

RENDIMENTO INTRÍNSECO DA ESPERMATOGÊNESE DURANTE O PERÍODO PÚBERE E PÓS-PÚBERE EM JAVALIS (*Sus scrofa scrofa*)

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

Resumo

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar o rendimento intrínseco da espermatogênese em javalis da puberdade aos 12 meses de idade. Utilizaram-se 13 animais criados em cativeiro, regulamentado pelo IBAMA, e que foram divididos em quatro grupos experimentais. Ao atingirem a idade programada os animais foram devidamente sedados e realizou-se a orquidectomia unilateral. Os testículos foram separados dos respectivos epidídimos e em seguida perfundidos com solução fixadora. Posteriormente fragmentos testiculares foram coletados e incluídos em resina plástica e as lâminas foram preparadas para as análises histométricas. Foram avaliadas as populações celulares do epitélio seminífero e o rendimento intrínseco da espermatogênese foi avaliado em cada faixa etária. O coeficiente de eficiência das mitoses espermatogoniais foi crescente após a puberdade até os 12 meses. O índice de eficiência de prófase meiótica apresentou a proporção em torno de 1:1. O rendimento meiótico apresentou um aumento gradual após entre nove e 11 meses, reduzindo em seguida até os 12 meses. O rendimento geral da espermatogênese demonstrou-se crescente após a puberdade. Conclui-se que os valores de rendimento geral da espermatogênese foram crescentes desde a puberdade até os 12 meses de idade e que javalis com um ano de idade apresentavam rendimento da espermatogênese semelhante a animais sexualmente maduros.

Palavras-chave: espermatogênese; javali; túbulos seminíferos.

Introdução

A criação de animais selvagens, como javali, cateto e queixada, para fins comerciais é uma atividade com grande potencial econômico no Brasil, pois a carne destes animais possui mercado certo em restaurantes e grandes redes de supermercados em todo país. Além de ser uma exploração muito rentável, esta atividade pode inibir a venda ilegal da carne, pele e outros produtos que abastecem os mercados das cidades (COSTA e SILVA, 2006). Apesar da demanda crescente e do potencial produtivo destas espécies, poucos estudos têm sido encontrados na literatura sobre os fundamentos básicos da fisiologia reprodutiva e manejo destes animais. Sabe-se que tanto em programas de preservação, quanto de aprimoramento zootécnico de qualquer espécie ou raça, são necessários os conhecimentos básicos dos aspectos reprodutivos.

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

O conhecimento das diversas etapas de desenvolvimento testicular, especialmente aquelas associadas ao período entre a puberdade e maturidade sexual são fundamentais para ajudar a entender a fisiologia dos testículos e determinar em que idade os reprodutores devem ser colocados em serviço.

Apesar do processo espermatogênico de javalis sexualmente maduros ter sido descrito por Costa e Silva (2006), nenhum artigo foi encontrado avaliando o processo espermatogênico durante o período puberal e pós-puberal nesta espécie, fato que motivou a realização desta pesquisa que teve como objetivo avaliar o rendimento intrínseco da espermatogênese em javalis de nove aos 12 meses de idade.

Materiais e Métodos

Utilizaram-se 13 javalis machos provenientes de um criatório comercial regulamentado pelo IBAMA (Licença 02022.008582/2004-81). Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, referentes às idades de nove a 12 meses. 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.

Após a cirurgia os testículos foram separados dos respectivos epidídimos. A artéria testicular foi canulada para perfusão tecidual com solução salina a 0,9%, contendo 5.000 UI de heparina (Liquemine[®]) por litro, por 15 minutos em temperatura ambiente. Em seguida os testículos foram novamente perfundidos com solução fixadora de glutaraldeído a 4% em tampão fosfato 0,05 M, pH 7,2, durante pelo menos 20 minutos. Para manutenção da pressão de perfusão de aproximadamente 80 mmHg, os frascos contendo as soluções que foram perfundidas foram mantidos a uma altura de 120 cm acima do testículo (COSTA e SILVA, 2006).

