

MARCELO EMÍLIO BELETTI



INFLUÊNCIA DA ELEVAÇÃO DA TEMPERATURA
TESTICULAR SOBRE O COMPLEXO DNA-PROTEÍNA E
OUTRAS CARACTERÍSTICAS DE ESPERMATOZÓIDES
DE COELHO (*Oryctolagus cuniculus*)

da tese defendida pelo(a) candidato(a)
Marcelo Emílio Beletti
e aprovada pela Comissão Julgadora.

02/03/98

Campinas
1998

411i

4788/BC

MARCELO EMÍLIO BELETTI

INFLUÊNCIA DA ELEVAÇÃO DA TEMPERATURA
TESTICULAR SOBRE O COMPLEXO DNA-PROTEÍNA E
OUTRAS CARACTERÍSTICAS DE ESPERMATOZÓIDES
DE COELHO (*Oryctolagus cuniculus*)

Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do título de Doutor em
Ciências, área de Biologia Celular.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Luiza Silveira Mello

Campinas
1998



BC
UNIVERSIDADE:
UNICAMP
112
34788
395198
11,00
12/08/98

-00115424-7

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

Beletti, Marcelo Emílio

B3971 Influência da elevação da temperatura testicular sobre o complexo
DNA-proteína e outras características de espermatozóides de coelho
(*Oryctolagus cuniculus*) / Marcelo Emílio Beletti. -- Campinas, SP:
[s.n.], 1998.
126f.: ilus.

Orientadora: Maria Luiza Silveira Mello

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas,
Instituto de Biologia.

1. Espermatozóide. 2. Coelho. 3. Proteína. I. Mello, Maria Luiza
Silveira. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia.
III. Título.

LOCAL E DATA: Campinas, 02 de março de 1998

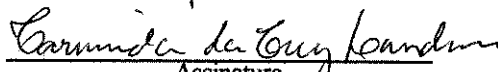
BANCA EXAMINADORA:

TITULARES:

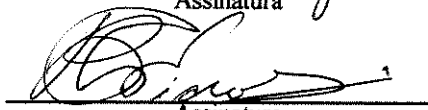
Profa. Dra. Maria Luiza Silveira Mello


Assinatura

Profa. Dra. Carminda da Cruz Landim


Assinatura

Prof. Dr. Benedicto de Campos Vidal


Assinatura

Prof. Dr. Marcos Silva


Assinatura

Prof. Dr. Humberto Eustáquio Coelho


Assinatura

SUPLENTE:

Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos


Assinatura

Prof. Dr. Áureo T. Yamada

Assinatura

Dedico

à minha esposa Valkíria e
aos meus filhos Renata e Fernando

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra Maria Luiza Silveira Mello, pela oportunidade, pela confiança demonstrada durante o desenvolvimento deste trabalho e pela orientação e compreensão com que agraciou à minha pessoa.

Ao Prof. Dr. Marcos Silva, ao Prof. Dr. Benedicto de Campos Vidal, à Profa. Dra Carmina da Cruz-Landim, ao Prof. Dr. Áureo T. Yamada e ao Prof. Dr. Humberto Eustáquio Coelho pela cuidadosa leitura deste trabalho e pelas valiosas sugestões que levaram ao aprimoramento do mesmo.

Aos colegas, funcionários e professores do Departamento de Biologia Celular-UNICAMP, pela colaboração e agradável convívio com os quais me distinguiram.

Ao técnico e amigo Hégio Heinisch Werneck pela colaboração na preparação do material para Microscopia Eletrônica e pelo convívio agradável.

À Fundação Pinhalense de Ensino, onde tudo se iniciou e sempre tive total apoio.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1- Introdução.....	1
2- Objetivos.....	15
3- Material e métodos.....	16
4- Resultados.....	25
5- Discussão.....	60
6- Conclusões.....	68
7- Abstract.....	70
8- Resumo.....	71
9- Referências Bibliográficas.....	73
10- Anexo I.....	88

1-INTRODUÇÃO

A espermatogênese nos mamíferos é o processo através do qual as espermatogônias originam os espermatozóides. Ocorre no interior dos túbulos seminíferos, responsáveis pela produção de gametas, e do ducto epididimário, que colabora no processo de maturação dos espermatozóides. A espermatogênese constitui-se numa seqüência de eventos que envolvem uma série de modificações nucleares e citoplasmáticas, resultando em células haplóides altamente móveis e adaptadas para sobreviver por longos períodos fora do corpo (PLOEN, 1971; NISHIMUNE et al., 1978; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992; RUSSEL & GRISWOLD, 1993).

A espermatogênese pode ser dividida em três fases: 1) **proliferativa, de multiplicação ou mitótica**, 2) **meiótica ou espermatocitogênica**, e 3) **metamórfica, de diferenciação ou espermiogênica**. Nem todos os túbulos seminíferos estão no mesmo período de atividade, bem como nem todas as regiões do mesmo túbulo apresentam células com o mesmo grau de diferenciação. Embora existam diferenças entre as espécies, descreve-se que o processo espermatogênico ocorre em ondas helicoidais que progridem pelos túbulos seminíferos, rumo aos túbulos retos (RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992; RUSSEL & GRISWOLD, 1993).

Fase proliferativa, de multiplicação ou mitótica

Esta fase se caracteriza pelo aumento do número de espermatogônias, através de divisões mitóticas sucessivas deste tipo celular, o que faz com que numerosas espermatogônias oriundas destas divisões sofram modificações que resultem em espermatozóides derivados todos de uma única célula. As espermatogônias são encontradas nos túbulos seminíferos próximas à membrana basal, seja isoladamente ou em grupos, e normalmente não formam uma camada basal completa, sendo sua identificação às vezes difícil. Nem todas as espermatogônias se diferenciam ao mesmo tempo, algumas ficando retidas na forma de células fonte para uma diferenciação futura (NISHIMUNE et al., 1978; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992).

Na realidade, as espermatogônias representam muitas gerações de células. Estas incluem as células fonte ou A, as células intermediárias e as células B, que entrarão em divisão meiótica. Estes tipos celulares podem ser divididos em subtipos e mesmo ter outras denominações, de acordo com a espécie e os diversos autores (NISHIMUNE et al., 1978; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992).

A citocinese incompleta é uma característica do processo mitótico que resulta na espermatogônia B e a verdadeira célula fonte mantém-se isolada. (PLOEN, 1971; NISHIMUNE et al., 1978; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992; RUSSEL & GRISWOLD, 1993).

Fase meiótica ou espermatocitogênica

As espermatogônias B dividem-se para formar uma célula que quase imediatamente entra em meiose, transformando-se no denominado espermatócito primário. Estas células têm uma existência longa, tendo em geral fácil identificação. Embora por curto espaço de tempo apresentem um núcleo contendo uma fina trama de cromatina, os espermatócitos primários geralmente são observados na primeira divisão da meiose. Eles também têm uma longa prófase pré-meiótica (NISHIMUNE et al., 1978; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992).

O final da primeira divisão meiótica marca a formação dos espermatócitos secundários. Estas células são haplóides, menores que os espermatócitos primários e difíceis de encontrar, uma vez que elas entram na segunda divisão meiótica quase que imediatamente, originando as espermátides. O período de vida do espermatócito secundário geralmente varia de alguns minutos a uma hora (NISHIMUNE et al., 1978; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992).. Assim como na fase mitótica, nesta fase a citocinese é incompleta e as células permanecem unidas por numerosas pontes citoplasmáticas (PLOEN, 1971; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992; RUSSEL & GRISWOLD, 1993).

Fase metamórfica, de diferenciação ou espermiogênica

Em coelhos e na maioria dos mamíferos, ocorre nesta fase a transformação da espermatíde, originada ao final da fase anterior, em espermatozóide (espermiogênese). À medida que esta fase se processa, as espermatídes se movem inicialmente em direção centrífuga (rumo à membrana basal), depois em direção centrípeto no sentido do lume do túbulo seminífero (PLOEN, 1971; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992; RUSSEL & GRISWOLD, 1993).

As principais estruturas envolvidas no processo espermiogênico são o núcleo, o aparelho de Golgi e os centríolos. Pequenos grânulos proacrossômicos aparecem nas vesículas do aparelho de Golgi. As vesículas do aparelho de Golgi coalescem para formar uma vesícula grande (vesícula acrossômica) e no seu interior se localiza o acrossomo, resultante da coalescência dos grânulos proacrossômicos. A vesícula acrossômica migra para a proximidade do núcleo, entra em contato com o envoltório nuclear, aumenta de tamanho, se estende sobre metade do núcleo e colapsa para formar o capuz cefálico. Ao mesmo tempo, os centríolos migram para a periferia da célula numa posição oposta ao acrossomo, juntamente com o aparelho de Golgi residual. O acrossomo se torna indistinguível do capuz cefálico. O núcleo se torna denso e começa a se alongar (PLOEN, 1971;

RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992; RUSSEL & GRISWOLD, 1993). As proteínas nucleares básicas denominadas histonas são gradativamente substituídas por proteínas chamadas de transição e posteriormente estas são substituídas por proteínas queratinosas altamente básicas, ricas em arginina e cisteína denominadas de protaminas, ao mesmo tempo em que ocorre a compactação da cromatina, não vista em células somáticas (ZIRKIN, 1970; MARUSHIGE & MARUSHIGE, 1974, 1978; BALHORN, 1982; ZIRKIN et al., 1982; ROUX et al., 1988; RUSSEL et al., 1990; COURTENS et al., 1994, 1995).

Os centríolos e o flagelo em desenvolvimento já localizados em posição oposta ao acrossomo, migram para o envoltório nuclear, entrando em contato com ele. Uma lâmina caudal, denominada manchete, se desenvolve do capuz cefálico formada por microtúbulos. Ao mesmo tempo, a espermátide se alonga. Um anel pequeno e denso se condensa em volta do centríolo proximal ligado à lâmina interna da membrana citoplasmática e desce pelo flagelo. Concomitantemente, as mitocôndrias se posicionam num padrão helicoidal entre o centríolo proximal e o anel. Nove fibras protéicas longitudinais se desenvolvem entre os pares de microtúbulos flagelares e as mitocôndrias. Esta estrutura forma a peça intermediária do espermatozóide (PLOEN, 1971; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992; RUSSEL & GRISWOLD, 1993).

A peça principal da cauda do espermatozóide é composta de um “core” flagelar formado por microtúbulos (axonema), fibras densas e uma bainha fibrosa protéica. Os microtúbulos irregularmente arranjados próximo da extremidade da cauda formam a peça terminal. Conforme a formação dessas estruturas prossegue, o citoplasma remanescente é deslocado distalmente ao longo da cauda, sendo finalmente perdido como corpo residual, fenômeno este que pode ocorrer ainda nos túbulos seminíferos ou somente no epidídimo. O final desta fase é marcado pela liberação do espermatozóide no lume do túbulo seminífero, fenômeno este conhecido como espermição (PLOEN, 1971; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992; RUSSEL & GRISWOLD, 1993).

As células de Sertoli

As fases da espermatogênese anteriormente referidas ocorrem no interior dos túbulos seminíferos com os gametas em desenvolvimento sendo sustentados e nutridos pelas células de Sertoli. Estas são células colunares altas ou piramidais, cujo citoplasma e margens celulares são de difícil observação com o microscópio de luz. Os gametas em desenvolvimento estão imersos em invaginações do citoplasma das células de Sertoli, as quais podem se fechar totalmente sobre as células espermatogênicas. As células de Sertoli

são as únicas células dos túbulos seminíferos que se estendem desde a lâmina basal até o lume do túbulo. O núcleo oval, geralmente está posicionado na região basal da célula, é vesicular e tem um nucléolo evidente. Pode ser observada uma dobra característica na membrana nuclear. O retículo endoplasmático liso se estende ao longo da borda basal da célula e o aparelho de Golgi é bem desenvolvido. Lisossomos em vários estágios de atividade são evidentes.

As regiões basais das membranas laterais das células de Sertoli estão unidas por junções de oclusão. As junções dividem os túbulos seminíferos em duas regiões denominadas de compartimentos basal e apical. O compartimento basal, localizado na periferia do túbulo, é onde se situam as espermatogônias e o compartimento apical ou adluminal, localizado entre as junções de oclusão e a borda apical, contém os gametas em desenvolvimento. As junções de oclusão formam uma eficiente barreira testicular (RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992; RUSSEL & GRISWOLD, 1993).

As células de Sertoli proporcionam suporte físico, proteção e, provavelmente, nutrição para os gametas em desenvolvimento. Podem colaborar ativamente para o movimento centrípeto, o desenvolvimento e a liberação dos gametas, uma vez que as suas alterações morfológicas estão correlacionadas a eventos do ciclo espermatogênico. A intimidade da relação implica que a célula de Sertoli é um regulador metabólico. Além disso, parte

do citoplasma dos gametas em desenvolvimento, assim como os gametas danificados, podem ser fagocitados pelas células de Sertoli. Estas células também secretam estrógenos, inibina e ABP (androgen binding protein), entre outras substâncias (NISHIMUNE et al., 1978; RUSSEL et al., 1990; BANKS, 1992; RUSSEL & GRISWOLD, 1993). As células germinativas do compartimento apical estão intimamente ligadas as células de Sertoli por meio de uma estrutura complexa denominada de especialização ectoplásmica, onde podem ser observadas junções comunicantes (junções “gap”) (BROKELMANN, 1963; RUSSEL & GRISWOLD, 1993).

Ação da temperatura sobre a espermatogênese

O efeito da temperatura sobre a espermatogênese e sobre as características morfo-funcionais dos espermatozóides dos mamíferos é há muito tempo assunto de interesse dos pesquisadores (MOORE, 1924; MOORE & OSLUND, 1924; MIES Fo., 1956; HAFEZ, 1959; AUSTIN et al., 1961; SAHNI & ROY, 1967 e 1969; BARNABE, 1970; PLOEN, 1972; PLOEN, 1973a, b; MUCCIOLO et al., 1974; BEDFORD, 1978; PRABHAKAR et al., 1990; RAO & RAO, 1990, 1991; LOUGHLIN et al., 1991; BARTH, 1993; VOGLER et al., 1993; FAUSTO et al., 1994).

Na maioria dos mamíferos os testículos se formam na cavidade abdominal e através do canal inguinal migram para o escroto. No escroto os

testículos são mantidos alguns graus abaixo da temperatura corpórea. O aumento da temperatura testicular pode levar a uma degeneração atrófica do epitélio germinativo dos túbulos seminíferos, podendo restar apenas espermatogônias e, em casos extremos como o criptorquidismo, somente células de Sertoli (PLOEN, 1972).

Na zootecnia é freqüente a utilização de raças de animais (bovinos, ovinos, coelhos, entre outros) de clima frio em regiões tropicais, raças essas que muitas vezes possuem um mecanismo ineficiente de regulação térmica nos testículos e que com freqüência apresentam processos degenerativos testiculares. Mesmo em seres humanos o uso de vestuários inadequados ou processos patológicos, como a varicocele, podem aumentar a temperatura testicular e levar a processos degenerativos do testículo (MIES Fo., 1956; HAFEZ, 1959; SAHNI & ROY, 1967, 1969; MUCCILO et al., 1974; PRABHAKAR et al., 1990; RAO & RAO, 1990 e 1991; SOFIKITIS & MIYAGAWA, 1992; SOFIKITIS et al., 1992). No entanto, é importante salientar que mesmo em animais férteis mantidos no clima temperado original, sobretudo em coelhos, é possível encontrar-se algumas características tidas geralmente como próprias da degeneração testicular, tais como: espermatídes gigantes multinucleadas, hipoespermatogênese focal, necrose de espermatogônias, vacúolos citoplasmáticos e, menos freqüentemente, dilatação dos túbulos seminíferos (MORTON et al., 1986).

Alguns pesquisadores, levando em conta a importância e a frequência da degeneração testicular por aumento da temperatura testicular, procuraram reproduzi-la experimentalmente para melhor poder estudar suas causas e possíveis tratamentos, assim como para encontrar maneiras mais eficazes e rápidas de detectar esta patologia e com isso evitar maiores perdas em criações comerciais (MOORE, 1924; MOORE & OSLUND, 1924; AUSTIN et al., 1961; BARNABE, 1970; PLOEN, 1972; PLOEN, 1973a e b; MUCCIOLO et al., 1974; NISHIMUNE et al., 1978; PRABHAKAR, 1990; RAO & RAO, 1990; BARTH, 1993; VOGLER et al., 1993; FAUSTO et al., 1994).

Existem vários métodos para se produzir experimentalmente o aumento da temperatura intra-testicular, tais como: permanência em câmaras climáticas (FAUSTO et al., 1994), aplicação de água aquecida sobre o escroto (WAITES & ORTAVANT, 1968; BRADEN & MATTNER, 1970), utilização de material (bolsa) isolante térmico sobre o escroto do tipo pendular (insulação escrotal) (AUSTIN et al., 1961; MUCCIOLO, 1972; MUCCIOLO et al., 1974; PRABHAKAR et al., 1990; RAO & RAO, 1990; BARTH, 1993; VOGLER et al., 1993), aplicação sobre o escroto de substâncias irritantes que provoquem processo inflamatório local (BARNABE, 1970) e criptorquidismo experimental (MOORE, 1924; MOORE & OSLUND, 1924; NELSON, 1951; PLOEN, 1972; PLOEN, 1973a, b; KERR et al., 1979).

Independente do método usado para se obter o aumento de temperatura testicular, os efeitos sobre a espermatogênese e sobre a qualidade do sêmen são semelhantes. Normalmente, ocorre a degeneração atrófica progressiva do epitélio germinativo dos túbulos seminíferos, levando à ejaculação de sêmen com motilidade e concentração diminuídas, com um elevado índice de até 100% de anormalidades morfológicas, chegando até mesmo à aspermia (WAITES & ORTAVANT, 1968; BRADEN & MATTNER, 1970; MUCCIOLO, 1972; MUCCIOLO et al., 1974; NISHIMUNE et al., 1978; RAO & RAO, 1990; LOUGHLIN et al., 1991; BARTH, 1993; VOGLER et al., 1993).

Contudo, o efeito da elevação de temperatura testicular sobre a produção de anomalias no complexo DNA-proteína dos espermatozóides é pouco conhecido. Estas anomalias, em espermatozóides de mamíferos e em especial no touro e no homem vêm sendo sugeridas como importante causa de subfertilidade (CHAMBERLAIN & WALKER, 1965; GLEDHILL, 1966, 1970; GLEDHILL, et al., 1966; EVENSON et al., 1980; MELLO, 1977 e 1982; ZIRKIN et al., 1982; BRITTO & MELLO, 1988b; BELETTI, 1992; DOBRINSKI & BARTH, 1993; COSTA & BELETTI, 1995, 1997; BELETTI & MELLO, 1996; COSTA et al., 1996).

A determinação de complexos DNA-proteína anômalos

Foi através da reação de Feulgen que GLEDHILL (1966) diferenciou pela primeira vez espermatozóides com complexo DNA-proteína anômalo em touros subférteis. Inicialmente a maior intensidade de coloração Feulgen positiva nas cabeças destes espermatozóides foi interpretada como representando um maior conteúdo de DNA presente nessas células. No entanto, com a investigação dos conteúdos de DNA nesses espermatozóides através de microespectrofotometria de ultravioleta verificou-se não diferirem eles dos conteúdos de DNA de espermatozóides normais de outros espécimes. A diferença na resposta à reação de Feulgen foi então atribuída a uma alteração na cinética hidrolítica do DNA, devido a alterações no complexo DNA-proteína, tornando-o mais frouxo e mais sensível à hidrólise.

Em 1977, MELLO desenvolveu um método, denominado de metacromasia induzida, que permitia identificar algumas alterações no complexo DNA-proteína em espermatozóides de touro. Este método consta de um tratamento ácido (HCl 4 N a 25 °C, 15 a 20 min.) seguido de coloração com azul de toluidina (AT). Os espermatozóides normais se corariam em verde, mas aqueles com anomalias no complexo DNA-proteína se corariam em violeta (metacromasia). Utilizando este método, MELLO (1982) observou que a frequência de espermatozóides com complexo DNA-proteína anômalo em touros com problemas de fertilidade era 12 a 20 vezes maior que a de

touros altamente férteis. EVENSON e colaboradores (1980) utilizando leve desnaturação térmica, posterior coloração com "acridine orange" e análise em citofotômetro de fluxo também observaram que touros subférteis apresentavam uma maior frequência (76%) de espermatozóides sensíveis à desnaturação térmica do DNA (complexos DNA-proteína anormais, mais frouxos) quando comparados a animais altamente férteis (17%).

Mais tarde foi também determinado no sêmen de touros que, enquanto uma alta incidência de metacromasia induzida em espermatozóides poderia aparecer acompanhada pela ocorrência de outras patologias (ex: resposta Feulgen-DNA em touros "pé-duro"), altos percentuais de defeitos de cabeça não eram sempre acompanhados pelo fenômeno de metacromasia (touros "pé-duro" e de rebanho de elite)(BRITTO & MELLO, 1988a, b; BRITTO et al., 1988). Concluiu-se, então, que nem sempre os defeitos nas cabeças dos espermatozóides são necessariamente acompanhados por alterações químicas que envolvem a interação da proteína nuclear básica com o DNA (BRITTO et al., 1988)

Uma confirmação desta idéia ocorreu quando BELETTI & MELLO (1996), estudando touros que apresentavam alta porcentagem de espermatozóides com patologia de cabeça do tipo "pouch formation" (touros subférteis), observaram que alguns destes animais apresentavam a frequência de espermatozóides com complexo DNA-proteína anômalo semelhante à de

touros altamente férteis. Assim, embora o achado de níveis mais elevados de metacromasia induzida se associe à subfertilidade, nem toda situação de subfertilidade é caracterizada pela presença de núcleos com essa propriedade citoquímica.

A influência da temperatura testicular sobre o complexo DNA-proteína dos espermatozóides de touro foi estudada e comunicada em Congresso do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal por BARTH (1993). Este autor procedeu à insulação escrotal de oito animais por quatro dias e posterior acompanhamento do grau de colorabilidade da cromatina dos espermatozóides ejaculados submetidos à Reação de Feulgen. Ele relatou um aumento significativo de espermatozóides com colorabilidade de DNA anômala (muito corado) em apenas um dos touros, e que atingiu um pico de incidência por volta do 28º dia após o início da insulação, havendo total recuperação da normalidade por volta do 40º dia.

2-OBJETIVOS

Tendo em vista que o aumento da temperatura testicular afeta a espermatogênese em mamíferos e que efeitos de tal elevação sobre os complexos DNA-proteína não foram ainda estudados em profundidade nesses animais, no presente trabalho, buscou-se investigar após três dias de criptorquidismo experimental:

- 1- a frequência de alterações em complexos DNA-proteína em espermatozóides de coelho pelo método de metacromasia induzida e após a reação de Feulgen;
- 2- outros parâmetros que são práticas de rotina na análise de espermograma (vigor, motilidade, concentração, alterações morfológicas) para o mesmo material;
- 3- alterações estruturais e ultra-estruturais em testículos dos mesmos animais.

3-MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 42 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), sem raça definida (SRD), provenientes de pequenas cuniculturas comerciais, onde eram utilizados como reprodutores com alta taxa de concepção. Todos os animais foram submetidos a exames clínicos, incluindo-se o parasitológico, para determinar se havia necessidade de administração de algum tipo de tratamento pré-experimental, sendo este realizado quando necessário (vermifugação com mebendazole e quarentena). Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais apropriadas para cunicultura, recebendo ração balanceada para reprodutor e água “ad libitum”.

Numa primeira fase do experimento foram coletadas duas amostras de sêmen em dias alternados (dias -2 e 0) de todos os animais, pelo método da vagina artificial (MIES Fo., 1975; HAFEZ, 1988), sendo realizadas análises de:

- **Motilidade:** porcentagem de espermatozóides móveis, estimada através de visualização entre lâmina e lamínula pré-aquecidas, no máximo 30 segundos após a coleta, e registrada em intervalos de 10 em 10% (MUCCILO et al., 1974; HAFEZ, 1988);

- **Vigor:** intensidade de deslocamento da célula, parâmetro avaliado juntamente com a motilidade e registrado em uma escala de 0 a 5 (HAFEZ, 1988; SILVA et al., 1992);
- **Concentração:** Diluição de 50µl de sêmen em 4 ml de citrato de sódio a 2,67% e através de espectrofotometria em comprimento de onda de 550 nm, determinação da absorbância, que comparada com uma curva padrão foi convertida em espermatozóides por ml (HAFEZ, 1988; SILVA et al., 1992).
- **Porcentagem de espermatozóides morfológicamente anormais:** determinado por contagem aleatória de 200 células em microscópio de contraste de fase com aumento de 1000x, diferenciando-se anormalidades de cabeça e cauda (MUCCIOLO et al., 1974; HAFEZ, 1988; BARTH, 1993; VOGLER et al., 1993; FAUSTO et al., 1994).
- **Porcentagem de espermatozóides com complexo DNA-proteína anômalo:** determinada por contagem aleatória de 1000 células em esfregaços tratados pelo método da “metacromasia induzida” (MELLO, 1977; MELLO, 1982; BRITTO & MELLO, 1988b; BELETTI & MELLO, 1996). O método consistiu em fixar o esfregaço de sêmen em etanol absoluto/ácido acético glacial 3:1 (v/v) por 1 minuto e posteriormente imergi-lo em etanol a 70% por 3 minutos. Após esta etapa foi realizada hidrólise ácida em HCl 4 N a 25°C por 15 minutos seguida de coloração com azul de toluidina (AT) em tampão McIlvaine a pH 4. Com esta metodologia os espermatozóides normais

coraram-se em verde, mas aqueles com anomalias no complexo DNA-proteína coraram-se de azul a violeta (MELLO, 1982). BELETTI & MELLO (1996) observaram alguma diferença na resposta deste método quando utilizaram AT a pH 5 para examinar sêmen de touro. Por isso procedeu-se neste trabalho à coloração em soluções preparadas nos dois pH. Também foi utilizado o método de Feulgen para analisar-se alterações no complexo DNA-proteína dos espermatozóides (GLEDHILL, 1966; MELLO & ZANARDI, 1976; BARTH, 1993).

Após a análise destas duas amostras coletadas de cada animal, dois animais sofreram uma cirurgia de orquiectomia bilateral após anestesia inalatória com halotano. Os testículos esquerdos de cada animal foram cortados no sentido longitudinal, retirando-se pequenos fragmentos que foram a seguir fixados em etanol-ácido acético (3:1) por 10 minutos e etanol a 70% por 24 horas. Também foram coletados fragmentos de epidídimo (cabeça, corpo e cauda). A seguir foram feitas preparações histológicas por corte dos blocos parafinados e coloração por hematoxilina/eosina e azul de toluidina a pH 4/eosina.

Os testículos e epidídimos direitos destes animais foram fixados em glutaraldeído a 5%, tamponado em solução de cacodilato de sódio a 0,05 M (pH 7,3-7,4), por perfusão arterial. Para isto foi canulada a artéria aorta abdominal, imediatamente antes da origem das artérias testiculares. O coto da

artéria testicular esquerda do testículo já removido foi pinçado, assim como a artéria aorta abdominal logo após a origem das artérias testiculares, forçando a penetração da solução fixadora apenas para o testículo direito (Fig. 1). O refluxo do fixador foi acompanhado através de incisão na veia testicular direita, sendo cessada a aplicação quando refluíu solução fixadora límpida. Posteriormente, foram retirados o testículo e epidídimo direito e cubos de 1 mm³ ou menos foram coletados e colocados na solução fixadora utilizada para perfusão por mais 1 hora. Em seguida, o material foi lavado em tampão cacodilato (0,05M, pH 7,4) duas vezes por 10 minutos e então pós-fixado por 12 horas em tetróxido de ósmio a 1% e 1 hora em tetróxido de ósmio a 1% mais ferrocianeto de potássio a 1,25%. Finalmente os cubos foram incluídos em resina Epon para posteriormente serem cortados em ultramicrotomo para obtenção de cortes ultrafinos (SPRANDO, 1990). Os cortes foram corados com acetato de uranila e citrato de chumbo para serem observados em microscópio eletrônico Zeiss EM-109 modo de operação 50 KV.

