

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS – DEPTO BIOLOGIA
NÚCLEO DE ESTUDOS EM NEUROCIÊNCIA E COMPORTAMENTO - IP

**MATURAÇÃO SEXUAL, CICLOS REPRODUTIVOS E DA TEMPERATURA
DO ROEDOR RABO-DE-FACHO
(*TRINOMYS YONENAGAE*, ECHIMYIDAE)**



L. C. Luchesi

LILIAN CRISTINA LUCHESE

São Paulo
2010

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS – DEPTO BIOLOGIA
NÚCLEO DE ESTUDOS EM NEUROCIÊNCIA E COMPORTAMENTO - IP

LILIAN CRISTINA LUCHESI

**MATURAÇÃO SEXUAL, CICLOS REPRODUTIVOS E DA TEMPERATURA
NO ROEDOR RABO-DE-FACHO
(*TRINOMYS YONENAGAE*, ECHIMYIDAE)**

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo (USP) para obtenção do título de Mestre em Neurociências e Comportamento.

Área de concentração: Neurociências e comportamento

Orientadora: Prof. Dr^a. Elisabeth Spinelli de Oliveira

São Paulo
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo

Luchesi, Lilian Cristina.

Maturação sexual, ciclos reprodutivos e da temperatura no rabo-de-facho (*Trinomys yonenagae*, Echimyidae) / Lilian Cristina Luchesi; orientadora Elisabeth Spinelli de Oliveira -- São Paulo, 2010.

106 f.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Área de Concentração: Neurociências e Comportamento) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.

1. Rabo-de-facho (roedores) 2. Maturidade sexual 3. Ciclo estral
4. Ritmos biológicos (animal) 5. Temperatura do corpo I. Título.

QL737.R666

FOLHA DE APROVAÇÃO

Lilian Cristina Luchesi

Maturação sexual, ciclos reprodutivos e da temperatura no roedor rabo-de-facho (*Trinomys yonenagae*, Echimyidae)

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da USP para obtenção do título de Mestre em Neurociências e comportamento.

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a Elisabeth Spinelli de Oliveira
Depto de Biologia da FFCLRP/USP, Rib. Preto

Prof. Dr. Pedro Luis Bernardo da Rocha
Depto de Zoologia do IB/UFBA, Salvador

Prof. Dr. Luciano Freitas Felício
Depto. De Patologia da FMVZ/USP, São Paulo

Prof^a. Dr^a Miriam Mendonça Morato de Andrade
Depto de Ciências Biológicas da FCL/UNESP, Assis

Prof. Dr. José Lino Oliveira Bueno
Depto. De Psicologia e Educação da FFCLRP/USP, Rib. Preto

Dedico a minha família, meus pais Lilian Ap.
Sacutti Luchesi e Layr Luchesi Jr. e ao meu irmão
André Marcel Luchesi, por estarem sempre por perto
aguentando todas as dificuldades e alegrias desse
projeto de minha vida.
Amo vocês!

Agradecimentos

Sou grata todos os dias a Deus, que criou tudo o que aqui está me permitindo estudar e conhecer cada vez mais os mistérios desse mundo, do qual fazem partes os roedores mais fofos, os rabo-de-facho.

À Profa. Dra. Miriam Andrade que confiou em minha capacidade e me apresentou à Beti para que eu pudesse seguir meu sonho de fazer pesquisas.

À Profa. Dra. Elisabeth Spinelli de Oliveira por me aceitar em seu laboratório e que acabou se tornando mais do que minha orientadora.

Obrigada, me considero uma pessoa de muita sorte! A Universidade de São Paulo e ao NeC pela oportunidade de cursar a pós-graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, pela bolsa que permitiu que eu seguisse com meu objetivo de cursar o mestrado.

A meus pais, Layr Luchesi Jr. e Lilian Ap. Sacutti Luchesi, que me trouxeram a esse mundo e são os responsáveis por hoje eu ser quem sou. E a toda a minha família que me ajudou, e ajuda sempre que preciso na confiança de que o investimento não será em vão.

Agradeço todos os dias por ter vocês em minha vida! Ao pessoal do LECO que sempre me lembra que é possível trabalhar em equipe. Formamos uma bela equipe, unida não só na vida profissional! Em especial às meninas do laboratório que não são apenas parceiras de trabalho, mas as melhores amigas que alguém poderia ter Lais Ruiz Cantano e Larissa Dias, que me dão uma mãozinha nos afazeres do laboratório sempre que é preciso. Mesmo quando isso inclui dormir! Vocês são muito especiais!

As amigas, velhas e novas, que me receberam em São Paulo quando precisei de um lugar para dormir e seguir as tarefas da pós-graduação Camila Huffenbaecher, Fernanda Luccas, Aline e Vivian. Se não fosse por vocês não sei como teria sido minha jornada.

A todos os outros que me ajudaram de alguma forma nessa trilha, nas conversas, passeios, discussões e viagens me ajudando a entender a vida e a ciência como parte dela.

E é claro, aos *Trinomys yonenagae*, que me deixaram acompanhar suas vidas, que foram tiradas da Caatinga há muito tempo, para que eu possa dar a minha pequena contribuição à necessidade do homem de entender o mundo a sua volta.

RESUMO

LUCHESI, L. C. **Maturação sexual, ciclos reprodutivos e da temperatura no roedor rabo-de-facho** (*Trinomys yonenagae*, Echimyidae). 2010. 106p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Psicologia – NeC – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Os ratos-de-espinho são abundantes nas florestas úmidas Neotropicais. *Trinomys yonenagae* (ROCHA, 1995) constitui uma exceção entre as espécies do gênero por habitar o campo de dunas fixas da Caatinga, ser colonial e fossorial. Tanto o ambiente seco, como a socialidade e o hábito fossorial podem alterar o padrão reprodutivo das espécies. Diante do fato desses roedores serem coloniais, por exemplo, espera-se a influência de co-específicos (fêmeas ou machos) no ciclo estral. Estudos-piloto na natureza e em cativeiro mostraram que a fase de diestro pode ocorrer com a vagina aberta, um fato que merece ser mais investigado, já que se considera que a abertura vaginal ocorra somente durante a transição da fase proestro-estro. O objetivo deste trabalho é, portanto, o de estudar aspectos dos ritmos reprodutivos infradianos (ciclo estral e gestação) e circadiano (temperatura corporal) em rabos-de-facho, mantidos em cativeiro, alojados individualmente, e pareados com fêmeas e com machos. Nesses grupos são caracterizados os esfregaços e o estado de abertura da vagina, buscando conhecer aspectos da fisiologia reprodutiva, tais como, a idade de maturidade sexual (cap. 1), a relação entre a fase do ciclo estral e o estado vaginal (cap. 2), e as características da citologia esfoliativa durante a gravidez (cap. 3). Os dados da citologia são correlacionados com o padrão comportamental durante o acasalamento, caracterizando a existência de estro pós-parto (cap. 3). Analisa-se ainda a distribuição de todos os nascimentos ocorridos ao longo de dez anos. O ritmo de temperatura corporal das fêmeas é aferido a partir de acompanhamento da temperatura retal com uso de termômetro digital durante 72h (cap. 4). Embora de maneira geral *Trinomys yonenagae* siga os padrões reprodutivos de outros membros da família Echimyidae, tais como, gestação longa (90d), ninhadas pequenas (média de 2 filhotes) e maturidade sexual tardia (ao redor dos 90d) é possível identificar a influência de co-específicos (dominância entre fêmeas) no ciclo estral. Este ciclo parece ser espontâneo, do tipo poliétrico, com fases muito curtas de proestro e estro (< 24h). A condição vaginal não é um bom indicativo de atividade reprodutiva (ocorre abertura no diestro e na gravidez); a presença do macho não garante fecundação; também se confirma a ocorrência de estro pós-parto, igualmente breve. O comportamento de acasalamento é elaborado, o que é esperado de espécies com estro curto ou de vida social e subterrânea. A distribuição dos nascimentos não é sazonal, confirmando dados de campo. Quanto ao ritmo de temperatura corporal, ele é

circadiano com picos noturnos e com relação positiva de fase com o ritmo de atividade/repouso, o que segue o padrão geral de roedores.

Palavras-chave: estro pós-parto; gestação; paleodeserto da Caatinga; ritmo circadiano de temperatura; *Trinomys yonenagae*

ABSTRACT

LUCHESE, L. C. **Sexual maturity, reproductive cycles and the temperature in the torch-tail rodent** (*Trinomys yonenagae*, Echimyidae). 2010. 106p. Dissertação (Master) – Instituto de Psicologia – NeC – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Spiny rats are among the most numerous group of mammals in Neotropical rainforests. *Trinomys yonenagae* (ROCHA, 1995) is an exception because it is colonial, fossorial and inhabits the semiarid Caatinga. The dry environment and the underground and colonial life styles are known to affect reproductive patterns. So it is expected, for example, that social life may influence the estrous cycle especially through the presence of conspecific (females and males). It is considered that vaginal opening occurs only during the estrus. Previous field studies or in captivity have shown the unexpected occurrence of vaginal opening and diestrus, a fact that deserves further investigation. The aim of this work is verify the reproductive infradian rhythms (estrous cycle and pregnancy) and the circadian body temperature rhythm, in *T. yonenagae* kept individually or in pairs (male-female and female-female) in captivity. In these groups vaginal smears and the presence of the vaginal membrane is studied aiming to characterize aspects of its reproductive life, such as, the age of sexual maturity (chapter 1), the relationship between the vaginal opening and the phase of the estrous cycle (chapter 2), and the smear cytology during pregnancy (chapter 3). The cytological data are correlated with the mating behavioral, characterizing the post-partum estrus (chapter 3). All birth that occurrence during 10 years are analyzed. The body temperature rhythm is measured during 72h by rectal temperature with a digital thermometer (chapter 4). Although *Trinomys yonenagae* follows the reproductive patterns of other members of Echimyidae, such as prolonged gestation(90d), small sized litter (mean of 2) and delayed sexual maturity (around 90d), it is possible to identify the influence of conspecifics (female dominance) upon the estrous cycle. This cycle seems to be spontaneous, poliestric, having very short proestrus and estrus phases (< 24h). The vaginal condition is not a good indicative of the reproductive status (vaginal opening may occur during the diestrus phase and the pregnancy); the presence of males does not guarantee pregnancy. We also confirm the occurrence of post-partum estrus, which is also short-lived. The mating behavior is complex, which is expected in species were the duration of estrus is short, or in species of social and subterranean life. The birth distribution is non seasonal, which is in agreement with field data. The body temperature rhythmicity is circadian with peaks at night; and shows a positive phase relationship with the rest/activity rhythm, both cycles follow the pattern known for other nocturnal rodents.

KEY-WORDS: *Trinomys yonenagae*; post-partum estrus; circadian body temperature rhythm; gestation, sand dune fields in the Caatinga

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Distribuição das principais famílias de roedores da América do Sul pertencentes ao clado Caviomorpha	14
Figura 2. Distribuição geográfica dos roedores da família Echimyidae na América do Sul segundo Mares & Ojeda (1982)	15
Figura 3. a) Exemplar de <i>T. yonenagae</i> macho (m=130g); b) Pais com filhotes de <i>T. yonenagae</i>	16
Figura 4 Filogenia proposta por Lara & Patton (2000) com os três clados para o gênero <i>Trinomys</i> . <i>Trinomys yonenagae</i> está destacado no clado 2 que tem espécies ligadas a ambientes com vegetação xérica	16
Figura 5 Em destaque a entrada da toca de <i>T. yonenagae</i> , feita em solo arenoso e com vegetação próxima em que há predomínio de cactácea e bromeliáceas	18
Figura 6 Localização do núcleo Supraquiasmático no SNC de <i>Ratus norvegicus</i> em destaque	22
Figura 1.1 Fêmea de <i>Trinomys yonenagae</i> com o orifício vaginal fechado (VF)	32
Figura 1.2 Idade em que ocorreu a 1ª abertura vaginal em fêmeas de <i>Trinomys yonenagae</i> mantidas em cativeiro (n=9). O traço horizontal indica o valor da média	33
Figura 2.1 Estados vaginais (a) e fases do ciclo estral (b) de fêmeas pareadas com fêmeas (grupo A) durante o 1º semestre de observação	46
Figura 2.2 Estados vaginais (a) e fases do ciclo estral (b) de fêmeas alojadas em gaiolas individuais (grupo B) durante um ano de observação	49
Figura 2.3 Estado vaginal (a) e fases do ciclo estral (b) em fêmeas pareadas com machos (n=4 a 5) fora do período de gravidez	50
Figura 2.4 Estados vaginais (a) e fases do ciclo estral (b) na fêmea nulípara (1CF) durante um ano de observação	51
Figura 3.1. Evolução da massa corporal das fêmeas de <i>Trinomys yonenagae</i> em 15 semanas de observação (n=8 episódios)	62
Figura 3.2. Estados vaginais das fêmeas grávidas durante os três meses de gestação (n=5)	64
Figura 3.3. Fases do ciclo estral observadas nas fêmeas grávidas durante os três meses de gestação (n=5)	65
Figura 3.4. Esfregaço vaginal com espermatozoides da fêmea 6CF em janeiro de 2009	68
Figura 4.1 Oscilação de temperatura nas fêmeas do grupo A (n=8) de <i>Trinomys yonenagae</i> em 24 horas. A barra preta representa a fase de escuro	76
Figura 4.2 Oscilação de temperatura nas fêmeas do grupo B (n=8) de <i>Trinomys yonenagae</i> em 24 horas. A barra preta representa a fase de escuro	76
Figura 4.3 Oscilação de temperatura das fêmeas de <i>Trinomys yonenagae</i> (n=16) em 24 horas. A barra preta representa a fase de escuro	77

