

CARACTERIZAÇÃO DAS DIFERENTES FASES DO DESENVOLVIMENTO TESTICULAR EM JAVALIS (*Sus scrofa scrofa*)

MURTA, D.V.F.¹; COSTA, D.S.^{2*}; RODRIGUES, W.B.³

Resumo

Objetivou-se com esta pesquisa caracterizar as diferentes fases do desenvolvimento testicular em javalis do nascimento aos 12 meses de idade, com base na proliferação das células do epitélio seminífero. Utilizaram-se 39 animais criados em cativeiro, regulamentado pelo IBAMA, e que foram divididos em 13 grupos experimentais. Ao atingirem a idade programada os animais foram sedados e em seguida realizou-se a orquiectomia unilateral. Os testículos foram separados dos respectivos epidídimos e em seguida perfundidos com solução fixadora. Foram retirados fragmentos dos testículos e incluídos em resina plástica e as lâminas foram preparadas para as análises histométricas. Avaliou-se em cada faixa etária, a população dos tipos celulares do epitélio seminífero e as fases do desenvolvimento testicular de cada animal. A população celular dos gonócitos foi máxima ao nascimento e não sendo mais observado aos quatro meses. Aos três meses foram identificadas as primeiras espermatogônias e aos oito meses os espermátocitos primários em pré-leptóteno/leptóteno. Aos nove meses foram observados no epitélio os espermátocitos primários em paquíteno e as espermátides arredondadas, juntamente a presença de espermatozóides no lume tubular. Próximo aos 12 meses as populações celulares do epitélio seminífero tenderam-se à estabilização. Conclui-se que os animais do nascimento aos dois meses encontravam-se na fase impúbere; de três a oito meses na fase pré-púbere; aos nove meses na fase púbere; de dez a doze meses na fase pós-púbere; e que aos 12 meses de idade a morfologia do processo espermatogênico de javalis foi semelhante ao relatado para animais sexualmente maduros.

Palavras-chave: espermatogênese; javali; túbulos seminíferos.

Introdução

O javali é um suíno selvagem que se distribuiu originalmente pela Eurásia, parte do continente africano e nas ilhas continentais da Europa e Filipinas. O local preciso de entrada do javali na América do Sul não é bem conhecido. No entanto, foram verificados em regiões da Argentina e em seguida no sul do Chile, Brasil e também Uruguai. No Brasil, as criações tiveram início em meados da década de 1980, no Rio Grande do Sul e posteriormente houve grande aceitação da carne pelo mercado consumidor, a produção se intensificou espalhando-se, então para o resto do país (CILUZZO et al., 2001).

1 Mestrando em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Bolsista FUNDECT.
2 Prof. Adjunto Laboratório de Reprodução Assistida UFMS. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Caixa postal 549 Campo Grande, MS CEP 79070-900 deiler@nin.ufms.br
3 Médico Veterinário Autônomo, Campo Grande, MS

Estes animais são pertencentes à família *Suidae*, ao gêneros *Sus* e espécie *Sus scrofa*, que é composta pelos javalis europeus (*S. scrofa scrofa*) e os suínos domésticos (*S. scrofa domestica*). O suíno doméstico possui $2n = 38$ cromossomos, independente da origem e raça, enquanto o javali europeu apresenta $2n = 36$ cromossomos (DARRE et al., 1992). Este número menor no javali decorre do rearranjo cromossômico dos pares 15 e 17 presentes nos suínos. O fato dos javalis europeus pertencerem à mesma espécie do suíno doméstico, a partir do cruzamento destas subespécies pode-se resultar em híbridos com fertilidade normal (CILUZZO et al., 2001).