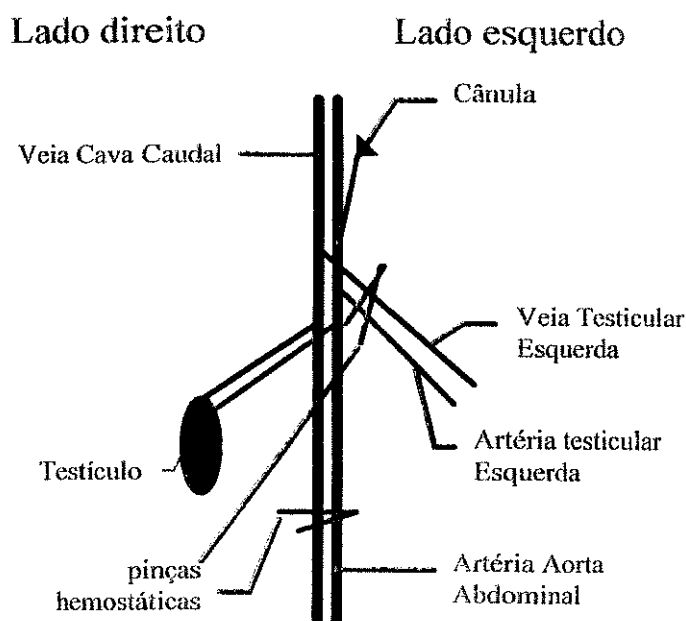


Figura 1: Esquema mostrando a localização das pinças hemostáticas (verde) e da cânula (azul claro) durante a fixação do testículo direito. As artérias estão em vermelho, as veias em azul e os testículos em roxo

Após esta fase, 32 coelhos foram submetidos à anestesia inalatória com halotano, por ser um fármaco de rápida eliminação e que possibilita rápida recuperação. Estes animais sofreram uma pequena intervenção cirúrgica para se obter a elevação da temperatura testicular (criptorquidismo experimental). A intervenção consistiu no deslocamento de ambos os testículos para dentro da cavidade abdominal, invertendo-se o escroto para o interior do anel inguinal e suturando-se com fio de algodão os bordos dos anéis através de um único ponto percutâneo tipo "bolsa de fumo", o que impede o retorno do escroto para a posição anatomicamente normal (Figs. 2, 3 e 4). Esta cirurgia foi realizada no mesmo dia da segunda coleta de sêmen pré-tratamento (dia 0). Passados três dias da intervenção (dia 3), o

ponto foi retirado, permitindo o retorno do escroto e testículos à posição normal..



Fig. 2: Escroto do coelho 6 antes de sofrer a inversão



Fig. 3: Escroto do coelho 6 invertido, com os testículos na cavidade abdominal e o ponto "bolsa de fumo" sendo realizado.



Fig. 4: Escroto do coelho 6 invertido, com os testículos na cavidade abdominal e o ponto "bolsa de fumo" já realizado

Como controles, quatro animais foram simplesmente anestesiados e não sofreram intervenção cirúrgica (controle 1) e quatro animais sequer passaram por estes procedimentos (controle 2).

Após a aplicação deste método, foram coletadas amostras de sêmen nas segundas, quartas e sextas-feiras. Tais amostras foram submetidas às mesmas análises da primeira fase do experimento.

Durante o transcorrer do experimento 24 coelhos foram orquiectomizados dois a dois com intervalos de cinco dias, sendo que os dois primeiros sofreram esta cirurgia logo após os três dias de retenção testicular (Tabela I). Ao final do experimento todos os animais restantes foram orquiectomizados. Os testículos e epidídimos destes animais foram coletados, fixados, processados e analisados pelas mesmas técnicas utilizadas na primeira fase do experimento. Testículos e epidídimos de alguns destes animais foram fixados por perfusão também para a microscopia de luz, sendo utilizados as mesmas soluções e tempos da fixação por imersão.

Tabela I: Cronograma de realização das orquiectomias

Dia da orquiectomia	Nº de coelhos orquiectomizados
0 (zero = início do criptorquidismo)	2 animais não tratados
3 (final do criptorquidismo), 8, 13, 18, 23, 28, 33, 38, 43, 48, 53, 58	2 animais tratados/dia
64	8 animais tratados, 4 animais não tratados do grupo controle 1 e 4 animais não tratados do grupo controle 2

4-RESULTADOS

4.1. Parâmetros de avaliação da qualidade do sêmen

As imagens consideradas como de anomalias nos complexos DNA-proteína detectadas pelo método de metacromasia induzida e reação de Feulgen em espermatozóides de coelho são mostradas nas Figs. 5 e 6.

Os dados referentes aos vários parâmetros obtidos para as amostras de sêmen coletadas durante o experimento estão descritos por animal no anexo I (tabelas 10 a 51).

Com exceção de dois animais (37 e 38, Anexo I, Tabelas 14 e 15) o grupo controle não apresentou variação durante o experimento quanto às características estudadas. As alterações encontradas nos animais 37 e 38 foram semelhantes as encontradas nos animais tratados, porém de menor intensidade.



Fig. 5: Esfregaço de sêmen do coelho 21 submetido ao método da metacromasia induzida (AT pH 4), mostrando espermatozóides com complexo DNA-proteína anômalos (setas). 750x.

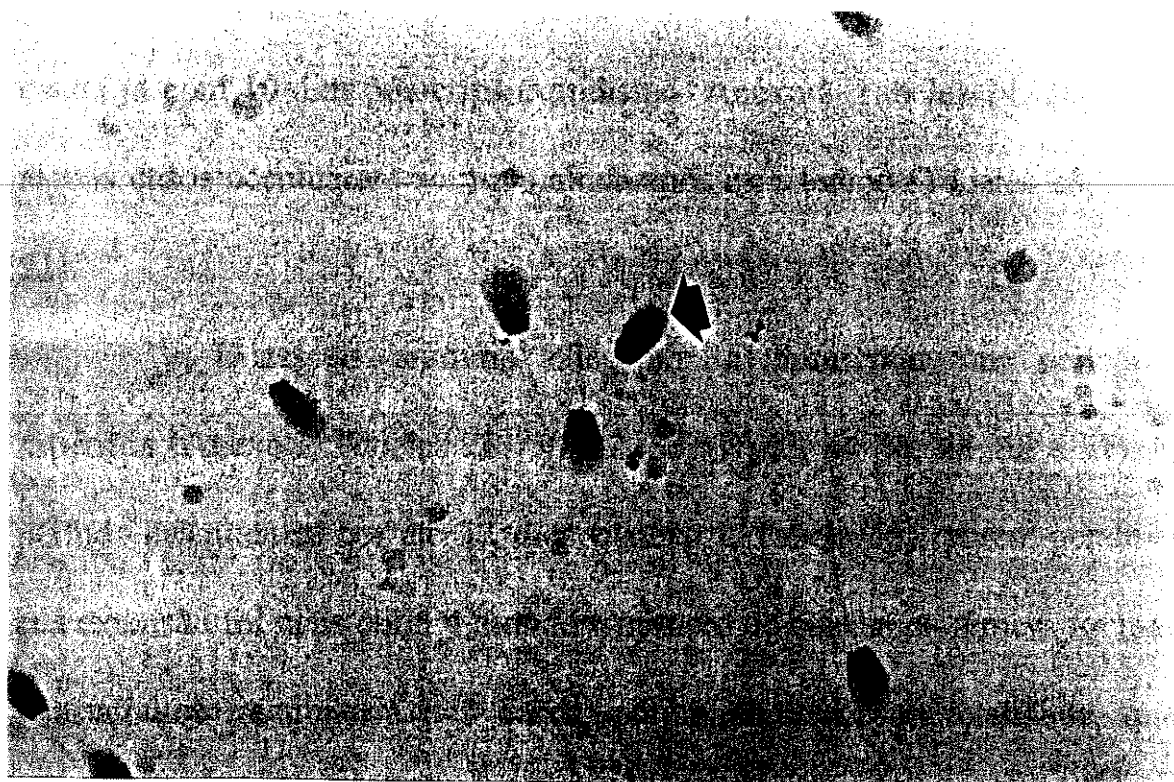


Fig. 6: Esfregaço de sêmen do coelho 21 submetido ao método de Feulgen mostrando espermatozóide com complexo DNA-proteína anômalo (seta). 750x.

Quanto aos animais experimentais, de maneira geral houve alteração nos parâmetros seminais analisados, após o tratamento. Para a maioria dos coelhos experimentais foram reveladas alterações quanto às características de vigor, motilidade e concentração de espermatozóides do sêmen, bem como em patologias de cabeça e cauda, porém não quanto a anomalias em complexos DNA-proteína avaliados com a metodologia utilizada, a partir de 3 a 5 dias após o final do criptorquidismo (Anexo I, Tabelas 22 a 51).

As alterações mencionadas se acentuaram com o avanço do tempo após interrupção do criptorquidismo (Anexo I, Tabelas 24 a 51), chegando-se a valores muito baixos de vigor, motilidade e concentração de espermatozóides no sêmen, bem como muito altos em patologias de cabeça e cauda já com 10 dias pós-criptorquidismo (Anexo I, Tabelas 24, 36-51). Em alguns casos acentuaram-se mais ainda após esse tempo (Tabelas 28, 29, 31-51).

Dezesseis animais chegaram a apresentar um período de aspermia (Anexo I, Tabelas 28, 30, 32, 33, 37-42, 44-46, 48, 50 e 51). Este período estendeu-se por até 33 dias (Anexo I, Tabela 45), porém geralmente sua extensão foi mais curta. Quando o número de coletas de sêmen foi maior, constatou-se na maioria dos casos, porém não em sua totalidade, que a

aspermia era seguida por período de recuperação (Anexo I, Tabelas 30, 32, 38, 40-42, 44-46, 48, 50 e 51).

Dentre os 12 animais nos quais se procedeu coleta de sêmen 49 dias ou mais após interrupção do criptorquidismo, em dois casos ocorreram duas fases de aspermia (Anexo I, Tabelas 40 e 46).

Quanto às anomalias dos complexos DNA-proteína, constatou-se aumento de seus valores a partir de 10 dias após interrupção do criptorquidismo na maioria dos animais (Anexo I, Tabelas 26, 29, 31-43, 49-51), porém em alguns casos esse aumento só se verificou mais tarde (Anexo I, Tabelas 27, 28, 30, 44, 46-48). Os valores mais elevados dessas anomalias foram encontradas no coelho nº 34, onde as alterações com o tratamento atingiram 20 vezes os valores exibidos no seu tempo zero (Anexo I, Tabela 51).

A recuperação dos níveis dos parâmetros estudados, considerando-se o tempo zero para todos os casos, e o tempo de 54 dias após interrupção do criptorquidismo, foi obtida em apenas um coelho (nº 26), no que se refere a vigor, motilidade e patologias de cabeça e cauda dos espermatozóides, porém não em concentração espermática e anomalias do complexo DNA-proteína (Anexo I, Tabela 43). Dos 8 coelhos analisados até 61 dias pós-criptorquidismo, apenas 4 exibiram retorno à normalidade

espermática, com exceção de concentração espermática (Anexo I, Tabelas 46 a 49)

As tabelas 2 a 9 mostram a variação, dia a dia, da média e desvio padrão nos grupos para cada característica estudada. Indicam também as situações para as quais a média aritmética não é representativa, dada a alta variabilidade dos resultados. Preferiu-se então a utilização dos valores de medianas para a representação em gráfico do que acontecia para cada parâmetro com o avanço do tempo após interrupção do criptorquidismo, lembrando que a amostragem para cada dia não era a mesma no caso dos animais experimentais (Gráficos I a VIII). Os gráficos demonstram de maneira geral as diferenças para os vários parâmetros ao longo do período experimental.

Tabela 2: Variação da média aritmética, desvio padrão e mediana do vigor dos espermatozóides

Dia	Experimentais				Controle 1				Controle 2			
	X	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md
-2	4,7	0,5	32	5	5,0	0,0	4	5	4,2	0,5	4	4
0	4,7	0,4	32	5	5,0	0,0	4	5	5,0	0,0	4	5
3	4,4	0,7	32	5	4,5	0,6	4	4,5	4,5	0,6	4	4,5
6	4,3	0,5	30	4	4,7	0,5	4	5	5,0	0,0	4	5
8	3,9	0,6	30	4	4,7	0,5	4	5	5,0	0,0	4	5
10	3,4	0,6	28	3	4,2	0,5	4	5	4,7	0,5	4	5
13	2,9	0,6	28	3	4,5	0,6	4	4,5	4,5	0,6	4	4,5
15	2,4	1,0	26	2	4,2	1,0	4	4,5	4,2	0,5	4	4
17	2,0	0,7	26	2	4,2	1,0	4	4,5	4,5	0,6	4	4,5
20	*1,9	1,0	23	2	3,5	1,0	4	4	4,5	0,6	4	4,5
22	1,5	0,7	21	1	3,5	1,0	4	4	4,7	0,5	4	5
24	*1,4	0,9	19	1	3,2	1,0	4	3,5	4,7	0,5	4	5
27	*1,6	1,1	18	1,5	3,5	1,3	4	3,5	4,7	0,5	4	5
29	1,4	0,7	11	1	*3,2	2,1	4	3,5	4,2	0,5	4	4
31	1,2	0,4	10	1	3,2	1,5	4	3	4,5	0,6	4	4,5
34	1,1	0,3	8	1	3,5	1,7	4	3,5	5,0	0,0	4	5
36	*1,1	0,6	8	1	3,5	1,7	4	3,5	4,7	0,5	4	5
38	*1,2	0,7	9	1	3,5	1,7	4	3,5	4,7	0,5	4	5
41	1,3	0,5	7	1	4,0	0,8	4	4	4,7	0,5	4	5
43	1,4	0,5	7	1	4,0	1,1	4	4	4,5	0,6	4	4,5
45	1,7	0,8	6	1,5	4,0	0,8	4	4	5,0	0,0	4	5
48	2,2	0,8	6	2	3,7	0,5	4	4	4,7	0,5	4	5
50	2,2	1,0	8	2	4,5	0,6	4	4,5	4,7	0,5	4	5
52	2,1	0,9	10	2	4,7	0,5	4	5	4,5	0,6	4	4,5
55	3,2	0,8	9	3	4,7	0,5	4	5	4,7	0,5	4	5
57	3,4	0,9	9	3	4,5	0,6	4	4,5	4,5	0,6	4	4,5
59	3,5	1,3	8	4	4,5	0,6	4	4,5	4,7	0,5	4	5
62	4,1	0,6	8	4	4,5	0,6	4	4,5	5,0	0,0	4	5
64	4,6	0,5	8	5	4,7	0,5	4	5	5,0	0,0	4	5

Dia 0 (zero): início do criptorquidismo para os coelhos experimentais

Dia 3: final do criptorquidismo para os coelhos experimentais

*: situação em que a média aritmética não é representativa

Gráfico I: Representação com base nos valores das medianas do vigor dos espermatozóides

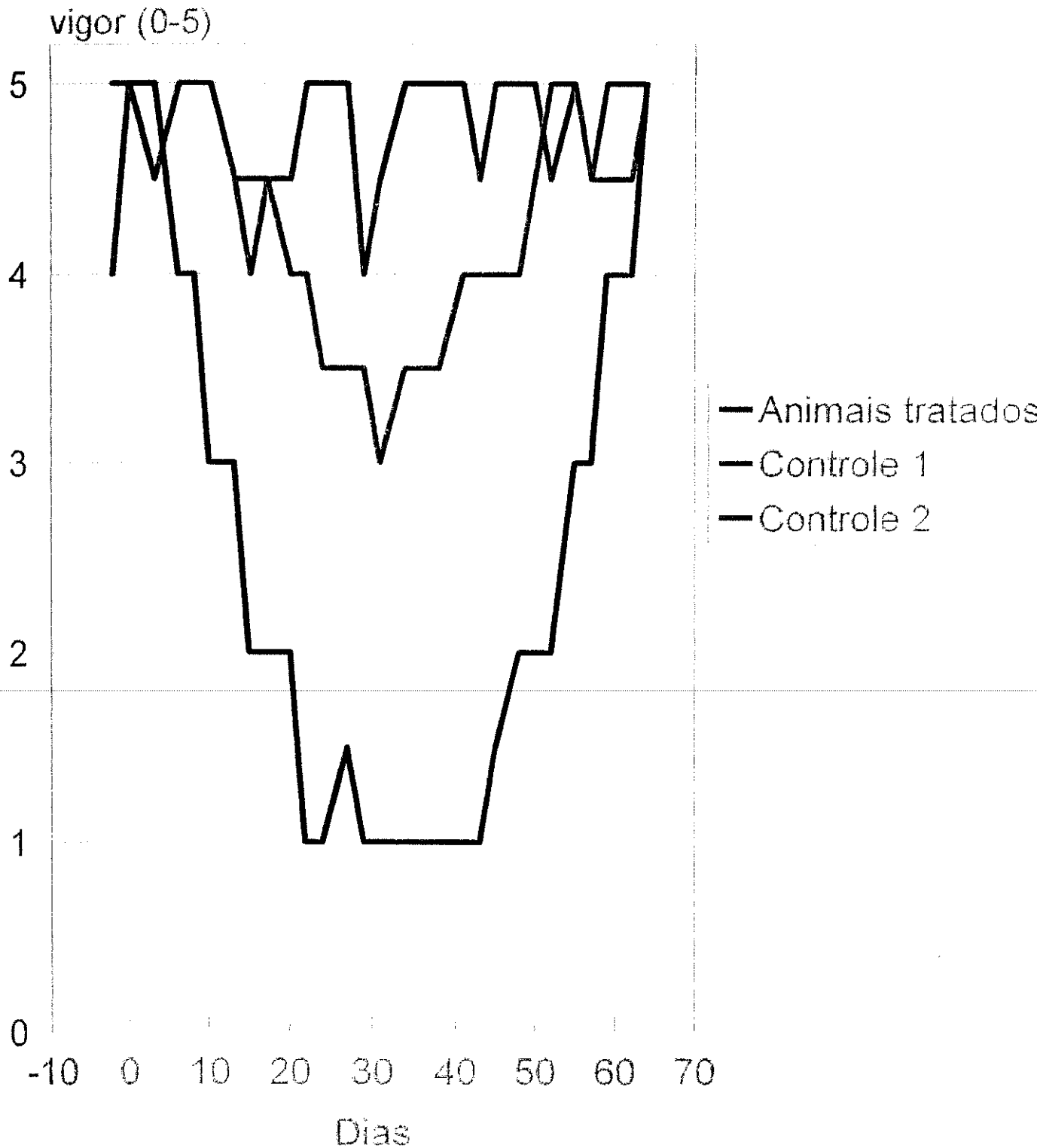


Tabela 3: Variação da média aritmética, desvio padrão e mediana da porcentagem de espermatozóides móveis

Dia	Experimentais				Controle 1				Controle 2			
	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md
-2	88,8	8,8	32	90	95,0	5,8	4	95	92,5	9,6	4	95
0	89,1	8,7	32	90	95,0	5,8	4	95	95,0	5,8	4	95
3	83,1	12,3	32	90	92,5	5,0	4	90	92,5	9,6	4	95
6	83,0	8,4	30	80	87,5	5,0	4	90	97,5	5,0	4	100
8	77,0	11,2	30	80	87,5	5,0	4	90	92,5	9,6	4	95
10	68,6	14,3	28	70	87,5	5,0	4	90	92,5	9,6	4	95
13	59,3	11,8	28	60	85,0	10,0	4	90	87,5	9,6	4	85
15	50,4	20,5	26	50	87,5	18,9	4	95	90,0	8,2	4	90
17	44,6	17,3	26	40	87,5	12,6	4	90	90,0	8,2	4	90
20	*38,3	20,0	23	30	77,5	18,9	4	85	87,5	5,0	4	90
22	*33,3	19,8	21	30	80,0	14,1	4	85	90,0	8,2	4	95
24	*29,5	17,8	19	30	77,5	15,0	4	80	87,5	5,0	4	90
27	*31,7	22,3	18	30	77,5	18,9	4	85	90,0	0,0	4	90
29	31,0	13,0	11	30	77,5	15,0	4	80	87,5	5,0	4	90
31	27,0	9,5	10	30	77,5	15,0	4	80	87,5	9,6	4	85
34	26,2	10,6	8	25	72,5	23,6	4	80	92,5	5,0	4	90
36	*28,7	15,5	8	30	75,0	23,8	4	75	92,5	5,0	4	90
38	*32,2	19,2	9	30	82,5	17,1	4	85	90,0	8,2	4	90
41	27,1	4,9	7	30	82,5	9,6	4	85	90,0	8,2	4	90
43	30,0	12,9	7	30	85,0	12,9	4	85	92,5	9,6	4	95
45	35,0	12,2	6	30	85,0	10,0	4	80	92,5	9,6	4	95
48	45,0	6,7	6	40	85,0	5,8	4	85	90,0	8,2	4	90
50	49,0	16,8	8	50	85,0	5,8	4	85	92,5	5,0	4	90
52	49,4	15,5	10	50	85,0	5,8	4	85	87,5	5,0	4	90
55	64,4	15,9	9	70	95,0	5,8	4	95	87,5	5,0	4	90
57	70,0	16,6	9	70	90,0	8,2	4	90	87,5	9,6	4	85
59	65,0	22,7	8	70	90,0	0,0	4	90	90,0	0,0	4	90
62	75,0	11,9	8	75	92,5	5,0	4	90	90,0	8,2	4	90
64	83,7	9,2	8	90	90,0	0,0	4	90	90,0	8,2	4	90

Dia 0 (zero): início do criptorquidismo para os coelhos experimentais

Dia 3: final do criptorquidismo para os coelhos experimentais

*: situação em que a média aritmética não é representativa

Gráficoll: Representação com base nos valores das medianas da motilidade dos espermatozóides

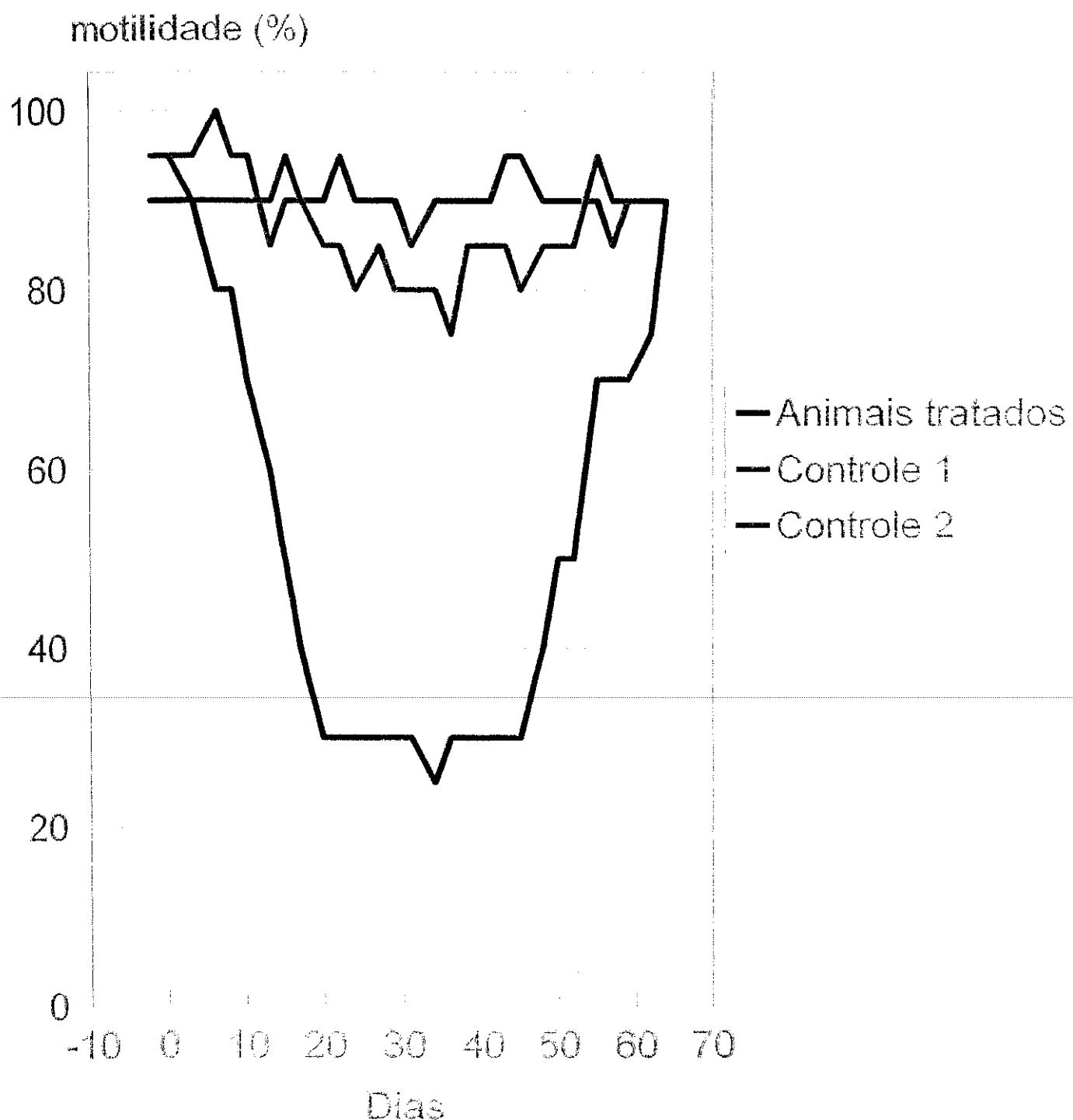


Tabela 4: Variação da média aritmética, desvio padrão e mediana da concentração de espermatozóides ($\times 10^6$ espermatozóides/ml)

Dia	Experimentais				Controle 1				Controle 2			
	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md
-2	360,8	54,1	32	352,5	350,2	51,5	4	351	400,5	41,3	4	396,5
0	355,9	46,4	32	352,5	374,7	31,3	4	367	382,0	64,3	4	394
3	319,1	58,9	32	313	352,0	38,8	4	345,5	389,7	48,5	4	381
6	261,5	80,6	30	250	337,7	49,4	4	336,5	372,7	31,3	4	383
8	219,5	76,0	30	210,5	325,7	66,2	4	294	366,5	45,9	4	386
10	158,0	56,3	28	154	323,2	44,1	4	307,5	349,0	47,7	4	354
13	131,2	48,6	28	122,5	281,7	48,0	4	262,5	341,7	36,7	4	336
15	100,8	41,7	26	92	265,7	38,4	4	278,5	357,5	39,1	4	359
17	*76,8	38,8	26	58,5	269,5	15,4	4	270	336,7	51,9	4	326,5
20	*54,6	34,4	24	36,5	258,0	38,2	4	252	340,7	68,8	4	327,5
22	*37,4	29,6	24	27	263,5	63,2	4	291	327,7	43,0	4	318
24	*29,7	22,4	22	23	237,7	69,0	4	252	325,5	23,7	4	325,5
27	*27,6	23,2	22	20	224,5	107,5	4	227	325,0	24,9	4	324
29	*18,1	21,5	20	12	227,0	101,1	4	218	329,2	6,2	4	328,5
31	*10,7	12,8	20	4,5	220,2	89,5	4	213,5	320,2	21,8	4	321,5
34	*9,7	11,7	18	0	*236,7	130,0	4	227,5	325,5	22,9	4	325
36	*8,7	12,4	18	0	218,7	105,4	4	232,5	318,5	32,2	4	311
38	*9,0	10,7	18	5	242,7	105,8	4	246,5	315,5	12,2	4	314,5
41	*8,3	10,8	16	0	256,2	91,9	4	262,5	309,7	10,2	4	310
43	*9,1	12,3	16	0	247,2	80,8	4	264	320,5	12,9	4	318,5
45	*11,3	14,5	14	0	260,0	54,9	4	284	325,7	45,3	4	345,5
48	*8,3	11,5	14	0	276,2	55,3	4	299,5	347,0	30,7	4	352,5
50	*14,7	14,1	12	14	287,2	36,9	4	305	336,2	43,4	4	337
52	*16,1	11,8	12	13	306,5	36,6	4	309	312,2	50,9	4	308,5
55	*23,9	14,6	10	20	299,5	74,5	4	329	329,0	56,7	4	331
57	*37,5	28,7	10	30,5	291,7	28,1	4	297,5	306,5	48,1	4	311
59	*66,5	54,9	8	56,5	281,0	18,5	4	288	306,2	84,6	4	335
62	*101,6	73,5	8	101,5	318,7	44,6	4	288	330,2	49,8	4	322,5
64	*168,9	120,5	8	220	332,5	28,1	4	338	338,7	46,1	4	352,5

Dia 0 (zero): início do criptorquidismo para os coelhos experimentais

Dia 3: final do criptorquidismo para os coelhos experimentais

*: situação em que a média aritmética não é representativa

Gráfico III: Representação com base nos valores das medianas da concentração de espermatozóides