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
<i>Trinomys yonenagae</i>: Rodentia (Hystriognathi, Echimyidae)	13
1.1.1A ordem Rodentia.....	13
1.1.2 <i>Trinomys yonenagae</i> (Rocha, 1995): roedor da Caatinga.....	14
1.1.2.1 O ambiente da Caatinga: o paleodeserto à margem oeste do São Francisco	17
1.1.4. <i>Trinomys yonenagae</i> em estudos de contexto evolutivo	19
2.1.1 Ritmicidade biológica: evolução, tipos, osciladores, definições e propriedades ...	21
2.1.2 A cronobiologia de <i>T. yonenagae</i>	24
2.1.2.1 Padrão circadiano	24
2.1.2.2 Padrão infradiano	25
OBJETIVOS GERAIS	27
MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Animais	27
4.1.1 Manutenção dos animais	27
4.1.3 Grupos experimentais.....	28
4.2 Análise estatística	28
CAPÍTULO I - IDADE DA ABERTURA VAGINAL EM <i>TRINOMYS YONENAGAE</i>	29
1.1 Introdução	29
1.2 Objetivos	30
1.3. Material e Métodos	30
1.3.1 Animais	30
1.3.2 Manutenção dos animais.....	30
1.3.3 Procedimento e equipamentos do acompanhamento da maturidade sexual.....	31
1.3.4 Análise estatística.....	31
1.4. Resultados	32
1.5. Discussão	33
CAPÍTULO II - CICLO ESTRAL E ESTADO VAGINAL EM <i>TRINOMYS YONENAGAE</i>	37
2.1 Introdução	37
2.2 Objetivos	39
2.3 Material e métodos	40
2.3.1 Animais:.....	40
2.3.2 Manutenção	40
2.3.3 Procedimento e equipamentos dos estudos do ciclo estral.....	40
2.3.3.1 A coleta do esfregaço vaginal	41
2.3.4 Análise estatística.....	42
2.4 Resultados	42
2.4.1 Os estados vaginais	42
2.4.2 Características gerais do ciclo estral de <i>Trinomys yonenagae</i>	43
2.4.2.1 Ciclo estral das fêmeas alojadas em duplas (grupo A)	44
2.4.2.2 Ciclo estral das fêmeas alojadas em gaiolas individuais (grupo B)	47
2.4.2.3 Ciclo estral nas fêmeas alojadas com machos (grupo C)	49
2.5 Discussão	51
2.6 Bibliografia	54
CAPÍTULO III - GESTAÇÃO E ACASALAMENTO EM <i>TRINOMYS YONENAGAE</i>	56
3.1 Introdução	56
3.1.1 Comportamentos reprodutivos	56

3.1.2 <i>Gestação</i>	57
3.2 Objetivos	57
3.3 Material e Métodos	57
3.3.1 <i>Animais</i>	57
3.3.2 <i>Manutenção dos animais</i>	58
3.3.3 <i>Procedimentos</i>	58
3.3.3.1 <i>Procedimentos e equipamentos dos estudos das características da gestação</i>	58
3.3.3.2 <i>Procedimentos e equipamentos dos estudos do padrão do comportamento reprodutivo</i>	59
3.4. Resultados	59
3.4.1 <i>Gravidez em <i>Trinomys yonenagae</i></i>	59
3.4.1.2 <i>Ganho de peso durante a gestação</i>	61
3.4.2 <i>Nascimentos durante o desenvolvimento do estudo</i>	62
3.4.3 <i>Ciclo estral e abertura vaginal durante a gestação</i>	64
3.4.4 <i>O padrão de acasalamento</i>	65
3.4.4.1 <i>Maturação sexual e reprodução da fêmea 080398 (6CF)</i>	67
3.5 Discussão	68
3.6 Bibliografia	71
CAPÍTULO IV – RITMO DE TEMPERATURA CORPORAL	73
4.1 Introdução	73
4.2 Objetivos	74
4.3 Material e Métodos	74
4.3.1 <i>Animais</i>	74
4.3.2 <i>Manutenção</i>	74
4.3.3 <i>Procedimento e equipamentos do estudo do ritmo de temperatura corporal</i>	74
4.3.4 <i>Análise dos dados</i>	75
4.4 Resultados	75
4.4.1 <i>Ritmo de temperatura nos dois grupos de fêmeas</i>	75
4.4.2 <i>Ritmo de temperatura geral</i>	77
4.5 Discussão	77
4.6 Bibliografia	80
CONCLUSÕES FINAIS	81
BIBLIOGRAFIA	83
ANEXOS	90

INTRODUÇÃO

Esta dissertação trata do estudo da caracterização temporal de fenômenos fisiológicos que são de fundamental importância para a sobrevivência das espécies. Aqui, a espécie em questão é um roedor que é peça-chave em um ambiente especial da Caatinga, o das dunas da margem esquerda do Rio São Francisco, na Bahia. Serão abordadas duas questões pertinentes para a compreensão da biologia deste mamífero, que é de pequeno porte e com possíveis ancestrais de florestas úmidas: a da reprodução e a da temperatura corporal.

***Trinomys yonenagae*: Rodentia (Hystricognathi, Echimyidae)**

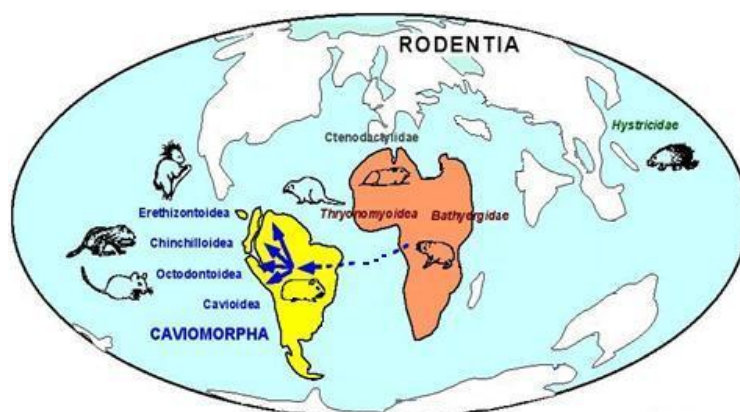
1.1.1A ordem Rodentia

A ordem Rodentia apresenta mais de 2.000 espécies distribuídas em uma grande diversidade de famílias e gêneros, representando uma entre cada quatro espécies de mamíferos. A ordem está dividida em subordens segundo critérios anatômicos. Considerando as diferenças no arco do zigomático e no músculo masseter (ver WOOD, 1948; WILSON e REEDER, 2005) ela é dividida em três subordens: Sciuromorpha (como os esquilos), Myomorpha (ratos e camundongos) e Hystricomorpha (capivaras e pacas). Seguindo o critério da mandíbula a ordem divide-se em Sciurognathi (esquilos, ratos e camundongos) e Hystricognathi (paca, cutia). Alguns roedores são ainda tanto histricomorfos como histricognatas (ver MARTIN, 1992). Mais recentemente outras denominações têm sido propostas (ver CARLETON e MUSSER, 2005), mas nesta dissertação será utilizada a nomenclatura clássica, como citada pelos autores da bibliografia.

Os histricognatas encontrados na América do Sul são denominados de Caviomorpha (ver WOOD, 1984 e figura 1). Este é um grupo muito diversificado com representantes de tamanhos variados, desde 7 até 150 cm de comprimento cabeça-corpo (ver MACDONALD, 1984). Esse é também considerado o grupo de roedores mais antigo a colonizar a América do

Sul, quando esse continente ainda estava isolado das Américas Central e do Norte, o que poderia explicar a presença de espécies de caviomorfos nos mais diversos ambientes sul americanos. A colonização é um evento considerado controverso há mais de 100 anos, portanto, existem várias teorias a respeito da origem dos caviomorfos neste continente (ver MARTIN, 1992; LUCKETT & HARTEMBERGUER, 1985, NOWAK, 1999). Alguns de seus representantes são a paca (*Agouti paca*), a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), a cotia (*Dasyprocta aguti*), a cobaia (*Cavia porcellus*) e o rabo-de-facho (*Trinomys yonenagae*).

Figura 1 Distribuição das principais famílias de roedores da América do Sul pertencentes ao clado Caviomorpha



Considera-se que os caviomorfos sejam os primeiros roedores a colonizar a América do Sul. A rota em azul representa a hipótese mais aceita da origem africana dos Caviomorfa. Figura retirada e modificada de Huchon e Douzery, 2001¹

1.1.2 *Trinomys yonenagae* (Rocha, 1995): roedor da Caatinga

Os ratos-de-espinho (Echimyidae) formam o mais abundante grupo de mamíferos não-voadores nas florestas úmidas e a distribuição da família na América do Sul encontra-se na **figura 2** (retirada de MARES & OJEDA, 1982). O grupo é de interesse já que permite estudos comparativos de espécies filogeneticamente próximas, mas que vivem em ambientes distintos entre si como as florestas neotropicais e a caatinga.

¹ HUCHON, D; DOUZERY, E. J. P. From the Old World to the New World: A Molecular Chronicle of the Phylogeny and Biogeography of Hystricognath Rodents. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 20, n. 2, pp. 238–251, 2001.

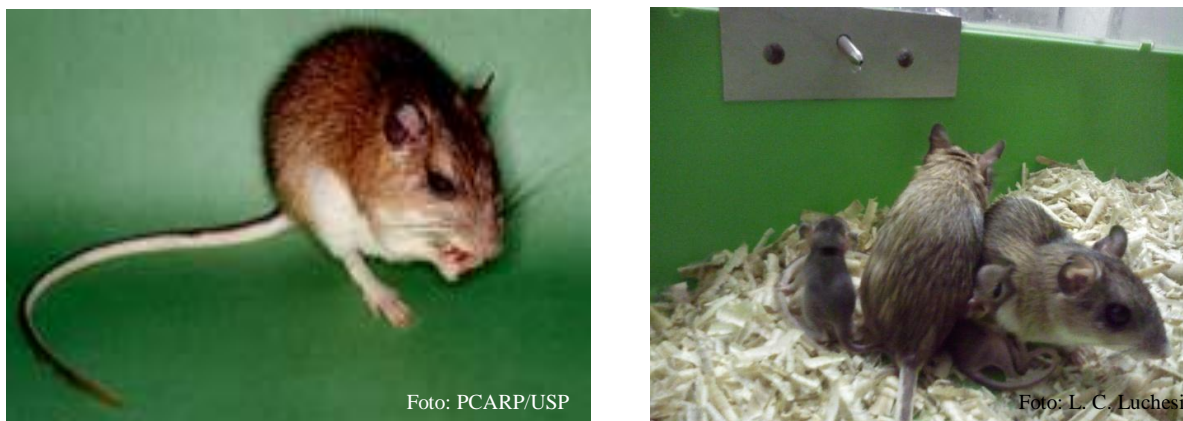
Figura 2. Distribuição geográfica dos roedores da família Echimyidae na América do Sul segundo Mares & Ojeda (1982)



Inicialmente o rato-de-espinho *Trinomys yonenagae* (**figura 3**) foi descrito como pertencente ao gênero *Proechimys*, e subgênero *Trinomys* por ROCHA, 1995 a partir de espécimes coletados em 1991, no paleodeserto de dunas fixas localizado na margem oeste do rio São Francisco, no domínio morfoclimático da Caatinga (BA) (RODRIGUES, 1991; ROCHA, 1992, 1995). A região de 7.000 km² abriga uma fauna com altos índices de endemismos (RODRIGUES, 1996) e presentemente é conhecida como “Área de Preservação Ambiental das Dunas e Veredas do Médio Rio São Francisco”, de acordo com o Centro de Recursos Ambientais da Bahia. Estudos ecológicos mostraram que a espécie é endêmica desses campos de dunas e a única representante de mamíferos de pequeno porte da área (ROCHA, 1992).

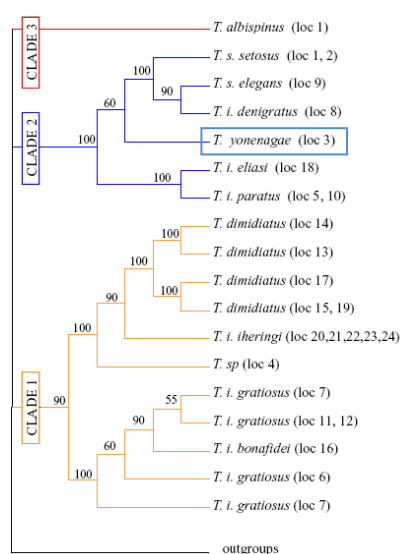
Posteriormente a espécie passou a ser denominada *Trinomys yonenagae* (ROCHA, 1995) quando a monofilia do táxon *Proechimys* foi revista e *Trinomys* foi elevado ao status de gênero (LARA et al, 1996; LARA & PATTON, 2000; GALEWISK et al, 2005).

Figura 3. a) Exemplar de *T. yonenagae* macho (m=130g); b) Pais com filhotes de *T. yonenagae*



O gênero *Proechimys* predomina na Amazônia e os *Trinomys* são restritos ao leste do Brasil (GALEWSKI et al, 2005). Considera-se que *Trinomys* possui três cladros distintos (LARA & PATTON 2000) que estão em concordância com a distribuição vegetal, sendo um deles distribuído ao longo das matas da costa sudeste, um encontrado nas florestas semi-decíduas internas e o terceiro relacionado à vegetação xérica, ao qual pertence *T. yonenagae* (**figura 4**).

Figura 4 Filogenia proposta por Lara & Patton (2000) com os três cladros para o gênero *Trinomys*. *Trinomys yonenagae* está destacado no clado 2 que tem espécies ligadas a ambientes com vegetação xérica



Hipóteses sobre a história evolutiva da Caatinga (VIVO, 1997) indicam que a espécie *T. yonenagae*, apesar de viver no semi-árido, provavelmente tem um ancestral de ambiente florestado úmido, o que é refletido em aspectos de sua fisiologia, como o balanço hídrico, que em muitos aspectos é semelhante às espécies de mata, diferente do que seria esperado para espécies de ambientes secos (OLIVEIRA et al 1995; MENDES, 1998; SCHMIDT-NIELSEN, 1964).

1.1.2.1 O ambiente da Caatinga: o paleodeserto à margem oeste do São Francisco

A Caatinga, um bioma brasileiro, localizada na região nordeste do Brasil, em uma área de aproximadamente 700 mil Km² sendo uma das três regiões semi-áridas da América do Sul. É caracterizada por um regime escasso e irregular de chuvas, um alto grau de radiação solar, a mais alta variação de temperatura e a mais baixa umidade relativa do ar no Brasil (AB'SABER, 1970; REIS, 1976). As marcações ambientais podem ser observadas por dois períodos distintos: um de chuvas que acontece no verão entre dezembro e julho, podendo variar de um a seis meses dependendo da região e chamado localmente de inverno – e o de seca, que se inicia em julho e pode durar de sete a onze meses por ano, chamado localmente de verão (ROCHA, 1992, ver site IBGE²). A temperatura média anual na região está entre os 25°C e 27°C (NEVES, 1999). O dia apresenta-se com aproximadamente 12h de claro e 12h de escuro, com variação ao redor de uma hora de 11h29min a 12h46min de fase de claro, entre o dia mais curto e mais longo do ano (comunicação pessoal Freitas, J. N.S. a partir de dados sobre a duração do primeiro dia de cada mês durante um ano).

