasil reserva o *status* de possuir o  
126 maior rebanho comercial de zebuínos do mundo (Bergmann, 1993, IBGE, 2015). Considera-se a  
127 raça Gir, o zebuíno de maior produtividade leiteira em clima tropical, pois apresenta características  
128 de termorregulação eficientes que permitiram os crescentes níveis de produção.

129 Contudo, mesmo frisando a importância da raça Gir no cenário nacional, percebe-se que a  
130 maioria dos estudos que envolvem características reprodutivas andrológicas e, posteriormente, a  
131 classificação de touros quanto à aptidão reprodutiva, baseiam-se apenas em estudos com a raça  
132 Nelore (Folhadella et al., 2006).

133 Quanto ao processo espermatogênico, por sua vez, é um sistema fisiológico sincrônico e  
134 regular de divisão e diferenciação celular, pelo qual uma espermatogônia tronco é gradativamente  
135 diferenciada em uma célula haploide altamente especializada, o espermatozoide. Esta sequência de  
136 modificações ocorre nos túbulos seminíferos e dura em torno de 40 a 60 dias na maioria dos  
137 mamíferos estudados (França e Russell, 1998).

138 As três classes de células germinativas envolvidas na espermatogênese são: as  
139 espermatogônias, os espermátocitos e as espermátides. Nos adultos, a espermatogênese é um  
140 processo contínuo que pode ser dividido em três fases distintas: a mitótica, a meiótica e a  
141 espermiogênica ou de diferenciação, cada fase caracterizada por mudanças morfológicas e  
142 bioquímicas dos componentes do citoplasma e do núcleo celular (Courot et al., 1970).

143 As células espermatogênicas se encontram arranjadas nos túbulos seminíferos de forma  
144 organizada e bem definida, constituindo associações celulares que caracterizam os estádios do ciclo  
145 do epitélio seminífero. Na maioria dos mamíferos estudados o arranjo dos estádios do ciclo do  
146 epitélio seminífero é segmentado e normalmente existe apenas um estádio por secção transversal de  
147 túbulo, excetuando-se no homem e no macaco (Russell et al., 1990).

148 O ciclo do epitélio seminífero em um dado segmento pode ser definido como o período entre  
149 o desaparecimento de um determinado estádio até o seu reaparecimento neste mesmo segmento  
150 (Leblond e Clermont, 1952). A duração do ciclo do epitélio seminífero é geralmente constante para  
151 uma determinada espécie, variando, no entanto, de uma espécie para a outra (Russell et al., 1990).

152 Apesar de o processo espermatogênico de touros da raça Nelore ter sido bem estudado por  
153 Cardoso (1977), são escassas as publicações descrevendo o processo espermatogênico de touros da  
154 raça Gir, que apesar de ter menor contribuição no efetivo total de bovinos na pecuária brasileira em  
155 comparação à raça Nelore, é uma raça que participa efetivamente deste contexto, principalmente em  
156 cruzamentos dirigidos com raças leiteiras europeias.

157 Objetivou-se com esta pesquisa avaliar a morfologia funcional da espermatogênese de  
158 touros da raça Gir, dando ênfase na biometria do testículo e na histomorfometria do parênquima  
159 testicular.

160

## 161 **Material e Métodos**

162

### 163 **Animais, colheita dos testículos e aferição da biometria testicular**

164

165 Utilizaram-se oito touros da raça Gir, Puros de Origem, sexualmente maduros sem qualquer  
166 alteração detectada pelo exame clínico dos órgãos genitais ou pela avaliação do sêmen. Os animais  
167 tinham em média  $8,0 \pm 1,3$  anos e pesavam  $467,5 \pm 26,7$  kg.

168 Imediatamente após a orquiectomia e dissecação do epidídimo, os testículos foram pesados  
169 em balança de precisão e perfundidos com solução de Karnovisck para fixação tecidual. A inclusão  
170 foi realizada com glicol metacrilato (Kit Historesin, Leica Biosystems - Nussloch, Alemanha)

171 conforme descrito por Costa et al. (2004). Foram realizados cortes histológicos de quatro  
172 micrômetros de espessura utilizando-se navalha de vidro em micrótomo rotativo. Os cortes foram  
173 corados com solução de azul de toluidina - borato de sódio a 1%, e as lâminas montadas com  
174 Entellan® (Merck, Alemanha).

175 O índice gonadossomático (IGS) foi determinado pelo cálculo da razão entre o peso corporal  
176 e peso dos dois testículos e o resultado apresentado em percentual.

177 O Peso do parênquima testicular foi aferido subtraindo-se do peso testicular, o peso da  
178 túnica albugínea e o mediastino, estimados a partir da dissecação dos testículos armazenados. Uma  
179 vez que a densidade do testículo é muito próxima de um (Johnson et al., 1981), o peso foi  
180 considerado como sendo igual ao volume.

181

### 182 **Diâmetro dos túbulos seminíferos e altura do epitélio seminífero**

183

184 A aferição do diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi obtida a partir da medida do  
185 diâmetro de pelo menos 20 secções transversais de túbulos em cada animal. As secções escolhidas  
186 foram aquelas que se apresentaram mais circulares possíveis, independentemente do estágio em que  
187 se encontravam. As mensurações foram feitas com auxílio do *software* de morfometria “Image J  
188 1.34s” (Rasband, 2005).