Embora o potencial comercial do javali venha sendo explorado amplamente nos últimos anos, estudos envolvendo sua biologia reprodutiva ainda são escassos. Objetivou-se com esta pesquisa avaliar a população celular do epitélio seminífero em javalis do nascimento aos 12 meses de idade, caracterizando-se as fases impúbere, pré-púbere, púbere, pós-púbere e maturidade sexual.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 39 javalis machos provenientes de um criatório comercial devidamente regulamentado pelo IBAMA (Licença 02022.008582/2004-81). Foram constituídos, a cada mês, grupos etários desde o nascimento até aos 12 meses de idade, totalizando 13 grupos experimentais. Ao atingirem a idade programada, os javalis foram devidamente sedados com 1,0 mL / 20 kg IM de Suicalm[®] (Azaperone) associado a 10,0 mg IM de Diazepan[®] (Diazepan) e submetidos a orquidectomia unilateral conforme técnica de rotina.

Imediatamente após a cirurgia os testículos foram separados dos respectivos epidídimos. A artéria testicular foi canulada para perfusão tecidual com solução fixadora de glutaraldeído a 4% em tampão fosfato 0,05 M, pH 7,2. Fragmentos testiculares devidamente fixados foram desidratados e incluídos em solução de glicol metacrilato. Foram realizados cortes de quatro micrômetros de espessura, utilizando-se micrótomo dotado de navalha de vidro. Os cortes foram corados com solução de azul de toluidina - borato de sódio a 1% e as lâminas montadas com Entellan[®] (Merk) conforme descrito por Costa et al. (2004).

A população de cada tipo celular do epitélio seminífero foi estimada a partir da contagem de pelo menos 10 seções transversais de cordões testiculares ou túbulos seminíferos (no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero), apresentando contorno mais circular possível. Os seguintes tipos celulares foram contados: Gonócitos (G); Espermatogônias (SPG); Espermatócitos primários em pré-leptóteno e leptóteno (PL/L); Espermatócitos primários em paquíteno (PQ); Espermatídes arredondadas (Ar); e Células de suporte (CS - células indiferenciadas de suporte e células de Sertoli). A contagem obtida foi corrigida utilizando-se a fórmula de Abercrombie (1946).

As fases impúbere, pré-púbere, púbere, pós-púbere e maturidade sexual foram determinadas a partir do padrão de proliferação celular do epitélio seminífero, conforme Courrot et al. (1970) e França et al. (1988).

Resultados e Discussões

Os resultados do número de células germinativas e células de suporte por secção transversal de cordões testiculares ou túbulos seminíferos de javalis do nascimento aos 12 meses de idade encontram-se apresentados na tabela 1.

O padrão de proliferação das células do epitélio seminífero auxilia na classificação dos animais quanto as seguintes fases de desenvolvimento da espermatogênese: impúbere, pré-púbere, púbere, pós-púbere e maturidade sexual (COURROT et al., 1970).

Ao nascimento, a população corrigida de gonócitos por secção transversal dos cordões testiculares apresentou valor máximo e reduziu nas idades seguintes. No primeiro mês de vida, este decréscimo foi de aproximadamente 43%, sendo pouco inferior ao verificado em suínos domésticos (THOMAS e RAJA, 1980).

Tabela 1. População dos diferentes tipos celulares do epitélio seminífero de javalis de zero a 12 meses de idade*

Idade (meses)	n	G	SPG	PL/L	PQ	Ar	CS
0	2	2,32 ± 0,56	-	-	-	-	16,63 ± 4,12
1	3	1,31 ± 0,38	-	-	-	-	15,72 ± 4,39
2	3	1,02 ± 0,45	-	-	-	-	17,29 ± 3,89
3	3	0,92 ± 0,21	1,17 ± 0,41	-	-	-	15,10 ± 3,78
4	3	-	1,61 ± 0,65	-	-	-	13,34 ± 4,29
5	3	-	2,28 ± 0,97	-	-	-	16,63 ± 7,04
6	3	-	1,49 ± 0,42	-	-	-	14,07 ± 6,51
7	3	-	2,77 ± 0,31	-	-	-	18,35 ± 4,88
8	3	-	2,49 ± 0,65	0,33 ± 0,57	-	-	11,55 ± 4,08
9	3	-	2,19 ± 0,48	8,89 ± 1,23	10,71 ± 2,68	31,99 ± 6,11	9,55 ± 3,22
10	3	-	1,88 ± 0,55	10,31 ± 3,24	11,91 ± 4,12	36,22 ± 6,06	8,91 ± 5,10
11	3	-	2,24 ± 0,51	14,89 ± 4,56	13,66 ± 3,66	41,89 ± 8,89	11,61 ± 4,25
12	4	-	1,58 ± 0,36	15,33 ± 3,78	17,01 ± 3,25	47,52 ± 7,21	8,52 ± 4,86