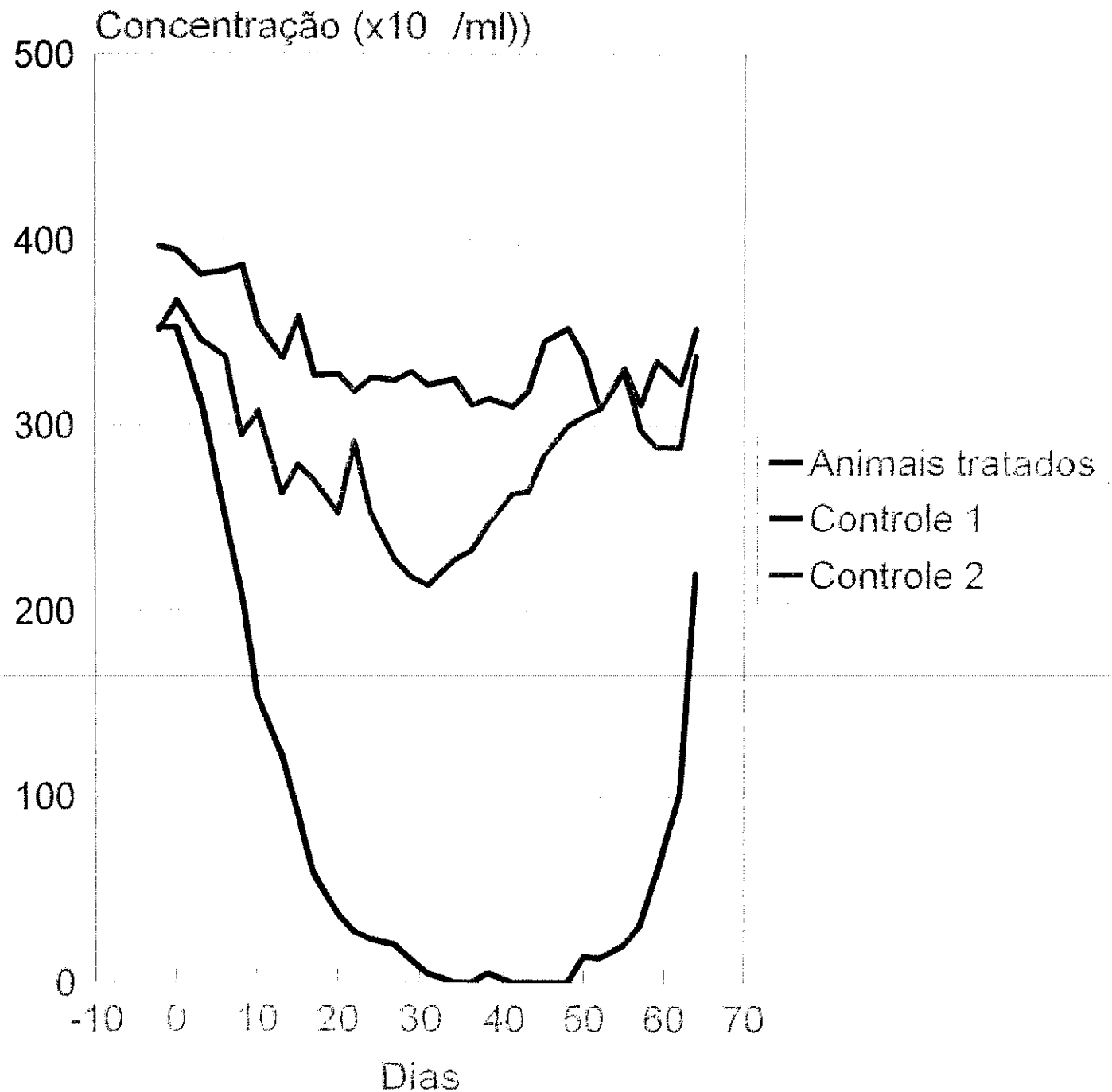


Tabela 5: Variação da média aritmética, desvio padrão e mediana da porcentagem de espermatozoides com anomalias no complexo DNA-proteína identificados pelo método da metacromasia induzida com AT pH 4

Dia	Experimentais				Controle 1				Controle 2			
	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md
-2	1,4	0,6	32	1,3	1,3	0,3	4	1,4	0,9	0,3	4	0,95
0	1,3	0,4	32	1,25	1,4	0,2	4	1,35	0,9	0,4	4	1,05
3	1,2	0,3	32	1,15	1,3	0,3	4	1,5	0,9	0,4	4	1
6	1,3	0,4	30	1,2	1,2	0,3	4	1,35	0,9	0,3	4	1
8	1,5	0,5	30	1,45	1,3	0,4	4	1,35	0,9	0,4	4	1
10	1,4	0,5	28	1,25	1,5	0,2	4	1,5	0,9	0,3	4	0,95
13	1,8	0,6	28	1,55	1,4	0,3	4	1,4	0,9	0,4	4	1,05
15	*2,1	1,3	26	1,8	1,3	0,2	4	1,25	0,8	0,4	4	0,9
17	*2,6	2,1	26	2	1,2	0,3	4	1,3	1,0	0,4	4	1,15
20	*3,2	3,5	23	2,1	1,1	0,5	4	1,25	1,0	0,3	4	1,05
22	*3,5	3,6	21	2,4	1,3	0,1	4	1,3	1,0	0,2	4	1,05
24	*4,1	4,1	19	2,5	1,4	0,5	4	1,4	1,0	0,4	4	1,15
27	*4,1	3,8	18	3,05	1,4	0,5	4	1,5	0,9	0,3	4	1
29	*3,6	2,0	11	2,9	1,6	0,6	4	1,75	1,0	0,5	4	1,1
31	*4,4	2,6	10	3,95	1,8	0,7	4	1,75	0,9	0,5	4	1,1
34	*7,2	6,0	8	5,55	1,9	0,8	4	1,9	0,9	0,3	4	1
36	*7,7	5,9	8	5,45	2,2	0,9	4	2,15	0,9	0,3	4	1
38	*7,7	5,0	9	7,2	*1,9	1,0	4	1,8	1,0	0,3	4	1,1
41	*6,9	4,2	7	5,3	*2,1	1,1	4	1,75	1,0	0,4	4	1,15
43	*6,1	4,3	7	4,1	*1,7	1,0	4	1,45	0,9	0,2	4	0,95
45	5,8	2,9	6	5,35	1,6	0,7	4	1,5	0,9	0,4	4	1,1
48	5,7	2,7	6	5,45	1,5	0,8	4	1,5	1,0	0,2	4	1
50	*4,3	2,5	8	3,1	1,5	0,6	4	1,7	0,9	0,3	4	1,05
52	3,4	1,7	10	2,75	1,4	0,5	4	1,35	1,0	0,3	4	1,05
55	2,9	1,3	9	2,8	1,4	0,4	4	1,55	1,0	0,4	4	1,2
57	*3,0	1,6	9	2,6	1,5	0,4	4	1,5	1,1	0,3	4	1,1
59	2,4	0,9	8	2,3	1,3	0,3	4	1,35	0,9	0,3	4	1
62	1,9	0,9	8	2	1,4	0,2	4	1,3	1,0	0,3	4	1,2
64	1,9	0,6	8	2	1,3	0,3	4	1,4	1,0	0,2	4	1,05

Dia 0 (zero): início do criptorquidismo para os coelhos experimentais

Dia 3: final do criptorquidismo para os coelhos experimentais

*: situação em que a média aritmética não é representativa

Gráfico IV: Representação com base nos valores das medianas da porcentagem de espermatozóides portadores de anomalias no complexo DNA-proteína, identificados pelo método da metacromasia induzida com AT pH4

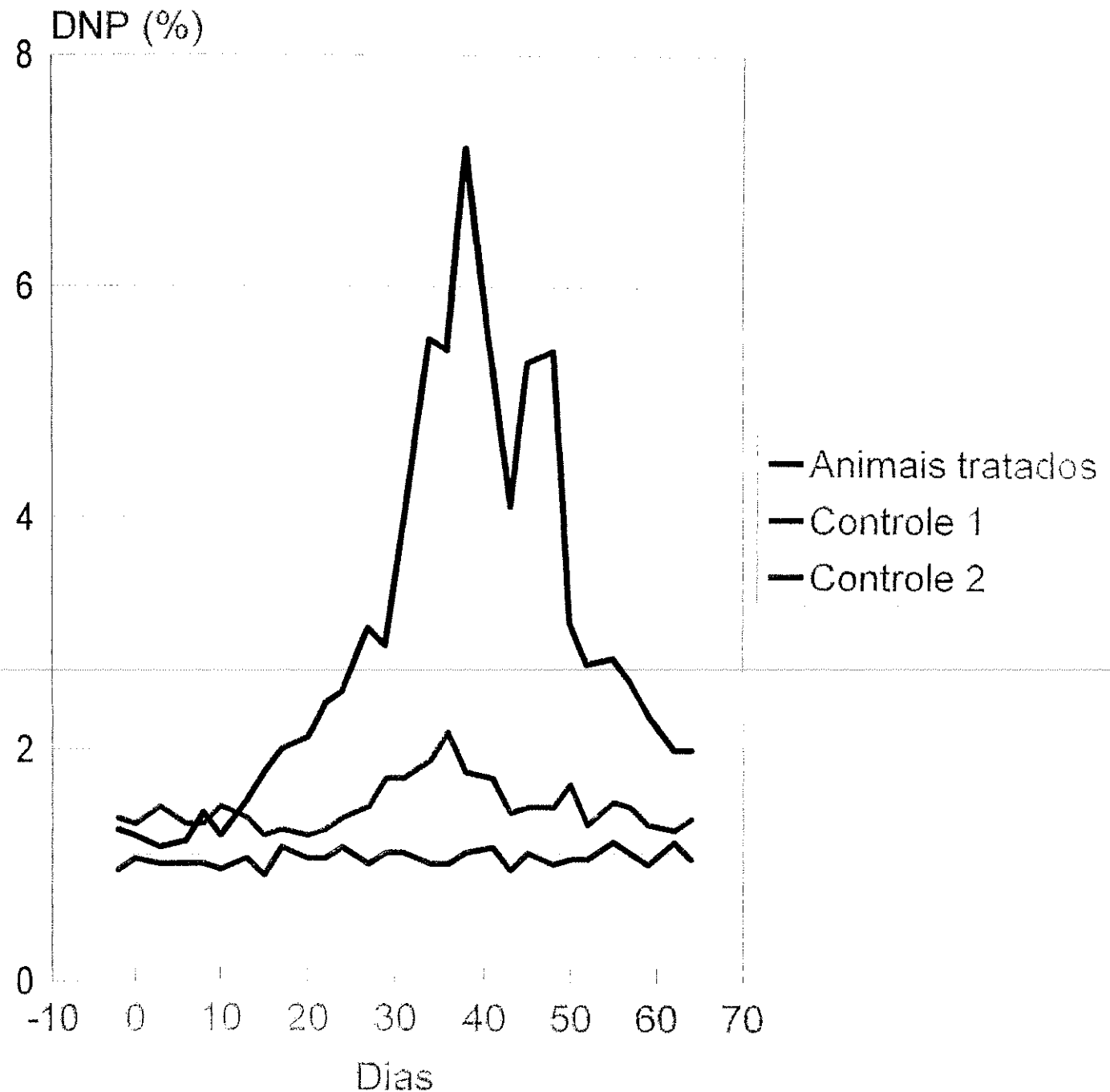


Tabela 6: Variação da média aritmética, desvio padrão e mediana da porcentagem de espermatozóides com anomalias no complexo DNA-proteína identificados pelo método da metacromasia induzida com AT pH 5

Dia	Experimentais				Controle 1				Controle 2			
	X	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md
-2	1,3	0,5	32	1,2	1,4	0,3	4	1,4	0,9	0,4	4	1,05
0	1,3	0,4	32	1,3	1,3	0,2	4	1,25	0,9	0,3	4	0,95
3	1,3	0,4	32	1,3	1,5	0,2	4	1,45	0,9	0,3	4	1
6	1,3	0,4	30	1,2	1,3	0,2	4	1,35	1,0	0,3	4	0,9
8	1,3	0,4	30	1,2	1,3	0,2	4	1,35	0,9	0,4	4	1,1
10	1,6	0,5	28	1,5	1,4	0,3	4	1,45	0,9	0,4	4	1,05
13	1,7	0,6	28	1,6	1,6	0,1	4	1,6	1,0	0,3	4	1,15
15	*2,1	1,1	26	1,7	1,6	0,1	4	1,6	0,9	0,4	4	1,05
17	*2,6	1,9	26	2,2	1,4	0,2	4	1,5	0,9	0,4	4	0,95
20	*3,2	3,3	23	2	1,4	0,2	4	1,45	1,0	0,4	4	1,2
22	*3,6	3,8	21	2,4	1,5	0,3	4	1,45	0,9	0,3	4	1
24	*4,1	4,0	19	2,8	1,5	0,4	4	1,55	1,0	0,3	4	1,15
27	*4,0	3,9	18	2,9	1,6	0,4	4	1,65	0,9	0,3	4	1,1
29	*3,6	1,9	11	3	1,7	0,6	4	1,7	0,9	0,2	4	1,05
31	*4,4	2,7	10	4,15	1,9	0,8	4	1,9	1,0	0,4	4	1,2
34	*7,2	5,7	8	5,7	2,0	0,8	4	1,85	0,9	0,1	4	1
36	*7,7	5,5	8	5,95	2,0	0,9	4	1,9	0,8	0,3	4	0,85
38	*7,8	5,0	9	6,8	*1,9	1,1	4	1,75	0,9	0,3	4	1,05
41	*7,2	3,8	7	6,8	*1,9	1,0	4	1,65	0,9	0,2	4	1
43	*6,4	4,0	7	6,1	*2,1	1,3	4	1,75	0,8	0,3	4	0,95
45	5,9	2,8	6	9,6	1,7	0,8	4	1,5	0,9	0,3	4	1
48	5,5	2,7	6	5,15	1,6	0,5	4	1,45	0,9	0,2	4	1,05
50	*4,3	2,5	8	3,2	1,6	0,5	4	1,55	0,9	0,2	4	1,05
52	3,5	1,7	10	2,8	1,5	0,4	4	1,5	1,0	0,3	4	1,1
55	3,1	1,3	9	2,7	1,5	0,2	4	1,6	0,9	0,4	4	1,05
57	3,0	1,3	9	2,8	1,5	0,2	4	1,45	0,9	0,4	4	1
59	2,5	0,8	8	2,5	1,4	0,2	4	1,35	1,0	0,4	4	1,05
62	2,1	0,6	8	2,25	1,4	0,2	4	1,3	1,0	0,3	4	1,05
64	1,9	0,5	8	2	1,4	0,2	4	1,4	1,0	0,3	4	1,15

Dia 0 (zero): início do criptorquidismo para os coelhos experimentais

Dia 3: final do criptorquidismo para os coelhos experimentais

*: situação em que a média aritmética não é representativa

Gráfico V: Representação com base nos valores das medianas da porcentagem de espermatozóides portadores de anomalias no complexo DNA-proteína, identificados pelo método da metacromasia induzida com AT pH5

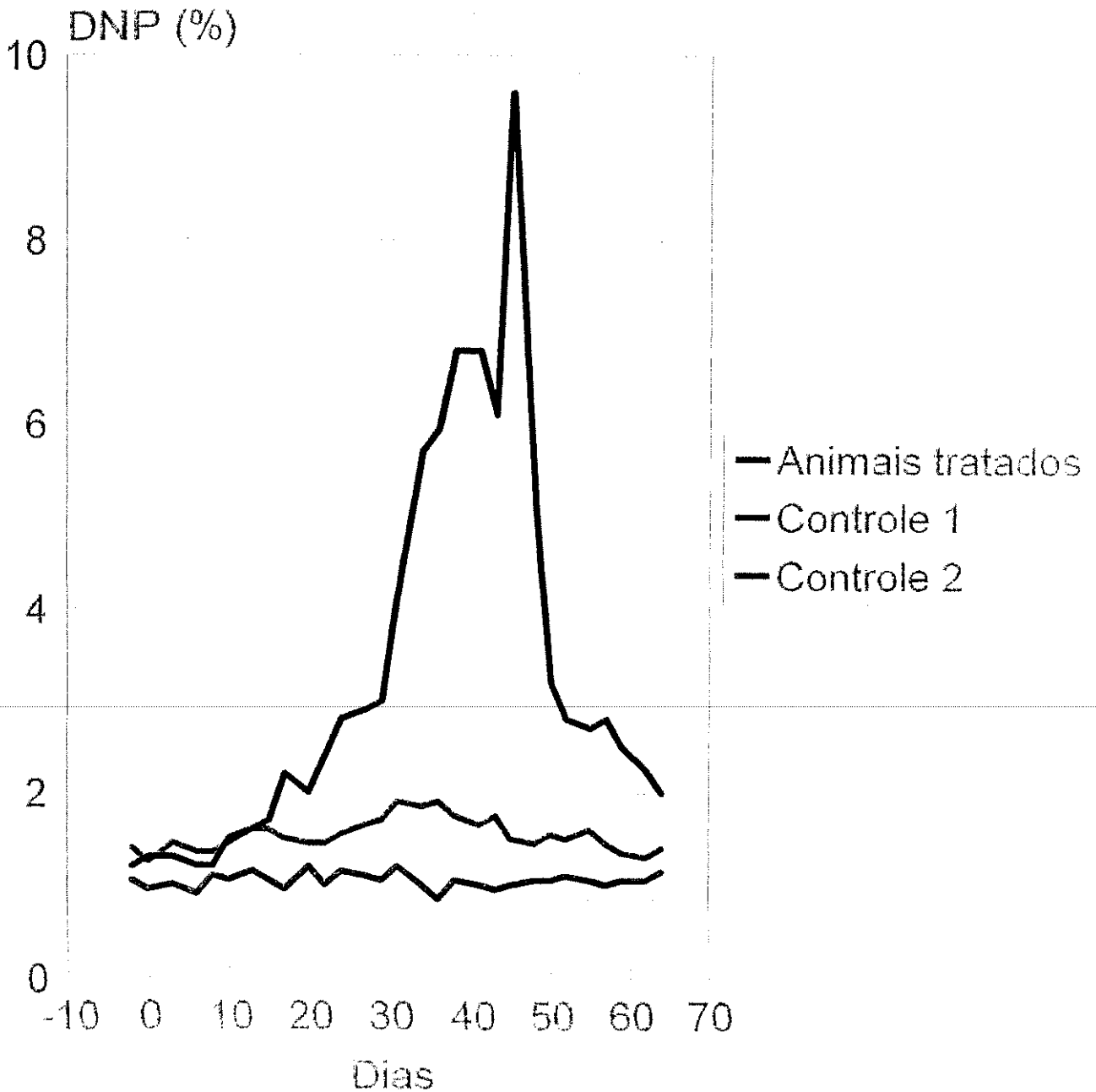


Tabela 7: Variação da média aritmética, desvio padrão e mediana da porcentagem de espermatozóides com anomalias no complexo DNA-proteína, identificados pelo método de Feulgen

Dia	Experimentais				Controle 1				Controle 2			
	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md
-2	1,5	0,6	32	1,4	1,4	0,3	4	1,45	1,0	0,3	4	1,1
0	1,4	0,5	32	1,35	1,3	0,5	4	1,15	0,9	0,3	4	1,05
3	1,4	0,2	32	1,4	1,4	0,3	4	1,35	0,9	0,4	4	1,05
6	1,4	0,4	30	1,4	1,4	0,1	4	1,4	1,1	0,3	4	1,15
8	1,5	0,4	30	1,5	1,3	0,3	4	1,3	0,9	0,3	4	1,05
10	1,6	0,4	28	1,6	1,4	0,3	4	1,45	1,0	0,3	4	1,1
13	1,8	0,6	28	1,65	1,4	0,2	4	1,4	0,9	0,3	4	1,1
15	2,1	1,1	26	1,8	1,3	0,2	4	1,35	0,9	0,3	4	1
17	*2,6	1,8	26	2,1	1,4	0,3	4	1,4	0,9	0,3	4	1,05
20	*3,1	3,3	23	2	1,5	0,2	4	1,45	1,0	0,4	4	1,1
22	*3,6	3,6	21	2,4	1,5	0,4	4	1,5	1,0	0,4	4	1,15
24	*4,2	4,0	19	2,7	1,5	0,4	4	1,45	1,0	0,4	4	1,2
27	*4,0	3,7	18	2,9	1,6	0,3	4	1,6	1,0	0,4	4	1,15
29	*3,7	1,9	11	3,3	1,8	0,6	4	1,65	1,0	0,4	4	1,2
31	*4,4	2,5	10	4,15	1,8	0,8	4	1,6	1,0	0,4	4	1,15
34	*7,2	5,6	8	5,8	1,9	0,8	4	1,75	0,8	0,3	4	0,95
36	*7,9	5,8	8	5,95	*1,9	1,0	4	1,8	0,9	0,4	4	1
38	*7,9	4,9	9	7,4	*2,1	1,2	4	1,8	0,9	0,2	4	1
41	*7,6	3,9	7	7,8	2,0	1,0	4	1,7	0,9	0,2	4	1
43	*6,4	3,9	7	6,1	1,9	0,9	4	1,6	0,9	0,3	4	1
45	5,9	2,8	6	5,7	1,7	0,8	4	1,5	1,0	0,3	4	1,15
48	5,6	2,4	6	5,5	1,6	0,6	4	1,45	0,9	0,2	4	1
50	*4,3	2,4	8	3,45	1,6	0,6	4	1,5	1,0	0,4	4	1,2
52	*3,5	1,8	10	2,9	1,5	0,5	4	1,5	0,9	0,3	4	1,05
55	3,2	1,3	9	2,7	1,5	0,5	4	1,45	1,0	0,3	4	1,1
57	3,0	1,4	9	2,6	1,5	0,3	4	1,45	1,0	0,3	4	1,05
59	2,6	0,9	8	2,45	1,4	0,4	4	1,3	1,0	0,3	4	1,1
62	2,3	0,7	8	2,4	1,3	0,2	4	1,35	0,9	0,2	4	1
64	2,1	0,5	8	2,35	1,4	0,5	4	1,4	1,0	0,2	4	1,15

Dia 0 (zero): início do criptorquidismo para os coelhos experimentais

Dia 3: final do criptorquidismo para os coelhos experimentais

*: situação em que a média aritmética não é representativa

Gráfico VI: Representação com base nos valores da medianas da porcentagem de espermatozóides portadores de anomalias no complexo DNA-proteína identificados pelo método de Feulgen

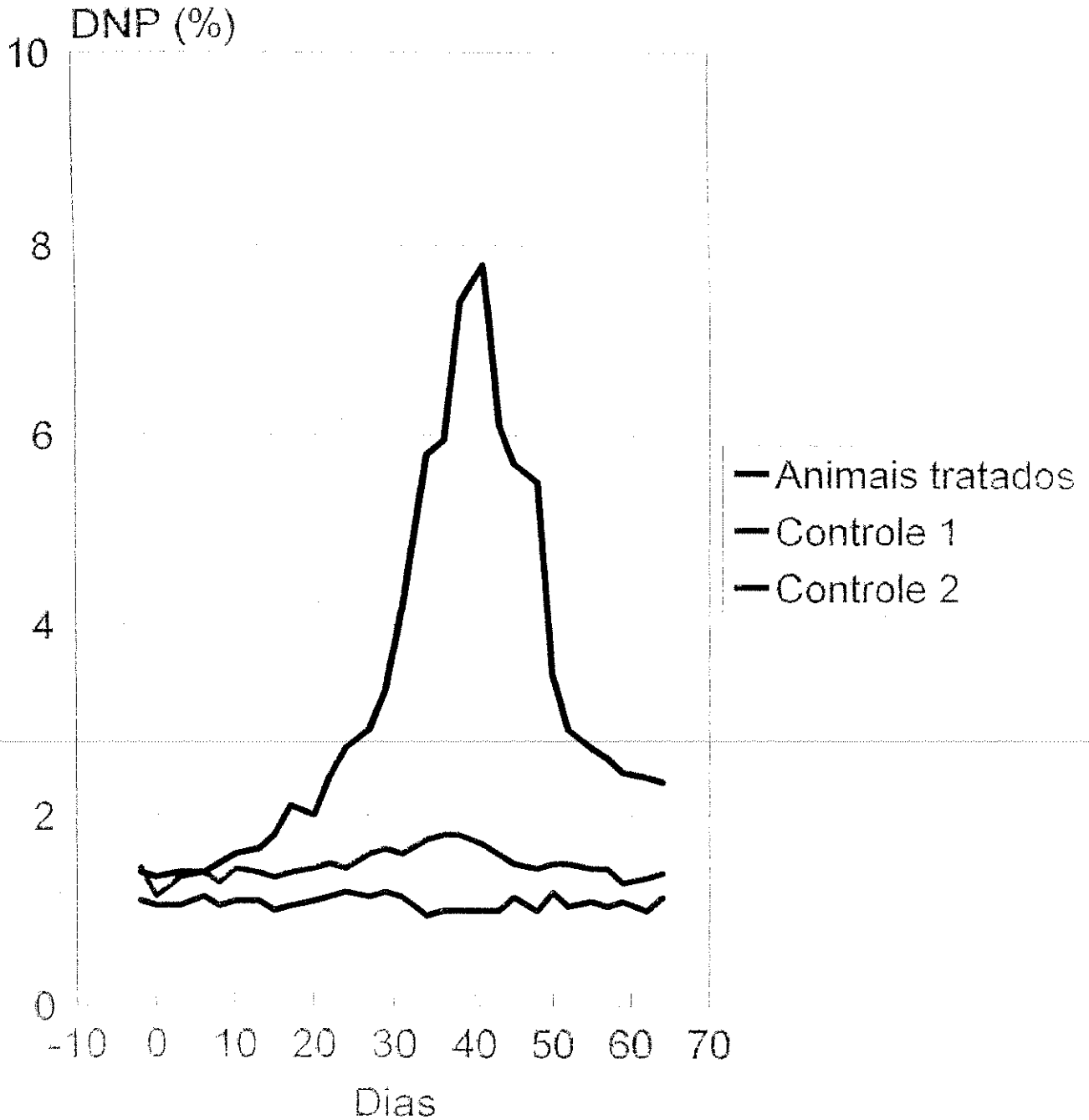


Tabela 8: Variação da média aritmética, desvio padrão e da mediana da porcentagem de espermatozóides com anomalias morfológicas de cabeça

Dia	Experimentais				Controle 1				Controle 2			
	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md
-2	4,2	1,3	32	4	3,9	0,8	4	3,75	3,1	0,8	4	3,25
0	3,5	1,1	32	3,5	4,1	0,5	4	4,25	3,5	0,9	4	3,5
3	3,9	1,1	33	3,5	3,7	1,0	4	3,5	3,6	0,8	4	3,75
6	4,3	1,4	30	4	3,7	0,3	4	3,75	3,5	0,4	4	3,5
8	5,0	1,5	30	4,75	3,5	0,9	4	3,5	3,5	0,7	4	3,25
10	5,7	2,1	28	5	4,5	0,6	4	4,5	3,2	1,2	4	3,25
13	6,1	2,2	28	6	3,9	1,2	4	3,75	3,5	0,7	4	3,75
15	6,5	2,0	26	6,5	4,0	1,5	4	3,75	3,1	0,6	4	3
17	7,5	3,1	26	6,75	4,2	1,8	4	4,25	3,5	0,4	4	3,5
20	8,1	3,7	23	7	4,1	1,2	4	3,5	3,2	0,6	4	3,25
22	*9,9	5,1	21	9	4,7	1,7	4	4,5	3,7	0,6	4	3,75
24	*12,5	6,8	19	10,5	6,0	2,9	4	5,5	3,5	1,1	4	3,25
27	*13,2	8,1	18	9	*5,6	4,1	4	5	3,5	0,7	4	3,75
29	12,8	6,3	11	12,5	*5,9	4,5	4	5	3,5	0,4	4	3,5
31	*12,8	6,6	10	6,5	*5,9	3,3	4	4,75	3,5	1,0	4	3
34	12,7	4,9	8	11	6,1	2,7	4	5,25	3,7	0,9	4	3,75
36	11,9	4,3	8	11	*6,0	3,2	4	5,25	3,1	0,5	4	3,25
38	10,0	3,0	9	10	*6,5	3,9	4	5,5	3,7	1,2	4	3,75
41	9,9	2,8	7	10	6,1	0,3	4	5,25	3,9	0,5	4	3,75
43	8,8	2,6	7	8,5	*5,7	3,2	4	4,5	3,9	0,6	4	4
45	7,7	1,3	6	7	5,1	2,4	4	5	3,5	0,7	4	3,25
48	7,1	1,1	6	7	4,5	1,2	4	4,75	3,7	0,6	4	3,75
50	5,7	1,3	8	5,75	4,7	2,0	4	4,25	3,6	0,5	4	3,75
52	5,2	1,1	10	5	4,6	0,6	4	4,5	3,6	1,0	4	3,75
55	5,0	0,6	9	5	4,6	0,6	4	4,5	3,7	0,5	4	4
57	5,1	1,0	9	5	4,9	0,8	4	4,75	3,9	0,6	4	4
59	4,8	1,6	8	5	3,9	0,5	4	3,75	3,2	0,9	4	3
62	5,1	0,7	8	5,5	3,9	0,7	4	4	3,6	0,2	4	3,5
64	4,9	1,2	8	5	4,1	0,5	4	4,25	3,7	0,9	4	3,75

Dia 0 (zero): início do criptorquidismo para os coelhos experimentais

Dia 3: final do criptorquidismo para os coelhos experimentais

*: situação em que a média aritmética não é representativa

Gráfico VIII: Representação com base nos valores das medianas da porcentagem de espermatozóides portadores de anomalias morfológicas de cauda