189 A altura do epitélio seminífero foi mensurada na mesma secção transversal em que foi  
190 aferido o diâmetro dos túbulos seminíferos. Foi considerada a distância desde a membrana basal até  
191 a borda luminal. Foram realizadas pelo menos duas medidas em cada secção transversal, sendo  
192 anotado como resultado a média das mesmas.

193

### 194 **Comprimento total dos túbulos seminíferos**

195

196 O comprimento total dos túbulos seminíferos foi calculado segundo Attal e Courot (1963).  
197 A área da secção transversal foi aferida com auxílio do *software* “Image J 1.34s” (Rasband, 2005).  
198 Foram medidas pelo menos 10 secções transversais de túbulo seminífero, independentemente do  
199 estágio em que se encontravam.

200 O diâmetro tubular e o volume total dos túbulos seminíferos foram estimados considerando-  
201 se um fator de retração linear de 5% (Amann, 1981). O comprimento total dos túbulos seminíferos  
202 foi expresso em metros.

203

## 204 **Proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular**

205

206 A proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular foi obtida com auxílio  
207 do *software* “Image J 1.34s” (Rasband, 2005), utilizando-se uma gráticula com 420 intercessões  
208 consideradas como pontos. Os seguintes componentes do parênquima testicular foram computados:  
209 células de Leydig, estroma (células, vasos sanguíneos e linfáticos e fibras do tecido conjuntivo) e  
210 túbulos seminíferos. Foram examinados pelo menos 20 campos escolhidos ao acaso por meio de  
211 varredura horizontal dos cortes histológicos. Assim sendo, as proporções volumétricas, expressas  
212 em porcentagem, foram calculadas sobre um total mínimo de 8400 pontos por testículo. O aumento  
213 utilizado para esta análise foi de 400 vezes.

214

## 215 **População celular dos túbulos seminíferos**

216

217 A população de cada tipo celular do epitélio seminífero foi estimada a partir da contagem  
218 dos núcleos das células germinativas e dos nucléolos das células de Sertoli, em pelo menos 20  
219 secções transversais no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, caracterizados pelo método da  
220 morfologia tubular (Ortavant et al., 1977). Os seguintes tipos celulares foram contados:  
221 espermatogônias do tipo A, espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, espermatócitos  
222 primários em paquíteno, espermátides arredondadas e células de Sertoli.

223 A contagem obtida foi corrigida para o diâmetro nuclear médio e a espessura do corte,  
224 utilizando-se a fórmula de Abercrombie (1946) modificada por Amann (1962). Uma vez que as  
225 células de Sertoli possuem núcleo irregular, a correção do número das mesmas foi feita a partir do  
226 diâmetro nucleolar médio.

227 O diâmetro nuclear ou nucleolar médio foi aferido pela média das mensurações de pelo  
228 menos 10 núcleos de cada tipo de célula germinativa ou 10 nucléolos de células de Sertoli em cada  
229 animal. Uma vez que as espermatogônias do tipo A possuem núcleos ovoides ou ligeiramente  
230 alongados, utilizou-se a média entre o maior e o menor diâmetro nuclear das mesmas para esse  
231 cálculo.

232 A contagem da população celular do epitélio seminífero, bem como a mensuração do  
233 diâmetro nuclear ou nucleolar médio, foram feitos com o auxílio do *software* de morfometria  
234 “Image J 1.34s” (Rasband, 2005), utilizando-se imagens microscópicas digitalizadas.

235

236

## 237 **Rendimento intrínseco da espermatogênese**

238

239 O rendimento intrínseco da espermatogênese foi estimado com base nas razões encontradas  
240 entre os números celulares corrigidos obtidos por secção transversal de túbulo seminífero. As  
241 seguintes razões foram calculadas:

242 - coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais: razão entre o número de espermatócitos  
243 primários em pré-leptóteno/leptóteno e o número de espermatogônias do tipo A, no estágio 1 do  
244 ciclo do epitélio seminífero.

245 - rendimento meiótico: razão entre o número de espermátides arredondadas e o número de  
246 espermatócitos primários em paquíteno, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.

247 - rendimento geral da espermatogênese: razão entre o número de espermátides arredondadas e o  
248 número de espermatogônias do tipo A, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.

249 Com a finalidade de avaliar a ocorrência de perdas celulares durante a prófase meiótica, foi  
250 calculado também a razão entre o número de espermatócitos primários em paquíteno, e o número de  
251 espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.

252

## 253 **Cálculo da produção espermática diária**

254

255 A produção espermática diária foi estimada através do número de espermátides  
256 arredondadas por célula de Sertoli no estágio 1, população de células de Sertoli por testículo e  
257 frequência e duração do estágio 1, de acordo com a fórmula desenvolvida por Amann e Almquist,  
258 (1962). A duração do estágio 1 foi considerada como de 4,38 dias (Cardoso, 1981).