G = gonócitos; SPG = espermatogônias; PL/L = espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero (CES); PQ = espermatócitos primários em paquíteno no estágio 1 do CES; Ar = espermatídes arredondadas no estágio 1 do CES; CS = células de suporte.

* valores corrigidos segundo Amann (1962)

Aos quatro meses, não foram mais observados gonócitos nos cordões testiculares de javalis, assemelhando-se ao relatado, para idade de três meses, em porcos da raça Piau (FRANÇA et al., 1988). Esta redução de células primordiais deveu-se, provavelmente às degenerações e divisões mitóticas responsáveis pela origem das espermatogônias (THOMAS e RAJA, 1980).

Segundo Courrot et al. (1970) a fase do desenvolvimento testicular denominada impúbere é caracterizada, em geral, do nascimento ao início da espermatogênese, sendo que o período necessário para este evento é variável entre as espécies. Nesta fase os cordões testiculares contêm somente os gonócitos como exemplar de célula germinativa, além das células indiferenciadas de suporte (FRANÇA et al., 1988). Em javalis esta fase se estendeu até o segundo mês de idade, sendo um pouco mais longa que em suínos domésticos (FRANÇA et al., 1988).

Em sincronia com a redução do número de gonócitos, aos três meses ocorreu o surgimento das primeiras espermatogônias no epitélio dos cordões testiculares, iniciando o processo espermatogênico, caracterizando o período pré-púbere. Os fenômenos referentes ao início da atividade espermatogênica ocorreram em idade mais precoce em suínos domésticos, assim como o aumento da população de espermatogônias nos primeiros meses após sua observação no epitélio seminífero (FRANÇA et al., 1988). O crescimento populacional de espermatogônias foi contínuo até os sete meses, ainda na fase pré-púbere, seguido de uma redução até os 12 meses, com tendência à estabilização. No entanto, esta estabilização em suínos domésticos (FRANÇA et al., 1988) ocorreu mais precocemente do que nos javalis do presente estudo, o que provavelmente indica que, nesta espécie, o estoque basal deste tipo celular mantém-se crescente até próximo a puberdade.

Aos oito meses foram identificados, em pequena quantidade, os primeiros espermatócitos primários em pré-leptóteno e leptóteno e entre oito e nove meses houve um aumento acentuado da população destas células. Os espermatócitos primários em paquíteno e as espermátides arredondadas surgiram pela primeira vez aos nove meses e apresentaram crescimento gradual. Ao final da fase pré-púbere, no epitélio seminífero coexistiam espermatogônias, espermatócitos primários, espermátides arredondadas e alongadas, apresentando-se intensa proliferação celular semelhante ao descrito em outros mamíferos. Ainda nesta fase, verificou-se o aumento das células indiferenciadas de suporte devido a divisões mitóticas, conforme descrito por outros autores (FRANÇA et al., 1988). Antes da puberdade, aos sete meses, as células de suporte imaturas não mais se dividiam e apresentaram população máxima, em seguida se diferenciaram em células de Sertoli adultas. Este fenômeno coincide com o surgimento de espermatócitos primários e a luminação dos cordões testiculares, fundamentais para a formação da barreira hematotesticular (COUROT et al., 1970).