Na estação de chuvas ocorre o processo de alimentação das sub-bacias hidrográficas da região, o período conhecido como “a chegada do rio” se inicia em dezembro. A partir de junho ou julho os rios chegam ao término do período de correnteza, indicando que após a

² Fonte: IBGE. Disponível em: <ftp://geoftp.ibge.gov.br/mapas/tematicos/mapas_murais/clima.pdf>. Acesso em: 04 mar. 2010. Dados apresentados são referentes a cidade de Barra localizado a cerca de 50km, o ponto meteorológico mais próximo do campo de dunas onde são encontrados os espécimes de *T. yonenagae*.

cessação das chuvas ainda há uma alimentação residual das águas da superfície. Após este período os rios não correm mais pela Caatinga alimentando os lençóis freáticos (AB'SABER, 1974)

As dunas de areia onde são encontrados os *Trinomys yonenagae* podem chegar a 100m em relação ao nível do rio (RODRIGUES, 1991), sendo que as diferenças entre os cumes e vales atingem valores entre 10 e 30m de altura (ROCHA, 1992). O padrão climático é o da Caatinga, sendo os meses mais secos do ano de abril a outubro (ROCHA, 1992). Segundo relatos de moradores de Xique-xique, cidade localizada à margem direita do rio, o mês de agosto é o mais seco (comunicação pessoal).

A vegetação é esparsa e rasteira, formada na sua maior parte por arbustos e árvores de pequeno porte (1,5m a 2,0m), podendo-se observar frequentemente a presença de bromeliáceas e cactáceas próximas as tocas de *Trinomys yonenagae* (**figura 5**) (ver ROCHA, 1992).

Figura 5 Em destaque a entrada da toca de *T. yonenagae*, feita em solo arenoso e com vegetação próxima em que há predomínio de cactáceas e bromeliáceas



1.1.4. *Trinomys yonenagae* em estudos de contexto evolutivo

Estudos do balanço de ingestão, alimentar e hídrico (SPINELLI OLIVEIRA et al, 1995; MENDES, 1998), e de parâmetros respiratórios e metabólicos (BARROS et al, 1998), indicam que *T. yonenagae* não se diferencia marcadamente de outras espécies de *Trinomys* que habitam florestas úmidas. Com relação à capacidade de concentrar urina *T. yonenagae* não apresenta convergência com outros roedores de deserto (SPINELLI OLIVEIRA et al, 1995; MENDES, 1998, SCHMIDT-NIELSEN, 1964). Tanto *T. iheringi* (da Mata Atlântica) como o *T. yonenagae* apresenta, por exemplo, taxa de metabolismo basal mais baixa do que ratos de linhagem Wistar (BARROS et al, 1998), o que pode ser considerado uma exaptação importante para a sobrevivência de *T. yonenagae* na Caatinga.

Com relação à morfologia, no entanto, há convergência de *T. yonenagae* com roedores de deserto: o tamanho do corpo e a massa corporal são reduzidos, a bula timpânica é inflada, a pelagem é críptica (relativamente mais clara), as patas posteriores são compridas, e a cauda alongada apresenta um pincel de pêlos na extremidade. Essa última característica é responsável pelo seu nome popular, rabo-de-facho, e é importante na estabilização da locomoção bípede no substrato arenoso (ROCHA, 1992; 1995 Rocha et al, 2007).

Dados de campo descrevem o rabo-de-facho como fossorial (senso HILDEBRAND, 1985): esse roedor é o único do gênero que constrói e mantém galerias relativamente profundas e extensas onde passa o dia, e durante a noite forrageia no ambiente aberto das dunas (ROCHA, 1992). Estudos no cativeiro mostram significativas diferenças na frequência de cavar, independentemente do sexo, idade e massa corporal dos indivíduos, assim como capacidade de enterrar sementes (*food hoarding*) e depois recuperá-las (MARCONATO, 2003).

Do ponto de vista comportamental *T. yonenagae* também difere de outras espécies silvícolas do mesmo gênero e dos *Proechimys* (FREITAS, 2003, 2008; MANAF, 2000, 2005;

MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2000; MANAF et al, 2003a, 2003b), cujas espécies são consideradas terrestres, solitárias e territoriais (KLEIMAN, 1974; BERGALLO, 1995).

Ainda com relação à socialidade os rabos-de-facho apresentam um padrão agregado de distribuição de adultos nas dunas (ROCHA, 1992; SANTOS, 2004). Estudos em cativeiro confirmam a existência de uma organização comunal caracterizada por um grande repertório de comportamentos afiliativos, que inclui cuidado parental e aloparental, e alta tolerância intra-específica com baixa agressividade (MANAF, 2000, 2005; MANAF et al, 2003; MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2000; FREITAS et al, 2003). Os dados também indicam um papel social diferenciado das fêmeas, tanto em estudos de campo (SANTOS, 2004; FREITAS et al, 2008) como em cativeiro (MANAF, 2000; MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2009).

Em *Trinomys* há a presença de uma complexa glândula anal de cheiro (GC) (MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2006; MANAF et al, 2003b). Esta glândula parece ser uma plesiomorfia de ratos-de-espinho eumisopinos já que várias espécies do clado (*Trinomys albispinus*, *T. iheringi*, *Proechimys cayennensis*, *Thrichomys apereoides* e *Clyomys bishop*) apresentam uma GC com características morfológicas semelhantes às do rabo-de-facho.

T. yonenagae utiliza a comunicação olfativa pela GC durante interações diádicas com um co-específico desconhecido, independentemente do sexo, mas não durante a exploração de ambiente desconhecido. Esse sinal é parte de uma seqüência de comportamentos afiliativos envolvidos com o reconhecimento de indivíduos ou classes de indivíduos, e com a redução da agressividade (MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2006; MANAF et al, 2003b).

Diante disso, atualmente *T. yonenagae* é uma das espécies mais conhecidas entre os equimídeos principalmente por ser adequada a estudos da interação entre ambiente e filogenia, possibilitando comparações evolutivas com outras espécies próximas de habitat distinto (BARROS et al, 1998; FREITAS et al, 2003, 2008, 2010; FONSECA, 1998; MANAF, 2000, 2005; MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2000, 2006, 2009; MANAF et al, 2003a, 2003b;

MARCOMINI, 2004; MARCOMINI & SPINELLI OLIVEIRA, 2003; MARCONATO, 2003, MENDES, 1998; MONEIA, 2004; RIBEIRO, 2004; ROCHA, 1992, 1995; SPINELLI OLIVEIRA, 2003; SANTOS, 1997, 2004).

Este conjunto de dados a respeito de *T. yonenagae* permite a elaboração de hipóteses relacionadas a aspectos de importância para a sobrevivência da espécie e que ainda não foram objetos de estudos. A irregularidade climática é considerada por autores como Mares e colaboradores (1981) como um fator excludente de seleção direcional para certas características, como a habilidade de concentrar urina, principalmente para animais de vida curta. No entanto, dados recolhidos em cativeiro (SPINELLI DE OLIVEIRA e MANAF, em preparação) indicam que *T. yonenagae* vive mais do que outros roedores de mesmo tamanho, em um ambiente com estabilidade do ciclo claro-escuro ao longo do ano. A hipótese do presente trabalho é que a espécie não mostraria sazonalidade em seus padrões rítmicos de reprodução, ou seja, que não haveria variações significativas nas taxas de nascimento ao longo do ano.

2.1. Os ritmos biológicos

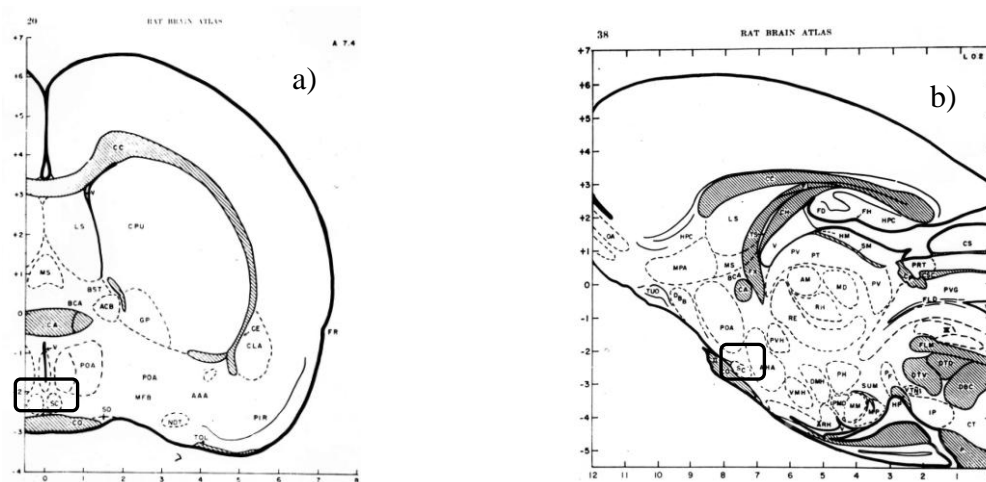
2.1.1 Ritmicidade biológica: evolução, tipos, osciladores, definições e propriedades

A presença de ciclos é reconhecida desde grupos basais como o das cianobactérias (KONDO, 2000) e fungos (IWASAKI, 2000), até grupos de organismos estruturalmente mais complexos, como de plantas e animais. A origem desta ritmicidade tem sido analisada a partir do nível molecular, e hoje se sabe que não há uma similaridade entre os genes responsáveis por ela nas cianobactérias, fungos e animais. Isso é uma indicação de que os mecanismos de ritmicidade apareceram de forma independente pelo menos duas vezes nas diferentes formas de vida (YOUNG, 2000).

Os eventos fisiológicos, bioquímicos e comportamentais de origem endógena, que são recorrentes em intervalos definidos de tempo, são chamados de ritmos biológicos. Esses ritmos expressam-se como: a) ritmos circadianos, caracterizados por período de $24 \pm 4h$ (*circa*= cerca de; *dies*= dia), por exemplo, o ritmo de atividade/repouso de duas espécies de roedores silvestres equímídeos (MARCOMINI, 2003); b) ritmos ultradianos, que apresentam período menor de 20h, por exemplo, o padrão de atividade eletro-encefálico em mamíferos; c) ritmos infradianos, em que a duração é maior de 28h, como o ciclo estral de ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) que é de quatro a cinco dias (para definições ver MOORE-EDE et al. 1982).

Dentre os osciladores de ritmos circadianos nos mamíferos encontram-se os Núcleos Supra-Quiasmáticos do Hipotálamo (NSQ) (**figura 6**), e o putativo “Oscilador arrastável pelo alimento” ou “FEO” (*Food Entrainable Oscillator*) (ESCOBAR et al, 1998; DÍAZ-MUÑOZ et al, 2000; ver GOLOMBEK et al, 2003; DAVIDSON, 2006).

Figura 6 Localização do núcleo Supraquiasmático no SNC de *Rattus norvegicus* em destaque



a) Corte frontal; b) corte sagital. Encéfalo de rato destacando o NSQ em vermelho. Figuras retiradas e destacadas de GROOT, J. De. **The rat forebrain in Stereotaxic coordinates**, 1959.

O funcionamento coordenado de células, tecidos ou órgãos – regido por sistemas de organização temporal, presentes em todos os seres vivos – apresenta ritmicidades que se

originaram de pressões seletivas relacionadas aos ciclos geofísicos, e refletem interações dos ambientes externos e internos das diferentes formas de vida, que possibilitaram ajustes antecipatórios às oscilações ambientais periódicas (PERRY & SPINELLI OLIVEIRA, 2010). Através dessas interações com o meio externo ocorre o ajuste dos ritmos endógenos aos fenômenos cíclicos ambientais, um fenômeno chamado de arrastamento. Quando oscilações externas são eliminadas, como por exemplo, em condições experimentais de iluminação constante, não se observa o fenômeno de arrastamento e os ritmos biológicos observados dessa forma são denominados de ritmos em livre-curso (ver MACDONALD, 1995; MARQUES et al. 2003) o que permite conhecer a periodicidade de um ritmo independente de suas relações com o meio externo.

Entre os parâmetros estimados em cronobiologia, destaca-se ainda a acrofase, que se refere ao horário de pico de um ciclo circadiano, ajustado por métodos estatísticos a uma curva senoidal. Por exemplo, no ritmo de atividade/repouso, a acrofase é o horário do dia onde ocorre o pico de atividade.

A periodicidade de um ritmo, ou seja, o intervalo de tempo em que ele leva para reiniciar é dada pela frequência do chamado oscilador, ou de um conjunto de osciladores e, no ritmo arrastado, à ação sincronizadora de alterações ambientais cíclicas, denominadas *zeitgeber* ou sincronizador(es) externo(s) (ASCHOFF, 1951, 1954 *apud* ROTENBERG et al, 2003). O ciclo claro/escuro é um *zeitgeber* fótico e a rotina de uma sociedade, nas espécies sociais, é um *zeitgeber* não-fótico ou social (ver MARQUES et al, 2003).

Membros da comunidade com os quais as espécies sociais dividem o tempo e o espaço influenciam o padrão de atividade nas relações com parceiros sexuais, competidores, predadores, presas e parasitas (revisão MISTLBERGER & SKENE, 2004). Além de o contato social fornecer pistas temporais para o desenvolvimento do indivíduo, ele também contribui na ontogenia do repertório comportamental de uma dada espécie (VARLINSKA et al, 1999).

Dado o alto grau de socialidade nos rabos-de-facho espera-se encontrar influencia de co-específicos nos padrões rítmicos da reprodução nessa espécie em animais alojados juntos.

2.1.2 A cronobiologia de *T. yonenagae*

2.1.2.1 Padrão circadiano

Estudos em *T. yonenagae* mantidos em cativeiro – em condições de ciclo C/E 12:12, luzes acesas às 18h – mostram um claro padrão circadiano de atividade/repouso, apresentando atividade predominante na fase de escuro e acrofase às 00:36h, sem diferenças significativas entre os sexos (MARCOMINI, 2004, MARCOMINI & SPINELLI OLIVEIRA, 2003). Esses dados confirmam o padrão noturno de atividade que é encontrado na maioria dos roedores. No entanto, a comparação com outros equimídeos, um filogeneticamente mais próximo (*Trinomys albispinus minor*) e outro mais distante (*Thrichomys apereoides*), indica diferenças na distribuição da atividade, que é intermitente na primeira espécie e bimodal na segunda.