259 Para a determinação da produção diária por grama de parênquima testicular procedeu-se a  
260 divisão da produção espermática diária total pelo peso dos dois testículos livres da túnica albugínea  
261 e mediastino, ou seja, dividido pelo peso do parênquima testicular multiplicado por dois.

262

## 263 **Análise estatística**

264

265 As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico BioEstat 3.0  
266 (Ayres et al., 2003). Todos os resultados obtidos foram apresentados como média, desvio padrão e  
267 coeficiente de variação.

268

269

270 **RESULTADOS**

271

272 Os dados de idade, peso corporal e testicular, peso do parênquima testicular e índice  
 273 gonadossomático encontram-se apresentados na tabela 1.

274

275 **Tabela 1: Idade, peso corporal, peso testicular, peso do parênquima e índice gonadossomático**  
 276 **(IGS) de touros da raça Gir.**

<b>Animal</b>	<b>Idade (anos)</b>	<b>Peso Corporal (kg)</b>	<b>Peso Testicular Total (g)*</b>	<b>Peso Parênquima Testicular (g)**</b>	<b>IGS (%)</b>
1	10	492	272,6	250,1	0,11
2	9	468	311,5	286,0	0,13
3	8	475	244,6	224,4	0,10
4	8	492	337,2	309,3	0,14
5	7	435	295,5	270,9	0,14
6	7	421	304,7	279,9	0,14
7	9	467	255,2	233,7	0,11
8	7	490	292,2	268,3	0,12
Média ± dp	8,0 ± 1,3	467,5 ± 26,7	289,2 ± 30,5	265,3 ± 28,1	0,12 ± 0,02
C.V**	16%	5,7%	10,5%	10,6%	16,6%

277 \*Peso de apenas um testículo \*\* Peso testicular total – peso albugínea e mediastino.

278 \*\*Coeficiente de variação C.V= desvio padrão/média.

279

280 As médias dos valores de diâmetro tubular, altura do epitélio seminífero e comprimento  
 281 tubular por grama de testículo encontram-se apresentadas na tabela 2. Para estas três variáveis o  
 282 coeficiente de variação foi baixo, evidenciando a homogeneidade destes parâmetros entre os  
 283 diferentes animais desta raça.

284

285

286

287

288

289

290

291

292 **Tabela 2: Diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ), altura do epitélio seminífero ( $\mu\text{m}$ ) e comprimento tubular**  
 293 **por grama de testículo (m) de touros da raça Gir.**

<b>Animal</b>	<b>Diâmetro do Túbulo Seminífero* (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Altura do Epitélio Seminífero (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Comprimento Tubular por g/Testículo (m)</b>
1	243,7	69,6	17,3
2	254,9	70,4	16,3
3	236,8	66,8	18,5
4	252,4	71,1	16,1
5	245,1	69,5	17,6
6	233,7	72,3	16,8
7	249,6	68,8	17,1
8	250,1	67,9	16,5
<b>Média <math>\pm</math> dp</b>	<b>245,8 <math>\pm</math> 7,5</b>	<b>69,6 <math>\pm</math> 1,8</b>	<b>17,0 <math>\pm</math> 0,8</b>
<b>C.V**</b>	<b>3%</b>	<b>2,5%</b>	<b>4%</b>

294 \*Adotado um coeficiente de retração linear de 5%, conforme Amann, 1981.

295 \*\*Coeficiente de variação C.V= desvio padrão/média.

296

297 A proporção volumétrica dos testículos ocupada por túbulos seminíferos e tecido  
 298 intertubular, que inclui células de Leydig e estroma, encontra-se apresentada na tabela 3. A  
 299 proporção volumétrica de túbulos seminíferos dos animais variou apenas 2,1%, enquanto que a  
 300 proporção de células de Leydig ocupando o tecido intertubular variou 24%.

301

302

303

304

305

306

307

308

309

310  
311

**Tabela 3: Proporção volumétrica (%) dos constituintes do parênquima testicular de touros da raça Gir.**

<b>Animal</b>	<b>Túbulo Seminífero (%)</b>	<b>Células de Leydig (%)</b>	<b>Estroma* (%)</b>	<b>Tecido Intertubular (%)</b>
1	80,8	4,7	14,5	19,2
2	83,1	4,6	12,3	16,9
3	81,5	4,1	14,4	18,5
4	80,5	4,9	14,6	19,5
5	82,9	5,3	11,8	17,1
6	79,4	6,3	14,3	20,6
7	80,8	5,2	14,0	19,2
8	78,0	8,1	13,9	22,0
Média ± dp	80,9 ± 1,7	5,4 ± 1,3	13,7 ± 1,1	19,1 ± 1,7
C.V**	2,1%	24%	8%	9%

312 \*Estroma compreende: células e fibras de tecido conjuntivo, nervos, vasos sanguíneos e linfáticos.

313 \*\*Coeficiente de variação C.V= desvio padrão/média.

314

315 As populações dos diferentes tipos celulares no estágio 1 do CES estimada nos oito touros  
316 da raça Gir analisados, encontram-se apresentadas na tabela 4. Apesar do número de células de  
317 Sertoli apresentar pouca variação (3,7 a 4,4), o número de espermátides arredondadas variou  
318 bastante entre os animais (76,7 a 99,5).