Fragmentos do parênquima testicular com dimensões de aproximadamente 8,0 x 5,0 x 3,0 mm, foram colhidos e em seguida, novamente fixados por imersão em nova solução de glutaraldeído a 4% em tampão fosfato, por no mínimo mais duas horas, quando então foram mantidos sob refrigeração a 4°C por no máximo cinco dias. As amostras foram desidratadas e incluídas em solução de glicol metacrilato conforme Costa et al. (2004). 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) segundo técnica de rotina.

A população de cada tipo celular do epitélio seminífero foi estimada a partir da contagem de pelo menos 10 secções transversais de túbulos seminíferos no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero. Os seguintes tipos celulares foram contados: espermatogônias do tipo A (A); espermatócitos primários em pré-leptóteno e leptóteno (PL/L); espermatócitos primários em paquíteno (PQ); espermátides arredondadas (Ar); e células de Sertoli (CS). A contagem obtida foi corrigida utilizando-se a fórmula de Abercrombie (1946), conforme Costa et al. (2004).

O rendimento intrínseco da espermatogênese foi determinado baseando-se nas razões encontradas entre os números celulares corrigidos, obtidos no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero (CES) em animais após a puberdade. As seguintes razões foram calculadas: coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais (PL/L:A), a ocorrência de perdas celulares durante a prófase meiótica (PQ:PL/L), rendimento meiótico (Ar:PQ) e rendimento geral da espermatogênese (Ar:A).

A idade em os animais atingiram a puberdade foi previamente avaliada em outro experimento da nossa equipe em que se observou que aos nove meses de idade os javalis apresentaram o primeiro espermatozóide no lume tubular (MURTA et al., 2007).

Resultados e Discussões

O rendimento intrínseco da espermatogênese (tabela 1) é um indicativo importante da capacidade de produção espermática e pode servir como parâmetro na determinação da idade ideal para entrada de reprodutores em serviço, pois durante a maturidade sexual o rendimento geral da espermatogênese permanece constante (FRANÇA et al., 1988).

Tabela 1. Rendimento intrínseco da espermatogênese de javalis de nove a 12 meses de idade.

Idade (meses)	N	PL/L : A	PQ : PL/L	Ar : PQ	Ar : A
9	3	4,06	1,20	2,99	14,61
10	3	5,48	1,15	3,04	19,27
11	3	6,65	0,91	3,07	18,70
12	4	9,70	1,11	2,79	30,08

A = espermatogônias do tipo A; PL/L = espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno; PQ = espermatócitos primários em paquíteno, Ar = espermátides arredondadas no estágio 1 do CES.

Durante o desenvolvimento das células germinativas ocorrem perdas celulares devido ao mecanismo de apoptose, sendo que tais perdas são mais pronunciadas durante a fase de divisões mitóticas, influenciando diretamente na eficiência da espermatogênese (FRANÇA e RUSSELL, 1998). A apoptose é fenômeno fundamental durante o desenvolvimento normal e homeostase em organismos multicelulares. Este fenômeno fisiológico presente no parênquima testicular é responsável pelo controle da maturação de células defeituosas, que poderiam sofrer espermição e também é considerado um mecanismo limitante do número de células germinativas capaz de serem suportadas pelas células de Sertoli. Portanto, o equilíbrio entre a proliferação e a apoptose desempenha um papel muito importante na regulação populacional do epitélio seminífero (SHARPE, 1994).

O coeficiente de eficiência das mitoses espermatogoniais foi crescente a partir dos nove aos 12 meses, semelhante ao observado em suínos Piau (FRANÇA et al., 1988). Aos 12 meses, este índice atingiu valor semelhante ao observado em javalis sexualmente maduros (9,3 - COSTA e SILVA 2006), porém inferior a suínos domésticos (24,8 - FRANÇA et al., 1988), confirmando ser uma

das espécies com menores coeficientes encontrados na literatura (FRANÇA e RUSSELL, 1998). Este coeficiente indica a quantidade de espermatócitos primários formados a partir de cada espermatogônia do tipo A e está diretamente associada ao número de gerações de espermatogônias da espécie estudada. Considerando que javalis possuem seis gerações espermatogoniais, como observado na maioria dos mamíferos, espera-se uma espermatogônia do tipo A₁ dê origem a 64 espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno (PL/L). O presente estudo mostrou que aos 12 meses as perdas celulares foram de aproximadamente 85%, ou seja, uma espermatogônia A ao invés de 64, produziu apenas 9,7 PL/L. Apesar de parecer um elevado percentual de perdas, este índice foi semelhante ao percentual de perdas relatado para a maioria dos animais já estudados até o momento, que varia de 60% a 80% durante esta fase (FRANÇA e RUSSELL, 1998).