A fase púbere em javalis foi descrita aos nove meses de idade, quando foram identificados os primeiros espermatozóides no lume tubular, conforme descrito por Courot et al. (1970). As células germinativas presentes no epitélio foram semelhantes à fase anterior e apresentaram proliferação celular mais intensa, semelhante ao descrito em outros mamíferos (FRANÇA et al., 1988). No entanto, estes fenômenos observados nesta fase, em javalis, foram mais tardios que em suínos domésticos (FRANÇA et al., 1988).

Tanto os espermatócitos primários (pré-leptóteno/leptóteno e paquíteno) quanto as espermátides arredondadas apresentaram crescimento gradual após puberdade, semelhante ao descrito na fase pós-púbere em suínos domésticos (FRANÇA et al., 1988). Nesta fase verificou-se aumento da população celular nos túbulos seminíferos, sem o surgimento de novos tipos celulares, conforme relatado em outros mamíferos (COUROT et al, 1970; FRANÇA et al., 1988).

O número total de células da linhagem espermatogênica por secção transversal do cordão ou túbulo seminífero apresentou-se baixa até final da fase pré-púbere, semelhante ao descrito em suínos Piau (FRANÇA et al., 1988). Com o desenvolvimento da puberdade, aos nove meses, ocorreu um crescimento acelerado das células espermatogênicas, devido principalmente à proliferação de espermatócitos primários e espermátides arredondadas. Este crescimento foi

semelhante ao observado em suínos das raças domésticos (FRANÇA et al., 1988).

Após a puberdade as populações das células presentes nos túbulos seminíferos sofreram variações características da fase pós-púbere, tendendo à estabilização próxima aos 12 meses, como indício de maturidade sexual, apresentando valores populacionais próximos aos descritos por Costa e Silva (2006), em indivíduos adultos, porém inferior aos encontrados em porcos Piau (FRANÇA et al., 1988).

Conclusões

Conclui-se que os animais avaliados do nascimento aos dois meses encontravam-se na fase impúbere, de três a oito meses na fase pré-púbere, aos nove meses na fase púbere, de dez a doze meses na fase pós-púbere; e que aos 12 meses de idade a morfologia o processo espermatogênico de javalis foi semelhante ao relatado para animais sexualmente maduros.

Referências

- ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear populations from microtome sections. *Anat. Rec.*, v.94, p.238-248, 1946.
- CILUZZO, J.N., VIEITES, C.M., BASSO, C.P., BARTOLONI, N. Jabalies cruza en Argentina: crecimiento, conversion alimentícia y reses. *In. Vet* v.3, n.1-2, p. 49-53, 2001.
- COSTA, D.S., HENRY, M., PAULA, T.A.R. Espermatogênese de Catetos (*Tayassu tajacu*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.56, n.1, p.46-51, 2004.
- COSTA, D.S., SILVA, J.F.S. Wild boar (*Sus scrofa scrofa*) seminiferous tubules morphology. *Braz. Arch. Biol. Technol.* v.49, p.739-745, 2006.
- COUROT, M.; HOCHEREAU-de RIVIERS, M.T.; ORTAVANT, R. Spermatogenesis. In: JOHNSON, A.D.; GOMES W.R.; VANDEMARK, N.L. (Ed.). *The testis*. New York and London: Academic Press. 1970, v.1, p.339-432.
- DARRE, R., BERLANDH, M. GOUSTAT, A. Statut chromosomique des populations de sangliers sauvages et d'élevages en France. *Rev. Med. Vet* v. 143, p. 225-232, 1992.
- FRANÇA, L.R.; CASTRO, A.C.S.; CARDOSO, F.M.. Desenvolvimento testicular de suínos Piau. IV. População celular dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese. *Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.*, v.40, n.5, p.339-353, 1988.
- FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L.D., The testis of domestic animals. In: REGADERA, J.; MARTINEZ- GARCIA, F. (Ed.). *Male reproduction. A multidisciplinary overview* Madrid: Churchill Livingstone. 1998, p.197-219.
- THOMAS, U.P.; RAJA, C.K.S.V. Histological changes of testis during postnatal maturity in pigs. *J. Vet. Sci.* v.2, p.296-310, 1980.