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

334

335  
336

**Tabela 4: População dos diferentes tipos celulares no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero de touros da raça Gir.**

Animal	S	A	PL/L	PQ	Ar
1	4,0	1,8	27,2	34,0	93,3
2	3,9	2,3	34,6	36,5	94,0
3	3,8	2,1	28,9	34,2	76,7
4	3,9	1,9	30,4	30,9	95,3
5	4,3	1,8	25,1	31,8	90,9
6	3,7	2,1	29,9	34,8	99,5
7	4,4	2,0	35,3	34,8	88,9
8	4,1	1,7	33,5	29,6	97,4
Média ± dp	4,0 ± 0,2	2,0 ± 0,2	30,6 ± 3,6	33,3 ± 2,3	92,0 ± 7,0
C.V**	5%	10%	11,7%	7%	7,6%

337 S – células de Sertoli; A – espermatogônias do tipo A; PL/L – espermatócitos primários em pré-leptóteno/ leptóteno;  
338 PQ - espermatócitos primários em paquíteno; Ar – espermátides arredondadas.

339 \*Valores corrigidos segundo Amann (1962).

340 \*\*Coeficiente de variação C.V= desvio padrão/média.

341

342 Na tabela 5 encontram-se apresentadas as razões entre os tipos celulares presentes no estágio  
343 1 do CES, equivalendo ao rendimento mitótico (PL/L : A), rendimento meiótico (Ar : PQ), relação  
344 espermatócitos primários em prófase I (PQ : PL/L) e rendimento geral da espermatogênese (Ar : A).  
345 As perdas celulares apresentadas na tabela 5, entre parênteses, estão calculadas com base no fato de  
346 os bovinos possuírem seis gerações de espermatogônias (A<sub>1-3</sub>, In e B<sub>1-2</sub>), conforme descrito por  
347 Cardoso (1977).

348

349

350

351

352

353

354

355

356

357

358 **Tabela 5: Razões entre números corrigidos de células germinativas por secção transversal de**  
 359 **túbulo seminífero no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero de touros da raça Gir.**  
 360 **Entre parênteses, percentual de perdas durante as divisões mitóticas e meióticas das**  
 361 **células germinativas e perdas do rendimento geral da espermatogênese.**

Animal	PL/L : A	Ar : PQ	PQ : PL/L	Ar : A
1	15,11 (76,39%)	2,74 (31,40%)	1,25	51,83 (79,75%)
2	15,04 (76,49%)	2,58 (35,62%)	1,05	40,87 (84,04%)
3	13,76 (78,50%)	2,24 (43,93%)	1,18	36,52 (85,73%)
4	16,00 (75,00%)	3,08 (22,90%)	1,02	50,16 (80,41%)
5	13,94 (78,21%)	2,86 (28,54%)	1,27	50,50 (80,27%)
6	14,24 (77,75%)	2,86 (28,52%)	1,16	47,38 (81,49%)
7	17,65 (72,42%)	2,55 (36,14%)	0,99	44,45 (82,64%)
8	19,71 (69,21%)	3,29 (17,74%)	0,88	57,29 (77,62%)
Média ± dp	15,68 ± 2,06	2,78 ± 0,33	1,10 ± 0,14	47,38 ± 6,59
C.V**	13,13%	11,8%	11,7%	14%

362 S – células de Sertoli; A – espermatogônias do tipo A; PL/L – espermatócitos primários em pré-leptóteno/ leptóteno;  
 363 PQ - espermatócitos primários em paquíteno; Ar – espermátides arredondadas.

364 \*Valores corrigidos segundo Amann (1962).

365 \*\*Coeficiente de variação C.V= desvio padrão/média.

366

367 A produção espermática diária total e por grama de parênquima testicular, está demonstrada  
 368 na tabela 6.

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389 **Tabela 6: Produção espermática diária total ( $\times 10^9$ ) e por grama de parênquima do testículo**  
 390 **( $\times 10^6$ ) de touros da raça Gir.**

Animal	Produção Espermática Diária Total* ( $\times 10^9$ )	Produção Espermática Diária/g de Parênquima Testicular** ( $\times 10^6$ )
1	14,4	28,9
2	15,6	27,3
3	11,3	25,3
4	16,9	27,4
5	15,3	28,5
6	17,8	32,9
7	14,6	26,2
8	12,9	27,6
Média $\pm$ dp	14.887,35 $\pm$ 2.072,041	28,0 $\pm$ 2,3
C.V***	14%	8,2%

391 \* Produção espermática diária total dos dois testículos.

392 \*\*Calculado segundo Amann e Almquist (1962).

393 \*\*\*Coeficiente de variação C.V= desvio padrão/média.

394

## 395 DISCUSSÃO

396

397 Nesta pesquisa, foram analisados os testículos de oito animais da raça Gir, com registro  
 398 genealógico definitivo, ou seja, puros de origem. Estes apresentaram variação de idade de três anos,  
 399 entre o mais novo e o mais velho, e variação de aproximadamente setenta quilos, do mais leve para  
 400 o mais pesado, (Tabela 1).