Nos rabos-de-facho foi também possível observar um alto grau de sincronização, tanto da atividade como do repouso, o que pode indicar a presença de um *zeitgeber* social nessa espécie, não excluindo a possibilidade de haver um *zeitgeber* fótico (MARCOMINI & SPINELLI OLIVEIRA, 2003), uma vez que foi observado um comportamento antecipatório de atividade precedendo a fase de escuro (MARCOMINI, 2004). Como *T. yonenagae* é também uma espécie de hábitos fossoriais seria esperado um relaxamento da pressão seletiva de caráter fótico, o que não parece ter ocorrido.

Embora seja conhecida a relativa hipotermia de *T. yonenagae* em condições normais (BARROS et al, 1998) considera-se importante caracterizar o padrão rítmico de sua temperatura corporal, já que em mamíferos ele segue uma ritmicidade circadiana. Além disso, pergunta-se qual é a relação temporal entre temperatura corporal e atividade nos rabos-de-

facho, que vivem em um ambiente cuja temperatura diurna na superfície das dunas alcança valores próximos a 60°C, e oscila de 30 a 33°C nas galerias subterrâneas (ROCHA, 1992).

2.1.2.2 Padrão infradiano

O sucesso reprodutivo apresenta estreita ligação com a capacidade de sobrevivência das espécies. Especialmente para as fêmeas, vários aspectos da reprodução podem ser cíclicos: os níveis hormonais, as citologias vaginal, uterina e mamária, a ovulação e a abertura e fechamento vaginal. Também o nascimento de filhotes pode ser sazonal em várias espécies de mamíferos. Em geral essas ritmicidades são infradianas, com períodos muito variados. Por exemplo, a gestação em roedores histricomorfos pode ter duração média de 53 a 250 dias (WEIR, 1974).

Existem poucas informações sobre a biologia reprodutiva em roedores de vida subterrânea, embora esse aspecto seja de importância fundamental para todos os organismos. A maior parte dos estudos trata da reprodução em espécies da família Bathyergidae, com poucos dados referentes a outros clados. Essa lacuna é especialmente crítica nos equimídeos, daí a importância de estudos com espécies dessa família, como os rabos-de-facho, o que está presentemente proposto nesta dissertação.

Para o levantamento de hipóteses é importante se salientar que o ambiente fossorial dificulta o uso do *zeitgeber* fótico, tendo importância outras pistas temporais como temperatura, regime de chuvas e dieta para o arrastamento dos ritmos das espécies de vida subterrânea (BENNETT et al 2000). Neste contexto o alto nível de afiliação encontrado no rabo-de-facho apóia a importância do *zeitgeber* social nessa espécie. No ambiente fossorial há também o desafio da identificação de possíveis parceiros por pistas sensoriais que não sejam a da comunicação visual. Nesse aspecto, o rabo-de-facho apresenta alta capacidade de comunicação olfativa (MANAF et al, 2003b) e sonora, inclusive através do tamborilar (MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2000; NEVES, 2007).

Também deve ser considerado que nas espécies sociais o tempo de acasalamento dos roedores de vida subterrânea é mais prolongado, provavelmente em decorrência da segurança encontrada nas tocas. Em geral, nesses casos a iniciativa da corte é da fêmea (JARVIS, 1991; BENNETT & JARVIS, 1988b *apud* BENNETT et al 2000). Como estes dois aspectos da biologia dos rabos-de-facho não estão descritos eles também serão objeto de estudo neste trabalho.

Com relação à citologia vaginal estudos-piloto foram conduzidos no campo e em cativeiro (OLIVEIRA SPINELLI, et al, 1997; MONEIA 2004) com o objetivo de iniciar a caracterização de parâmetros reprodutivos em fêmeas de rabos-de-facho. Os resultados no campo (OLIVEIRA SPINELLI, et al, 1997) mostraram que todas as fêmeas examinadas com a vagina aberta estavam em diestro e não em proestro ou estro, como seria esperado da literatura da literatura de roedores (STOCKARD & PAPANICOLAU, 1919).

Para vários autores a vagina aberta é indicativa de atividade reprodutiva, ou seja, da presença de estro ou proestro (ver WEIR, 1974). Conseqüentemente, em estudos de ecologia com acompanhamento de populações de roedores no campo, a avaliação das condições reprodutivas dos indivíduos é normalmente feita a partir de evidências indiretas, tais como, a presença de sinais de lactação, de embriões palpáveis, palpação dos testículos e o critério “grau de abertura da vagina”. Considera-se, portanto, que face aos resultados obtidos até o momento é necessário aprofundar o estudo da condição vaginal nos rabos-de-facho em situações experimentais controladas e suas relações com o ambiente e/ou indivíduos.

Os dados obtidos em cativeiro com amostragem aleatória indicam que a atividade cíclica é espontânea; o padrão é do tipo poliétrico com as quatro fases; sendo o diestro a fase de maior duração; a cópula parece acontecer no proestro; a presença do macho não assegura a gravidez. Finalmente, é necessário ter cautela na utilização da abertura da membrana vaginal como indicativo de atividade reprodutiva até que sejam realizados estudos complementares

com amostras feitas em intervalos regulares e ao longo do ano (SPINELLI OLIVEIRA et al, 2007).

OBJETIVOS GERAIS

Os objetivos gerais deste trabalho são, portanto, de estudar em cativeiro aspectos da cronobiologia da reprodução de fêmeas de *T. yonenagae*, de maneira a caracterizar a periodicidade do ciclo estral e identificar possíveis influências de co-específicos; identificar a idade de maturidade sexual; caracterizar o padrão comportamental de fêmeas e machos no acasalamento; aprofundar os conhecimentos no padrão de gestação nesta espécie e caracterizar o ciclo de temperatura corporal, ainda desconhecido.

MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

São estudados 72 indivíduos adultos e filhotes de *T. yonenagae* sendo, 49 fêmeas e 22 machos. Destes, 67 são nascidos no Biotério de Roedores Silvestres (LECO) da FFCLRP-USP, de pais que foram coletados no paleodeserto de dunas fixas, Ibiraba, BA (10°48'S, 42°50'W) (licença IBAMA n. 129/98) e cinco deles coletados nessa mesma localidade.

4.1.1 Manutenção dos animais

Os animais são mantidos e estudados em salas isoladas da influência luminosa ambiental, relativamente livres de ruídos externos, no Biotério de Roedores Silvestres, que conta com sistema de renovação de ar (Springer, Carrier modelo Slit, on a cada 6h), temperatura controlada ($24,0 \pm 2,0$ °C), ciclo claro – escuro invertido (12h E: 12h C), luzes acesas às 02:00h, e luminosidade de 130 (Claro) e três Lux (Escuro). A alimentação consiste de ração para roedores (Nuvilab CR-1 para ratos e camundongos, Nuvital Nutrientes Ltda.,

Brasil) e água *ad libitum*, complementada semanalmente com vitamina oral (Hemolitan Pet, Vetnil Ind. Com. de Produtos Veterinários LTDA, Brasil; também vitamina C – Vitavet C Vetnil Ind. Com. de Produtos Veterinários LTDA, Brasil) e/ou ração para papagaios (Nutripássaros, Ebúrneo & Monteiro Com. LTDA, Brasil), sementes de girassol e frutas frescas da estação.

O acondicionamento dos animais é feito em caixas de propileno tamanho-padrão (30x40x16cm) ou em gaiolas do tipo duna (38x64x29cm Ferplast Pet Products, Itália), no caso dos casais, forradas com dois centímetros de maravalha. A limpeza e pesagens são feitas semanalmente pelo mesmo indivíduo.

4.1.3 Grupos experimentais

As fêmeas adultas foram divididas em diferentes grupos experimentais. O detalhamento será apresentado no início de cada capítulo da forma como se segue.

I- Idade da abertura vaginal (AV) n=9

II- Ciclo estral e estado vaginal (EV) n=26

III- Gestação e acasalamento n=14

IV - Temperatura corporal n=16

4.2 Análise estatística

Todos os procedimentos estatísticos foram efetuados através do programa “SPSS” (versão 12.0) e o nível de significância (α) adotado é de 5% (ver ZAR, 1996).

A análise do padrão do ritmo de temperatura corporal foi feita pelo ajuste dos dados a uma curva co-seno através do software Cossana (BENEDITO-SILVA, 1996). Os horários apresentados referem-se ao horário do *Zeitgeber* (ciclo claro-escuro do Biotério) assim 0h ZT corresponde ao início da fase de claro (02:00h) e 12h ZT ao início da fase de escuro (14:00h).

CAPÍTULO I - IDADE DA ABERTURA VAGINAL EM *TRINOMYS YONENAGAE*

1.1 Introdução

Em mamíferos é possível observar uma membrana vaginal que mantém o orifício fechado até a puberdade e durante o período não reprodutivo. Esta membrana foi primeiramente apontada por Gallois (1812) e mais tarde descrita por Stockard e Papanicolau (1919) em *Cavia porcellus*, um roedor caviomorfo, sendo denominada por esses autores de *vaginal closure membrane*.

Em várias espécies de histricomorfos, grupo que inclui os caviomorfos da América do Sul, esta membrana parece se romper imediatamente antes ou durante o primeiro período do estro e pouco antes do parto, em fêmeas grávidas (WEIR, 1974). Nesse sentido, o momento do primeiro episódio de abertura vaginal (AV) também é tido como o início da puberdade em várias espécies de mamíferos, incluindo os histricomorfos. Weir (1973b) relatou a presença da membrana vaginal no roedor equimídeo *Proechimys guirae* que fecha completamente o orifício vaginal e só se apresenta perfurada no período de estro ou no parto.

Entre os pesquisadores de campo, como em Bergallo (1995), a membrana representa um parâmetro importante para a classificação do estado reprodutivo das espécies.

Ojeda e colaboradores (1984) estudando a puberdade em ratas da linhagem Wistar, um murídeo, roedor filogeneticamente distante dos caviomorfos, descreveu a presença de membrana vaginal que mantém o orifício vaginal fechado até o momento em que atingem a puberdade (30-35 dias de vida) marcada também pelo primeiro episódio de estro. Nesses roedores após o evento de AV a vagina permanece constantemente aberta.

A constituição desta membrana é muito variável podendo ser desde uma secreção mucosa até a formação de um tecido que fecha todo o orifício vaginal. Kelly e colaboradores (1927, *apud* Weir, 1974) estudando a constituição da membrana vaginal em *Cavia porcellus* relataram que esta é uma camada de tecido conjuntivo que fecha completamente o orifício

vaginal. Em *Octodon degus* esta membrana é frágil e se rompe facilmente quando sofre pressão (WEIR, 1974) podendo se tornar parcialmente perfurada durante o ciclo e fechando novamente até que se abra em um episódio de estro.

O período em que o orifício vaginal permanece aberto varia entre as diferentes espécies, podendo permanecer aberto apenas por algumas horas ou por até 13 dias consecutivos, como em *Lagostomus maximus* (WEIR, 1974); e tem relação direta com a duração do ciclo estral. Essa membrana apesar de conhecida há mais de um século não é muito estudada e sua relação com o ciclo reprodutivo em muitas espécies ainda necessita de maiores esclarecimentos.

1.2 Objetivos

O objetivo deste experimento é identificar a idade em que ocorre o 1º episódio de abertura vaginal no roedor Caviomorpha *Trinomys yonenagae*, o que pode ser usado como um indicador do início da maturidade sexual.

1.3. Material e Métodos

1.3.1 Animais

Nove fêmeas de *Trinomys yonenagae* que nasceram no Biotério de Roedores Silvestres (LECO) da FFCLRP-USP. A descrição dos animais encontra-se no **Anexo 1**.

1.3.2 Manutenção dos animais

Todos os filhotes de uma mesma ninhada foram alojados juntamente com os pais em gaiolas do tipo duna até os três meses de vida quando foram separados. As fêmeas foram então alojadas em caixas individuais de propileno tamanho-padrão em sala livre da influência dos machos.

1.3.3 Procedimento e equipamentos do acompanhamento da maturidade sexual

As observações do estado vaginal ocorreram a partir do 20º dia de vida, quando as fêmeas ainda estavam alojadas com os pais, até o momento do 1º evento de abertura vaginal (AV). As observações ocorreram em intervalos de dois a sete dias e seguiram procedimentos estabelecidos anteriormente pelo laboratório (OLIVEIRA SPINELLI, 1997; SPINELLI et al, 2007). A fêmea era colocada em um tubo de plástico e imobilizada pela mão da pesquisadora que segurava a cauda, por entre os dedos indicador e médio, o que expõe a região genital por uma das extremidades do tubo. Em seguida era aplicada uma pressão sobre a papila genital verificando se ocorria ou não a AV. O estado vaginal era classificado de acordo com os critérios da **tabela 1.1**, e em seguida anotado em uma planilha. Em parte das fêmeas (n=3) foi feito o esfregaço vaginal no momento da verificação da AV (selada ou aberta propriamente dita).

Tabela 1.1: Classificação dos estados vaginais das fêmeas de *Trinomys yonenagae* em cativeiro

<i>Estado vaginal</i>	<i>Código</i>	<i>Descrição</i>
Aberta	A	Orifício vaginal visível em qualquer grau de abertura (desde pontual a total)
Selada	S	Orifício vaginal coberto por uma secreção mucosa que se rompe ao se aplicar pressão
Fechada	F	Orifício vaginal obliterado por membrana e que permanece fechado mesmo sob pressão

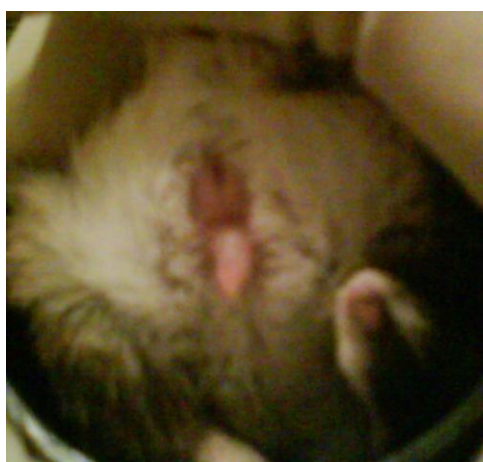
1.3.4 Análise estatística

A média da idade em que ocorreu o primeiro episódio de abertura vaginal foi obtida a partir dos dados individuais de cada fêmea e um gráfico de dispersão é apresentado para representá-las segundo Zar (1996).