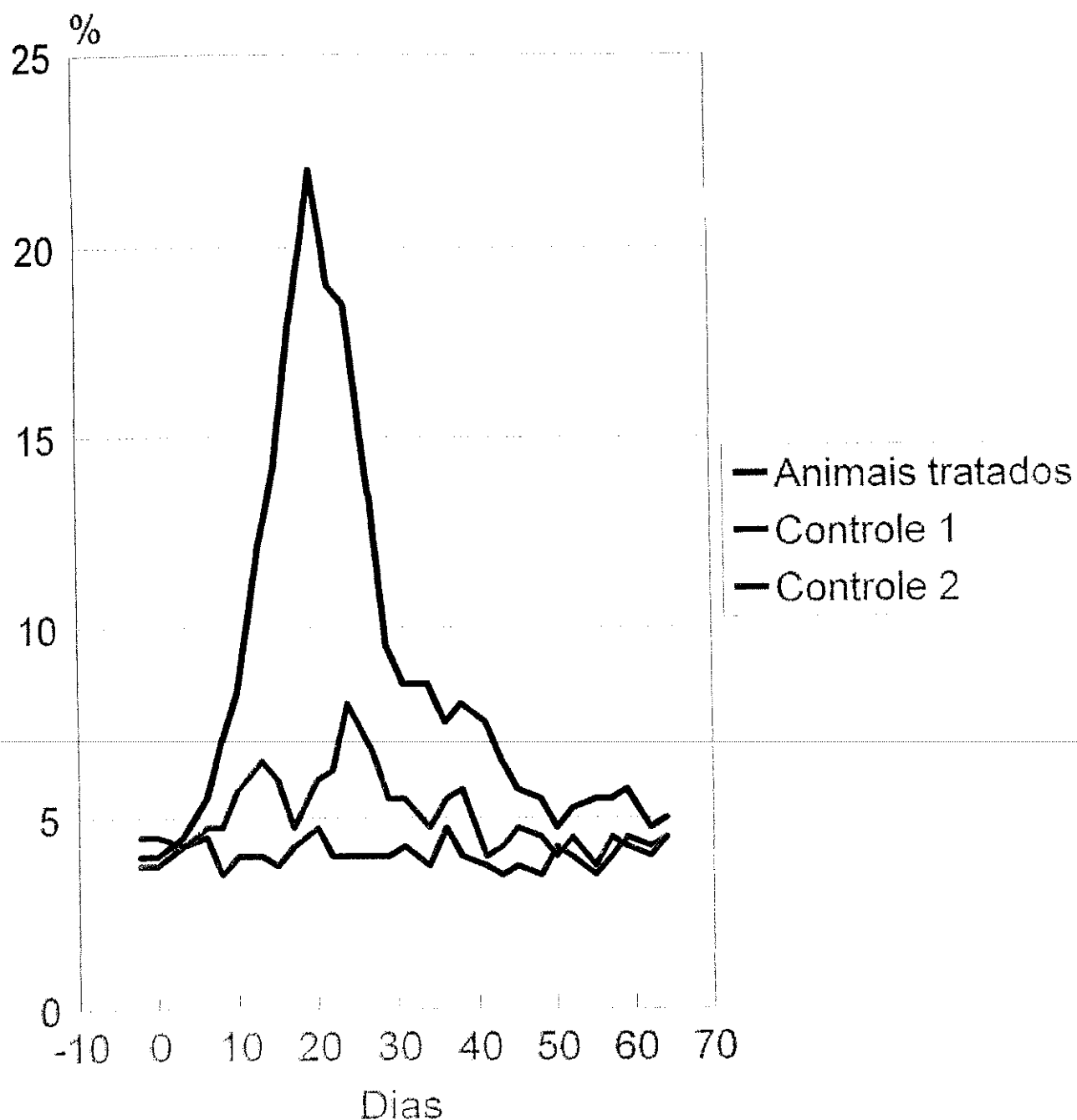


Tabela 9: Variação da média aritmética, desvio padrão e mediana da porcentagem de espermatozóides com anomalias morfológicas de cauda

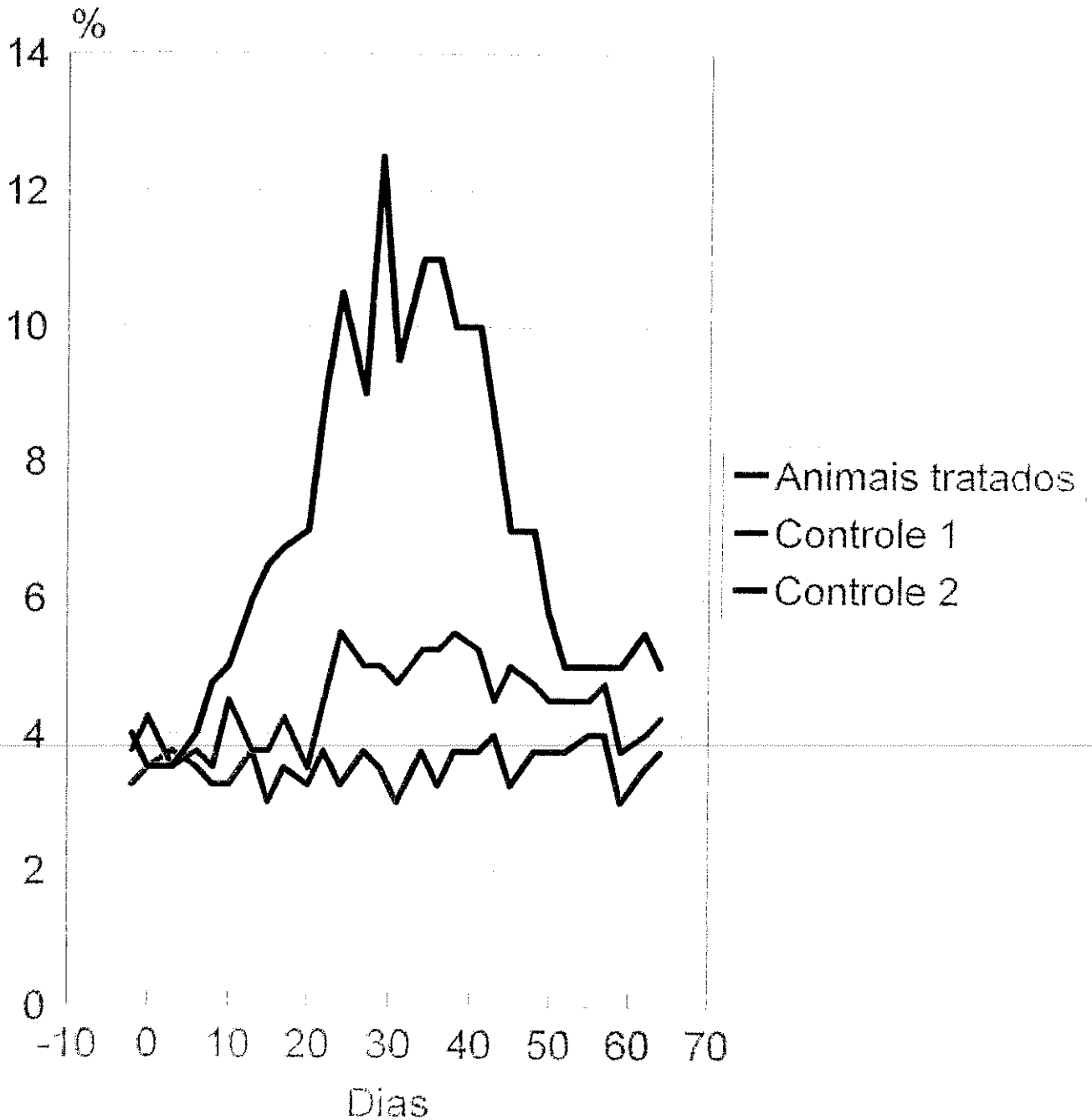
Dia	Experimentais				Controle 1				Controle 2			
	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md	$\bar{X}$	S	n	md
-2	4,2	1,4	32	4	4,0	1,4	4	4,5	4,0	0,7	4	3,75
0	4,2	1,4	32	4	4,6	1,0	4	4,5	3,7	0,6	4	3,75
3	4,8	1,5	32	4,5	4,5	1,9	4	4,25	4,1	0,8	4	4,25
6	6,2	3,0	30	5,5	*4,2	2,3	4	4,75	4,4	0,6	4	4,5
8	*8,7	5,6	30	7	*3,7	2,2	4	4,75	3,9	1,1	4	3,5
10	*11,2	7,9	28	8,25	5,2	2,2	4	4,75	3,9	0,6	4	4
13	*14,5	8,6	28	12,25	5,7	2,6	4	6,5	4,0	0,4	4	4
15	*17,1	9,1	26	14,25	5,5	1,8	4	6	3,7	0,9	4	3,75
17	*20,5	10,3	26	18	*5,2	3,5	4	4,75	4,2	0,6	4	4,25
20	22,8	9,5	23	22	*6,5	3,3	4	6	4,5	1,1	4	4,75
22	21,8	9,2	21	19	*5,7	3,6	4	6,25	3,9	0,6	4	4
24	*19,8	10,0	19	18,5	7,4	3,5	4	8	4,0	0,4	4	4
27	16,1	7,7	18	13,25	7,4	3,7	4	6,75	4,0	0,8	4	4
29	12,6	6,3	11	9,5	*5,9	3,2	4	5,5	4,2	0,5	4	4
31	*12,0	6,6	10	8,5	6,0	2,9	4	5,5	4,1	0,5	4	4,25
34	*11,8	6,0	8	8,5	4,5	1,1	4	4,75	4,0	0,7	4	3,75
36	*10,1	5,3	8	7,5	4,7	1,5	4	5,5	4,5	1,1	4	4,75
38	*10,4	5,4	9	8	5,0	1,7	4	5,75	4,2	0,9	4	4
41	*9,5	4,9	7	7,5	4,1	1,1	4	4	3,7	0,6	4	3,75
43	8,9	4,4	7	6,5	4,1	1,9	4	4,25	3,6	0,7	4	3,5
45	*7,7	4,0	6	5,75	4,5	0,7	4	4,75	3,9	0,5	4	3,75
48	6,6	2,7	6	5,5	4,0	1,3	4	4,5	3,7	0,9	4	3,5
50	5,8	1,8	8	4,75	3,6	1,5	4	4	4,2	0,6	4	4,25
52	5,5	1,5	10	5,25	4,5	0,9	4	4,5	4,1	0,2	4	4
55	6,3	2,4	9	5,5	3,6	0,5	4	3,75	3,7	1,3	4	3,5
57	5,6	1,6	9	5,5	4,5	0,8	4	4,5	4,0	0,4	4	4
59	5,7	1,5	8	5,75	4,5	1,1	4	4,25	4,7	0,9	4	4,5
62	4,9	0,9	8	4,75	3,6	0,9	4	4	4,4	0,5	4	4,25
64	4,7	1,8	8	5	4,2	0,9	4	4,5	4,6	0,6	4	4,5

Dia 0 (zero): início do criptorquidismo para os coelhos experimentais

Dia 3: final do criptorquidismo para os coelhos experimentais

*: situação em que a média aritmética não é representativa

Gráfico VII: Representação com base nos valores das medianas da porcentagem de espermatozóides portadores de anomalias morfológicas de cabeça



4.2. Estrutura e ultraestrutura

Quanto aos aspectos morfológicos evidenciados em cortes histológicos corados com hematoxilina/eosina, os resultados acham-se salientados nas figuras 7 a 15. Verificou-se que logo após o aumento transitório da temperatura testicular (dia 3), o epitélio germinativo da maioria dos túbulos seminíferos já se apresentava em degeneração, incompleto, com a presença de células gigantes multinucleadas e mononucleadas (Fig.10) e de células arredondadas com restos de núcleos ou anucleadas (Fig.9). Muitos túbulos seminíferos possuíam apenas as espermatogônias aparentemente íntegras, estando as demais células germinativas degeneradas ou ausentes (Fig.9 e 10). Nesta fase o epidídimo apresentou-se sem conteúdo espermático no lume ou com alguns poucos espermatozóides aparentemente normais, principalmente na cauda do epidídimo.

Por volta do 8º dia (5º dia após interrupção do criptorquidismo) o epitélio germinativo apresentava-se semelhante ao 3º e o epidídimo continha células germinativas com morfologia aparentemente normal ou totalmente alterada (Fig. 11). A partir do 18º dia o epitélio germinativo já demonstrava sinais de regeneração e no 28º dia apresentou tendência a se normalizar (Fig. 12)

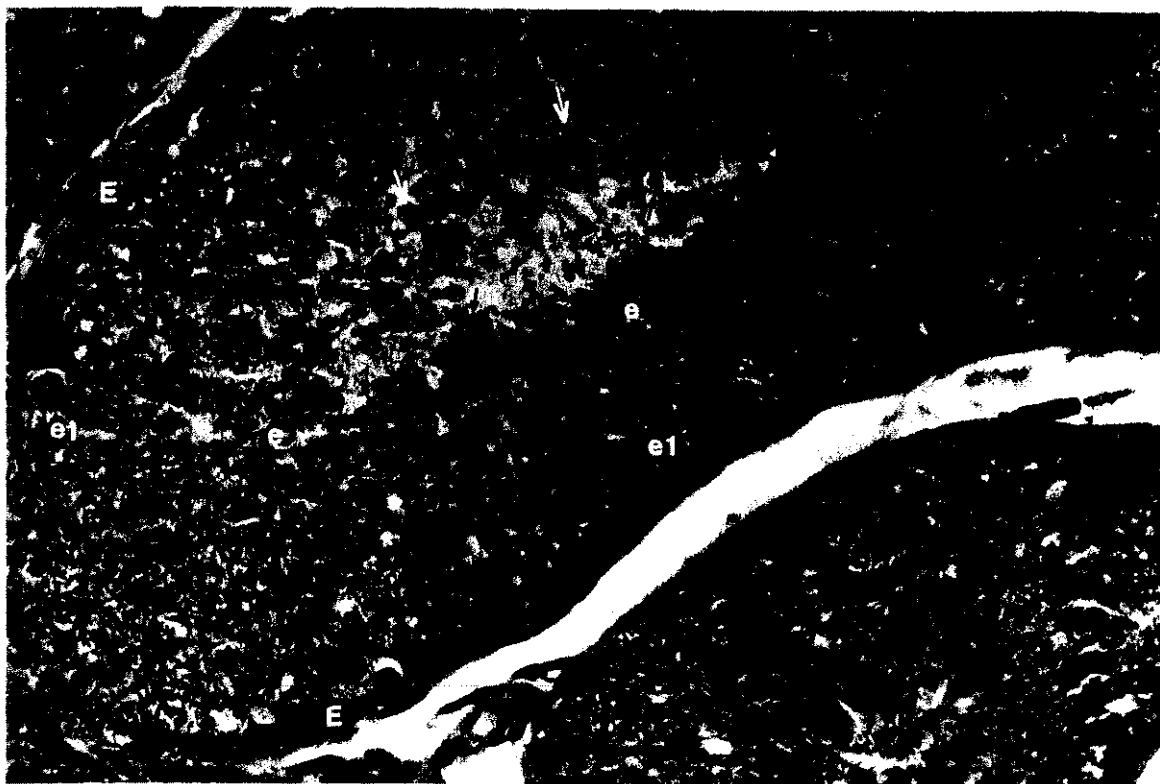


Fig. 7: Corte do testículo do coelho 2 castrado no dia 0 com aspecto normal (seta preta: cabeça de espermatozóide; seta branca: corpúsculo residual; E: espermatogônia; e1: espermátócito I; e: espermátide. Hematoxilina/eosina. 240x.

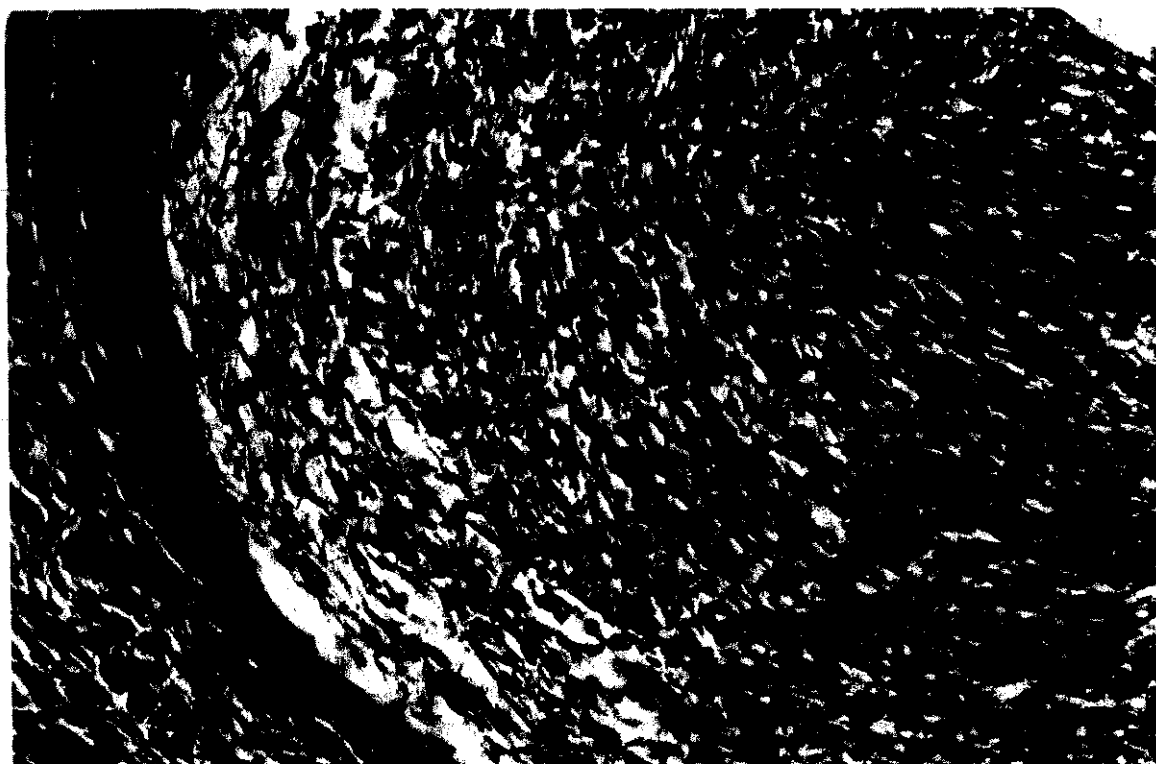


Fig. 8: Corte do epidídimo do coelho 1 castrado no dia 0 com aspecto normal, repleto de sepermatozóides (e). Hematoxilina/eosina. 300x.

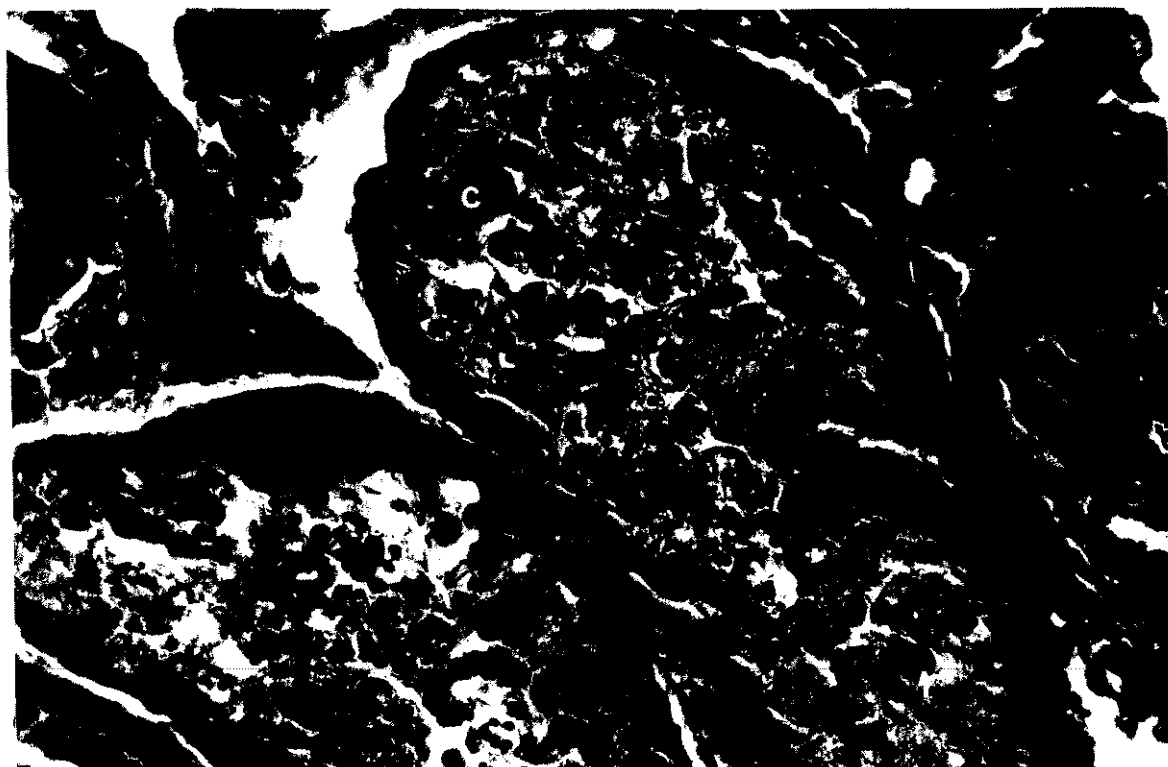


Fig. 9: Corte do testículo do coelho 3 castrado no dia 3 apresentando o epitélio germinativo degenerado com células multinucleadas (seta preta) resíduos de citoplasma (seta branca) e células com núcleos degenerados (c). Hematoxilina/eosina. 300x



Fig. 10: Corte do testículo do coelho 7 castrado no dia 13 apresentando o epitélio germinativo degenerado com célula gigante mononucleada (seta). Hematoxilina/eosina. 300x



Fig. 11: Corte do epidídimo do coelho 7 castrado no dia 13 apresentando células germinativas degeneradas (seta). Hematoxilina/eosina. 300x

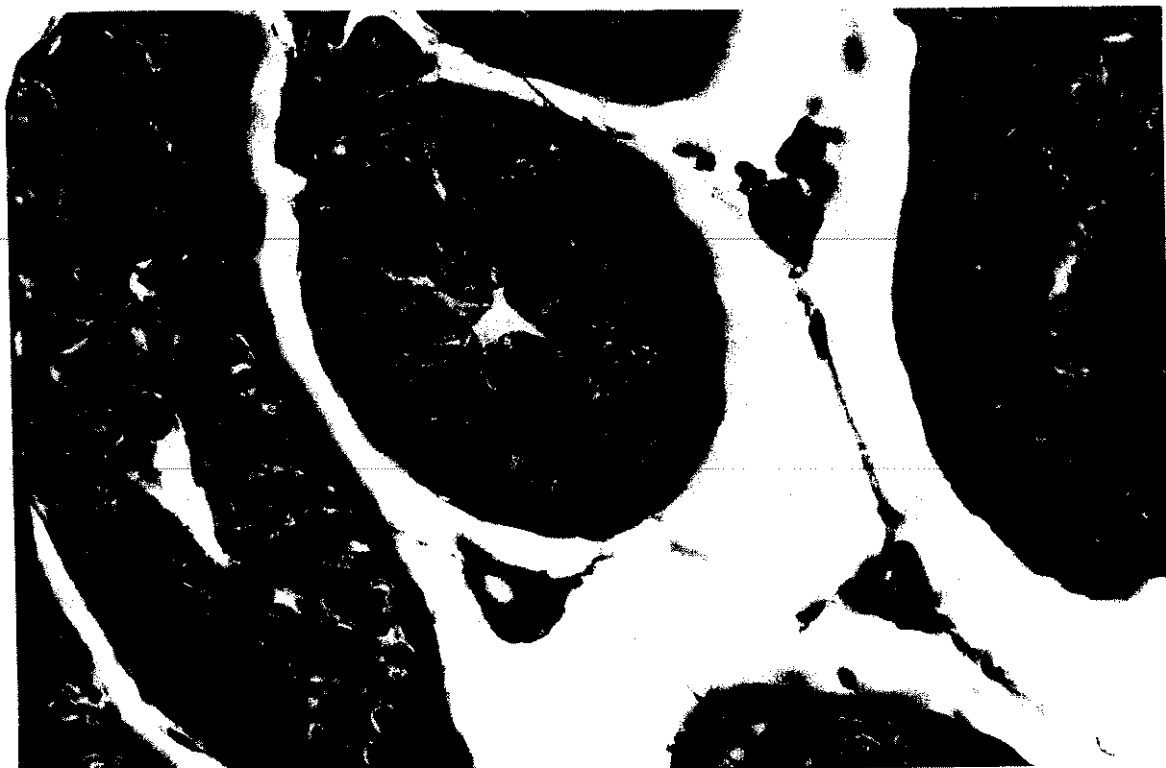


Fig. 12: Corte do testículo do coelho 13 castrado no dia 28 apresentando epitélio germinativo tendendo a normalidade, mas incompleto. Hematoxilina/eosina. 300x.

No 33º dia houve uma tendência à normalização do epitélio germinativo em quase todos os animais (Fig. 13), mas um animal ainda apresentava muitos sinais de degeneração. O epidídimo nesta fase apresentava algumas células do epitélio germinativo e pouquíssimos espermatozóides (Fig.14).

Ao final do experimento os testículos da maioria dos animais apresentavam epitélio germinativo aparentemente normal, porém alguns animais ainda apresentavam células degeneradas, apesar de já possuírem uma quantidade razoável de espermatozóides e espermátides em estágios finais (Fig. 15). Nesta fase o conteúdo dos epidídimos variou muito para cada animal, apresentando-se repleto de espermatozóides em alguns casos e pouquíssimos espermatozóides acompanhados de muitas células degeneradas em outros.

Os cortes histológicos corados com azul de toluidina pH4/eosina não possibilitaram observações de outras alterações além das já observadas em HE. No entanto, foi possível observar a diferença entre os corpúsculos residuais, que se mostraram altamente basófilos, e as anteriormente denominadas células arredondadas anucleadas, vistas como grandes massas acidófilas (Fig. 16 e 17).

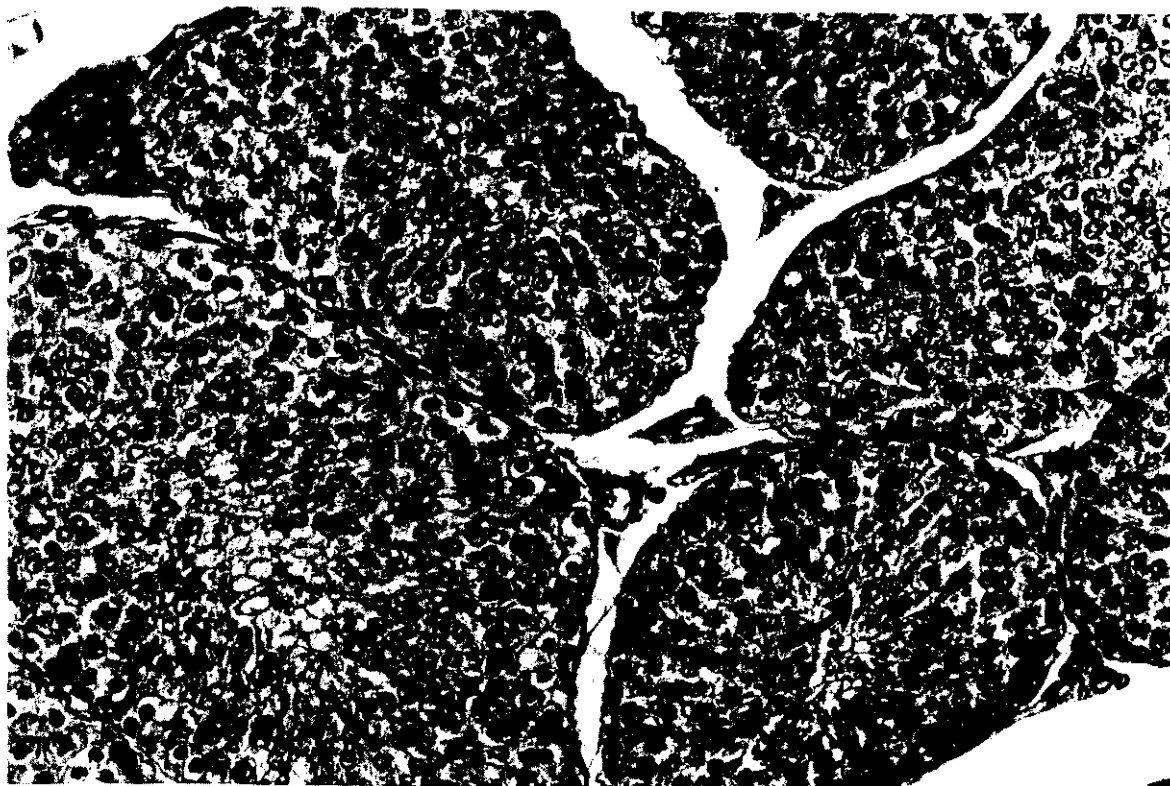


Fig 13: Corte do testículo do coelho 15 orquiectomizado no dia 33 apresentando epitélio germinativo tendendo a normalidade, já com presença de espermátides em estágio final de maturação (seta). Hematoxilina/eosina. 240x.