401 Estas faixas de idade e peso foram escolhidas com o objetivo de evitar animais pré-púberes  
 402 ou senis, e com algum tipo de deficiência nutricional.

403 Em touros da raça Gir, a túnica albugínea e o mediastino somados também ocuparam  
 404 aproximadamente 8,2% do volume testicular. Entre os mamíferos já avaliados, apenas os carnívoros  
 405 diferiram desta porcentagem, apresentando 18% (França e Godinho, 2003; Mascarenhas et al.,  
 406 2006). Este estudo demonstrou, neste aspecto, o mesmo percentual observado em outros estudos  
 407 (Tabela 1) (Amann, 1961 e 1962).

408 O índice gonadossomático na raça Gir verificado no presente estudo (0,12%) foi semelhante  
 409 ao observado em outras pesquisas realizadas em zebuínos. Andreussi et al. (2014) em animais da  
 410 raça Gir também verificaram índice gonadossomático de 0,12%, com média entre as raças Nelore,

411 Nelore mocho, Gir, Tabapuã e Guzerá de 0,13% . Já em animais jovens taurinos da raça Shorthorn,  
412 Swierstra, (1966) obsevou IGS de 0,8%.

413 Em relação às proporções volumétricas, índices que são diretamente proporcionais à  
414 produção espermática (França e Russell, 1998), constata-se que em mamíferos os túbulos  
415 seminíferos representam 60 e 90% do volume do testículo (Setchell, 1982), o restante está  
416 preenchido por tecido intertubular que, por sua vez, contém as células de Leydig e o estroma.  
417 (França e Russell, 1998).

418 No presente estudo, os valores observados em proporção volumétrica dos constituintes do  
419 parênquima testicular em animais da raça Gir estão em consonância com aqueles observados em  
420 animais da mesma raça em Andreussi et al. (2014), sendo que 80.9% do parênquima testicular foi  
421 ocupado por túbulos seminíferos. Porém diferiram na média geral de todas as outras raças, pois de  
422 acordo com Andreussi et al. (2014), animais da raça Nelore apresentaram maior volume de túbulos  
423 seminíferos em comparação a todas as outras raças zebuínas estudadas.

424 Em touros Holandeses (Amann, 1962; Amann e Almquist, 1962) observaram menores  
425 proporções volumétricas destes componentes, sendo que touros jovens apresentaram média de  
426 76,8% e touros acima de 4 anos de idade apresentaram 73%.

427 Em ratos a proporção volumétrica de túbulos seminíferos apresentou-se bastante similar aos  
428 bovinos (Almeida et al., 2000). Russell e França (1995), em ratos, encontraram porcentagem maior  
429 (85,8% do volume testicular em túbulos seminíferos).

430 Com relação aos dados das três dimensões avaliadas (comprimento, altura do epitélio e  
431 diâmetro) dos túbulos seminíferos, não foram observadas diferenças entre os bovinos da raça Gir do  
432 presente estudo, e do mesmo modo não foram observadas diferenças no estudo de Andreussi et al.  
433 (2014) tanto na raça Gir, especificamente, como em todas as raças zebuínas estudadas, embora  
434 animais da raça Nelore tenham apresentado as maiores dimensões dentre os zebuínos. Já em ratos o  
435 diâmetro dos túbulos seminíferos seguem padrões de dimensões maiores (Almeida et al., 2000). O  
436 diâmetro dos túbulos seminíferos pode ser alterado pela multiplicação das células de Sertoli. Assim,  
437 em estudo de Berndtson e Jones (1989), foram correlacionados positivamente o maior peso  
438 testicular, maior número de populações de células germinativas, maior número de células de Sertoli  
439 e conseqüentemente, maior produção de espermatozoides.

440 Em experimento com *Bos taurus* adultos comprovou-se que testículos mais pesados  
441 possuem número maior de espermátides arredondadas por célula de Sertoli (Moura e Erickson,  
442 1999) e maior produção espermática diária (Berndtson et al., 1987).

443 No presente estudo, as populações de células de Sertoli e espermatogônias apresentaram  
444 poucas variações entre os animais avaliados. O número médio de células de Sertoli observado, de 4  
445 células por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 do CES, e de espermatogônias com  
446 média de 2 células por secção transversal, foi semelhante ao observado como média geral por  
447 Andreussi et al. (2013), nas raças Nelore, Nelore mocho, Gir, Guzerá e Tabapuã e também por Dias  
448 (2015). Entretanto, com o avançar da diferenciação das células na espermatogênese percebe-se,  
449 entre os dois trabalhos citados, sensíveis diferenças entre os números de espermátocitos em pré  
450 leptóteno/leptóteno, paquíteno e espermátides arredondadas, ou seja, nota-se que o rendimento final  
451 na espermatogênese apresenta diferenças entre as raças, principalmente com a raça Nelore que  
452 obteve-se o melhor resultado no rendimento final da espermatogênese (Andreussi et al., 2013). Por  
453 outro lado, Aguiar et al. (2006), analisando touros da raça Angus, observou menor quantidade de  
454 células de Sertoli, com 2,8 células por secção transversal. Santos et al. (1999) relataram, em *Bos*  
455 *indicus*, a contagem de 12,93 células de Sertoli por secção, porém, com metodologia diferente da  
456 aplicada na maioria dos estudos consultados, e Aguiar et al. (2006) observaram em touros da raça  
457 Angus com 22 semanas de idade, média de 26,5 células de Sertoli por secção.