1.4. Resultados

O reconhecimento do sexo em *T. yonenagae* recém nascidos é feito pela distância entre a papila genital, muito pronunciada nessa espécie, e o orifício anal. Em fêmeas esta distância é significativamente menor do que em machos; a vagina encontra-se totalmente fechada e é imperceptível ao olho nu (**figura 1.1**). A aparência da região vaginal é de continuidade com a da papila, ou seja, é glabra e rósea.

Figura 1.1. Fêmea de *Trinomys yonenagae* com o orifício vaginal fechado (VF)

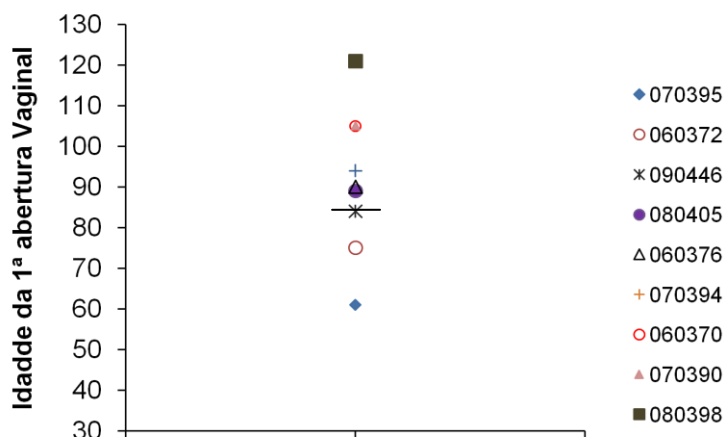


Este estado permanece até que é possível observar uma depressão longitudinal de cinco mm, no máximo, que com o passar do tempo torna-se mais visível, até o momento da sua ruptura pelo toque, o que caracteriza o estado de AV. Em 89% das fêmeas houve coincidência da ruptura com a produção de muco, ou seja, essas fêmeas apresentaram o estado de vagina selada. Somente em uma única fêmea a AV pode ser caracterizada como “aberta” no momento da verificação. A partir daí as fêmeas não mostram um padrão regular do estado vaginal, que pode variar entre aberto, fechado e selado, como será tratado no capítulo 2.

Nas fêmeas em que o esfregaço pode ser coletado em seguida à verificação da abertura a fase do ciclo era de diestro.

Na **figura 1.2** observa-se que a maioria das fêmeas dessa espécie apresenta AV por volta dos três meses de vida ($92,0 \pm 17,7$ dias), ou seja, seis fêmeas tiveram a primeira ocorrência de AV entre os 90 e 100 dias e as outras três fora desse período. Uma delas foi a fêmea a abrir mais cedo e que estava com 61 dias de vida, ainda alojada com os pais. A mais velha estava com 121 dias de vida, já alojada em gaiola individual e em sala livre da influência de machos. A terceira fêmea a apresentar AV fora do período dos três meses de vida estava com 75 dias de vida ainda alojada na gaiola com os pais (**Tabela 2 Anexo 1**).

Figura 1.2. Idade em que ocorreu a 1ª abertura vaginal em fêmeas de *Trinomys yonenagae* mantidas em cativeiro (n=9). O traço horizontal indica o valor da média.



1.5. Discussão

Trinomys yonenagae apresenta uma membrana vaginal que parece ser uma continuação do tecido epitelial da papila genital, fechando completamente o orifício vaginal em recém nascidos e jovens. Os dados mostram que a 1ª ocorrência de abertura vaginal (selada ou aberta propriamente dita) mostra-se bem variável, aparecendo entre 61-120 dias de vida. O valor da média, de três meses, é semelhante ao encontrado para *Proechimys guairae*,

outro membro dos caviomorfos equimídeos, no qual a abertura vaginal ocorre aos $95,2 \pm 7,5$ dias (WEIR, 1973b).

Em *Octodon degus*, membro da superfamília Octodontoidea, a qual também os gêneros *Proechimys* e *Trinomys* pertencem, a maturação sexual pode ocorrer entre 63 a 180 dias de vida tomando-se a primeira concepção como referencial (WEIR, 1974).

Em *Cavia aperea*, um roedor caviomorfo cavídeo, relativamente distante dos equimídeos, a ocorrência da primeira abertura vaginal é ao redor de 58,6 dias segundo Rood e Weir (1970). Entretanto, Trillmich (2000) observou que o início da vida reprodutiva pode ocorrer entre 30-40 dias de vida.

A comparação entre os caviomorfos sugere que há bastante variação entre as espécies e que a filogenia pode ser um fator determinante do momento da AV, já que gêneros próximos parecem ter padrão semelhante.

Em roedores miomorfos como *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, a AV ocorre por volta dos 30 dias de vida (OJEDA et al, 1984 e 1985) e está dissociada da gestação. A primeira gestação nesses ratos pode ocorrer não concomitante ao primeiro episódio de vagina aberta, já que a idade adulta é atingida aos 90 dias de vida, dois meses após a AV.

Em *Trinomys yonenagae*, o primeiro evento de vagina aberta também parece estar dissociado da gestação, que ocorre ao redor dos 110 dias de vida (ver capítulo 3), um mês após a idade em que acontece a AV. Embora a amostra seja pequena a coleta do esfregaço vaginal, revelando a fase de diestro, não aponta uma associação entre a primeira AV e o estro. O conjunto dos dados indica que nos rabos-de-facho há uma fase de puberdade que se inicia com a AV, mas onde o estro/gravidez estão ausentes.

O momento de AV é considerado o início da vida reprodutiva em várias espécies de mamíferos (WEIR, 1974). Os resultados obtidos no presente trabalho são indício de que a maturidade sexual ocorre de forma tardia na superfamília a qual *Trinomys* pertence, seguindo

o padrão dos Caviomorpha, se comparada a outros roedores da subordem mais estudada, a Sciurognatha, a qual pertence o murídeo Wistar e grande parte dos roedores estudados.

1.6 Bibliografia

- BERGALLO, H. G. Comparative life-history characteristics of two species of rats, *Proechimys iheringi* and *Oryzomys intermedius*, in an Atlantic Forest of Brazil. **Mammalia**, v. 59, n. 1, pp. 51-64, 1995.
- KELLY, G. L.; PAPANICOLAOU, G. N. The mechanism of the periodical opening and closing of the vaginal orifice of the guinea-pig. **American Journal of Anatomy**, v. 40, pp. 387-411.
- OLIVEIRA SPINELLI, E.; SANTOS, J. W. A.; MANAF, P.; ROCHA, P. L. B. Utilização da técnica de esfregaço vaginal para o estudo de uma população de *Proechimys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae). In: **XII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE**, Caxambu: 1997, p. 276.
- ROOD, J. P.; WEIR, B. J. Reproduction in female wild guinea pigs. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 23, pp. 393-409, 1970
- SPINELLI OLIVEIRA, E.; PERRY, S. F.; MONEA, N. M.; BARBOSA, F. L.; LUCHESI, L. C. Does vaginal opening coincide with reproductive activity in a dune-living spiny rat? In: **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, n. 148, Supplement 1, S22, 2007.
- STOCKARD, C. R.; PAPANICOLAOU, G. N. The vaginal closure membrane, copulation, and the vaginal plug in the guinea-pig, with further considerations of the oestrous rhythm. **Biological Bulletin**, v. 37, pp. 222-245, 1919.
- TRILLMICH, F. Effects of low temperature and photoperiod on reproduction in the female wild guinea pig (*Cavia aperea*). **Journal of Mammalogy**, v. 81, n. 2, pp. 586-594, 2000.
- WEIR, B. J. Reproductive characteristics of hystricomorph rodents. **Symposium of Zoological Society of London**. n. 34, pp. 265-301, 1974.
- _____. Another hystricomorph rodent: keeping casiragua (*Proechimys guairae*) in captivity. **Laboratory Animals**, v. 7, pp. 125-134, 1973b.
- OJEDA, S. R.; URBANSKI, H. F.; AHMED, C. E. The onset of female puberty: Studies in the rat. **Recent Progress in Hormone Research**, v. 42, pp. 385-442, 1984.
- URBANSKI, H. F.; OJEDA, S. R. The Juvenile-Peripubertal Transition Period in the Female Rat: Establishment of a Diurnal Pattern of Pulsatile Luteinizing Hormone Secretion. **Endocrinology**, v. 117, pp. 644-649, 1985.
- ZAR, J. H., **Biostatistical analysis**. 3 ed., New Jersey: Prentice-hall. Inc., 1996, 662p.

CAPÍTULO II - CICLO ESTRAL E ESTADO VAGINAL EM *TRINOMYS YONENAGAE*

2.1 Introdução

Uma vez tratado sobre os aspectos relativo à maturidade sexual e da abertura e fechamento do orifício vaginal passar-se-á ao ciclo estral, propriamente dito.

A alternância hormonal, morfológica e comportamental de fêmeas não antropóides (NA) é denominada de ciclo estral, e o período de receptividade sexual que coincide aproximadamente com a ovulação, é chamado de estro (ver ECKERT, 1998). As fêmeas podem apresentar essa fase reprodutiva de uma vez ao ano (chamado de ciclo estral monoéstrico) a várias vezes (ciclo poliéstrico). Quando a atividade cíclica é contínua as fases são denominadas de diestro, proestro, estro e metaestro (ver item 2.3.3.1) e há grande variação quanto à duração de cada fase e do período do ciclo entre diferentes espécies. Nos mamíferos não-poliéstricos, que não apresentam atividade contínua pode ocorrer ainda a fase de anestro, caracterizada pela involução reversível do aparelho reprodutivo como um todo.

O eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, integrado a outras estruturas límbicas, coordena estes ciclos reprodutivos. E sabe-se que duração do ciclo também é variável, estando este sob influência de variações ambientais como ciclo claro/escuro e estações do ano. Em ratos Wistar, um murídeo, o período é de quatro dias e as estações não parecem ter influência direta sobre o período. Em *Cavia porcellus*, um caviomorfo, assim como *Trinomys yonenagae*, o período é de 16 dias (AVERY, 1925; ASDELL, 1964) e de 22 dias em *Proechimys guairae* (WEIR, 1973b).

Em roedores, é conhecida a participação de *osciladores circadianos no controle do ciclo estral* e da sazonalidade reprodutiva. Em camundongos (*Mus musculus*), a exposição à feromônios do macho arrasta o ciclo estral da fêmea. Ocorre também a sincronização do ciclo estral de fêmeas de ratos e hamsters (*Mesocricetus* spp) quando alojadas juntas.

As variações deste ciclo, ainda podem ser interpretadas como resultado da sazonalidade na oferta e qualidade do alimento, do fotoperíodo e temperatura ao longo do ano (BRONSON 1989). Segundo o mesmo autor, uma mesma espécie de mamífero pode reproduzir diferentemente dependendo da latitude, sendo poliéstrica em latitudes baixas e apresentando uma época definida para a reprodução em latitudes maiores. Populações do roedor africano *Mastomys natalensis* apresentam diferenças sexuais nas respostas às condições ambientais, sendo que os machos ficam mais tempo ativos durante o inverno do que as fêmeas (BRONNER et al, 1988). Tobin e colegas (1994) observaram que o rato *Rattus rattus*, no Havaí, apresentou reprodução ao longo de todo ano, com pico de capacidade reprodutiva durante o mês de abril. Bergallo (1995), estudando duas espécies de roedores da Mata Atlântica filogeneticamente distantes, verificou que o rato-de-espinho (*Proechimys iheringi*) tem pico reprodutivo durante o verão, enquanto o cricetídeo (*Oryzomys intermedius*) não apresenta esta tendência, reproduzindo ao longo de todo o ano.

O ciclo estral pode ainda ser dividido em dois tipos: espontâneo e induzido. Se a ovulação ocorre independente da presença ou de qualquer estímulo de um macho, o ciclo é chamado espontâneo, mas em algumas espécies a ativação do corpo lúteo depende de sinais provenientes do macho (ver ECKERT, 1998). O ciclo é dito induzido quando é necessário algum estímulo provindo do macho para que a ovulação aconteça, seja, odorífero, visual (como a presença dele), ou mecânico (como a cópula), como o reportado por Touma e colaboradores (2001) em *Cavia aperea* (preá).

O estado vaginal, como discutido no capítulo 1 também pode ser usado como um critério da atividade reprodutiva em trabalhos de campo, considerando-se a vagina perfurada como indicativo de estro (WEIR, 1974; ver, entre outros, BERGALLO 1995) em algumas espécies. Considera-se após a cópula a vagina é fechada por uma secreção que depois dá lugar à nova membrana que a manterá fechada até o próximo período de estro ou pré-parto.

Uma das metodologias mais usadas na caracterização do ciclo estral é a técnica de esfregaço vaginal (colpocitologia ou citologia esfoliativa) por ser não-invasiva, de alto grau de confiabilidade e de fácil execução/custo. Entre os roedores histricognatas, incluindo os Caviomorpha, esta técnica foi utilizada, por exemplo, por Barbosa e colaboradores (2007) para caracterização das células encontradas em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) e por Touma e colaboradores (2001) em preás e cuis.

Há uma variação do padrão reprodutivo em roedores histricomorfa/histricognatas (WEIR, 1974), mas estudos prévios realizados neste laboratório (LECO) indicam que a ovulação em *Trinomys yonenagae* é espontânea (SPINELLI OLIVEIRA et al, 2007; LUCHESI et al 2008).

2.2 Objetivos

Os objetivos deste experimento são:

Determinar o período do ciclo estral e a duração das fases das fêmeas de *T. yonenagae* em três situações experimentais diferentes, fêmeas pareadas com fêmeas; pareadas com machos e solitárias. Espera-se que a frequência de proestro e estro seja maior nas fêmeas do grupo pareado com machos (ver NELSON, 1995);

Verificar a relação da presença ou não de membrana vaginal nas diferentes fases do ciclo nos mesmos grupos experimentais. Tem-se como hipótese que a condição de vagina aberta seja acompanhada da fase de proestro ou estro e que em relação às fêmeas pareadas com macho, as fêmeas pareadas com fêmeas apresentem maior frequência do estado de vagina fechada (VF).

2.3 Material e métodos

2.3.1 Animais:

Foram estudados o ciclo estral e o estado vaginal de 26 fêmeas divididas em três grupos (descrição dos indivíduos **Anexo 2**):

- A) Seis duplas de fêmeas (n=12), sendo metade formada por irmãs de ninhada (duplas 1-3) e a outra por não-irmãs (duplas 4-6);
- B) Oito fêmeas alojadas em gaiolas individuais (n=8);
- C) Seis fêmeas alojadas em casal com seis machos (n=6).