Fig. 14: Corte do epidídimo do coelho 16 orquiectomizado no dia 33, apresentando alguns poucos espermatozóides (setas preta) entre células germinativas descamadas e corpúsculos residuais. Hematoxilina/eosina. 300x.

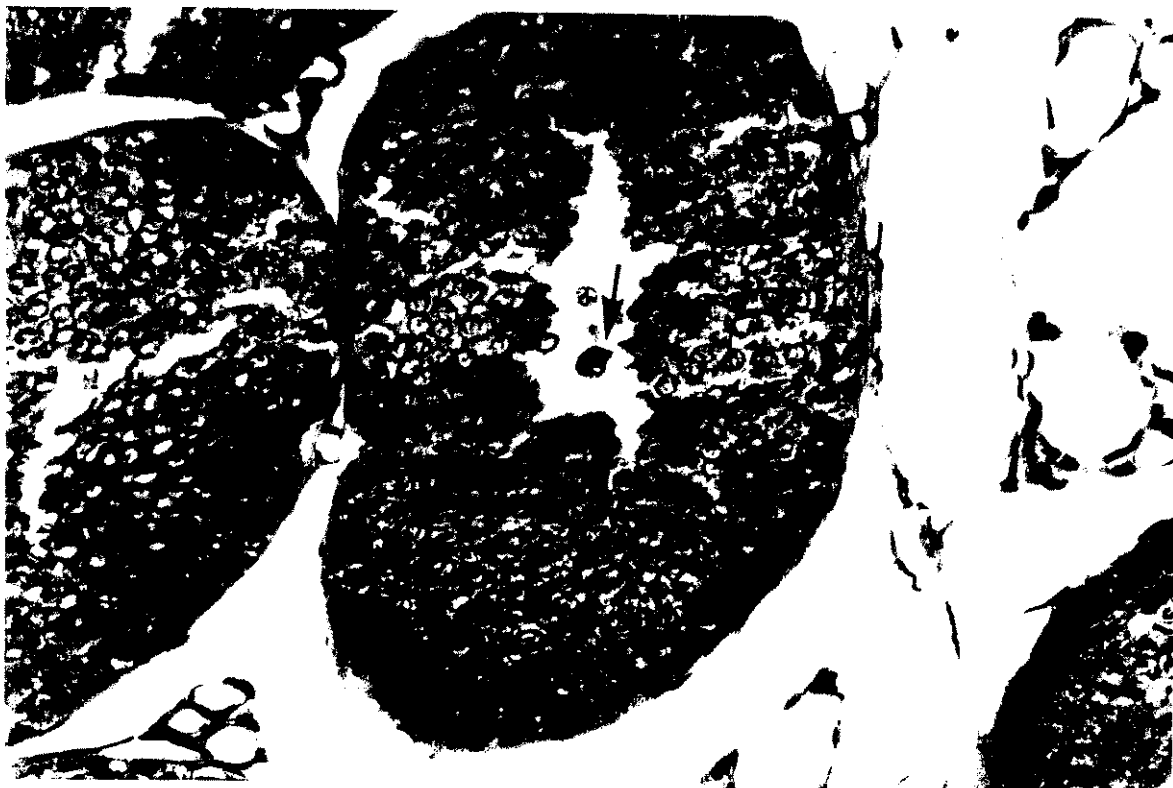


Fig 15: Corte do testículo do coelho 33 orquiectomizado no dia 64 apresentando epitélio germinativo tendendo a normalidade, com presença de células degeneradas (seta). Hematoxilina/eosina. 240x

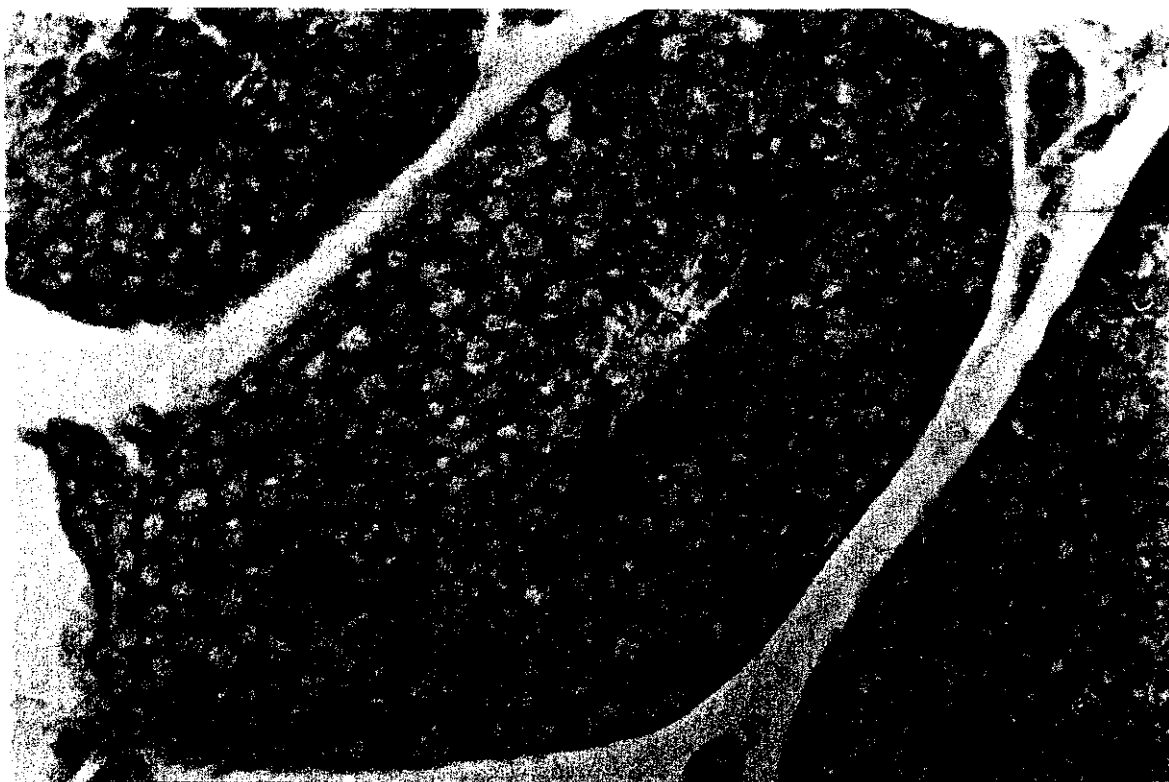


Fig. 16: Corte do testículo do coelho 2 orquiectomizado no dia 0 com aspecto normal e os corpúsculos residuais basófilos. Azul de toluidina/eosina. 240x



Fig. 17: Corte do testículo do coelho 3 orquiectomizado no dia 3 apresentando o epitélio germinativo degenerado com resíduos de citoplasma (seta). Azul de toluidina/eosina.

300x.

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) mostrou uma degeneração semelhante à descrita para as células observadas em microscopia óptica, no entanto, não foram observadas células gigantes mononucleadas, mas sim apenas multinucleadas (Fig. 18).

Analisando as eletromicrografias, ficou claro que a principal consequência do criptorquidismo experimental por três dias foi o desaparecimento das junções entre células de Sertoli e células germinativas (especialização ectoplásmica), levando a uma liberação destas últimas na luz do túbulo seminífero (Fig. 19). Contudo, as zônulas de oclusão entre células de Sertoli continuaram íntegras e as espermatogônias não foram aparentemente afetadas ao longo de todo o experimento (Figs. 20 e 21). As células germinativas soltas geralmente apresentaram sinais evidentes de degeneração, variando de vacuolização do citoplasma até rompimento de organelas de maneira geral (Figs. 22 e 23).

Os espermatozóides dos animais tratados geralmente apresentaram núcleos altamente deformados com vários padrões de compactação de cromatina.(Fig 23). Os espermatozóides com morfologia aparentemente normal, geralmente não apresentaram alterações perceptíveis na cromatina quando observados em MET, no entanto espermatozóides morfológicamente anômalos apresentaram-se frequentemente com alterações na compactação da cromatina (Fig.25).

As células multinucleadas geralmente possuíam características de espermatídes como por exemplo acúmulo de mitocôndrias em um polo celular, resquícios do acrossomo em formação (Fig. 19) e mesmo várias caudas em formação em uma mesma espermatíde (Fig. 24). Foram também observadas estruturas que aparentemente eram células gigantes porém em alto grau de degeneração (Fig. 26).

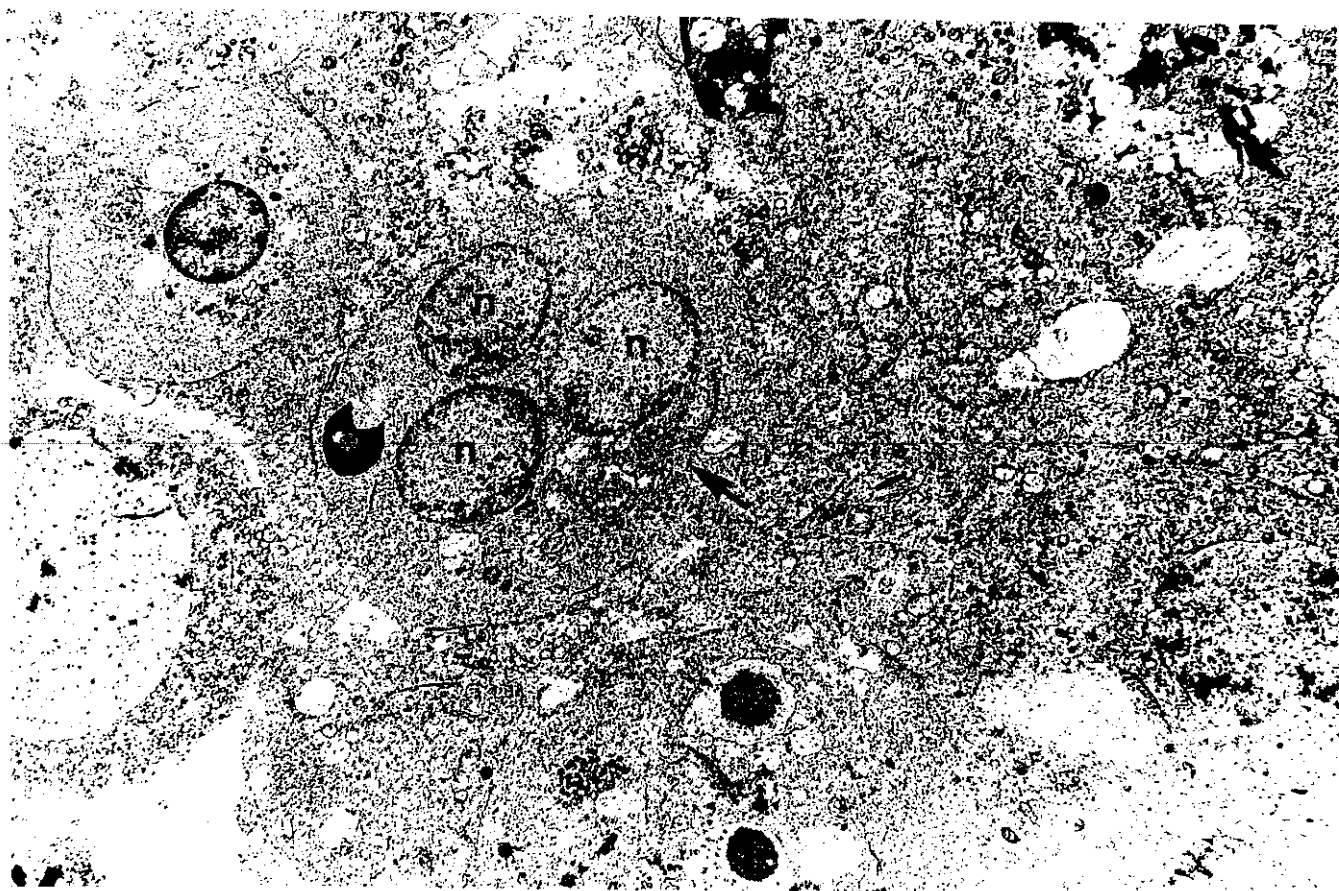


Fig. 18: Eletromicrografia do testículo do coelho 4 castrado logo após o tratamento mostrando espermatíde em degeneração com três núcleos (n) e resquício de ponte citoplasmática (seta). 8600x.

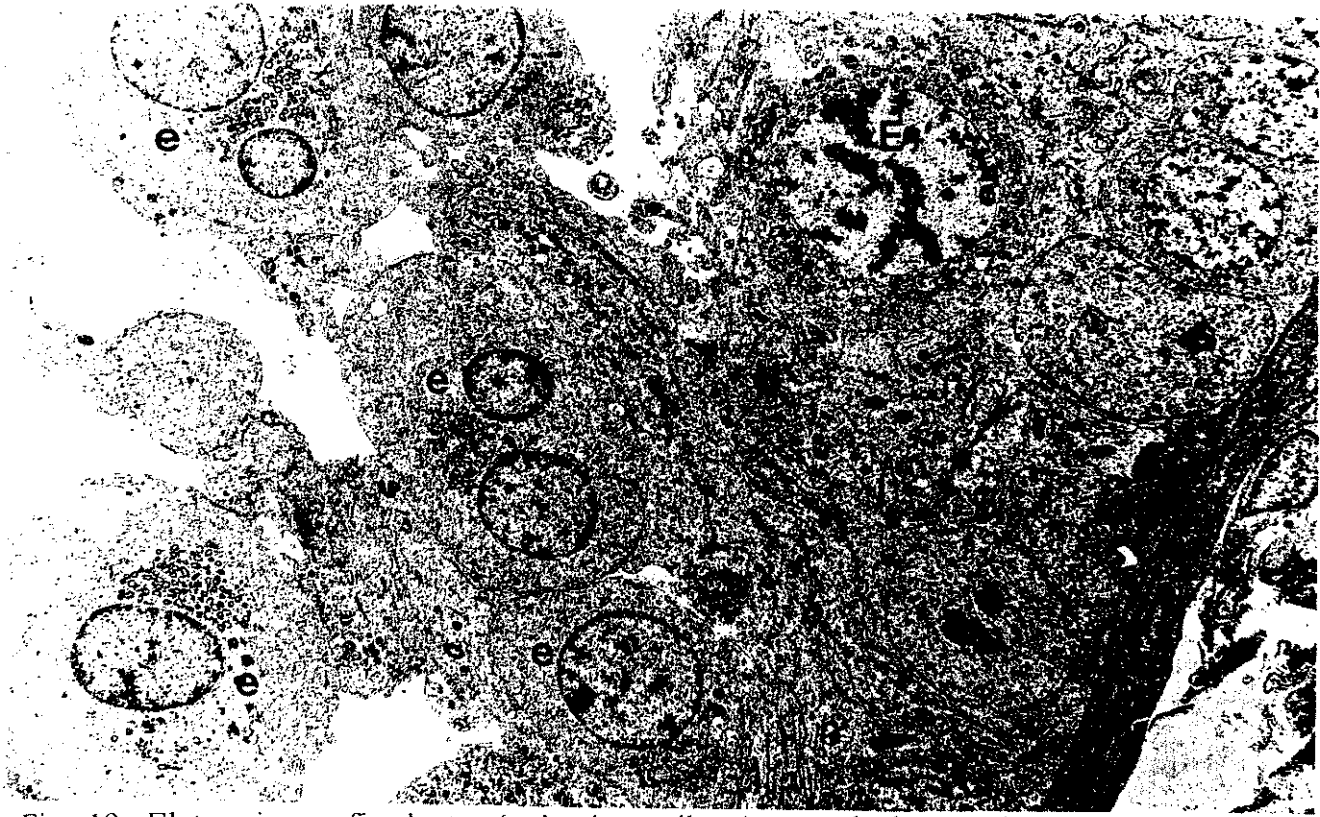


Fig. 19: Eletromicrografia do testículo do coelho 4 castrado logo após o tratamento mostrando células do compartimento apical do túbulo seminífero soltando-se (e= espermátide, E= espermatócito I). 8400x.

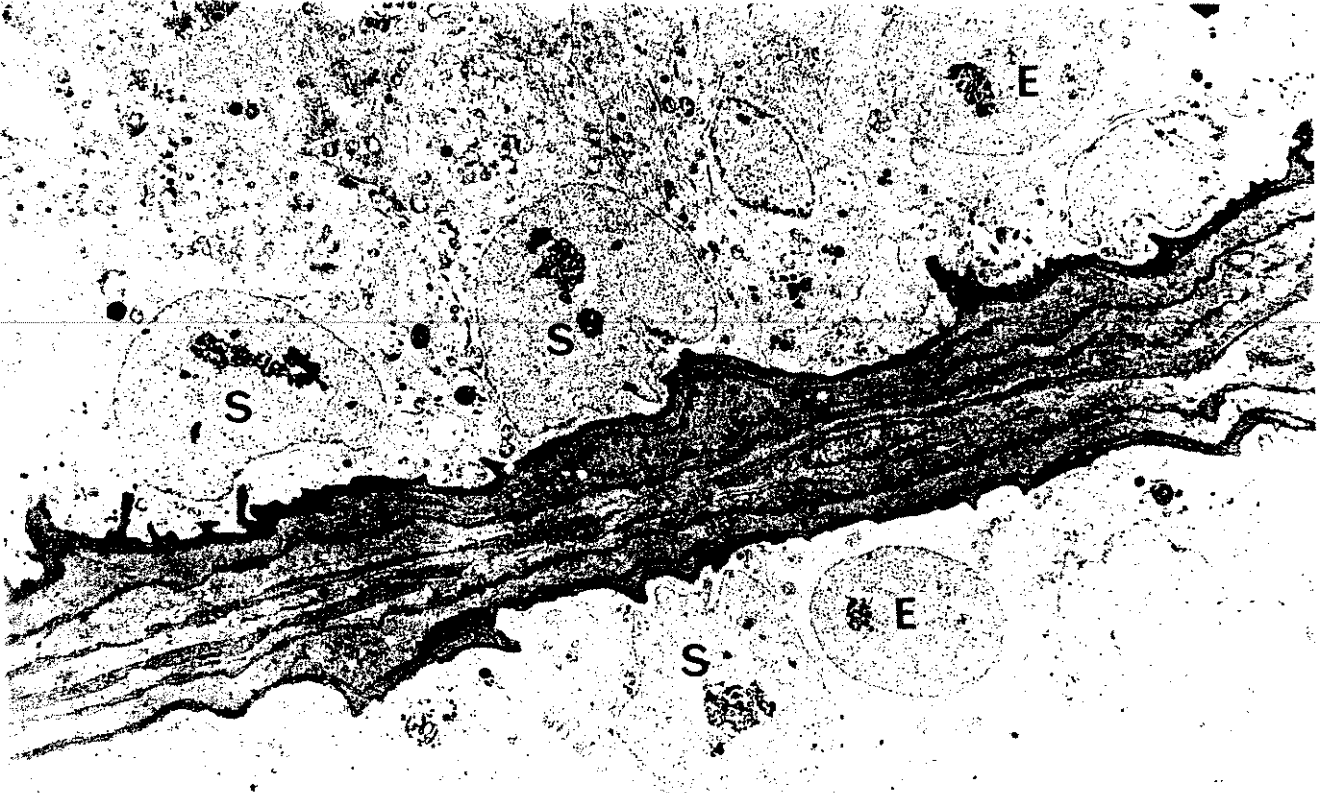


Fig. 20: Eletromicrografia do testículo do coelho 8 castrado 10 dias após o tratamento mostrando apenas as células do compartimento basal do túbulo seminífero (E = espermatogônia, S = Célula de Sertoli). 7800x.

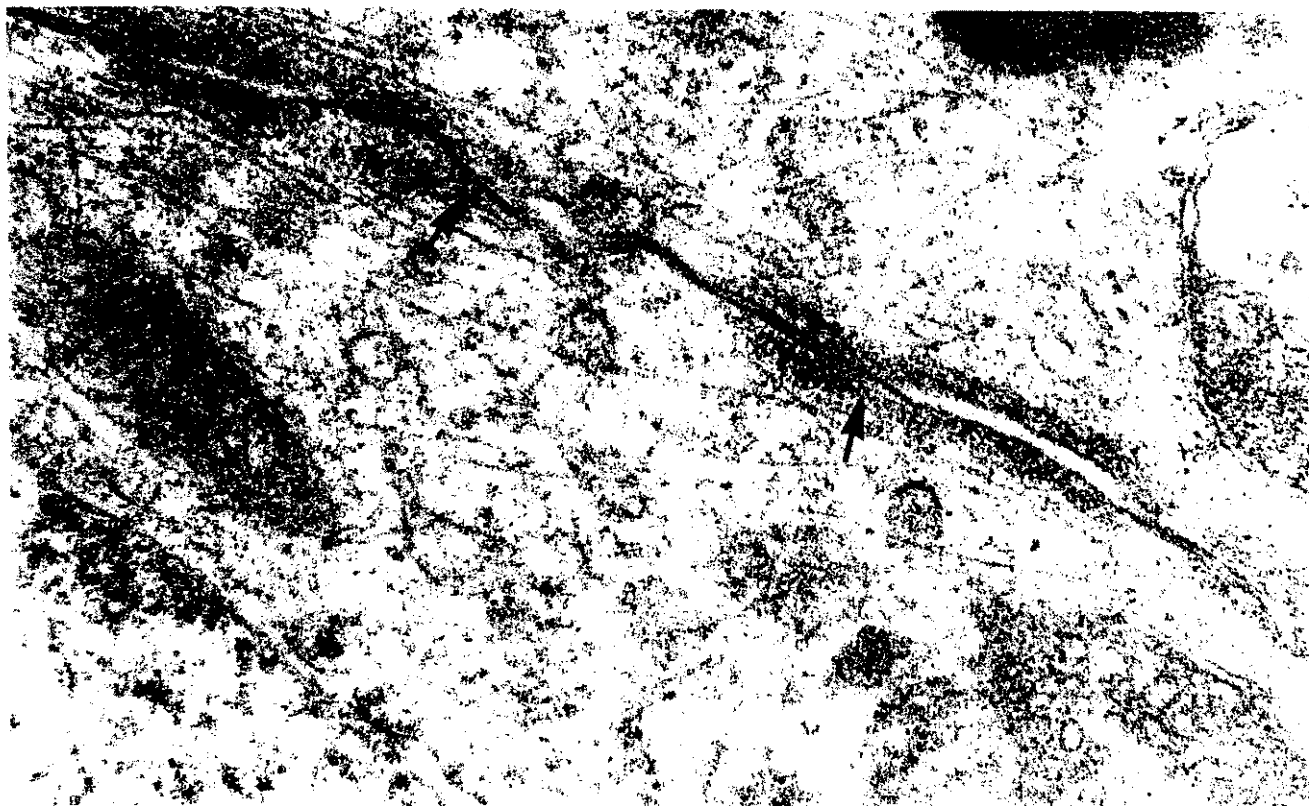


Fig. 21: Eletromicrografia do testículo do coelho 8 castrado 10 dias após o tratamento mostrando que as junções entre células de Sertoli (seta) permaneceram aparentemente integras. 260.000x.

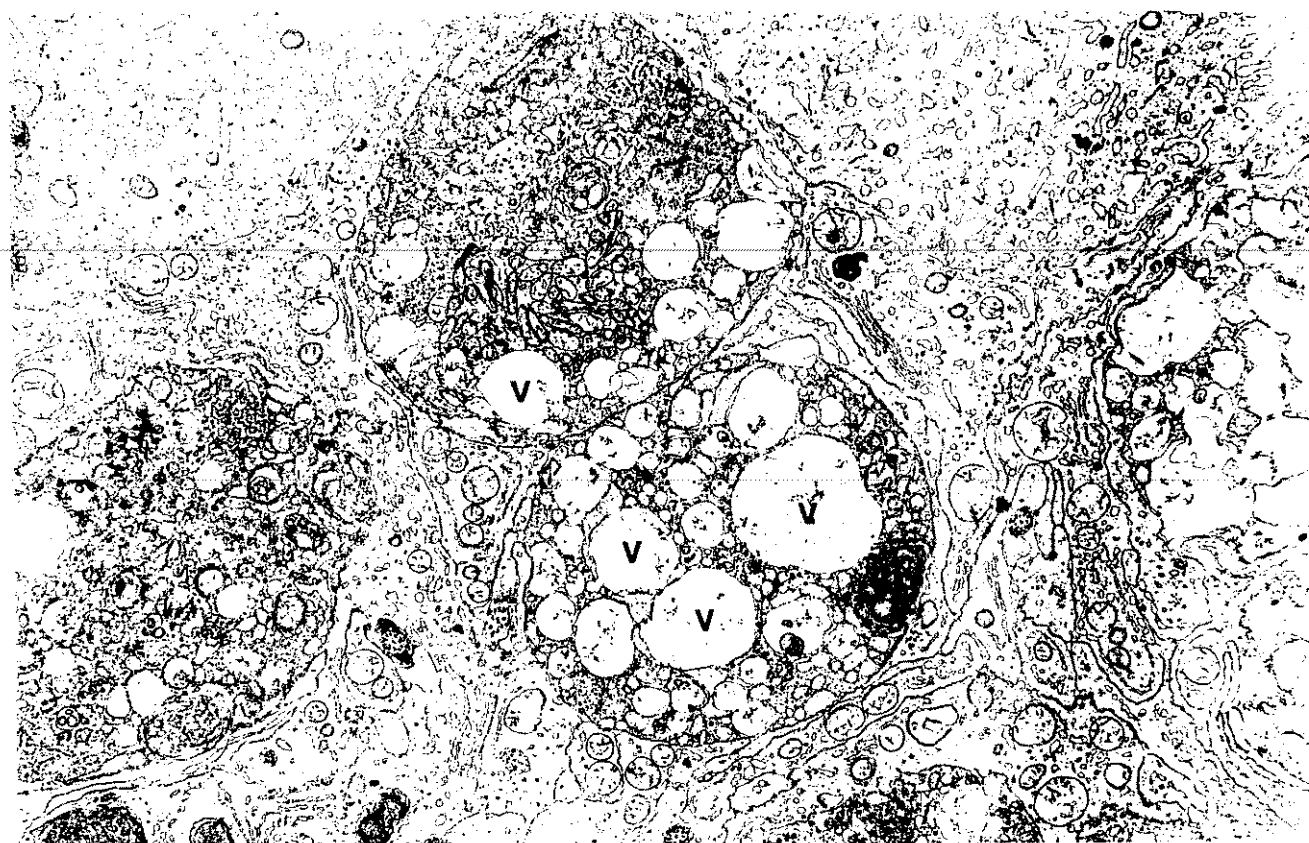


Fig. 22: Eletromicrografia do testículo do coelho 4 castrado logo após o tratamento mostrando células repletas de vacúolos (v) e com organelas degeneradas. 23.200x



Fig. 23: Eletromicrografia do testículo do coelho 4 castrado logo após o tratamento mostrando espermátides com núcleos (n) de várias formas e padrões de compactação de cromatina. 61.300x.



Fig. 24: Eletromicrografia do testículo do coelho 6 castrado 5 dias após o tratamento mostrando corte transversal da região da cauda do espermatozóide evidenciando tres axonemas em uma mesma célula. 50.400x

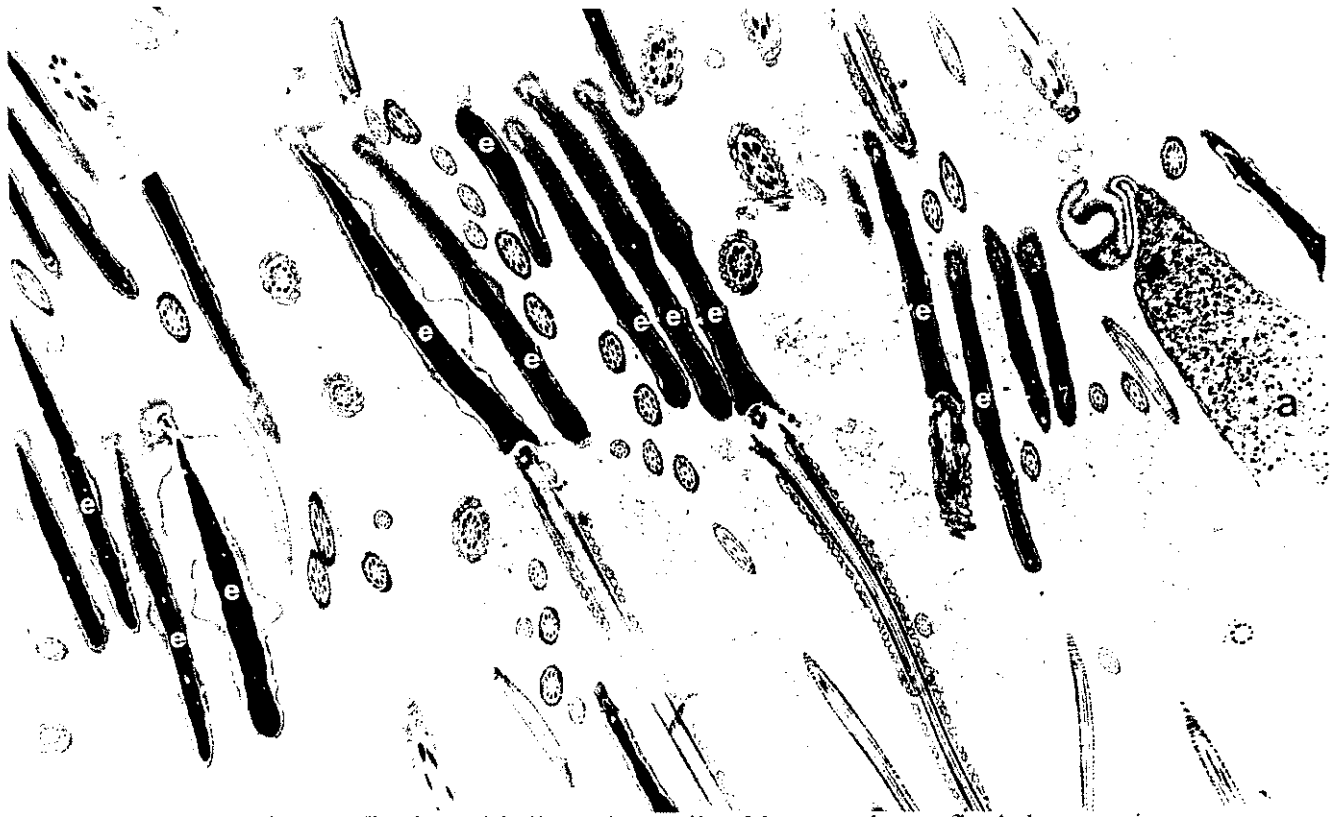


Fig. 25: Eletromicrografia do epidídimo do coelho 30 castrado ao final do experimento, mostrando grande quantidade de espermatozóides com cromatina condensada (e) e um espermatozóide morfológicamente anormal e cromatida mais frouxa (a). 21.500x.