458 Com relação às células de Leydig a porcentagem é muito variável em mamíferos, sendo  
459 relatados valores de 2,2% em ratos (França e Russell, 1998) e 20 a 60% em suínos (Fawcett et al.,  
460 1973). Amann, 1962 relatou estudo em que observou-se, em touros holandeses jovens de 3 anos,  
461 que a proporção volumétrica ocupada pelas células de Leydig no espaço intertubular foi de 5% e em  
462 touros acima de 4 anos foi de 7%.

463 A espermatogênese é funcionalmente dependente do suporte das células de Sertoli e também  
464 do suporte hormonal das células de Leydig (Martin-du Pan e Campana, 1993; Sharpe, 1994).  
465 Segundo França e Russell, (1998), em termos percentuais, as células de Sertoli representam 16,2%  
466 dos testículos.

467 Resultados publicados em ratos (Almeida et al., 2000) diferem dos observados em touros no  
468 presente estudo. O número de espermátocitos primários em paquíteno em ratos foi 21,37 células,  
469 contra 33,3 em touros, e 70,26 espermátides arredondadas em ratos contra 92,0 células em touros da  
470 raça Gir.

471 Em relação às frações corrigidas da população de células do ciclo do epitélio seminífero,  
472 Almeida et al. (2000), em ratos, apresentaram a relação espermátides arredondadas / espermátocitos  
473 em paquíteno próxima do observado neste estudo (3,1), enquanto no presente estudo, em bovinos da  
474 raça Gir, verificou-se 2,78.

475 No presente experimento, com referência à relação entre as populações celulares nos túbulos  
476 seminíferos e as perdas celulares durante o processo espermatogênico (Tabelas 5 e 6), nota-se que a  
477 imensa maioria das perdas ocorre durante a mitose, cerca de 75,5% em média, contra 30,6%  
478 observada na fase meiótica. Os resultados são semelhantes ao observado por Andreussi et al. (2013)  
479 nas raças Gir, Nelore, Nelore Mocho, Guzerá e Tabapuã. Sendo especificamente mais exata a  
480 proximidade no resultado da raça Gir. Inclusive, em ambos os estudos as médias das perdas totais  
481 na espermatogênese não apresentaram diferenças. Entretanto, especificamente na raça Nelore  
482 padrão é necessário frisar que as perdas totais na espermatogênese foram menores do que as demais  
483 raças ficando em 75,6% de perda final (Andreussi et al., 2013).

484 Com relação à produção espermática, o conhecimento da espermatogênese e sua fisiologia  
485 testicular são fundamentais para a identificação de causas potenciais de infertilidade e  
486 subfertilidade, e a compreensão dos processos que definem a capacidade de produção espermática  
487 na espermatogênese são pontos cruciais no processo.

488 Nesta pesquisa os animais apresentaram, em média, como produção diária total,  $14,8 \times 10^9$   
489 células, com desvio padrão de  $2,0 \times 10^9$ . Em Andreussi et al. (2013) os valores foram similares para  
490 a raça Gir e próximos das raças Tabapuã e Guzerá, entretanto a produção espermática em touros da  
491 raça Nelore foi maior, sugerindo que nesta raça os trabalhos de melhoramento estão mais  
492 adiantados.

493 Infere-se que as demais raças zebuínas mencionadas neste estudo (Gir, Guzerá e Tabapuã)  
494 estão com os dados avaliados na espermatogênese muito aquém da capacidade potencial de cada  
495 raça. A grande superioridade do Nelore frente às demais raças, neste quesito, pode ser apontada  
496 como resultado do processo seletivo mais intenso aplicado a esta raça, fato que pode ser observado  
497 em números: no ano de 2017, segundo a Associação Brasileira dos Criadores de Zebu (ABCZ),  
498 existem 807 touros da raça Nelore em centrais de coleta de sêmen, número muito superior ao  
499 referente às raças Gir (81), Tabapuã (77) e Guzerá (81). Outros dados interessantes são os  
500 publicados pela ASBIA (Associação Brasileira de Inseminação Artificial), que apontam que em  
501 2014 foram comercializadas 629.150 doses de sêmen da raça Gir, 162.056 da Guzerá, 120.280  
502 doses da Tabapuã, e 3.235.979 doses de sêmen da raça Nelore. Os dados apresentados permitem  
503 sugerir que uma intensificação dos trabalhos de melhoramento genético aplicados à raça Gir poderá  
504 aumentar os índices relativos à espermatogênese nesta raça.

505

506

507

508 **CONCLUSÕES**

509

510 Conclui-se que a histometria dos parâmetros testiculares da raça Gir encontram-se inseridos  
511 na media relatada para bovinos de raças zebuínas.