2.3.2 Manutenção

Os animais dos grupos A e B foram mantidos em gaiolas individuais de propileno e os casais do grupo C em gaiolas do tipo duna, em salas de alojamento/experimentação em condições descritas na parte introdutória.

2.3.3 Procedimento e equipamentos dos estudos do ciclo estral

O esfregaço vaginal (EV) foi feito de acordo com protocolos de rotina em nosso laboratório (OLIVEIRA SPINELLI, 1997; SPINELLI, 2007). A observação do grau de abertura vaginal (AV) foi feita imediatamente antes do EV por observação direta do animal. A classificação do grau de AV e a sua relação com o EV, ao longo do tempo, foram realizadas de acordo com o critério da tabela 1.1 (capítulo 1).

Inicialmente foram feitas coletas em dias intercalados, sempre no mesmo horário, na última hora de claro (entre 12h30min e 14h), em fêmeas mantidas previamente por um mês na situação experimental, já que dados de caviomorfos indicavam que o ciclo, e suas fases, possivelmente seria longo. Este protocolo foi usado por quatro meses e neste período de tempo a frequência das fases de proestro e estro foi pequena, indicando que em rabos-de-

facho provavelmente a duração das fases de atividade sejam curtas. Com o objetivo de aumentar a possibilidade de detecção de proestro e estro mudou-se o protocolo de coleta do EV no quinto mês. A partir desse ponto, a coleta foi diária (entre 11h e 12h). Ainda buscando-se aumentar o número de observações de proestro e estro no segundo semestre, o grupo de fêmeas alojadas em gaiolas individuais (grupo B) e aquelas alojadas em casal (grupo C) tiveram seu EV e AV observados em dias e horários aleatórios no período de escuro.

2.3.3.1 A coleta do esfregaço vaginal

A coleta do EV foi feita individualmente por lavagem da vagina usando-se uma gota de solução de cloreto de sódio 0,9% (Darrow Lab. S. A., RJ, Brasil) aplicada através de ponteiros plásticas descartáveis para pipeta, volume aproximado de 50 µl, com sucção da lavagem e sua imediata colocação em lâmina para esfregaço e análise ao microscópio óptico. As fases do ciclo estral foram identificadas de acordo com critérios histológicos. Quatro fases são identificadas: fase de proestro – presença de células epiteliais pavimentosas (podendo formar grumos); estro – células epiteliais cornificadas, metaestro – leucócitos (linfócitos), células epiteliais e cornificadas, e diestro – leucócitos (linfócitos), muco e algumas células epiteliais. (LONG EVANS, 1922; DELLIAS, 1973; OLIVEIRA SPINELLI et al, 1997). Quando necessário foi feita a fixação e coloração do esfregaço com solução alcoólica Azul de Toluidina (5%). Os esfregaços foram secos por 15 minutos a 37°C, corados por 5min, retornando por mais 15 minutos à estufa e acondicionados para posterior análise e registro fotográfico.

2.3.4 Análise estatística

Os semestres apresentados serão aqueles de acordo com o início do experimento, sendo o 1º semestre equivalente aos meses de março a agosto de 2008 e o 2º de setembro de 2008 a fevereiro de 2009.

Todos os procedimentos estatísticos foram efetuados através do programa “SPSS” (versão 12.0) e o nível de significância (α) adotado foi de 5%.

O teste do χ^2 foi usado para comparar a frequência dos diferentes estados de AV no grupo de fêmeas mantidas em gaiola individual com o grupo das fêmeas mantidas em duplas do mesmo sexo em sala isolada da presença de machos. O número de fêmeas para este teste foi igualado para oito em cada condição por sorteio das integrantes do grupo A, que era composto por 12 fêmeas (6 duplas).

2.4 Resultados

2.4.1 Os estados vaginais

Durante os quatro primeiros meses de coletas em dias alternados, acompanhando os três grupos experimentais, foi possível observar a ocorrência dos três estados vaginais. A **tabela 2.1** mostra as ocorrências e a porcentagem relativa de AV nos três grupos experimentais.

É possível observar que independente da condição de alojamento da fêmea o estado vaginal de maior ocorrência é o selado, sendo mais observado no grupo das fêmeas em casal (grupo C com 82% das ocorrências), seguido pelo grupo das fêmeas isoladas (grupo B com 62%) e pelas duplas (grupo A com 52%). A maior porcentagem de vagina aberta (VA) foi no grupo C (11%), seguido do grupo B (5%) e das fêmeas do grupo A (3%) em sala isolada de macho. Isto indica que o grupo que apresentou menor atividade reprodutiva, de acordo com

este critério, foi o grupo das fêmeas pareadas com o mesmo sexo e o de maior atividade foi o constituído por casais (**Tabela 2.1**).

Tabela 2.1. Frequência de eventos (E) e porcentagem (%) de abertura vaginal (AV) em *Trinomys yonenagae* por coletas feitas em dias alternados e diariamente durante cinco meses de observação

Grupo	Estado AV						Total
	Fechada		Selada		Aberta		
	E	%	E	%	E	%	E
A dupla (n=6)	506	45	582	52	28	3	1116
B isolada (n=12)	243	33	461	62	40	5	744
C casal* (n=5)	16	7	193	82	26	11	235
TOTAL							2095

* Fêmeas em casal fora do período de gravidez; Fechada (F); Selada (S); Aberta (A).

Na comparação estatística entre os grupos A (n=8 para o teste) e B (n=8) apenas para os quatro primeiros meses, em que a coleta ocorreu em dias intercalados o teste do χ^2 mostrou diferença quanto à ocorrência dos estados vaginais observados [$\chi^2 = 46,9107$, $df = 2$, $p = 0,00001$], ou seja, a AV das fêmeas mantidas em duplas era diferente da AV das alojadas em gaiolas individuais, em sala isolada da presença de machos ocorrendo com maior frequência o estado fechado no grupo A.

2.4.2 Características gerais do ciclo estral de *Trinomys yonenagae*

As observações do ciclo estral em roedores rabo-de-facho foram feitas nos três grupos de fêmeas. Neles pode-se ver que o ciclo tem fases de duração variada, o que está mostrado na **tabela 2.2**. Em 18 oportunidades as fêmeas tiveram o EV coletado duas vezes no mesmo dia para tentar melhorar a estimativa da duração das fases do ciclo estral, permitindo reforçar que a fase de proestro tem em média um dia de duração e o estro algumas horas. O

metaestro tem duração de um a dois dias nos três grupos, sendo em A $2\pm 1,5$; em B $2\pm 1,1$; e em C $1\pm 0,3$ dias. A fase de diestro é a de maior duração nos três grupos de fêmeas, variando de 15 a 36 dias dentre aquelas que apresentaram alternância das fases do ciclo estral, embora as fases de P, E, M, e D possam ser reconhecidas na maioria dos indivíduos (tabelas 2.3 e 2.5).

Tabela 2.2. Duração das fases do ciclo estral em *Trinomys yonenagae* (n=26)

Grupo	Fase	Duração (dias)	Duração média	Eventos
A duplas (12)	P	1	1	12
	E	1	<1	4
	M	1-4	$2\pm 1,5$	33
	D	17-20	#	560
B isoladas (8)	P	1-3	$1\pm 0,7$	49
	E	1	<1	7
	M	1-5	$2\pm 1,1$	39
	D	15-30	#	923
C Casal* (6)	P	1	1	7
	E	1	<1	4
	M	1-2	$1\pm 0,3$	12
	D ^s	15-36	#	496

Fases: Diestro (D), Proestro (P), Estro (E), Metaestro (M). Entre parênteses o número de fêmeas por grupo. \$ muito variável; * fora da gravidez

2.4.2.1 Ciclo estral das fêmeas alojadas em duplas (grupo A)

As fêmeas alojadas em duplas tiveram seu ciclo estral acompanhado apenas durante o primeiro semestre de observações (março-agosto).

Uma comparação qualitativa das fases em cada dupla indica que uma das fêmeas exerce influência sobre o ciclo estral da outra (**tabela 2.3**). As fases indicativas de atividade reprodutiva (P, E, M e T) são numericamente maiores em uma das fêmeas de cada dupla. Uma das duplas (dupla 1) é excepcional: uma fêmea apresentou vagina selada ou aberta em

99% das observações (**tabela 2.4**), entretanto, permaneceu grande parte do tempo em diestro; a sua companheira de caixa permaneceu todo o tempo de observação com a vagina fechada (em destaque na tabela 2.4).

Assim, ocorre proestro ou estro, em pelo menos uma fêmea de cinco das seis duplas. A fase de estro é observada em uma das fêmeas de duas duplas (4 e 5); o metaestro em pelo menos uma fêmea de quatro duplas (2, 4, 5, 6).

Tabela 2.3. Frequência das fases do ciclo estral nas fêmeas alojadas em dupla durante o 1º semestre de observação (março-agosto) de um total de 93 medidas

Dupla	Fêmea	D	P	E	M	%
1	1DA	91	0	0	0	1
	1DB	0	0	0	0	0
s2	2DA	84	1	0	2	3
	2DB	2	0	0	0	0
3	3DA	85	3	0	0	3
	3DB	16	0	0	0	0
4	4DA	29	0	0	0	0
	4DB	66	2	2	10	19
5	5DA	25	1	0	1	7
	5DB	72	2	1	14	20
6	6DA	30	3	0	2	12
	6DB	51	0	0	2	4

Fases: Diestro (D), Proestro (P), Estro (E), Metaestro (M), Porcentagem (%) de fases não-diestro. Em destaque a fêmea que apresentou a vagina sempre aberta ou selada

Quando se analisa os estados vaginais o teste U de Mann Whitney mostra que há diferença significativa nas seis duplas entre as fêmeas que compartilham a mesma caixa (**tabela 2.4**). Nesse sentido, é observável um padrão de dominância de uma fêmea sobre a outra, uma vez que, uma delas apresenta maior ocorrência do estado vagina selada ou aberta e a outra de vagina fechada.

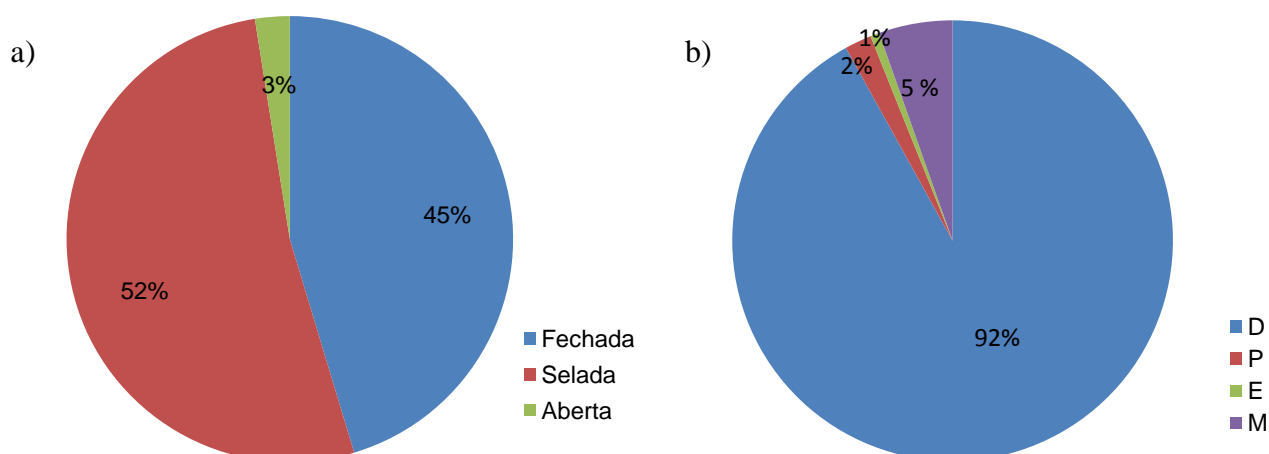
Tabela 2.4. Frequência de estados vaginais de fêmeas em dupla durante o 1º semestre de observação (março-agosto) em um total de 93 medidas

Dupla	Fêmea	F	S	A	U	P
1	<i>1DA*</i>	1	89	3	46,5	0,0001
	1DB	93	0	0		
2	<i>2DA*</i>	6	82	5	372	0,0001
	2DB	91	2	0		
3	<i>3DA*</i>	5	85	3	1023	0,0001
	3DB	76	15	2		
4	<i>4DA*</i>	64	27	2	1906,5	0,0001
	4DB	12	74	7		
5	<i>5DA*</i>	65	25	3	1395	0,0001
	5DB	2	88	3		
6	<i>6DA*</i>	52	41	0	3720	0,057
	6DB	39	54	0		

Há diferença significativa do estado vaginal (fechada vs. não fechada) entre as ♀s de cada dupla (*), a com mais eventos não-fechado do ciclo em destaque. Teste de Mann-Whitney. Fechada (F); Selada (S); Aberta (A).

No geral o grupo de fêmeas pareadas com fêmeas apresentou durante um semestre de observações 10% de fases não diestro e 55% de observações dos estados vaginais selado ou aberto, indicativos de atividade reprodutiva (**figura 1.1 a e b e Anexo 3**).

Figura 2.1 Estados vaginais (a) e fases do ciclo estral (b) de fêmeas pareadas com fêmeas (grupo A) durante o 1º semestre de observação



2.4.2.2 Ciclo estral das fêmeas alojadas em gaiolas individuais (grupo B)

Considerando-se um ano de observação que foi realizada nas fêmeas do grupo B, é possível afirmar que todas as fases do ciclo estral ocorrem e que a frequência de eventos é maior do que nos outros dois grupos.

Para essas fêmeas o estado vaginal predominante durante o ano todo é o selado, correspondendo a 67% das observações (**Tabela 2.2.7 e Anexo 4**). O estado fechado aparece em 28% e o aberto em 5%. Em todas as fêmeas a fase do ciclo mais observada foi o diestro, em média 90% (**figura 2.2 b Anexo 4**), padrão observado nos três grupos de fêmeas (duplas, individualizadas e em casal).