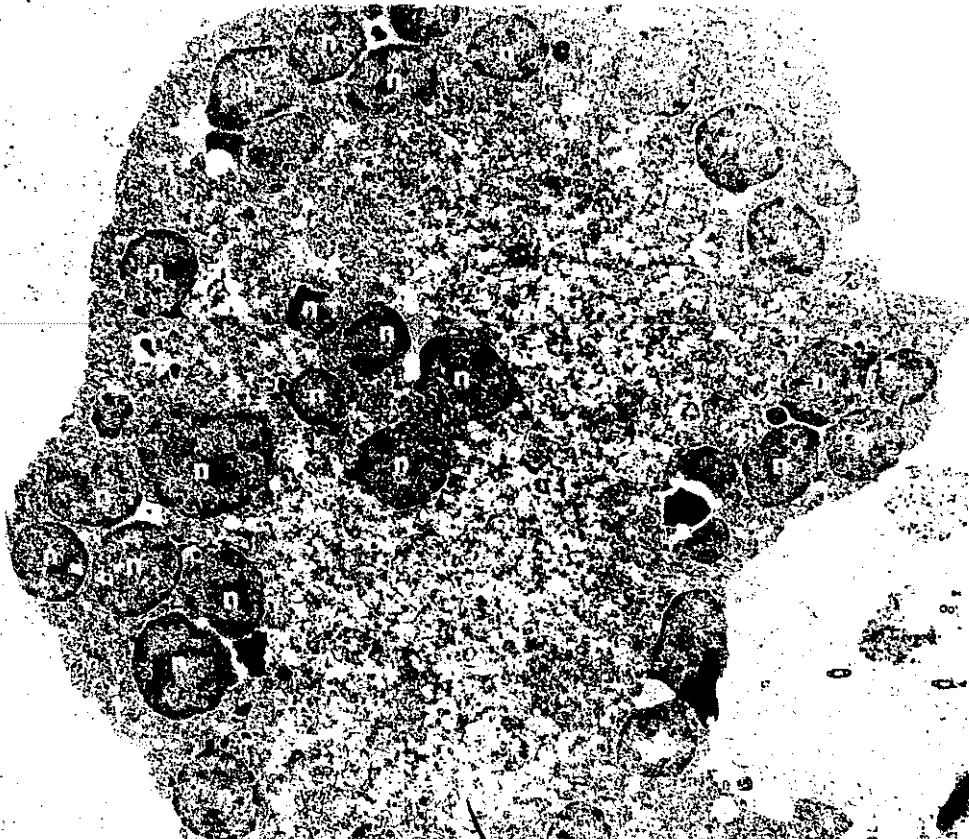


Fig. 26: Eletromicrografia do testículo do coelho 6 castrado 5 dias após o tratamento mostrando uma grande massa de citoplasma intensamente degenerada e com presença de vários núcleos (n). 9700x.

5-DISCUSSÃO

Os animais tanto controles como experimentais exibiam no tempo zero valores considerados normais em termos de vigor, motilidade e concentração do sêmen segundo MIES Fo. (1975), HAFEZ (1988), SILVA e colaboradores (1992) e FAUSTO e colaboradores (1994). Quanto aos dados para anomalias dos complexos DNA-proteína no tempo zero são simplesmente admitidos como padrão controle, por não existirem registros comparativos.

Os dados do presente trabalho indicam que o criptorquidismo experimental por 3 dias induz alterações na qualidade do sêmen em coelhos. Estas alterações referem-se a decréscimos no vigor, motilidade e concentração de espermatozóides e aumentos em patologias de cabeça e cauda e em anomalias nos complexos DNA-proteína dos espermatozóides.

Foram constatadas variações individuais ao longo do tempo no que se refere à resposta à elevação da temperatura testicular. Nos controles alguma variabilidade nos valores dos parâmetros pôde ser verificada em dois animais, porém em menor intensidade. Estes dados foram apresentados para demonstrar que alguma outra condição de “stress” não detectável na ocasião do experimento pode também interferir nos resultados.

As primeiras alterações verificadas, 3 a 5 dias após reversão do criptorquidismo em coelhos, envolvem os parâmetros seminais acima mencionados, à exceção das anomalias nos complexos DNA-proteína. Estas alterações passam a ser encontradas somente 10 ou mais dias após o período de criptorquidismo, não sendo muito elevadas em alguns animais, mas podendo atingir até 20 vezes os valores detectáveis antes do procedimento experimental.

No presente estudo foi demonstrado que parte dos animais podem apresentar um período de aspermia, de extensão variável de até 33 dias, seguido por recuperação, detectável quando o período de observação é mais longo.

Para um tempo de observação de até 61 dias após interrupção do criptorquidismo, alguns dos parâmetros seminais em coelhos retornam aos seus respectivos valores considerados normais, o que não acontece com a concentração espermática. Provavelmente, após um período de recuperação maior do que o estudado, a concentração deve retornar a valores normais, visto que aparentemente as espermatogônias não foram afetadas.

MUCCILO e colaboradores (1974), efetuando o mesmo tipo de estudo experimental em carneiros, obtiveram um quadro de baixíssima concentração espermática logo no 10º dia após insulação escrotal de 4 dias e

início da recuperação por volta do 20º dia. Da mesma maneira a motilidade dos espermatozoides chegou a zero no 10º dia, iniciando sua recuperação por volta do 18º dia. Já BARTH (1993), após 4 dias de insulação escrotal em touros, não chegou a obter uma redução tão significativa da concentração de espermatozoides, o mesmo tendo ocorrido no experimento de VOGLER e colaboradores (1993), após insulação escrotal de 48 horas na mesma espécie. Estes dados demonstram que, pelo menos quanto aos parâmetros motilidade e concentração de espermatozoides e em termos de recuperação do “stress”, os coelhos são mais lentos do que carneiros e touros.

Quanto à frequência das patologias de cabeça e cauda, foram elas rapidamente afetadas com o criptorquidismo experimental em coelhos, sendo atingidos após o “stress” valores máximos em 21-28 dias e 17 dias, respectivamente, onde o aumento na taxa de patologias de cauda foi muito mais intenso do que o de patologias de cabeça. Entre 50 e 60 dias após interrupção do criptorquidismo os valores de ambas patologias já haviam se normalizado. Estes dados também diferiram em comparação a descrições para bovinos (BARTH, 1993; VOGLER et al., 1993). Nestes, a insulação escrotal por 4 dias, é relatada como indutora de aumento de patologias de cauda que se iniciaria logo após a insulação, atingindo pico em 12 dias. O aumento na taxa de patologias de cabeça se iniciariam no 12º dia após o

início do tratamento e com pico máximo no 22º dia, sendo que no 37º dia estariam praticamente normalizadas (BARTH, 1993).

VOGLER e colaboradores (1993) também analisando sêmen de bovinos submetidos às mesmas condições constataram o início de aumento de patologias de cabeça e cauda somente no 9º dia após o início do tratamento, sendo que as patologias de cabeça atingiriam o pico no 18º dia e as de cauda no 24º dia. Por volta do 34º dia ambas as patologias já possuíam uma tendência a se normalizar

Embora apresentem pequenas diferenças entre si, os dados tanto de BARTH (1993) como de VOGLER e colaboradores (1993) salientam maior incidência de patologias de cabeça em relação às de cauda, diferentemente dos dados obtidos neste trabalho.

FAUSTO et al. (1994) submetendo coelhos a “stress” térmico contínuo por 2 meses, obtiveram um aumento máximo de patologias morfológicas de cabeça e cauda após 4 semanas de tratamento, sendo que a incidência de patologias de cauda foi maior do que a de patologias de cabeça, assim como neste trabalho.

Pode-se assim concluir que frente à elevação da temperatura testicular predominam em espermatozóides de coelhos as patologias de

cauda, enquanto em espermatozóides de touro predominam as patologias de cabeça.

Com respeito às alterações em anomalias no complexo DNA-proteína de espermatozóides de coelho induzidas pelo “stress” térmico é importante salientar que nem todos os animais apresentaram uma grande elevação na taxa destas anomalias após o tratamento e ao final do experimento os níveis normais haviam sido recuperados. A insulação escrotal em touros tem também revelado uma variação significativa deste tipo de patologia, quando, de 4 animais apenas um exibiu aumento da taxa a partir do 16º dia após o início do tratamento, atingiu a ocorrência máxima no 24º dia, vindo a se normalizar ao final de 30 dias após o início do tratamento (BARTH, 1993). Nesse caso a metodologia utilizada foi a observação visual da resposta à reação de Feulgen

No presente trabalho as respostas para as três metodologias utilizadas para a análise de anomalias no complexo DNA-proteína foram muito semelhantes, não tendo sido notadas diferenças como as descritas por BELETTI & MELLO (1996) para a resposta metacromática quando se utilizam soluções de AT a pH 4,0 e 5,0. Isto indica que os métodos estão revelando maior frouxidão do complexo DNA-proteína, havendo maior acessibilidade dos grupos fosfatos do DNA à ligação com moléculas de AT

no método da “metacromasia induzida” (MELLO, 1982, 1997), bem como facilitando a cinética hidrolítica revelada com a reação de Feulgen (MELLO & VIDAL, 1978; MELLO, 1997).

O aparecimento de um “dente” entre o 27º e o 29º dias nos gráficos IV a VI, referentes às anomalias do complexo DNA-proteína, foi devido à aspermia do coelho nº 29 nesse intervalo. O mesmo animal vinha apresentando altas taxas de tal anomalia e no período em questão a falta de dados influenciou o perfil do gráfico do grupo experimental.

A elevação na taxa de espermatozóides com anomalias no complexo DNA-proteína na maioria dos animais tratados, demonstra que a elevação da temperatura testicular obtida por criptorquidismo experimental pode influenciar na formação do complexo normal. O aumento da taxa de espermatozóides com complexo DNA-proteína anômalos poderia ser explicado por alterações na estrutura tridimensional da protamina provocadas pelo aumento da temperatura e que dificultaria a complexação desta proteína com o DNA. Contudo, também foi observada uma leve alteração na taxa desta anomalia em alguns animais do grupo controle 1, o que pode significar que outras causas de degeneração testicular (“stress”), poderiam também influenciar a formação do complexo DNA-proteína. De fato, essas anomalias

podem ser encontradas mesmo em touros de rebanho de elite como previamente relatado (BRITTO & MELLO, 1988b; BRITTO et al., 1988).

Os dados de estrutura e ultra-estrutura levantados para os mesmos coelhos analisados quanto à qualidade espermática mostraram-se em concordância com os resultados obtidos para os parâmetros seminais. Foi evidenciada uma alta degeneração do epitélio germinativo, porém aparentemente não afetando o compartimento basal onde se localizam as espermatogônias. No compartimento apical, em muitos casos, foi observado o desaparecimento total de espermátócitos, espermátides e espermatozóides, explicando portanto a diminuição na concentração espermática e mesmo aspermias detectadas. Em outros trabalhos para a mesma espécie ou espécies diferentes há relatos de degeneração semelhante, porém não de tão alta intensidade (PLOEN, 1972, 1973a e b; MUCCIOLO et al., 1974). O alto grau de degeneração celular não permitiu análise semelhante à realizada por PLOEN (1972, 1973a e b) que utilizou o criptorquidismo experimental por 24 e 48 horas e obteve uma degeneração muito mais branda.

Células gigantes multinucleadas como as encontradas no presente estudo também foram observadas em trabalhos semelhantes (NELSON, 1951; PLOEN, 1972, 1973a e b; MUCCIOLO et al., 1974; BILLIS, 1978; RUSSELL et al., 1990; LOUGHLIN et al., 1991) e em outros

tipos de degeneração testicular (RUSSO & METZ, 1974; RUSSELL et al., 1990; PRABHAKAR et al., 1990; KUMAR & SUSHEELA, 1994). As características observadas, como a presença do capucho cefálico, confirmam que estas células são na realidade espermatídes que se soltaram das células de Sertoli, ocorrendo confluência dos citoplasmas destas células, que já se comunicavam através de pontes citoplasmáticas.

Baseado nestas observações pode-se admitir que a elevação da temperatura testicular por três dias provocou o desaparecimento das junções entre células de Sertoli e células germinativas, levando a liberação destas últimas no lume do túbulo seminífero, com a conseqüente degeneração celular, mostrando ser a interação células de Sertoli e células germinativas essenciais para uma espermatogênese perfeita (RUSSEL et al., 1990; RUSSEL & GRISWOLD, 1993). KERR e colaboradores (1979) e BERGH (1981 e 1983) observaram uma intensa diminuição da secreção de ABP e inibina pelas células de Sertoli após criptorquidismo, o que leva a uma alteração do microambiente do túbulo seminífero, podendo ser mais uma causa das alterações observadas nas células germinativas. Estas alterações explicariam a elevação da taxa de espermatozóides com anomalias morfológicas e mesmo de motilidade observada nas análises do sêmen.

6-CONCLUSÕES

- 1- A elevação da temperatura testicular em coelhos, pelo método de criptorquidismo experimental por 3 dias, afeta a qualidade do sêmen. Dentre as alterações induzidas detectam-se decréscimo em vigor, motilidade e concentração e aumentos em patologias de cabeça e cauda e em anomalias nos complexos DNA-proteína dos espermatozóides.
- 2- Variações individuais ao longo do tempo podem ocorrer, seja nos animais submetidos à elevação da temperatura testicular, seja nos próprios controles, nestes últimos em menor intensidade.
- 3- A elevação da temperatura testicular por três dias leva a uma degeneração testicular geralmente grave, porém reversível.
- 4- Parte dos animais pode vir a apresentar um a dois períodos de aspermia, de extensão variável de até 33 dias, seguido por recuperação .
- 5- Considerando-se um tempo de observação de 61 dias após interrupção do criptorquidismo os parâmetros seminais, à exceção da concentração espermática, retornam aos seus respectivos valores normais.
- 6- O aumento de anomalias nos complexos DNA-proteína é um fenômeno relativamente tardio, cessado o “stress”. Não é intenso em alguns animais,

mas pode atingir 20 vezes os valores detectáveis antes do criptorquidismo, sendo, no entanto, revertido ao longo do tempo.

7- Na avaliação de anomalias de complexos DNA-proteína em espermatozóides de coelhos os métodos de “metacromasia induzida”, usando-se solução de azul de toluidina a pH 4,0 ou pH 5,0, e a reação de Feulgen fornecem respostas semelhantes.

7-ABSTRACT

The effect of increase in testis temperature on spermatozoal DNA-protein complexes and other characteristics was studied in rabbits subjected to three days of experimental cryptorchidism and accompanied along several periods, after ceased the stress. A decrease in strength, motility and concentration as well as an increase in head and tail pathologies and DNA-protein anomalies revealed by "induced metachromasy" and Feulgen reaction were observed in the sperm cells. Individual variation in these parameters as an answer to treatment was observed. This was also found to occur in controls, though with a much lower intensity. Light and transmission electron microscopy of the testis and epididymis of part of the experimentals indicated an intense testicular degeneration, though reversible. Apparently the "zonula occludens" of the Sertoli cells and the basal compartment of the seminiferous tubules were not affected. After 61 days ceased the cryptorchidism the seminal parameters, with the exception of the spermatic concentration, returned to normal values. The increase in DNA-protein anomalies with cryptorchidism occurred relatively late and was not very intense once ceased the stress. However it has reached a value up to 20 times the normal values in one isolated case.

8-RESUMO

A influência da elevação da temperatura testicular sobre o complexo DNA-proteína em espermatozóides e outras características que definem a qualidade do sêmen foi pesquisada em coelhos submetidos por três dias ao criptorquidismo experimental e acompanhada por diversos períodos, cessado o “stress”. Constataram-se com relação aos espermatozóides, decréscimo em vigor, motilidade e concentração, bem como aumentos em patologias de cabeça e cauda e em anomalias nos complexos DNA-proteína, reveladas pelo método de “metacromasia induzida” e pela reação de Feulgen. Foram encontradas variações individuais de resposta ao tratamento, mas também em controles, embora nestes com menor intensidade. Observações de testículos e epidídimos de parte dos coelhos experimentais com microscópio de luz e microscópio eletrônico de transmissão indicaram uma degeneração testicular intensa, porém reversível, onde aparentemente as zônulas de oclusão entre células de Sertoli e o compartimento basal dos túbulos seminíferos não foram afetados. Para um tempo de observação de 61 dias cessado o criptorquidismo, os parâmetros seminais à exceção da concentração espermática, retornaram aos seus respectivos valores normais. O aumento de anomalias nos complexos DNA-proteína com o criptorquidismo revelou-se

relativamente tardio, cessado o “stress”, e não muito intenso, embora tenha atingido até um valor de 20 vezes o normal em caso isolado.

9-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUSTIN, J. W.; HUPP, E. W. & MURPHREE, R. L. Effect of scrotal insulation on semen of hereford bulls. *J. Anim. Sci.*, v.20, n.2, p.307-310, 1961.
- BALHORN, R. A model for the structure of chromatin in mammalian sperm. *J. Cell Biol.*, v.93, p. 298-305, 1982.
- BANKS, W. J. *Histologia Veterinária Aplicada*. São Paulo: Manole, 1992. 629p.
- BARNABE, R. C. Degeneração testicular experimental em reprodutores da espécie suína. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, v.8, n.2, p.499-507, 1970
- BARTH, A.D. Insights to the pathogenesis of sperm abnormalities in bulls. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.4, p.1-14, 1993, suplemento.
- BEDFORD, J. M. Influence of abdominal temperature on epididymal function in the rat and rabbit. *Am. J. Anat.*, v.152, p.509-522, 1978.

BELETTI, M. E. *Anomalias em complexo DNA-proteína de espermatozóide de touro: contribuição metodológica*. Campinas, 1992. Tese (mestrado) - Departamento de Biologia Celular, Instituto de Biologia, UNICAMP.

BELETTI, M.E. & MELLO, M.L.S. Methodological variants contributing to detection of abnormal DNA-protein complexes in bull spermatozoa. *Braz. J. Genet.*, v.19, n.1, p.97-103, 1996

BERGH, A. Morphological signs of a direct effect of experimental cryptorchidism on the Sertoli cells in rats irradiated as fetuses. *Biol. Reprod.*, v.24, p.145-152, 1981.

BERGH, A. Early morphological changes in the abdominal testes in immature unilaterally cryptorchid rats. *Int. J. Androl.*, v.6, p.73-90, 1983.

BILLIS, A. Effects on rabbit spermatogenesis following orthostatic collapse. Light microscope qualitative and quantitative studies. *Andrologia*, v.10, n.6, p.491-497, 1978.

- BRADEN, A. W. H. & MATTNER, P. E. The effects of scrotal heating in the ram on semen characteristics, fecundity and embryonic mortality. *Aust. J. Agric. Res.*, v.21, p.509-518, 1970.
- BRITTO, C. M. C. & MELLO, M. L. S. Anomalias de cabeça em espermatozóides de gado "pé-duro". *Rev. Brasil. Genét.*, v.11, p.63-71, 1988a.
- BRITTO, C. M. C. & MELLO, M. L. S. Induced nuclear metachromasy evaluated in spermatozoa of "pé-duro" bulls. *Rev. Brasil. Genét.* v.11, p.349-354, 1988b.
- BRITTO, C. M. C.; MELLO, M. L. S. & CORDEIRO, J.A. Conteúdo Feulgen-DNA e área nuclear em espermatozóides de gado "pé-duro". *Rev. Brasil. Genét.* v.11, p.73-88, 1988.
- BROKELMANN, J. Fine structure of germ cells and Sertoli cells during the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Z. Zellforsch.*, v.59, p.820-850, 1963.

CHAMBERLAIN, P. J. & WALKER, P. M. B. The thermal denaturation of nucleoprotein in boar sperm. *J. Mol. Biol.*, v.11, p.1-11, 1965.

COSTA, E. N. C. & BELETTI, M. E. Uso da “metacromasia induzida” na detecção de anomalias do complexo DNA-proteína em espermatozóides humanos. *Braz. J. Genet.*, v.18, n.3, p.567, 1995, supplement.

COSTA, E. N. C. & BELETTI, M. E. Influência do hábito de vestuário sobre o complexo DNA-proteína de espermatozóides humanos. *Braz. J. Genet.*, v.20, n.3, p.240, 1997, supplement.

COSTA, E. N. C.; BELETTI, M. E.; SOUSA, M. C. N. & RESENDE, E.V. The anomalous DNA-protein complex in human spermatozoa of varicocele cases. *Braz. J. Genet.*, v.19, n.3, p.147, 1996, supplement.

COURTENS, J. L.; BIGGIOGERA, M. & FAKAN, S. Distribution of DNA, nuclear micro-heterogeneities and compaction of the chromatin in rabbit epididymal spermatozoa. Ultrastructural evaluation of the Feulgen-like technique using osmium ammine. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.34, p.261-172, 1994

COURTENS, J. L.; KISTLER, W.S. & PLOEN, L. Ultrastructural immunolocalisation of histones (H2b, H3, H4), transition protein (TP1) and protamine in rabbit spermatids and spermatozoa nuclei. Relation to condensation of the chromatin. *Reprod. Nutr. Dev.* v.35, p.569-582, 1995.

DOBRINSKI, I. & BARTH, A.D. Abnormal chromatin condensation in bovine sperm nuclei. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* v.4, p.15-23, 1993, suplemento.

EVENSON, D. P.; DARZYNKIEWICZ, Z. & MELAMED, M. R. Relation of mammalian sperm chromatin heterogeneity to fertility. *Science*, v.210, p.1131-1133, 1980.

FAUSTO, A.M.; MORERA, P. & MAZZINI, M. Rabbit sperm anomalies under heat stress conditions. In: Seventh International Symposium on Spermatology, Cairns, 1994. *Program & Mini-poster Abstracts*. Cairns, 1994. p.6.1-6.2.

GLEDHILL, B. L. Studies on the DNA content, dry mass and optical area of morphologically normal and abnormal bull spermatozoa heads. *Acta Vet. Scand.*, v.7, p.1-20, 1966.

GLEDHILL, B. L. Changes in nuclear stainability associated with spermateliosis, spermatozoal maturation, and male infertility. In: *Introduction to Quantitative Cytochemistry - II* (WIED, G. L. & BAHR, G. F., eds.). Academic Press, New York & London, p. 125-151, 1970.

GLEDHILL, B. L.; GLEDHILL, M. P.; RIGLER Jr, R. & RINGERTZ, N. R. Atypical changes of deoxyribonucleoprotein during spermiogenesis associated with a case of infertility in the bull. *J. Reprod. Fert.*, v.12, p.575-578, 1966.

HAFEZ, E. S. E. Reproductive capacity of farm animals in relation to climate and nutrition. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, v.135, p.606, 1959.

HAFEZ, E. S. E. *Reprodução animal*. 4 ed. São Paulo, Ed. Manole, 1988. 720p.

KERR, J.B.; RICH K.A.& de KRETZER, D.M. Effects of experimental cryptorchidism on the ultrastructure and function of the Sertoli cell and peritubular tissue of the rat testis. *Biol. Reprod.*, v.21, p.823-838, 1979.

KUMAR, A. & SUSHEELA, A. K. Ultrastructural studies of spermiogenesis in rabbit exposed to chronic fluoride toxicity. *Int. J. Fertil.*, v.36, n.3, p.164-171, 1994.

LOUGHLIN, K. R.; MANSON, K.; FOREMAN, R.; SCHWARTZ, B. & HEUTTNER, P. The effect of intermittent scrotal hyperthermia on the sprague-dawley rat testicle. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v.286, p.183-185, 1991.

MARUSHIGE, Y. & MARUSHIGE, K. Properties of chromatin isolated from bull spermatozoa. *Biochim. Biophys. Acta*, v.340, p.498-508, 1974.

MARUSHIGE, Y. & MARUSHIGE, K. Phosphorylation of sperm histone during spermiogenesis in mammals. *Biochim. Biophys. Acta*, v.518, p.440-449, 1978.

MELLO, M. L. S. DNP variants in morphologically normal spermatozoa. III Congr. Latinoamericano de Genética, Montivideo. *Resumos*, p. 250, 1977.

MELLO, M. L. S. Induced metachromasia in bull spermatozoa. *Histochemistry*, v.74, p.387-92, 1982.

MELLO, M. L. S. Cytochemistry of DNA, RNA, and nuclear proteins. *Braz. J. Genet.*, v.20, p.257-264, 1977.

MELLO, M. L. S. & ZANARDI, V. A. Variation of the nuclear areas of bull spermatozoa subjected to Feulgen's reaction. *The Nucleus*, v.16, n.1, p.1-4, 1976

MELLO, M. L. S. & VIDAL, B. C. A reação de Feulgen. *Ciênc. Cult.*, v.30, p.665-676, 1978

MIES FILHO, A. Alguns aspectos da esterilidade ovina. *Bol. Soc. Paul. Med. Vet.*, v.9, p.119-38, 1956.

MIES FILHO, A. *Reprodução dos animais e inseminação artificial*. 3ed., Porto Alegre: Sulina, 1975. 645p.

MOORE, C. R. Heat application and testicular degeneration: the function of the scrotum. *Amer. J. Anat.*, v.34, p.337-358, 1924.

MOORE, C. R. & OSLUND, R. Experiments on the sheep testis-cryptorchidism, vasectomy and scrotal insulation. *Amer. J. Physiol.*, v.67, p.595-607, 1924

MORTON, D.; WEISBRODE, S. E.; WYDER, W. E.; MAURER, J. K. & CAPEN, C. C. Spermatid giant cells, tubular hypospermatogenesis, spermatogonial swelling, cytoplasmic vacuoles, and tubular dilatation in the testes of normal rabbit. *Vet. Pathol.*, v.23, p.176-183, 1986.

MUCCIOLO, R. C. *Degeneração testicular experimental em ovinos da raça crioula (Ovis aries)*. São Paulo, 1972. Tese (doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, USP.

MUCCIOLO, R. G.; BARNABE, R. C. & BARNABE, V. H. Variações no quadro espermático de carneiros submetidos à degeneração testicular experimental. *Rev Fac. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, v.11, p.155-177, 1974.

NELSON, W.O. Mammalian spermatogenesis: effect of experimental cryptorchidism in rat and non-descendent of the testis in man. *Recent. Prog. Horm. Res.*, v.6, p.29-62, 1951.

NISHIMUNE, Y.; AIZAWA, S. & KOMATSU, T. Testicular germ cell differentiation in vivo. *Fertil. Steril.*, v.26, n.1, p.95-102, 1978.

PLOEN, L. A scheme of rabbit spermatogenesis based upon electron microscopical observations. *Z. Zellforsch.*, v.115, p.553-564, 1971.

PLOEN, L. An electron microscope study of the immediate effects on spermateleosis of a short-time experimental cryptorchidism in the rabbit. *Virchows Arch. Abt. B. Zellpath.*, v.10, p.293-309, 1972.

PLOEN, L. An electron microscope study of the delayed effects on rabbit spermateleosis following experimental cryptorchidism for twenty-four hours. *Virchows Arch. Abt. B. Zellpath.* v.14, p.159-184, 1973a.

PLOEN, L. A light microscope study of the immediate and delayed effects on rabbit spermateleosis following experimental cryptorchidism for twenty-four hours. *Virchows Arch. Abt. B. Zellpath.* v.14, p.185-196, 1973b.