512

513

**REFERÊNCIAS**

514

515 ABCZ, 2017. Sumário nacional de avaliação genética – 2017. Programa de Melhoramento Genético  
516 de Zebuínos (PMGZ). Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ). Disponível em:  
517 <http://www.abcz.org.br/Home/Secao/155-Consultar-Avaliaco-es-Geneticas>. Acesso em 27.06.2017.

518

519 Abercrombie, M. Estimation of nuclear populations from microtome sections. *Anat. Rec.*, v.94,  
520 p.238-248. 1946.

521

522 Aguiar, G.V.; Araújo, A.A.; Moura, A.A.A. Desenvolvimento testicular, espermatogênese e  
523 concentrações hormonais em touros Angus. *R. Bras. Zootec.*, v.35, n.4, p.1629-1638, 2006 (supl.).

524

525 Almeida, L.M. ; Weiss, R.R.; Castro, C.S.; Buchele, J. Quantificação histológica da  
526 espermatogênese de ratos Wistar tratados com dimetil sulfoxido. *Archives of Veterinary Science*,  
527 v.5, p.129-135, 2000.

528

529 Amann, R.P. Reproductive physiology of the male bovine. Thesis (Ph.D), The Penn. State Univ.,  
530 University Park. 1961.

531

532 Amann, R.P. Reproductive capacity of dairy bulls. III. The effect of ejaculation frequency,  
533 unilateral vasectomy, and age on spermatogenesis. *Am. J. Anat.*, v.110, p.49-67, 1962.

534

535 Amann, R.P. A critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal  
536 characteristics. *J. Androl.*, v.2, p.37-58, 1981.

537

538 Amann, R.P.; Almquist, J.O. Reproductive capacity of dairy bulls. VIII. Direct and indirect  
539 measurement of testicular sperm production. *J. Dairy Sci.*, v 45, p.774-781, 1962.

540

541 Andreussi, P.A.T.; Costa, D.S.; Faria, F.J.C.; Fernandes, C.A.C.; Guimarães, J.D. Efficiency of the  
542 spermatogenesis in Zebu bulls (*bos taurus indicus*). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, v. 42, p.1-  
543 8, 2013.

544

545 Andreussi, P.A.T.; Costa, D.S.; Faria, F.J.C.; Fernandes, C.A.C.; Santos, M.D.; Silva, J.C.B.  
546 Testicular histomorphometric evaluation of Zebu bull breeds. *Brazilian Archives of Biology and  
547 Technology* (Impresso), v. 57, p. 900-907, 2014.

548

549 Attal, J.; Courot, M. Développement testiculaire et établissement de la spermatogénèse chez le  
550 taureau. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, v.3, p.219-241, 1963.

551

552 ASBIA, 2017. Índice ASBIA – Importação, exportação e comercialização de sêmen. Associação  
553 Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA). p. 17-18. Disponível em:  
554 <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2014.pdf>. Acesso em 10/05/2017.  
555

556 Ayres, M.; Ayres Jr. M.; Ayres, D.L.; Santos, A.S. BioEstat. Aplicações estatísticas nas áreas das  
557 ciências biológicas e médicas. Belém, Sociedade Civil Maniraua, Brasília CNPq, 2003.  
558

559 Bergmann, J.A.G. Melhoramento genético da eficiência reprodutiva em bovinos de corte. In:  
560 Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, X, 1993, Belo Horizonte, suplemento, Belo  
561 Horizonte: CBRA, p.70-86, 1993.  
562

563 Berndtson, W.E.; Igboeli G.; Parkerm, W.G. The numbers of Sertoli cells in mature Holstein bulls  
564 and their relationship to quantitative aspects of spermatogenesis. *Biology of Reproduction*, v.37, n.1,  
565 p.60-67, 1987.  
566

567 Berndtson, W.E.; Jones, L.S. Relationship of intratesticular testosterone content of stallions to age,  
568 spermatogenesis, Sertoli cell distribution and germ cell-Sertoli cell ratios. *J. Reprod. Fertil.*, v.85,  
569 n.2, p.511-8, 1989.  
570

571 Cardoso, F.M. Desenvolvimento dos órgãos genitais masculinos de Zebus (*Bos indicus*), da raça  
572 Nelore, do período fetal aos 36 meses de idade. 1977. 140p. Dissertação (Mestrado em Morfologia)  
573 - Escola de Veterinária/Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1977.  
574

575 Cardoso, F.M. Morfologia, cinética e quantificação da espermatogênese em zebu (*Bos indicus*).  
576 1981. 208p. Tese (Doutorado em Morfologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo  
577 Horizonte, MG, 1981.  
578

579 Costa, D.S.; Henry, M.; Paula, T.A.R. Espermatogênese de catetos (*Tayassu tajacu*). *Arq. Bras.*  
580 *Med. Vet. Zootec.*, v.56, p.46-51, 2004.  
581

582 Courot, M.; Hochereau-De Reviers, M.T.; Ortavant, R.. Spermatogenesis. In: Johnson, A.D.;  
583 Gomes, W.R.; VanDemark, N.L. (eds). *The testis. New York: Academic Press.*, v.1, cap.6, p.339-  
584 432, 1970.  
585

586 Dias, W. Ecotextura testicular e suas correlações com a espermatogênese de touros Nelore.2015.  
587 31p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootenia  
588 /UFMS Campo Grande, MS, 2015.  
589