A razão entre espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, e espermatócitos primários em paquíteno é representada pelo índice de eficiência de prófase meiótica. Esta proporção deveria ser de 1:1, indicando que a cada espermatócito primário em pré-leptóteno/leptóteno deveria gerar um espermatócito primário em paquíteno (COUROT et al., 1970). Os índices observados neste estudo, em todas as faixas etárias, corroboram com este valor teoricamente esperado e assemelharam-se ao descrito em javalis sexualmente maduros (COSTA e SILVA, 2006) e em porcos Piau (FRANÇA et al., 1988).

O rendimento meiótico indica a quantidade de espermátides arredondadas geradas a partir de um espermatócito primário. Teoricamente, caso a eficiência da espermatogênese fosse de 100%, cada espermatócito primário deveria dar origem a quatro espermátides arredondadas, porém mesmo que as perdas celulares sejam pequenas na prófase meiótica, raramente esta razão teórica é observada na prática (COUROT et al., 1970). Neste estudo, verificou-se um aumento gradual deste índice após a puberdade até os 11 meses, reduzindo entre 11 e 12 meses, devido ao crescimento mais intenso da população das espermátides arredondadas em relação a de espermatócitos primários em paquíteno. O valor observado aos 12 meses aproximou-se do descrito por Costa e Silva (2006), trabalhando com javalis adultos e ao encontrado para a maioria das raças de suínos domésticos (FRANÇA e RUSSELL, 1998), indicando que os prováveis mecanismos de regulação desta fase da espermatogênese foram preservados nesta subespécie.

O rendimento geral da espermatogênese revelou-se crescente após a puberdade, semelhante ao observado em suínos domésticos (FRANÇA et al., 1988). Aos 12 meses de idade notou-se que cada espermatogônia do tipo A produziu apenas 30,08 espermátides arredondadas, contrastando o número de 256 espermátides, caso não existissem perdas durante o processo normal de espermatogênese. Este índice foi semelhante ao encontrado em javalis adultos (COSTA e SILVA, 2006) e inferior ao descrito para suínos domésticos (FRANÇA e RUSSELL, 1998).

Conclusões

Conclui-se que o rendimento geral da espermatogênese foi crescente desde a puberdade até os 12 meses de idade e que estes valores foram semelhantes ao relatado para animais sexualmente maduros.

Referências

- ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear populations from microtome sections. *Anat. Rec.*, v.94, p.238-248, 1946.
- 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 morphometry. *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.
- 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.
- KUMI-DIAKA, J.; OSORI, D. I. K.; NJOKU, C. O.; OGWU, D. Quantitative estimation of spermatogenesis in bulls (*Bos indicus*) in a tropical environment of Nigeria. *Vet. Res. Commum.*, v.6, n.3, p.215-222, 1983.
- MURTA, D.V.F. ; COSTA, D.S. ; CASTELÃO, A.B.C. ; TAFFAREL, B.A.M. . Luminação dos túbulos seminíferos do testículo de javalis (*Sus scrofa scrofa*) criados em cativeiro. In: IV Simpósio Brasileiro Sobre Animais Silvestres e Selvagens, 2007, Viçosa. Anais do IV Simpósio Brasileiro Sobre Animais Silvestres e Selvagens, 2007
- RUSSELL, L. D.; PETERSON, R. N. Determination of the elongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals. *J. Reprod. Fertil.*, v.70, p.635-641, 1984.
- SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In. KNOBIL, E.; NEIL, J.D. (Ed.) *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press, 1994. p.1363-1434.