Tabela 2.5. Fases do ciclo estral, em frequência, de fêmeas alojadas em gaiolas individuais de um total de 177 medidas (93 medidas 1º semestre e 84 no 2º)

Fêmea	1º sem. (março-ago)				2º sem. (set-abril)				% ano
	D	P	E	M	D	P	E	M	
7I	2	0	0	0	49	0	0	0	0
8I	63	6	0	0	47	4	0	0	8
9I	63	4	0	5	61	2	0	0	8
10I	69	9	1	7	68	5	1	1	15
11I	20	0	0	6	47	0	0	1	10
12I	59	5	1	3	76	3	0	1	9
13I	85	2	1	4	81	0	1	1	5
14I	66	6	2	9	67	3	0	1	14

Observações no 1º semestre (março a agosto) diariamente ou em dias intercalados; no 2º (agosto a abril) em intervalos de 2 a 4 dias. Diestro (D), Proestro (P), Estro (E), Metaestro (M). % fases não-diestro

Em três fêmeas foi possível observar a ocorrência de estro, correspondendo de 1 a 2% dos eventos (**Tabela 6 e Anexo 4**). Apenas uma fêmea (7I) não apresenta nenhuma ocorrência de proestro, estro ou metaestro como mostra a **tabela 2.6**, mesmo permanecendo a maior parte do 2º semestre com a vagina selada ou aberta.

Tabela 2.6. Frequência de estados vaginais de fêmeas alojadas em gaiolas individuais em um total de 177 medidas (93 medidas 1º semestre e 84 no 2º)

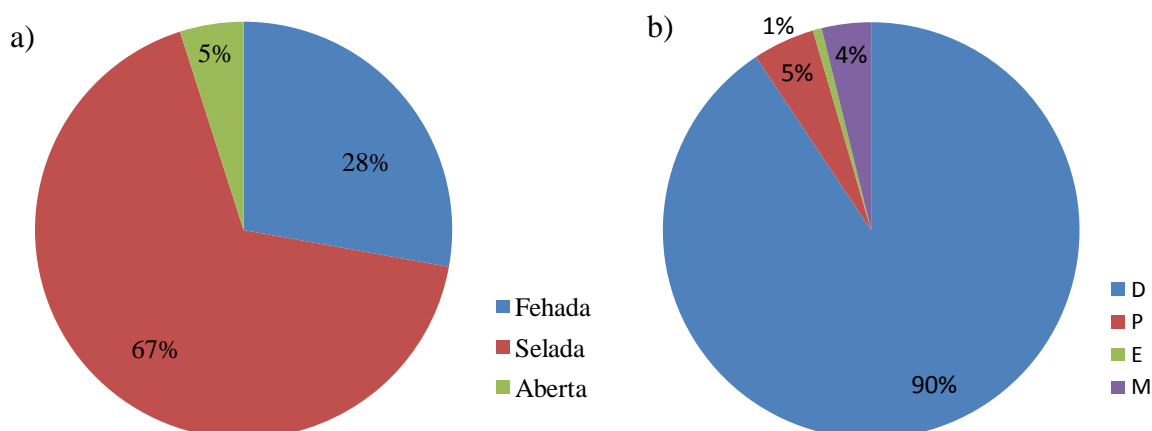
Fêmea	1º semestre (março-ago)			2º semestre (set-abril)		
	F	S	A	F	S	A
7I	91	2	0	35	48	1
8I	24	65	4	33	49	2
9I	21	69	3	20	64	0
10I	7	81	5	9	74	1
11I	67	26	0	36	48	0
12I	24	59	10	4	72	8
13I	0	81	12	1	70	13
14I	9	78	6	13	66	5

Fechada (F); Selada (S); Aberta (A). Em destaque fêmea que não apresentou nenhum evento de vagina fechada.

A fêmea 13I que apresentou um único evento de vagina fechada não mostrou a maior atividade reprodutiva do grupo. No ano essa fêmea teve 5% das observações de fases reprodutivas, sendo, no 1º semestre, 14% de ocorrências de vagina aberta e 8% de fases reprodutivas (2,2% de proestro, 1% estro, 4,3% metaestro), e no 2º semestre 16% de ocorrências de vagina aberta com 2% de fases reprodutivas (1% proestro e 1% metaestro - **Anexo 3**). Outras fêmeas, como a 10I apresentaram maior porcentagem de proestro (9%), estro (1%) e metaestro (5%) (**Anexo 3**), totalizando 15% no ano (**Tabela 2.5**) mesmo com maior porcentagem de observações da vagina fechada (**tabela 2.6**). Estes fatos reforçam o argumento de que a vagina aberta não é bom indicativo de atividade reprodutiva nesta espécie, diferentemente do que ocorre com a maioria dos histricomorfa (WEIR, 1974).

No geral as fêmeas do grupo B apresentam 10% de fases não diestro e 72% de vagina selada ou aberta durante o ano de observações (**figura 2.2 a e b**).

Figura 2.2 Estados vaginais (a) e fases do ciclo estral (b) de fêmeas alojadas em gaiolas individuais (grupo B) durante um ano de observação



2.4.2.3 Ciclo estral nas fêmeas alojadas com machos (grupo C)

O ciclo estral das fêmeas do grupo C foi acompanhado durante um ano, sendo no 1º semestre com coletas em dias intercalados e diários (apenas no quinto mês) e no 2º semestre com coletas semanais. Estas fêmeas estiveram grávidas durante parte das coletas, sendo por isso, o resultado aqui apresentado dividido em períodos gravidez e fora dele. Neste capítulo será abordado apenas o ciclo estral fora da gravidez. No capítulo 3 serão apresentados os dados referentes ao ciclo estral durante o período de gestação.

O estado vaginal mais observado quando as fêmeas não estão grávidas é vagina selada com 80% (**figura 2.3a**) e a fase de diestro (**tabela 2.7**). As fases de proestro e metaestro foram observadas em todas as fêmeas e somam 4% da atividade reprodutiva no ano. O estro foi observado em três fêmeas (1 CF, 5CF e 6CF), incluindo a que permaneceu nulípara (1CF), sendo um deles seguido do nascimento de uma ninhada 93 dias depois (fêmea 6CF). Mesmo não se observando estro cinco fêmeas ficaram grávidas durante o período de observação.

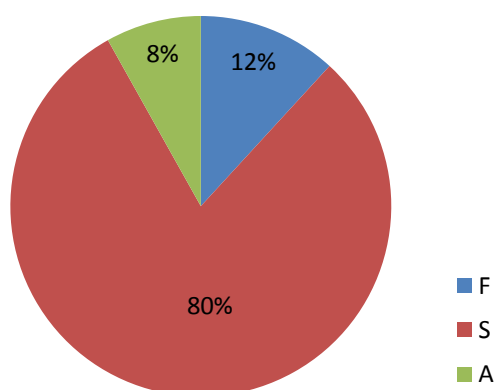
Tabela 2.7. Fases do ciclo estral, em frequência, de fêmeas alojadas com machos quando não prenhas

Fêmea	1º semestre (março-ago)				2º semestre (set-abril)				% ano
	D	P	E	M	D	P	E	M	
1CF	85	1	2	2	57	0	0	2	6
2CF	47	2	0	0	54	0	0	1	4
3CF	9	1	0	1	39	0	0	0	4
4CF	34	0	0	1	48	0	0	2	7
5CF	36	0	0	0	56	2	1	2	11
6CF	■	■	■	■	31	1	1	1	9

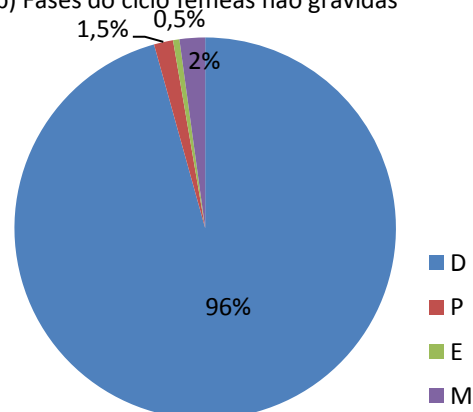
Observações feitas no 1º semestre (março a agosto) diariamente ou em dias intercalado; no 2º semestre (agosto a abril) semanal. Fases: Diestro (D), Proestro (P), Estro (E), Metaestro (M). ■ incluída só no 2º semestre. Porcentagem no ano (%) de fases não-diestro

Figura 2.3 Estado vaginal (a) e fases do ciclo estral (b) em fêmeas pareadas com machos (n=4 a 5) fora do período de gravidez

a) Estados vaginais fêmeas não grávidas



b) Fases do ciclo fêmeas não grávidas

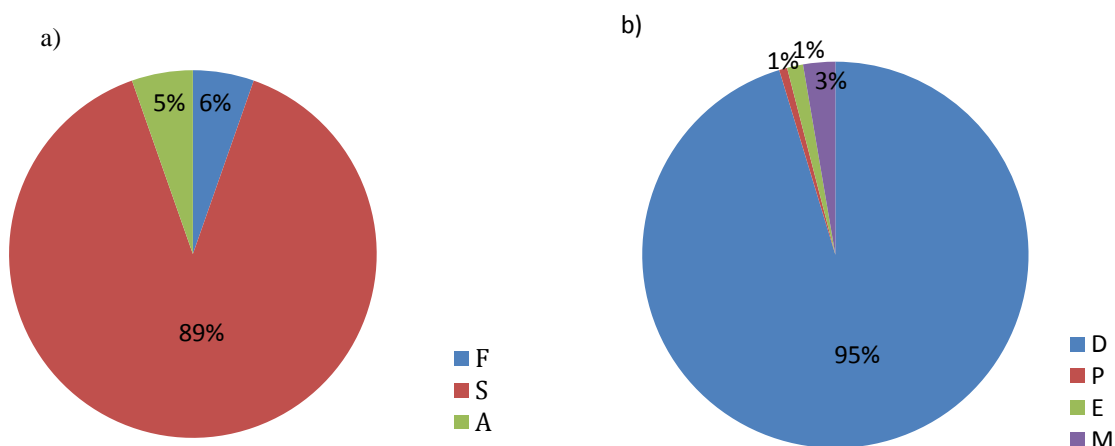


Apenas uma fêmea permanece nulípara (1CF) no grupo C, e sua atividade reprodutiva está representada na **figura 2.4 e tabela 2.7**. É possível observar que essa fêmea, mesmo apresentando o estado vagina-selada durante a maior parte do ano (89%), permanece praticamente todo ele em diestro (94%), com uma ocorrência de proestro, duas de estro e quatro de metaestro (1% cada e 3% metaestro). Essa frequência é maior do que nas fêmeas

que ficaram grávidas pelo menos uma vez. Já os valores observados para vagina fechada (6%) e aberta (5%) são menores do que naquelas fêmeas (14% e 7%, respectivamente).

Comparada com as fêmeas alojadas em gaiolas individuais (grupo B), essa fêmea teve a mesma porcentagem de ocorrência de vagina aberta (5%), sendo diferentes as ocorrências de vagina fechada (6% e 28% isoladas) e selada (89% e 67% isoladas). As fases não diestro do ciclo 50% menos do que se observou nas isoladas do grupo B (5% e 10%, respectivamente).

Figura 2.4 Estados vaginais (a) e fases do ciclo estral (b) na fêmea nulípara (1CF) durante um ano de observação



2.5 Discussão

As fêmeas em duplas tiveram uma frequência quase duas vezes maior de VF do que o observado nas fêmeas isoladas. A diferença entre estes dois grupos quanto à frequência dos três estados vaginais pode ser uma indicação da influência do co-específico sobre o ciclo sexual (LUCESI et al 2008). O estado VA foi o menos observado nas fêmeas sem contato com os machos, indicando que, embora não garanta a gravidez, o macho pode exercer algum tipo de influência sobre o ciclo das fêmeas. Em casal, elas apresentaram uma frequência de abertura vaginal de duas a três vezes maior do que nos outros grupos.

Em animais com o ciclo induzido, como na *Galea musteloides*, a vagina apresenta-se completamente aberta após três dias em contato com um macho. E naquelas em que ele é espontâneo, como no porquinho-da-índia (*Cavia porcellus*), há um ciclo de abertura e fechamento, que varia de 2 a 20 dias, independente de contato com o macho (TOUMA et al 2001). Em algumas espécies é necessário que ocorra o ato da cópula, para então se seguir a ovulação, como no roedor fossorial sul-africano *Cryptomys hottentotus*, o rato-toupeira (JACKSON, et al 2005). Em *Trinomys yonenagae*, a abertura e fechamento do orifício vaginal ocorreram tanto em fêmeas com machos como naquelas em sala isolada da influência deles, dado indicativo de ciclo estral espontâneo.

A observação de fêmeas alojadas em duplas permitiu identificar a existência de influência do co-específico do mesmo sexo sobre o outro, como já observado por Kleiman (1987) em *Peromyscus leucopus*. Uma relação que parece ser independente dos animais serem aparentados ou não, uma vez que metade das duplas ($n=3$) era formada por fêmeas irmãs e metade por não-irmãs e a dominância foi constatada em todas as seis duplas (**tabela 2.3**). Entretanto, o tempo/estação do ano parece não exercer influência sobre o ciclo destas fêmeas uma vez que foi observado alternância das fases do ciclo estral durante os dois semestres de observações.

As fases do ciclo no rabo-de-facho não são de fácil identificação como relatado em *Cavia porcellus* por Stockard & Papanicolau (1919). Uma diferença é a presença de linfócitos na maioria dos esfregaços e de alguns leucócitos polimorfonucleares, mesmo nas fases onde há predomínio de células queratinizadas características do estro. Este fato indica uma curta duração das fases de proestro e estro, com isso, um esfregaço realizado 24h antes da ocorrência do estro não foi capaz de revelar este com antecedência o acontecimento, como é corriqueiro nos protocolos feitos com ratos da linhagem Wistar. Esta dificuldade de predição da fase de estro com antecedência de 24h foi relatada para outro histricomorfo, o *Myocastor*

coypus por Felipe e colaboradores (2001). Labyak (1995) já havia relado dificuldade na identificação das fases de proestro e estro em *Octodon degus*, pois as fêmeas freqüentemente encontravam-se em fase de transição. Além disso, a ruptura da membrana vaginal não é indicativo de estro (SPINELLI OLIVEIRA et al, 2007), o mesmo acontece com *Myocastor coypus* (FELIPE, 2001). A baixa freqüência de estro em *T. yonenagae* pode ser também em consequência à definição utilizada nesse trabalho, que só considerou estro a predominância de células epiteliais queratinizadas, com ou sem a presença de muco, seguindo o proposto por Stockard & Papanicolau (1919).