PRABHAKAR, J.; CHIMBOMBI, J; MALMGREN, L.;
FREDRIKSSON, G. & MADEJ, A. Effects on testosterone and LH concentrations of induced testicular degeneration in bulls. *Acta Vet. Scand.*, v.31, n.4, p.505-507, 1990.

RAO, K. B. & RAO, A. R. Effect of scrotal insulation on ejaculate characteristics in Ongole and crossbred bulls. *Indian Vet. J.*, v.67, n.7, p.627-630, 1990.

RAO, K. B. & RAO, A. R. Testicular degeneration in crossbred bulls. *Indian Vet. J.*, v.68, n.2, p.132-134, 1991.

ROUX, C.; GUSSE, M.; CHEVAILLIER, P. & DADOUNE, J. P. An antiserum against protamines for immunohistochemical studies of histone to protamine transition during human spermiogenesis. *J. Reprod. Fertil.*, v.82, n.1, p.35-42, 1988

RUSSELL, L.D.; ETTLIN, R.A.; SINHA HIKIM, A.P. & CLEGG, E.D. *Evaluation of the Testis*. Clearwater: Cache River, 1990. 286p.

RUSSELL, L. D. & GRISWOLD, M. D. *The Sertoli Cell*. Clearwater: Cache River, 1993. 801p.

RUSO, J. & METZ, C. B. The ultrastructural lesions induced by antibody and complement in rabbit spermatozoa. *Biol. Reprod.*, v.10, p.293-308, 1974.

SAHNI, K. L. & ROY, A. A note on summer sterility in Rommney Marsh rams under tropical conditions. *Indian J. Vet. Sci.*, v.37, n.4, p.335-338, 1967.

SAHNI, K. L. & ROY, A. Influence on semen quality of rams and effects of dilutors and dilutions on in vitro preservation. *Indian J. Vet. Sci.*, v.39, n.1, p.1-14, 1969.

SILVA, A.E.D.F.; DODE, M.A.N. & UNANIAN, M.M. *Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidades e fatores que a influenciam*. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1992. 128p.

SOFIKITIS, N. & MIYAGAWA, I. Effects of surgical repair of experimental left varicocele on testicular temperature, spermatogenesis, sperm maturation, endocrine function, and fertility in rabbit. *Arch. Androl.*, v.29, p.163-175, 1992.

SOFIKITIS, N.; TAKAHASHI, C.; NAKAMURA, I.; HIRAKAWA, S. & MIYAGAWA, I. Surgical repair of secondary right varicocele in rats with primary left varicocele: effects on fertility, testicular temperature, spermatogenesis, and sperm maturation. *Arch. Androl.*, v.28, p.43-52, 1992.

SPRANDO, R.L. Perfusion of the rat testis through the heart using heparin. In: RUSSELL, L.D.; ETTLIN, R.A.; SINHA HIKIM, A.P. & CLEGG, E.D. *Evaluation of the Testis*. Clearwater: Cache River, 1990. p.277-280.

VOGLER, C.J.; BAME, J.H.; DEJARNETTE, J.M.; MCGILIARD, M.L. & SAACKE, R.G. Effects of elevated testicular temperature on morphology characteristics of ejaculated spermatozoa in the bovine. *Theriogenology*, v.40, p.1207-1219, 1993.

WAITES, G. M. H. & ORTAVANT, R. Effects précoces d'une brève élévation de la temperature testiculaire sur la spermatogenèse du belier. *Ann. Biol. Anim.*, v.8, n.3, p.323-331, 1968.

ZIRKIN, B. R. The protein composition of nuclei during spermiogenesis in the Leopard Frog, *Rana pipiens*. *Chromosoma*, v.31, p.231-240, 1970

ZIRKIN, B. R.; SOUCEK, D. A. & CHANG, T. S. K. Sperm nuclear packing and regulation during spermatogenesis and fertilization. *The Johns Hopkins Med. J.*, v.151, p.101-112, 1982.

10-ANEXO 1

Variação individual das características do sêmen dos coelhos.

Tabela 10: Características do sêmen do coelho 1(controle inicial)

DIA	VIGOR	MOTILI-DADE (%)	CONCEN-TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	100	314	2.0	1.0	2.3	4.5	3.5
0	5	80	352	1.4	1.9	1.9	2.5	1.5

Tabela 11: Características do sêmen do coelho 2 (controle inicial)

DIA	VIGOR	MOTILI-DADE (%)	CONCEN-TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	305	1.2	1.2	1.1	3.5	3.5
0	5	90	314	1.4	1.1	1.5	3.5	4.0

AT: Azul de Toluidina

Dia 0 (zero): corresponde ao início do tratamento nos animais experimentais

Tabela 12: Características do sêmen do coelho 35 (controle 1, somente anestesiado e não submetido ao tratamento)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	294	1.5	1.3	1.6	4.0	5.0
0	5	90	350	1.3	1.2	1.3	4.5	6.0
3	4	90	312	1.5	1.4	1.5	4.0	7.0
6	4	80	280	1.4	1.5	1.5	3.5	6.5
8	5	90	294	1.6	1.4	1.5	4.0	4.5
10	5	90	290	1.8	1.8	1.6	5.0	4.5
13	5	90	252	1.5	1.8	1.5	2.5	6.0
15	5	100	264	1.1	1.5	1.4	4.0	5.5
17	5	100	280	1.2	1.4	1.4	4.5	4.5
20	4	90	310	1.1	1.4	1.4	3.5	4.0
22	4	90	302	1.2	1.2	1.4	4.0	4.0
24	4	90	294	1.2	1.3	1.2	5.0	6.0
27	4	90	346	1.3	1.3	1.4	2.5	6.5
29	5	90	340	1.5	1.2	1.4	4.0	4.5
31	4	90	312	1.2	1.4	1.3	3.5	6.0
34	5	90	377	1.5	1.4	1.4	4.5	5.0
36	5	90	302	1.8	1.5	1.4	5.0	5.5
38	5	90	290	1.5	1.2	1.3	5.0	5.5
41	4	90	302	1.6	1.2	1.4	5.5	3.5
43	5	100	290	1.1	1.5	1.2	4.5	5.5
45	5	100	294	1.0	1.0	1.3	6.0	5.0
48	4	90	312	1.2	1.2	1.2	5.5	4.5
50	5	90	307	1.5	1.4	1.4	5.0	3.5
52	5	90	297	1.2	1.4	1.3	4.5	4.0
55	5	100	315	1.4	1.7	1.4	4.5	3.5
57	5	100	292	1.0	1.5	1.2	5.0	4.5
59	5	90	254	0.9	1.2	1.1	3.5	4.0
62	4	90	283	1.2	1.3	1.2	4.5	4.0
64	5	90	297	1.5	1.4	1.3	4.5	4.5

Dia 0 (zero): data do procedimento de anestesia

AT: azul de toluidina

Tabela 13: Características do sêmen do coelho 36 (controle 1, somente anestesiado e não submetido ao tratamento)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	100	381	0.9	1.0	1.3	3.5	2.0
0	5	100	350	1.1	1.0	1.0	3.5	3.5
3	5	100	348	0.8	1.3	1.1	3.0	2.5
6	5	90	350	0.7	1.0	1.3	4.0	1.0
8	4	80	290	0.9	1.0	1.1	2.5	0.5
10	4	90	312	1.4	1.1	1.3	4.0	2.5
13	5	90	352	1.1	1.5	1.2	4.0	2.0
15	5	100	294	1.1	1.4	1.3	2.5	3.0
17	4	90	285	0.9	1.2	1.0	2.0	1.5
20	4	90	252	0.5	1.1	1.3	3.5	3.5
22	4	90	302	1.2	1.2	1.0	3.0	1.5
24	4	90	294	0.8	1.1	1.3	3.0	3.0
27	5	90	271	0.7	1.2	1.3	2.0	3.5
29	5	90	284	0.8	1.2	1.2	1.5	2.5
31	5	90	282	1.2	1.0	1.0	3.5	3.0
34	5	90	317	1.0	1.3	1.3	4.0	3.0
36	5	100	312	1.1	1.1	1.0	3.0	2.5
38	5	100	361	0.8	0.9	1.1	3.0	2.5
41	5	90	355	1.2	1.2	1.2	4.0	3.0
43	5	90	323	0.8	0.9	1.2	3.5	2.0
45	4	80	284	0.9	1.2	1.1	2.5	3.5
48	4	90	305	0.7	1.3	1.1	3.0	2.0
50	5	90	307	0.7	1.1	1.0	3.0	1.5
52	5	90	347	1.0	1.0	1.0	4.5	3.5
55	5	100	350	0.8	1.3	1.1	4.0	3.0
57	4	90	319	1.5	1.3	1.4	4.5	3.5
59	4	90	284	1.2	1.2	1.0	3.5	3.5
62	4	90	303	1.2	1.2	1.1	3.5	2.0
64	5	90	357	1.0	1.3	1.3	4.0	3.0

Dia 0 (zero): data do procedimento de anestesia

AT: azul de toluidina

Tabela 14: Características do sêmen do coelho 37 (controle 1, somente anestesiado e não submetido ao tratamento)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	321	1.6	1.7	1.7	5.0	5.0
0	5	90	384	1.7	1.6	2.0	4.5	4.5
3	5	90	343	1.5	1.7	1.8	5.0	4.5
6	5	90	323	1.4	1.5	1.5	4.0	4.5
8	5	90	294	1.6	1.6	1.7	4.5	5.0
10	4	80	303	1.6	1.6	1.8	5.0	7.0
13	4	70	250	1.7	1.7	1.7	5.5	8.0
15	3	60	212	1.6	1.7	1.6	6.0	7.0
17	3	70	253	1.4	1.6	1.7	6.5	5.0
20	2	50	218	1.4	1.5	1.7	6.0	8.0
22	2	60	170	1.4	1.7	1.9	7.0	9.0
24	2	60	153	1.6	1.8	2.0	10.0	10.0
27	2	50	98	1.7	1.9	1.9	10.5	7.0
29	1	60	132	2.0	2.4	2.6	12.0	6.5
31	2	60	145	2.4	2.7	2.9	10.5	5.0
34	2	40	138	2.9	2.9	3.0	10.0	4.5
36	2	50	163	3.3	3.1	3.2	10.5	5.5
38	2	60	203	3.1	3.4	3.8	12.0	6.0
41	3	70	223	3.6	3.3	3.5	10.0	5.5
43	3	80	238	3.0	3.9	3.1	10.5	6.0
45	3	80	284	2.4	2.8	2.9	8.0	5.0
48	3	80	294	2.5	2.3	2.5	5.5	4.5
50	4	80	303	2.0	2.3	2.5	7.5	4.5
52	4	80	321	2.1	1.9	2.1	5.5	5.0
55	4	90	343	1.8	1.7	2.2	5.5	4.0
57	5	90	303	1.9	1.8	1.9	6.0	4.5
59	4	90	294	1.7	1.6	1.9	4.5	4.5
62	5	100	384	1.7	1.7	1.6	3.0	4.0
64	4	90	353	1.6	1.7	1.7	4.5	5.0

Dia 0 (zero): data do procedimento de anestesia

AT: azul de toluidina

Tabela 15: Características do sêmen do coelho 38 (controle 1, somente anestesiado e não submetido ao tratamento)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	100	405	1.3	1.5	1.1	3.0	4,0
0	5	100	415	1.4	1.3	1.0	4.0	4.5
3	4	90	405	1.5	1.5	1.2	3.0	4.0
6	5	90	398	1.3	1.2	1.3	3.5	5.0
8	5	90	425	1.1	1.3	1.1	3.0	5.0
10	4	90	388	1.3	1.3	1.0	4.0	7.0
13	4	90	273	1.3	1.5	1.3	3.5	7.0
15	4	90	293	1.4	1.7	1.1	3.5	6.5
17	5	90	260	1.5	1.6	1.4	4.0	10.0
20	4	80	252	1.6	1.7	1.5	3.5	10.5
22	4	80	280	1.5	1.8	1.6	5.0	8.5
24	3	70	210	2.0	2.0	1.6	6.0	10.5
27	3	80	183	1.9	2.0	1.8	7.5	12.5
29	3	70	152	2.2	2.2	1.9	6.0	10.0
31	3	70	142	2.3	2.4	1.9	6.0	10.0
34	3	70	115	2.3	2.3	2.1	6.0	5.5
36	3	60	98	2.5	2.3	2.2	5.5	5.5
38	3	80	117	2.1	2.3	2.3	6.0	6.0
41	4	80	145	1.9	2.1	2.0	5.0	4.5
43	3	70	138	1.8	2.0	2.0	4.5	3.0
45	4	80	178	2.0	1.8	1.7	4.0	4.5
48	4	80	194	1.8	1.6	1.7	4.0	5.0
50	4	80	232	1.9	1.7	1.6	3.5	5.0
52	5	80	261	1.5	1.6	1.7	4.0	5.5
55	5	90	190	1.7	1.5	1.5	4.5	4.0
57	4	80	253	1.5	1.4	1.5	4.0	5.5
59	5	90	292	1.5	1.5	1.5	4.0	6.0
62	5	90	305	1.4	1.3	1.5	4.5	4.5
64	5	90	323	1.3	1.4	1.5	3.5	4.5

Dia 0 (zero): data do procedimento de anestesia

AT: azul de toluidina

Tabela 16: Características do sêmen do coelho 39 (controle 2)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	4	100	355	1.0	1.2	1.1	4.0	3.5
0	5	100	305	1.2	1.0	1.1	4.5	3.0
3	4	100	343	1.2	1.0	1.2	4.0	3.0
6	5	100	382	1.0	1.2	1.4	3.0	5.0
8	5	100	396	0.9	1.1	1.1	3.5	5.5
10	5	100	402	0.9	1.1	1.2	4.0	4.5
13	5	100	390	1.2	1.3	1.1	4.0	4.5
15	4	90	382	0.8	1.0	1.2	3.0	3.0
17	4	90	305	1.1	0.9	1.1	4.0	5.0
20	5	90	350	1.2	1.2	1.2	4.0	5.5
22	4	90	312	1.0	1.0	1.3	4.5	4.5
24	4	90	305	1.3	1.2	1.3	5.0	4.0
27	4	90	298	1.0	1.1	1.2	4.0	4.0
29	4	90	324	1.2	1.1	1.2	4.0	4.0
31	5	100	338	1.0	1.2	1.2	3.0	3.5
34	5	100	324	1.1	1.0	1.1	4.5	3.5
36	5	100	364	1.0	0.8	1.0	3.5	5.5
38	5	100	305	1.2	1.0	1.0	5.0	5.5
41	5	90	298	1.3	1.1	1.2	4.5	4.5
43	5	100	338	1.1	1.0	1.1	4.0	4.0
45	5	100	346	1.1	1.2	1.1	4.5	4.5
48	4	90	357	1.2	1.1	1.2	4.5	5.0
50	5	90	324	1.0	1.1	1.3	4.0	4.5
52	4	80	312	1.0	1.0	1.2	3.0	4.0
55	5	90	364	1.1	1.0	1.2	4.0	3.0
57	5	100	338	1.4	1.1	1.3	4.5	3.5
59	5	90	365	1.0	1.2	1.1	3.0	4.5
62	5	100	398	1.2	1.0	1.1	3.5	4.0
64	5	100	354	1.2	1.2	1.1	3.0	4.5

Dia 0 (zero): corresponde ao início do tratamento nos animais experimentais
 AT: azul de toluidina

Tabela 17: Características do sêmen do coelho 40 (controle 2)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	100	405	0.9	1.0	1.2	3.0	5.0
0	5	100	435	1.1	0.9	1.0	3.0	4.0
3	5	100	454	0.8	1.0	1.0	3.5	5.0
6	5	100	398	1.0	1.1	1.1	3.5	4.5
8	5	100	384	1.2	1.2	1.0	3.0	3.5
10	5	100	354	1.1	1.0	1.0	2.0	3.0
13	5	90	324	1.1	1.0	1.1	2.5	3.5
15	5	100	336	1.1	1.1	1.0	3.0	3.0
17	5	100	348	1.3	1.3	1.0	3.0	4.5
20	4	90	305	1.0	1.2	1.0	3.0	5.0
22	5	90	324	1.2	1.1	1.1	3.5	4.0
24	5	90	346	1.1	1.1	1.1	2.5	4.5
27	5	90	354	1.0	1.1	1.2	4.0	4.0
29	5	90	336	1.5	1.0	1.2	3.5	4.0
31	4	90	298	1.2	1.2	1.1	3.0	4.5
34	5	90	354	1.0	1.0	0.9	3.0	4.0
36	5	90	310	1.2	1.2	1.3	3.5	3.0
38	5	90	328	1.0	1.2	1.0	3.0	3.5
41	5	100	315	1.2	1.1	1.0	3.5	3.5
43	4	90	307	1.0	1.1	1.0	4.5	3.0
45	5	100	354	1.2	1.0	1.2	3.0	3.5
48	5	100	348	1.1	1.1	1.0	4.0	3.0
50	5	100	350	1.1	1.0	1.2	3.0	3.5
52	4	90	378	1.4	1.2	1.1	2.5	4.0
55	5	90	388	1.3	1.2	1.1	3.0	2.5
57	5	90	354	1.1	0.9	1.0	3.0	4.5
59	5	90	368	1.0	0.9	1.3	2.5	4.5
62	5	90	325	1.2	1.1	1.0	4.0	4.0
64	5	90	378	0.9	1.1	1.2	4.5	4.5

Dia 0 (zero): corresponde ao início do tratamento nos animais experimentais
 AT: azul de toluidina

Tabela 18: Características do sêmen do coelho 41 (controle 2)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	4	80	454	1.2	1.1	1.1	3.5	4.0
0	5	90	435	1.0	1.1	1.1	4.0	4.5
3	4	80	398	1.2	1.2	1.1	4.5	4.5
6	5	90	384	1.1	1.1	1.2	4.0	3.5
8	5	80	388	1.1	1.1	1.2	4.5	3.5
10	5	80	354	1.0	1.2	1.2	4.5	4.0
13	4	80	348	1.0	1.3	1.1	4.0	4.0
15	4	80	398	1.0	1.3	1.0	4.0	4.5
17	4	80	405	1.2	1.0	1.2	3.5	4.0
20	4	80	433	1.1	1.3	1.3	3.5	4.5
22	5	80	388	1.1	1.0	1.2	3.0	4.0
24	5	80	346	1.2	1.2	1.3	3.0	4.0
27	5	90	336	1.2	1.1	1.1	3.5	5.0
29	4	80	324	1.0	1.1	1.3	3.0	5.0
31	5	80	305	1.3	1.2	1.2	5.0	4.0
34	5	90	298	1.0	1.0	1.0	4.5	5.0
36	5	90	312	1.0	0.9	1.0	3.0	4.5
38	4	80	324	1.2	1.1	1.0	4.5	4.0
41	4	80	305	1.1	0.9	1.0	4.0	4.0
43	4	80	318	0.9	0.9	1.0	3.0	4.5
45	5	80	345	1.1	1.0	1.2	3.5	4.0
48	5	80	378	0.9	1.0	1.0	3.0	3.5
50	5	90	387	1.2	1.1	1.2	4.0	5.0
52	5	90	305	1.1	1.2	1.0	4.5	4.0
55	5	80	298	1.4	1.1	1.1	4.0	5.5
57	4	80	284	1.1	1.2	1.1	4.0	4.0
59	5	90	287	1.2	1.3	1.1	4.5	6.0
62	5	80	278	1.2	1.3	1.0	3.5	4.5
64	5	80	272	1.2	1.2	1.2	4.5	5.5

Dia 0 (zero): corresponde ao início do tratamento nos animais experimentais
 AT: azul de toluidina

Tabela 19: Características do sêmen do coelho 42 (controle 2)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	4	90	388	0.5	0.4	0.6	2.0	3.5
0	5	90	354	0.4	0.5	0.5	2.5	3.5
3	5	90	364	0.3	0.5	0.4	2.5	4.0
6	5	100	327	0.4	0.6	0.6	3.5	4.5
8	5	90	298	0.4	0.4	0.5	3.0	3.0
10	4	90	286	0.5	0.4	0.5	2.5	4.0
13	4	80	305	0.4	0.6	0.5	3.5	4.0
15	4	90	314	0.3	0.3	0.4	2.5	4.5
17	5	90	289	0.5	0.4	0.5	3.5	3.5
20	5	90	275	0.6	0.5	0.4	2.5	3.0
22	5	100	287	0.7	0.4	0.5	4.0	3.0
24	5	90	305	0.4	0.5	0.5	3.5	3.5
27	5	90	312	0.5	0.5	0.4	2.5	3.0
29	4	90	333	0.4	0.6	0.5	3.5	4.0
31	4	80	340	0.2	0.4	0.3	3.0	4.5
34	5	90	326	0.4	0.7	0.4	3.0	3.5
36	4	90	288	0.5	0.4	0.4	2.5	5.0
38	5	90	305	0.5	0.5	0.5	2.5	4.0
41	5	90	321	0.4	0.7	0.6	3.5	3.0
43	5	100	319	0.6	0.4	0.4	4.0	3.0
45	5	90	258	0.4	0.5	0.5	3.0	3.5
48	5	90	305	0.8	0.6	0.6	3.5	3.5
50	4	90	284	0.5	0.6	0.5	3.5	4.0
52	5	90	254	0.6	0.5	0.5	4.5	4.5
55	4	90	266	0.4	0.4	0.6	4.0	4.0
57	4	80	250	0.7	0.4	0.6	4.0	4.0
59	4	90	305	0.5	0.5	0.5	3.0	4.0
62	5	90	320	0.6	0.5	0.6	3.5	5.0
64	5	90	351	0.8	0.6	0.7	3.0	4.0

Dia 0 (zero): corresponde ao início do tratamento nos animais experimentais
 AT: azul de toluidina.

Tabela 20: Características do sêmen do coelho 3 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	100	393	1.7	2.2	2.1	4.5	3
0	5	100	353	1.5	1.5	1.8	2.5	8
3	5	80	330	1.3	1.8	1.8	3.5	7.5

Tabela 21: Características do sêmen do coelho 4 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	405	1.2	1.3	1.2	3.5	4.0
0	4	80	358	1.5	1.3	1.3	3.5	4.0
3	5	90	398	1.4	1.4	1.5	4.0	4.0

Tabela 22: Características do sêmen do coelho 5 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	4	80	259	0.4	1.2	2.4	6.5	8.5
0	5	100	329	0.9	2.1	1.8	4.5	4
3	5	90	338	0.8	1.7	1.8	6.5	7.0
6	5	100	319	1.3	1.2	1.4	7.0	7.5
8	5	100	230	2.2	1.2	1.5	6.0	15.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

Tabela 23: Características do sêmen do coelho 6 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	329	1.5	1.4	1.8	5.5	4.0
0	5	90	305	1.6	1.4	1.5	5.0	4.5
3	5	90	319	1.5	1.6	1.6	4.0	5.0
6	4	90	338	1.3	1.4	1.5	4.5	6.5
8	4	80	305	1.8	1.5	2.0	4.5	7.5

Tabela 24: Características do sêmen do coelho 7 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	4	80	353	0.9	0.6	1.0	3.5	4.5
0	4	80	314	0.8	0.8	1.1	5.0	3.5
3	4	80	335	1.1	0.9	1.1	4.0	4.5
6	4	70	244	1.2	0.9	1.0	5.0	4.5
8	4	70	139	1.2	1.2	1.2	5.5	6.5
10	3	60	118	1.1	1.2	1.2	7.0	7.0
13	3	50	98	1.2	1.0	1.2	6.5	12.5

Tabela 25: Características do sêmen do coelho 8 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	3	60	377	1.9	2.2	1.7	8.5	6.5
0	4	70	375	0.9	0.7	1.2	2.0	3.0
3	4	80	222	1.2	1.2	1.2	5.0	5.5
6	5	90	299	1.3	0.9	1.3	7.0	7.5
8	3	50	231	1.9	1.2	1.5	8.0	8.5
10	4	80	124	1.4	2.3	1.7	8.5	10.0
13	3	70	158	2.4	1.6	1.8	7.5	15.0

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina.

Tabela 26: Características do sêmen do coelho 9 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	4	70	310	2.1	1.3	2.1	3.0	5.5
0	5	90	300	1.9	2.0	2.0	4.0	3.5
3	5	90	292	1.4	1.8	2.0	6.5	4.5
6	5	90	318	1.2	1.1	1.5	5.0	4.0
8	4	80	238	2.5	1.2	1.9	7.5	6.0
10	3	70	124	1.7	2.7	2.1	8.0	8.0
13	2	50	85	3.2	2.2	2.6	7.5	8.5
15	3	70	54	2.8	2.4	2.6	7.0	8.5
17	2	50	44	2.9	2.8	2.7	7.0	9.5

Tabela 27: Características do sêmen do coelho 10 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	322	1.8	1.6	2.0	4.5	4.0
0	5	100	354	1.5	1.6	1.8	5.5	4.0
3	4	80	304	1.7	1.7	1.7	5.0	5.0
6	5	90	204	1.6	1.8	1.7	5.5	5.5
8	4	80	206	1.5	1.6	1.6	4.5	6.5
10	4	80	121	1.8	1.7	1.8	4.5	8.0
13	3	70	133	1.8	2.0	2.0	5.0	9.5
15	2	60	92	2.0	2.2	2.2	5.5	14.5
17	2	40	84	2.2	2.2	2.3	6.5	20.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

Tabela 28: Características do sêmen do coelho 11 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	390	1.2	1.8	1.8	3.5	4
0	5	90	420	1.6	0.9	1.6	4.5	7.0
3	5	80	419	0.8	1.0	1.4	4.0	6.0
6	5	80	377	1.1	1.4	1.4	5.5	7.0
8	4	70	305	1.8	1.4	1.6	7.0	7.0
10	4	70	233	0.9	1.9	1.6	6.0	22.5
13	3	60	207	1.5	1.5	1.6	7.0	20.0
15	2	40	131	1.8	2.0	1.9	8.0	21.0
17	2	50	147	3.0	2.8	2.5	7.5	22.5
20	4	70	78	2.0	2.4	2.5	7.0	19.0
22			ASP					

Tabela 29: Características do sêmen do coelho 12 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	456	1.4	1.2	1.4	2.0	3.5
0	4	90	420	1.3	1.4	1.4	3.5	5.5
3	4	80	398	1.4	1.5	1.5	3.5	4.5
6	4	80	377	1.5	1.4	1.4	4.0	5.0
8	4	80	305	1.2	1.4	1.3	4.5	7.0
10	3	70	207	1.5	1.5	1.6	4.5	8.5
13	3	60	147	1.8	1.8	1.7	6.0	12.5
15	3	60	198	2.0	2.2	2.0	8.0	14.5
17	2	50	154	2.4	2.5	2.5	8.5	20.0
20	2	40	124	2.8	2.8	2.9	8.5	22.0
22	1	20	98	3.0	2.9	3.1	9.0	21.5

Dia 0 (zero): início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: aspermia

Tabela 30: Características do sêmen do coelho 13 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	4	70	370	2.3	2.6	3.0	5.0	8.0
0	4	70	335	1.5	1.6	2.1	5.0	8.5
3	3	60	209	1.0	1.3	1.9	6.0	10.0
6	4	70	122	1.1	1.0	1.5	6.5	12.0
8	3	50	282	1.8	0.8	1.8	5.5	15.0
10	3	30	189	0.8	1.2	1.5	6.0	21.0
13	2	70	68	2.8	1.8	2.2	7.5	20.5
15	2	70	90	2.4	1.6	2.2	6.5	31.5
17	2	70	63	2.0	2.8	2.6	8.0	22.0
20	3	60	98	2.4	2.6	2.6	7.0	18.5
22			ASP					
24			ASP					
27	4	70	47	3.5	3.0	3.3	7.5	12.5

Tabela 31: Características do sêmen do coelho 14 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	345	0.9	0.7	1.0	3.5	4.0
0	5	100	378	0.8	1.0	0.9	2.0	4.0
3	5	90	308	0.6	0.8	0.9	3.5	4.0
6	5	90	298	0.9	0.8	0.8	3.5	4.5
8	4	80	254	1.2	1.0	1.0	4.0	5.5
10	3	70	202	1.1	1.2	1.1	4.5	7.5
13	3	60	122	1.5	1.4	1.2	6.0	8.0
15	2	20	58	1.6	1.5	1.3	7.0	10.0
17	1	10	46	1.8	1.6	1.4	8.5	14.5
20	0	00	54	2.1	1.9	1.8	8.5	12.5
22	1	10	48	1.4	1.6	1.7	10.0	12.0
24	2	30	38	2.2	2.0	2.2	12.0	8.0
27	2	40	34	2.5	2.3	2.3	11.5	9.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: aspermia

Tabela 32: Características do sêmen do coelho 15 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	435	1.7	1.0	1.2	3.0	4.0
0	5	90	383	1.8	2.0	1.8	3.0	2.0
3	2	40	400	1.4	1.6	1.8	4.0	3.0
6	5	80	159	1.0	0.8	1.5	5.0	3.5
8	3	60	102	1.7	1.2	1.8	4.5	7.0
10	3	90	103	0.8	1.2	1.8	4.5	8.5
13	3	70	148	1.6	1.8	1.7	5.0	21.0
15	2	50	175	2.8	2.4	2.5	7.5	18.5
17	3	70	98	2.4	3.2	2.8	8.0	17.0
20			ASP					
22			ASP					
24			ASP					
27	4	80	78	2.7	2.8	2.8	12.5	9.5
29	3	60	74	3.2	2.8	3.3	12.5	8.0
31			ASP					

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: aspermia

Tabela 33: Características do sêmen do coelho 16 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4 FEULGEN	AT pH 5			
-2	4	90	325	1.0	0.9	1.0	4.0	3.5
0	5	90	345	0.9	0.9	0.8	4.0	5.0
3	4	90	305	1.1	1.1	1.0	3.5	4.5
6	4	80	246	1.2	1.1	1.1	4.0	5.5
8	3	70	158	1.1	1.2	1.3	4.0	6.5
10	2	60	112	1.3	1.2	1.3	4.0	7.5
13	2	50	102	1.3	1.3	1.3	4.5	9.0
15	2	40	98	1.4	1.5	1.5	5.0	10.5
17	1	20	54	2.0	1.9	1.8	5.5	15.5
20	1	20	32	1.9	2.0	2.0	7.0	25.5
22	1	10	27	2.4	2.3	2.4	7.5	23.5
24	0	00	12	2.5	2.7	2.7	8.5	20.0
27	0	00	12	3.0	2.9	2.8	8.0	21.5
29			ASP.					
31			ASP.					