590 Fawcett, D.W.; Neaves, W.B.; Flores, M.N. Comparative observations on intertubular lymphatic  
591 and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biol. Reprod.*, v.9, p.500-532,  
592 1973.  
593

594 França, L.R.; Godinho, C.L. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length, and daily  
595 sperm production in domestic cats (*Felis catus*). *Biol. Reprod.*, v. 68, p.1554-1561, 2003.  
596

597 França, L.R.; Russell, L.D. The testis of domestic animals. In: Regadera, J.; Martinez-Garcia, F.  
598 (Eds). *Male reproduction. A multidisciplinary overview.* Churchill Livingstone, Madrid. p.197-219,  
599 1998.  
600

601 Folhadella, I.M.; Sá, W.F.; Ferreira, A.M. ; Camargo, L.S.A. ; Viana, J.H.M; Ramos, A.A. ; Silva,  
602 M.V.G.B. Características andrológicas de touros da raça Gir. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58,  
603 n.5, p.809-815, 2006.  
604  
605 IBGE, 2015. Produção da pecuária municipal 2015. Rio de Janeiro, v.43, p.13-16. Instituto  
606 Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Acesso em 28/06/2017. Disponível em:  
607 <http://loja.ibge.gov.br/producao-da-pecuaria-municipal-2015.html>  
608  
609 Johnson, L.; Petty, C.S.; Neaves, W.B. A new approach to quantification of spermatogenesis and its  
610 application to germinal cell attrition during human spermiogenesis. *Biol. Reprod.*, v. 25, p.217-226,  
611 1981.  
612  
613 Leblond, C. P.; Clermont, Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in  
614 the rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v.55, n.4, p.548-573, 1952.  
615  
616 Martin-du Pan, R.C.; Campana, A. Physiopathology of spermatogenic arrest. *Fertility and Sterility*,  
617 v.60, n.6, p.937-946, 1993.  
618  
619 Mascarenhas, R.M.; Paula, T.A.R.; Carretta Jr, M.; Ribeiro, E.C.S.; Borboleta, L.R.; Matta, S.L.P.  
620 Efeitos da biópsia incisional testicular sobre o rendimento intrínseco da espermatogênese e índices  
621 de células de Sertoli em cães. *Revista Ceres*, v.53, p.100-105, 2006.  
622  
623 Moura, A.A.; Erickson, B.H. Respostas hormonais ao tratamento com GnRH e estradiol e suas  
624 correlações com desenvolvimento testicular e número de células de Sertoli em touros Angus x  
625 Charolês na fase de pré-puberdade. *Rev. Bras. Zootec.*, v.28, n.2, p.35-43, 1999.  
626  
627 Ortavant, R.; Courot, M.; Hochereau- De Reviere, M.T. Spermatogenesis in domestic mammals. In:  
628 Cole, H. H., Cupps, P.T. (Eds). *Reprod. Dom. Anim. Academic Press*, New York. p.203-227, 1977.  
629  
630 Rasband, W. National Institute of Health, USA. Software. Disponível em: <http://rsb.info.nih.gov/ij/>.  
631 Acesso em 20/03/2005.  
632  
633 Russell, L.D; Ettl, R.; Sinha Hikim, A.; Clegg, E. Histological and Histopathological Evaluation  
634 of the Testis. Cache River Press, Clearwater, Fl. 1990.  
635  
636 Russell, L.D; França, L.R. Building a testis. *Tissue & Cell*, v.27, p. 129-147, 1995.  
637  
638 Santiago, A. A. *O Nelore*. São Paulo: Ed. dos Criadores, 583p, 1983.  
639  
640 Santos, R.. *O zebu* – Edição comemorativa dos 60 anos do registro genealógico, ABCZ –  
641 Associação Brasileira dos Criadores de Zebu, 856p, 1998.  
642  
643 Santos, R.L.; Silva, C.M.; Ribeiro, A.F.C.; Vasconcelos, A.C.; Pesquero, J.L.; Coelho, S.G.;  
644 Serakides, R.; Reis, S.R.. Effect of growth hormone and induced IGF-I release on germ cell  
645 population and apoptosis in the bovine testis. *Theriogenology*, v 51, p. 957-984, 1999.  
646  
647 Setchell, B.P. Spermatogenesis and spermatozoa. In: Austin, C.R.; Short, R.V. (eds). *Reproduction*  
648 *in mammaliam*. London: *Elek.*, v.1 cap.4, p.63-101, 1982.  
649

650 Sharpe, R.M. Regulation of espermatogenesis. In: Knobil, E.; Neill, J.D. (Eds.). *The phisiology of*  
651 *reproduction*. 2.ed. New York: Raven Press, v.1, p.1364-1434, 1994.  
652  
653 Swierstra, E.E. Structural composition of Shorthorn bull testes and daily spermatozoa production as  
654 determined by quantitative testicular histology. *Can. J. Anim. Sci.*, v.46, p.107-119, 1966.  
655  
656  
657  
658  
659  
660  
661  
662  
663  
664  
665  
666  
667  
  
668  
  
669