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: aspermia

Tabela 34: Características do sêmen do coelho 17 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	100	358	0.5	0.6	0.5	2.0	3.5
0	5	90	364	0.6	0.7	0.6	1.5	3.5
3	5	90	298	0.4	0.7	0.6	2.5	3.0
6	5	90	254	0.8	0.8	0.7	2.0	3.5
8	4	90	188	0.7	0.7	0.8	2.0	4.0
10	4	90	172	1.0	0.8	0.9	2.5	4.5
13	3	70	124	0.9	0.9	0.9	3.0	6.0
15	3	70	98	1.4	1.0	1.1	3.5	6.0
17	2	60	105	1.5	1.4	1.5	4.0	6.5
20	2	70	98	1.6	1.4	1.5	4.0	6.0
22	3	70	82	1.5	1.5	1.6	4.5	8.0
24	2	50	68	2.5	1.9	2.1	5.5	7.0
27	2	40	54	2.6	2.4	2.5	6.0	6.5
29	1	30	34	2.8	2.5	2.6	6.0	7.0
31	2	40	28	2.9	2.7	2.7	6.5	6.5
34	1	40	22	3.0	2.9	2.9	6.0	5.5
36	2	50	20	3.0	2.8	2.9	6.0	4.5
38	2	60	14	2.5	2.7	2.5	4.5	5.0

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

Tabela 35: Características do sêmen do coelho 18 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	458	1.4	1.3	1.2	3.5	4.0
0	5	100	425	1.2	1.3	1.3	3.0	3.0
3	5	90	436	1.4	1.3	1.4	3.5	3.0
6	4	80	405	1.5	1.3	1.4	3.5	4.5
8	4	90	305	1.5	1.5	1.4	3.5	6.0
10	4	80	218	2.0	1.8	2.0	4.0	7.0
13	4	80	154	1.9	2.0	2.0	3.5	8.0
15	3	70	105	2.4	2.3	2.4	4.5	8.5
17	2	60	112	2.5	2.5	2.6	6.0	10.5
20	3	60	98	3.0	2.9	2.8	5.5	15.5
22	2	50	58	3.4	3.4	3.6	6.5	13.0
24	2	40	64	3.9	3.7	4.1	6.0	13.5
27	1	40	49	4.9	4.5	4.5	7.0	10.5
29	1	30	38	4.0	4.4	4.4	7.5	9.0
31	1	30	25	4.4	4.5	4.5	8.0	8.0
34	2	40	33	5.0	4.9	4.9	10.0	7.5
36	2	40	45	5.1	5.2	5.2	8.0	6.0
38	2	60	33	5.2	5.3	5.2	7.5	6.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

Tabela 36: Características do sêmen do coelho 19 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	100	352	1.0	0.9	0.8	4.0	3.5
0	5	100	314	1.1	1.0	0.9	4.0	4.5
3	5	90	312	1.1	1.0	1.0	3.5	5.5
6	4	90	324	1.0	1.1	0.9	3.5	5.5
8	4	80	250	1.0	1.0	1.1	4.0	7.5
10	4	80	198	1.1	1.0	1.1	4.0	7.0
13	3	80	177	1.5	1.2	1.1	5.5	10.5
15	3	80	122	1.4	1.5	1.3	6.5	11.5
17	3	80	134	1.2	1.4	1.3	7.5	12.5
20	3	60	105	1.5	1.6	1.5	8.0	10.5
22	3	70	98	1.6	1.7	1.6	8.0	15.0
24	2	50	68	1.7	2.0	1.8	9.0	10.0
27	2	50	74	1.6	1.8	1.9	8.0	10.5
29	2	40	52	1.8	2.0	2.0	8.5	9.5
31	1	30	33	1.9	2.0	2.1	7.5	9.0
34	1	10	24	2.2	2.2	2.3	10.0	8.0
36	1	00	14	2.5	2.5	2.4	11.5	7.5
38	1	00	10	2.0	2.5	2.4	10.0	8.0
41	1	20	18	1.9	2.1	2.2	10.5	6.0
43	2	50	14	2.2	2.2	2.1	8.5	6.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

Tabela 37: Características do sêmen do coelho 20 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	298	1.0	0.9	1.0	3.5	3.5
0	4	80	305	1.2	1.1	1.0	4.5	3.5
3	5	90	198	1.0	1.1	1.0	4.5	4.5
6	4	90	145	1.1	1.2	1.2	5.5	4.0
8	4	80	112	1.1	1.2	1.3	6.0	7.0
10	4	80	92	1.5	1.5	1.4	7.5	8.5
13	2	40	78	1.5	1.7	1.7	6.0	14.0
15	4	60	54	1.6	1.8	1.8	7.5	20.5
17	3	30	39	2.0	2.2	2.1	8.0	25.5
20	3	20	24	2.5	2.5	1.6	8.5	32.5
22	1	30	14	3.0	2.9	3.0	13.5	30.5
24	1	30	12	4.5	3.8	4.0	15.5	31.0
27	2	30	14	5.4	4.8	5.1	20.0	28.5
29	1	20	12	6.1	5.7	6.0	24.5	26.0
31	1	10	09	5.9	5.7	6.0	25.0	24.0
34			ASP					
36			ASP					
38			ASP					
41			ASP					
43			ASP					

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia

Tabela 38: Características do sêmen do coelho 21 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	298	0.8	0.7	0.6	4.5	5.5
0	4	90	305	1.0	0.9	1.0	2.0	5.5
3	5	90	288	1.0	1.0	0.9	2.5	5.5
6	4	90	204	1.2	1.0	1.1	2.0	5.0
8	5	90	158	1.1	1.2	1.1	5.5	7.5
10	4	90	174	1.2	1.2	1.2	4.5	6.5
13	4	80	106	1.5	1.4	1.3	5.5	8.5
15	4	70	92	1.4	1.4	1.4	7.5	10.0
17	3	50	52	1.6	1.5	1.5	6.5	12.0
20	3	50	34	1.4	1.5	1.6	8.0	19.5
22	2	50	24	1.8	1.8	2.0	8.0	18.5
24	3	50	16	1.5	2.0	1.9	8.5	17.0
27	2	40	20	1.8	2.1	2.0	7.0	16.0
29	1	20	18	2.0	2.0	2.1	12.5	16.0
31	1	20	10	2.1	2.1	2.2	10.5	10.0
34			ASP.					
36			ASP.					
38			ASP.					
41			ASP.					
43			ASP.					
45	1	30	18	3.5	3.4	3.3	7.0	5.5
48	2	50	09	3.4	3.0	3.3	8.0	5.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia

Tabela 39: Características do sêmen do coelho 22 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	333	0.5	0.7	0.4	3.0	4.5
0	5	100	380	0.4	0.5	0.5	3.0	4.5
3	5	100	330	0.6	0.5	0.6	3.5	5.5
6	5	90	254	0.7	0.8	0.7	3.0	6.5
8	4	80	215	0.9	0.9	1.0	3.5	8.5
10	4	70	156	1.2	1.1	0.9	4.5	10.0
13	3	50	123	1.3	1.2	1.2	6.5	18.5
15	2	30	92	1.8	1.4	1.6	7.0	25.0
17	1	20	51	2.5	2.4	2.1	6.5	31.0
20	1	10	31	3.0	2.9	2.8	10.5	35.5
22	1	10	24	3.8	3.2	3.5	12.0	32.5
24	0	00	16	3.6	3.7	3.7	24.0	33.0
27	0	00	10	4.0	4.1	3.9	31.5	34.0
29			ASP.					
31			ASP.					
34			ASP.					
36			ASP.					
38			ASP.					
41			ASP.					
43			ASP.					
45			ASP.					
48			ASP.					

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia

Tabela 40: Características do sêmen do coelho 23 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	312	1.2	1.1	0.9	5.5	4.5
0	5	90	322	1.1	1.1	1.0	4.5	3.0
3	4	90	305	1.0	1.0	1.1	3.5	4.0
6	4	80	288	1.1	1.2	1.0	2.5	4.0
8	4	70	274	1.1	1.1	1.2	2.5	4.0
10	3	60	162	1.5	1.4	1.3	4.0	4.5
13	3	50	76	1.8	1.7	1.5	4.5	7.0
15	2	50	54	1.9	2.0	1.8	5.5	9.5
17	2	30	65	1.8	2.0	2.0	5.5	10.5
20	1	30	32	2.1	1.9	2.2	4.5	18.5
22	1	20	24	2.3	2.4	2.2	6.5	14.0
24	1	10	45	2.4	2.8	2.5	8.0	10.5
27	1	10	20	2.5	2.7	2.4	7.5	9.0
29			ASP.					
31			ASP.					
34			ASP.					
36			ASP.					
38			ASP.					
41			ASP.					
43	1	10	09	2.8	2.9	3.0	5.5	6.0
45			ASP.					
48			ASP.					
50	1	10	22	2.0	2.1	1.9	5.5	4.5
52	1	20	14	2.1	1.9	1.8	5.0	5.0

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia

Tabela 41: Características do sêmen do coelho 24 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILIDADE (%)	CONCENTRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	4	90	322	1.6	1.4	1.8	4.0	2.5
0	5	90	314	1.5	1.5	1.6	2.0	3.5
3	4	90	298	1.3	1.5	1.8	2.0	2.0
6	4	80	154	1.5	1.6	1.6	2.5	4.0
8	4	70	126	1.4	1.5	1.7	3.5	5.5
10	3	60	92	1.9	1.8	2.0	3.5	7.0
13	3	50	73	2.5	2.2	2.4	3.0	10.5
15	2	40	59	2.9	2.8	2.8	4.0	14.0
17	2	30	43	2.5	2.9	3.1	4.0	19.0
20	1	20	31	2.8	3.0	3.2	3.5	22.0
22	1	10	28	3.5	3.1	3.5	5.5	24.5
24	0	00	22	3.0	3.2	3.4	6.5	18.5
27	1	10	14	3.1	3.1	3.4	8.5	18.0
29			ASP.					
31			ASP.					
34			ASP.					
36			ASP.					
38			ASP.					
41			ASP.					
43			ASP.					
45			ASP.					
48			ASP.					
50			ASP.					
52	2	30	12	2.8	2.4	2.4	5.0	5.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia

Tabela 42: Características do sêmen do coelho 25 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	4	90	345	1.0	0.9	1.1	3.0	2.5
0	4	80	334	1.0	1.1	0.9	3.5	4.5
3	4	80	320	1.0	1.1	1.0	3.0	4.0
6	3	70	305	1.1	1.0	1.1	3.0	4.5
8	4	70	290	1.0	1.2	1.2	4.5	6.5
10	4	70	154	0.9	1.0	1.2	4.0	7.0
13	3	60	102	1.2	1.3	1.2	5.5	8.5
15	3	60	88	1.3	1.4	1.4	5.0	10.5
17	2	40	48	1.2	1.3	1.4	6.5	15.5
20	2	40	35	1.5	1.5	1.6	8.5	18.5
22	1	30	54	1.8	1.9	1.8	9.0	18.0
24	1	20	38	2.0	2.1	2.0	10.5	14.0
27	1	10	20	2.4	2.4	2.6	12.5	12.5
29	1	10	12	2.9	3.0	3.5	14.5	10.0
31			ASP.					
34			ASP.					
36			ASP.					
38			ASP.					
41			ASP.					
43			ASP.					
45			ASP.					
48			ASP.					
50	1	40	10	2.9	3.4	3.1	4.0	4.5
52	1	60	24	2.9	2.8	2.8	4.5	4.5
55	2	70	38	2.8	2.7	2.7	4.5	3.5
57	2	70	30	2.9	2.8	2.6	4.5	5.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo
Dia 3: final do criptorquidismo
AT: azul de toluidina
ASP: Aspermia

Tabela 43: Características do sêmen do coelho 26 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	100	423	1.2	1.0	1.0	3.5	4.0
0	5	100	454	0.9	1.0	1.0	2.0	4.5
3	5	90	398	0.8	0.9	1.1	2.5	5.0
6	4	90	384	0.9	1.1	1.0	3.0	5.5
8	5	90	320	1.1	1.0	1.2	3.5	5.5
10	4	80	289	1.0	1.2	1.1	3.5	6.5
13	4	70	220	1.2	1.2	1.4	5.5	7.0
15	4	60	198	1.2	1.3	1.3	4.5	9.0
17	3	60	154	1.5	1.5	1.8	4.0	15.0
20	3	60	102	1.4	1.6	1.6	5.5	19.0
22	3	70	84	1.6	1.8	1.7	7.0	18.5
24	3	60	64	2.4	2.4	2.2	6.0	12.5
27	2	50	52	3.2	2.9	3.0	7.0	14.0
29	2	40	28	3.5	3.5	3.3	6.5	9.0
31	2	30	34	3.5	3.8	3.8	8.5	8.0
34	1	30	18	3.6	4.0	4.1	9.5	7.5
36	1	20	12	3.8	4.2	4.0	10.0	6.0
38	1	30	16	3.2	3.4	3.8	9.0	7.5
41	2	30	14	3.2	3.2	3.4	7.0	6.0
43	2	40	24	2.9	3.2	3.4	5.5	5.5
45	3	60	38	3.0	3.0	3.1	7.0	4.5
48	3	60	14	3.4	3.2	3.0	6.5	5.5
50	4	80	22	2.8	2.6	2.7	4.5	6.5
52	4	70	09	2.7	2.5	2.3	5.0	6.0
55	5	90	14	2.4	2.4	2.4	5.0	5.5
57	5	90	20	2.0	2.2	2.3	4.5	4.0

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

Tabela 44: Características do sêmen do coelho 27 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	380	1.8	1.5	1.8	5.5	3.5
0	4	80	363	1.1	1.4	1.8	3.5	3.5
3	5	80	314	1.5	1.4	1.7	2.5	3.5
6	4	70	229	1.4	1.6	1.8	5.0	15.0
8	4	80	169	1.6	1.5	1.9	8.5	23.5
10	3	50	79	1.2	1.5	1.7	8.5	31.5
13	3	50	97	1.0	1.2	1.4	8.0	25.0
15	2	50	72	1.0	1.3	1.5	5.0	19.0
17	1	40	49	1.3	1.3	1.4	7.0	25.0
20	1	30	33	1.4	1.3	1.6	8.0	22.0
22	1	30	30	1.1	1.2	1.4	7.5	19.0
24	1	40	24	1.2	1.4	1.4	7.5	12.0
27			ASP					
29			ASP					
31			ASP					
34			ASP					
36			ASP					
38			ASP					
41			ASP					
43			ASP					
45			ASP					
48			ASP					
50			ASP					
52			ASP					
55	3	40	14	2.5	2.6	2.8	4.0	6.0
57	3	50	31	2.8	2.8	2.9	5.5	6.5
59	2	40	82	3.1	2.9	3.0	7.5	8.0
62	4	70	133	1.2	1.8	2.5	5.5	4.5
64	4	70	230	1.7	2.0	2.4	4.5	2.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia

Tabela 45: Características do sêmen do coelho 28 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	100	480	2.7	2.2	1.9	5.0	1.0
0	5	90	459	2.0	2.0	2.1	5.0	3.0
3	4	60	387	1.5	1.6	1.7	4.0	3.5
6	4	70	375	1.4	1.7	1.7	5.5	7.0
8	5	90	404	1.9	1.6	1.7	4.5	7.5
10	3	50	278	1.1	1.5	1.8	5.5	9.0
13	3	50	261	1.3	1.5	1.9	5.5	12.0
15	0	0	160	1.4	1.6	1.5	5.0	12.5
17	1	40	20	1.1	1.5	1.4	6.0	14.0
20	2	30	14	1.5	1.7	1.6	6.0	13.5
22	1	20	18	1.3	1.6	1.5	5.5	10.0
24			ASP					
27			ASP					
29			ASP					
31			ASP					
34			ASP					
36			ASP					
38			ASP					
41			ASP					
43			ASP					
45			ASP					
48			ASP					
50			ASP					
52			ASP					
55			ASP					
57			ASP					
59	2	50	10	1.2	1.5	1.7	4.0	6.0
62	3	60	70	0.7	1.0	1.1	4.5	5.5
64	4	70	210	0.9	1.0	1.3	5.0	5.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia

Tabela 46: Características do sêmen do coelho 29 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	80	462	2.7	2.5	2.6	4	4.5
0	5	80	459	2.7	2.3	2.4	4.5	3.5
3	4	60	217	2.0	2.3	2.1	4.5	7.0
6	5	80	225	2.8	2.5	2.5	3.5	16.0
8	4	70	205	2.8	2.4	2.6	5.0	30.5
10	3	50	154	1.5	2.0	2.3	8.5	38.0
13	2	40	203	1.8	2.0	2.4	5.0	48.0
15	0	0	84	2.3	2.5	2.4	9.0	42.0
17	1	30	42	4.1	3.4	3.4	11.0	44.0
20	1	30	33	4.4	4.0	3.9	10.5	42.5
22	1	30	27	5.1	4.9	4.9	12.0	36.0
24	1	30	14	6.8	5.9	6.5	14.0	34.5
27			ASP					
29			ASP					
31	1	20	11	6.7	7.0	6.5	16.5	19.5
34	1	20	20	8.2	7.5	7.9	16.0	20.0
36	1	40	27	13.6	12.8	14.1	14.0	16.0
38	2	40	26	12.0	12.5	12.8	11.5	11.0
41	2	30	31	5.3	6.8	7.8	6.5	4.5
43			ASP					
45			ASP					
48			ASP					
50			ASP					
52	3	70	24	2.5	2.8	3.0	4.0	5.5
55	4	70	33	2.8	2.8	2.7	4.5	5.0
57	4	70	82	2.5	2.5	2.5	3.5	4.5
59	4	70	110	2.8	2.6	2.6	2.5	5.5
62	4	60	170	2.4	2.5	2.7	4.0	4.0
64	5	90	295	2.9	2.6	2.5	2.5	2.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia

Tabela 47: Características do sêmen do coelho 30 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	382	1.8	1.6	1.7	5.5	4.5
0	5	90	322	1.7	1.5	1.7	4.0	4.0
3	5	90	312	1.2	1.5	1.6	3.5	4.5
6	5	90	204	1.5	1.4	1.6	4.0	5.0
8	4	80	206	1.4	1.6	1.7	5.0	7.0
10	3	70	133	1.8	1.7	1.7	5.5	12.0
13	2	50	121	1.8	1.6	1.6	6.0	19.5
15	2	40	94	1.4	1.6	1.6	5.5	20.5
17	2	40	90	1.7	1.7	1.7	6.5	24.0
20	1	30	42	2.0	1.9	1.8	7.0	22.5
22	2	40	54	3.1	2.8	2.9	10.0	19.0
24	2	30	34	2.8	3.0	3.1	15.0	19.5
27	2	30	33	3.3	3.6	3.7	21.0	16.5
29	1	30	28	4.1	3.9	4.2	19.5	14.0
31	1	40	22	5.5	4.8	5.4	17.0	8.0
34	1	30	22	6.1	6.5	6.7	12.0	9.0
36	1	30	14	5.8	6.7	6.7	10.5	7.5
38	1	30	11	7.2	6.8	7.4	8.5	8.0
41	1	30	14	5.2	6.5	7.1	9.0	7.5
43	1	30	21	4.1	6.1	6.1	10.0	6.5
45	1	30	22	3.3	4.1	4.3	7.0	5.0
48	2	40	36	3.0	3.2	4.1	5.5	4.0
50	2	50	40	3.3	3.0	3.8	6.5	4.5
52	2	60	38	2.3	3.0	3.1	4.5	4.0
55	3	70	42	2.0	2.5	2.6	5.0	6.0
57	4	90	90	2.1	2.5	2.4	4.5	3.5
59	5	90	159	2.2	2.2	2.3	3.0	4.0
62	5	80	188	2.0	2.3	2.3	5.5	4.0
64	5	90	288	2.0	2.0	2.3	5.5	5.0

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

Tabela 48: Características do sêmen do coelho 31 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO ($\times 10^6$ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	335	1.0	1.2	1.4	5	3.5
0	5	90	353	1.2	1.2	1.2	3.5	4.5
3	4	80	314	1.0	1.1	1.2	5.0	4.5
6	4	70	244	1.1	1.0	1.2	4.0	4.5
8	4	80	192	0.9	1.0	1.1	5.5	7.0
10	3	50	139	1.2	1.3	1.4	6.5	6.5
13	3	50	110	1.2	1.2	1.2	7.0	7.0
15	3	50	82	0.9	1.2	1.4	8.0	12.0
17	2	40	98	1.2	0.9	1.1	7.5	15.0
20	2	30	53	1.4	1.3	1.2	6.5	24.5
22	1	30	23	1.4	1.2	1.3	9.0	24.0
24	2	40	40	1.2	1.4	1.3	12.5	19.0
27	1	30	31	1.7	1.4	1.5	9.5	11.0
29	1	30	24	1.3	1.4	1.4	8.5	8.5
31	1	30	14	1.5	1.4	1.5	7.5	7.0
34			ASP					
36			ASP					
38			ASP					
41			ASP					
43			ASP					
45			ASP					
48			ASP					
50	3	40	10	1.7	1.6	1.8	5.0	5.0
52	2	30	32	1.8	1.9	1.8	4.5	5.0
55	3	40	44	1.4	1.5	1.7	6.0	5.5
57	3	50	51	1.6	1.6	1.6	5.5	6.0
59	2	30	102	1.7	1.8	1.8	5.5	4.5
62	4	70	177	1.2	1.5	1.6	4.5	5.0
64	5	90	245	1.3	1.3	1.4	5.5	5.0

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia

Tabela 49: Características do sêmen do coelho 32 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	4	90	378	1.6	2.0	1.8	5.5	3.5
0	5	100	354	1.5	1.6	1.6	4.0	4.0
3	4	90	305	1.4	1.5	1.4	3.5	4.0
6	4	90	224	1.6	1.6	1.8	4.0	6.0
8	3	80	205	1.6	2.0	2.2	5.0	7.5
10	4	80	212	2.0	2.2	2.1	5.5	12.0
13	3	60	170	2.2	2.9	2.8	6.0	20.5
15	2	50	124	2.5	3.0	2.8	5.5	23.0
17	2	40	98	2.8	3.5	3.5	6.5	29.5
20	2	40	87	3.6	3.9	3.6	7.0	30.5
22	2	30	54	3.8	4.5	4.1	10.0	29.0
24	1	30	48	5.8	5.4	5.8	15.0	27.5
27	1	20	33	7.4	6.8	6.9	25.5	26.5
29	1	30	42	8.3	8.1	7.9	20.5	22.0
31	1	20	28	9.8	10.1	9.4	21.5	20.5
34	1	20	22	8.5	9.8	9.4	18.0	19.0
36	1	30	12	8.8	9.2	9.1	17.5	17.0
38	1	20	14	7.9	8.0	8.4	14.5	12.0
41	1	30	14	7.6	8.2	7.9	15.0	10.5
43	2	30	32	7.8	7.8	7.6	12.0	7.5
45	2	30	34	7.2	7.4	7.1	10.0	6.0
48	2	40	20	7.8	7.4	7.2	8.5	4.5
50	3	60	18	6.4	7.0	7.0	8.0	4.5
52	2	50	10	5.2	5.1	6.0	6.0	4.0
55	3	70	14	3.4	4.0	4.1	5.5	4.5
57	4	80	32	3.6	3.5	3.5	5.0	4.5
59	5	90	28	2.4	2.8	3.0	5.0	4.0
62	5	90	41	2.0	2.2	2.1	5.5	4.0
64	5	90	32	2.0	1.9	1.9	4.5	3.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

Tabela 50: Características do sêmen do coelho 33 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	358	1.4	1.2	1.4	5.5	4.5
0	5	90	324	1.4	1.5	1.3	2.5	4.5
3	4	90	333	1.5	1.4	1.6	4.5	4.5
6	4	80	198	1.8	1.6	2.0	5.5	5.5
8	3	70	105	2.5	2.0	2.5	6.5	8.5
10	3	60	98	2.4	2.5	2.5	12.0	15.0
13	2	50	124	2.6	2.8	3.0	15.5	20.5
15	2	50	76	6.4	5.4	5.9	13.0	35.0
17	2	40	52	7.8	7.9	7.6	18.0	49.5
20	1	30	34	12.1	12.4	11.8	20.5	43.5
22	1	20	14	10.1	11.9	11.5	22.5	45.5
24	1	20	12	10.2	11.0	11.1	28.0	42.5
27			ASP					
29			ASP					
31			ASP					
34			ASP					
36			ASP					
38	1	20	14	14.2	13.5	13.9	12.0	23.0
41	1	20	28	12.8	12.0	12.5	11.0	18.0
43	1	30	34	10.0	10.8	9.8	8.5	15.0
45	1	30	28	7.8	8.1	7.8	6.5	14.5
48	2	40	15	7.5	7.1	6.9	7.0	10.5
50	2	50	18	6.8	6.5	6.5	6.5	9.0
52	2	50	10	7.0	6.7	6.5	5.5	8.5
55	3	70	22	6.2	6.2	6.0	5.0	10.5
57	3	80	17	6.9	6.2	6.4	6.5	8.0
59	4	80	31	4.0	4.1	4.4	6.0	7.0
62	4	90	22	3.2	3.0	3.4	6.0	5.5
64	4	90	41	2.1	2.4	2.8	6.5	6.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia

Tabela 51: Características do sêmen do coelho 34 (experimental)

DIA	VIGOR	MOTILI- DADE (%)	CONCEN- TRAÇÃO (x10 ⁶ esp./ml)	ANOMALIAS DNA-PROTEÍNA (%)			PAT. DE CABEÇA (%)	PAT. DE CAUDA (%)
				AT pH 4	AT pH 5	FEULGEN		
-2	5	90	305	1.2	1.2	1.1	3.5	4.5
0	4	80	314	1.2	1.0	1.1	2.5	5.5
3	5	90	268	1.0	1.2	1.2	3.5	5.0
6	4	80	128	1.5	1.5	1.8	4.5	7.0
8	4	80	105	1.8	2.2	1.9	5.5	8.5
10	3	70	90	2.5	2.6	2.5	8.5	14.0
13	4	70	86	2.9	3.2	3.2	7.0	20.0
15	3	70	72	5.8	5.6	4.9	9.0	26.5
17	3	70	54	10.9	9.6	8.9	15.5	33.0
20	2	50	38	15.8	14.1	14.8	16.0	30.0
22	2	50	14	16.7	17.1	15.9	25.0	25.5
24	1	30	18	18.6	18.1	17.8	25.5	26.0
27	1	20	12	18.0	18.9	18.1	27.0	22.5
29			ASP.					
31			ASP.					
34	1	20	14	20.8	19.9	19.8	20.5	18.0
36	1	20	12	19.1	18.5	18.8	18.0	16.0
38	1	30	24	15.0	15.8	14.8	12.5	12.5
41	1	30	14	12.0	11.9	12.2	10.0	14.0
43	1	20	12	13.2	12.1	12.6	11.5	15.5
45	2	30	18	10.0	9.6	10.1	8.5	10.5
48	2	40	22	9.2	9.2	8.9	7.0	9.5
50	2	50	37	8.2	7.9	8.0	6.0	8.0
52	2	40	20	5.1	6.0	5.3	8.0	7.5
55	3	60	18	3.0	3.1	3.5	5.5	10.0
57	3	50	22	2.6	3.0	2.8	6.5	8.0
59	4	70	10	2.1	2.4	2.2	5.0	7.0
62	4	80	12	2.8	2.4	2.6	5.5	6.5
64	5	80	10	2.4	2.2	2.4	5.0	7.5

Dia 0 (zero): Início do criptorquidismo

Dia 3: final do criptorquidismo

AT: azul de toluidina

ASP: Aspermia