Através da técnica de esfregaço vaginal e subsequente observação do ovário Breed (1967) observou que o rato-do-campo (*Microtus agrestis*) apresenta um ciclo estral do tipo induzido pela presença do macho. Breed também observou que o ciclo estral das fêmeas desta espécie pode ser do tipo longo ou curto variando de dois a cinco dias a até quatro semanas em uma única fase. O autor chama a atenção ao fato de que as mudanças observadas nos esfregaços destas fêmeas não são tão óbvias quanto em ratos e camundongos e que o fato de ser espontânea ou induzida a ovulação varia entre as espécies deste gênero.

Existem relatos entre os caviomorfos, como *Trinomys yonenagae*, de que o reaparecimento de leucócitos no esfregaço vaginal (que caracteriza o metaestro) não necessariamente indica que houve ovulação. Em chinchilas os leucócitos estão presentes durante todo o tempo em que a membrana vaginal permanece aberta e o acasalamento ocorre em qualquer momento do ciclo (WEIR, 1974). O mesmo ocorre com o murídeo *Microtus agrestis* onde a detecção das diferentes fases do ciclo também não é tão simples quanto em *Cavia* (BREED, 1967).

Trinomys yonenagae, portanto, segue os padrões de abertura vaginal e ciclo estral dos histricomorfa já conhecidos, com influência de co-específicos, presença de membrana vaginal, ciclo poliétrico e fases de difícil identificação.

2.6 Bibliografia

ASDELL, S. A. **Patterns of Mammalian Reproduction**. Ithaca: Cornell University Press, 2. Ed, 1964.

AVERY, G. T. Notes of reproduction in guinea pigs. **Journal of Comparative Psychology**, v.5, pp. 373-396, 1925.

BARBOSA, L. P.; RODRIGUES, M. V.; NEVES, M. M.; MORAIS, D. B.; MELO, B. E. DOS S.; BALARINI, M. K.; COELHO, C. D. P.; MENDONÇA, C. Caracterização da colpocitologia em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, n. 4, 258-266, 2007.

BERGALLO, H. G. Comparative life-history characteristics of two species of rats, *Proechimys iheringi* and *Oryzomys intermedius*, in an Atlantic forest of Brazil. **Mammalia**, v. 59, 51-64, 1995.

BREED, W. G. Ovulation in the genus *Microtus*. **Nature**, v. 214, 896, 1967.

BRONNER, G.; RAUTENBACH, I. L.; MEESTER, J. Environmental influence on reproduction in the Natal multimammate mouse *Mastomys natalensis*. **Suid-Afrikaanse tydskrif vir natuurnavorsing**, v. 18, n. 4, pp.142-148. 1988.

BRONSON, F. H. **Mammalian Reproductive Biology**. The University of Chicago Press, Chicago, 1989.

DELLIAS, P. M. Dados citológicos do ciclo estral da *Cavia aperea aperea* (Rodentia). **Revista da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos**, v 2, 77-83, 1973.

ECKERT, R.; RANDALL, D. AUGUSTINE, G. **Animal Physiology: Mechanisms and adaptations**. W. H. Freeman and Co., New York, 1998, 683p.

FELIPE, A.; CABODEVILA, J.; CALLEJAS, S. Characterization of the estrous cycle of the *Myocastor coypus* (coypu) by means of exfoliative colpocytology. **Journal of Neotropical Mastozoology**, v. 8, pp. 129-137, 2001.

JACKSON, C. R.; BENNETT, N. C. Is the natal mole-rat (*Cryptomys hottentotus natalensis*) a spontaneous or induced ovulator? **Journal of Mammalogy**, v. 86, 1-6, 2005.

KLEIMAN, D. G. Reproductive inhibition of female *Peromyscus leucopus*: female competition and behavioral regulation. **American Zoology**, v.27, pp. 867-878, 1987.

LABYAK, S. E.; LEE, T. M. Estrus and steroid-induced changes in circadian rhythms in a diurnal rodent, *Octodon degus*. **Physiology & Behavior**, v. 58, n. 3, 573-585, 1995.

LONG, J. A.; EVANS, H. M. The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena. **Memoir of the University of California**, v. 6, 148, 1922.

LUCHESI, L. C.; MILAN, D. L.; SPINELLI OLIVEIRA, E. Dominância entre fêmeas de *Trinomys yonenagae* (Rodentia:Echimyidae) quanta à abertura vaginal. In: **XVI Congresso interno do NaP/NeC**, 39, 2008.

NELSON, J. N. **An introduction to Behavioral Endocrinology**. Sinauer Associates Inc. Publishers, 1995, 611p.

OLIVEIRA SPINELLI, E.; SANTOS, J. W. A.; MANAF, P.; ROCHA, P. L. B. Utilização da técnica de esfregaço vaginal para o estudo de uma população de *Proechimys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae). In: **XII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE**, Caxambu: 1997, p. 276.

OLIVEIRA SPINELLI, E.; PERRY, S. F.; MONEA, N. M.; BARBOSA, F. L.; LUCHESI, L. C. Does vaginal opening coincide with reproductive activity in a dune-living spiny rat? In: **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, n. 148, Supplement 1, S22, 2007.

STOCKARD, C. R.; PAPANICOLAU, G. N. The vaginal closure membrane, copulation, and the vaginal plug in the guinea-pig, with further considerations of the oestrous rhythm. **Biological Bulletin**, v. 37, 222-245, 1919.

TOBIN, M. E.; KOEHLER, A. E.; & SUGIHARA, R. T. Seasonal patterns of fecundity and diet of roof rats in Hawaiian academia orchards. **Wildlife Research**, v. 21 pp. 519-526, 1994.

TOUMA, C.; PALME, R. SACHSER, N. Different types of oestrus cycle in tow closely related South American rodents (*Cavia aperea* and *Galea musteloides*) with different social and mating systems. **Reproduction**, v. 121, 791-801, 2001.

WEIR, B. J. Another hystricomorph rodent: keeping casiguara (*Proechimys gauairae*) in captivity. **Laboratory animal**, v.7, 125-134, 1973.

WEIR, B. J. Reproductive characteristics of Hystricomorph rodents. **Symposia of the zoological Society of London**, n. 34, 264-301, 1974.

CAPÍTULO III - GESTAÇÃO E ACASALAMENTO EM *TRINOMYS YONENAGAE*

3.1 Introdução

3.1.1 Comportamentos reprodutivos

Talvez nenhum outro parâmetro fisiológico tenha sofrido mais pressão adaptativa do que a reprodução. As soluções para tais pressões mostram uma vasta gama de padrões reprodutivos. Acredita-se que eles reflitam a distribuição de alimento, locais de reprodução e parceiros em potencial.

O estudo dos comportamentos reprodutivos também é usado como um critério para se caracterizar o ciclo estral em mamíferos, incluindo-se os roedores. Espécies com fase de estro muito curta, em geral, apresentam comportamentos de corte elaborados e/ou persistentes por parte dos machos. Por outro lado, fêmeas mantidas com machos vasectomizados apresentam a persistência da abertura vaginal, nas espécies que têm membrana vaginal. A ocorrência de estro pós-parto também é de interesse diagnóstico do tipo de ciclo estral. O estro pós-parto faz parte do repertório reprodutivo de várias espécies de roedores (*Cavia porcellus*, *Meriones unguiculatus*, etc.) e permite aumentar a produtividade e as chances de continuidade da espécie.

Os histricognatas apresentam padrão de acasalamento altamente especializado, e de duração variável, fato relacionado com a duração do ciclo estral (KLEIMAN 1974). No histricomorfo *Hystrix cristata*, sabe-se que há acasalamento apenas durante a fase de estro (FELICOLI, 1997), diferente do que é observado para outra espécie do mesmo gênero *H. indica* (SEVER e MENDELSON, 1988 e 1992 *apud* FELICOLI, 1997). O período de receptividade da fêmea também pode variar de poucas horas (2-3h) como em *Galea* (ROOD, 1972) até várias horas como em *Octodon* (KLEIMAN, 1974).

3.1.2 Gestação

O período de gestação também é muito variável e, em geral, reflete relações com o ambiente externo. Em histricognatas o período é geralmente longo variando de 52 dias na *Galea* até 222 dias em *Dinomys*. O período mais longo conhecido em um murídeo é do roedor australiano *Mesembriomys gouldii* com gestação de 46 dias (CRICHTON, 1969 apud WEIR, 1974). Longos períodos de gestação podem ser associados a estratégias como retardo na fertilização ou na implantação. O grupo dos histricognatas, com exceção de *Lagostomus* (ROBERTS, 1973 apud WEIR, 1974), não adotou nenhum tipo de retardo na gestação, mas as espécies do grupo evoluíram para gestações longas onde o primeiro quarto é tomado pela proliferação de tecidos placentais e o restante do tempo representado por um lento crescimento fetal (WEIR, 1974).

É possível calcular o período de gestação através de diversos sinais, como presença de *plug* vaginal e de espermatozoides no esfregaço. Intervalos entre gestações consecutivas também podem revelar a periodicidade da gestação e a ocorrência de estro pós-parto (WEIR, 1974).

3.2 Objetivos

Os objetivos destes experimentos são caracterizar o ritual de acasalamento; o tempo de gestação, a evolução da massa corporal durante a gestação e as características das ninhadas em *Trinomys yonenagae*.

3.3 Material e Métodos

3.3.1 Animais

Neste experimento 15 fêmeas (125±33g) tiveram as características da gestação analisadas durante os últimos 10 anos (Anexo 6). Cinco delas eram pertencentes ao grupo C do

experimento de ciclo estral (capítulo 2), o que permitiu a análise da citologia vaginal durante a gravidez. As outras nove fêmeas foram analisadas a partir dos registros históricos do biotério do LECO, o que possibilitou o estudo em longo prazo, principalmente para gestações consecutivas e do tamanho das ninhadas. Além delas, em duas fêmeas foi possível analisar os comportamentos associados ao estro pós-parto³, a partir de registros filmados por 30 minutos.

3.3.2 *Manutenção dos animais*

As condições de alojamento estão descritas na parte introdutória do trabalho. Em resumo os animais foram em gaiolas do tipo duna em sala com condições controladas.

3.3.3 *Procedimentos*

3.3.3.1 Procedimentos e equipamentos dos estudos das características da gestação

Um levantamento de dez anos permitiu estimar o período de gestação (duração, estado vaginal e citologia esfoliativa), a idade em que as fêmeas apresentaram a primeira concepção, e as características das ninhadas de *Trinomys yonenagae* geradas (número de filhotes e ninhadas por estação do ano).

Os dados foram obtidos a partir de observações dos casais durante a realização dos experimentos de acompanhamento do ciclo estral e abertura vaginal e/ou pelo histórico do biotério, onde cada animal possui uma ficha com toda a sua vida, como data de nascimento, pais, pareamentos, ninhadas e data de baixa.

A evolução da massa corporal durante a gestação foi acompanhada por pesagens semanais das fêmeas pareadas em casal que participaram do experimento sobre ciclo estral (capítulo 2).

³ Filmagens cedidas pelo Dr. Paulo Manaf.

3.3.3.2 Procedimentos e equipamentos dos estudos do padrão do comportamento reprodutivo

Após o nascimento dos filhotes de dois casais os pais foram filmados por 30min no período imediatamente pós-parto, na fase de transição claro/escuro, buscando-se registrar a ocorrência de estro pós-parto e a caracterização do repertório comportamental de acasalamento na espécie.

Foram quantificadas as frequências e duração de categorias comportamentais, escolhidas a partir de etograma (MANAF & OLIVEIRA, 2000; MANAF, 2000) e da tabela de ocorrência de categorias comportamentais de acasalamento de *histicognatas* (KLEIMAN, 1974); a latência de montas e a presença ou não de lordose da fêmea pareada com macho, foi obtida seguindo-se o método de amostragem instantânea "*Scan*" (ALTMANN, 1974). E o método de quantificação das unidades comportamentais utilizado foi "*Animal Focal*" combinado com "*Todas as Ocorrências*" (ALTMANN, 1974).

Os casais foram filmados com uma câmera de vídeo marca Sony modelo Handycam Vision CCD-TRV15, e as filmagens analisadas em um VCR Samsung VM-K87 acoplado a um monitor Toshiba TV-2066 SU 20". Toda a quantificação comportamental foi feita através do programa Etholog versão 2.2 (OTTONI, 2000).

3.4. Resultados

*3.4.1 Gravidez em *Trinomys yonenagae**

Durante 10 anos das 93 ninhadas nascidas 24 (25,8%) ocorreram em gestações seguidas após o nascimento de uma ninhada. A partir delas foi possível calcular a duração média da gestação $91 \pm 2,5$ dias. O maior intervalo observado sem o nascimento de filhotes até o presente é de 592 dias na fêmea 15CF. Esta fêmea, que não teve nenhuma gestação seguida gerou em média uma ninhada por ano nos cinco anos em que pariu filhotes, ela foi

também a fêmea mais velha a dar a luz a uma ninhada, com 8 anos e 7 meses de vida no laboratório (animal capturado em campo). A fêmea nascida no biotério que foi a mais nova a ter filhotes (12CF) ficou prenhe aos 111 dias de vida e teve dois filhotes nesta gestação.

Dentre as 14 fêmeas apenas uma (9CF) teve todas as cinco gestações seguidas (duração $91,5 \pm 1$ dia) sempre com o mesmo macho. Esta fêmea morreu com 2 anos e 9 meses de vida.

Tabela 3.1. Número de ninhadas e filhotes nascidos no biotério nas quatro estações do ano em dez anos de acompanhamento em cativeiro (n=13 fêmeas)

Estação do ano	Nº ninhadas	Nº filhos
Primavera	26	55
Verão	21	39
Outono	27	47
Inverno	19	34
Total	93	175

O acompanhamento dos nascimentos (tabela 3.1) mostra que não há um padrão sazonal na ocorrência das ninhadas (primavera 26; verão 21; outono 27; inverno 19) nesta espécie. Sendo as ninhadas espalhadas por todo o ano [$F= 0,51$; $df= 51$; $p=0,67$]; assim como, o número de filhotes nascidos nas quatro estações é semelhante [$F=0,65$; $df= 51$; $p= 0,58$], como mostra a ANOVA com medidas repetidas. O inverno é a estação com menos filhotes nascidos (34) e a primavera com mais (55).

A média de filhotes por ninhada é de $2 \pm 0,6$ filhotes e a razão nos nascidos é de 1,1 macho:fêmea (Anexo 7).

3.4.1.2 Ganho de peso durante a gestação

Oito gestações foram acompanhadas com pesagens semanais por um período de 15 semanas. Tomando a gestação com 90 dias ou 12 semanas iniciou-se a análise três semanas antes do início dela.

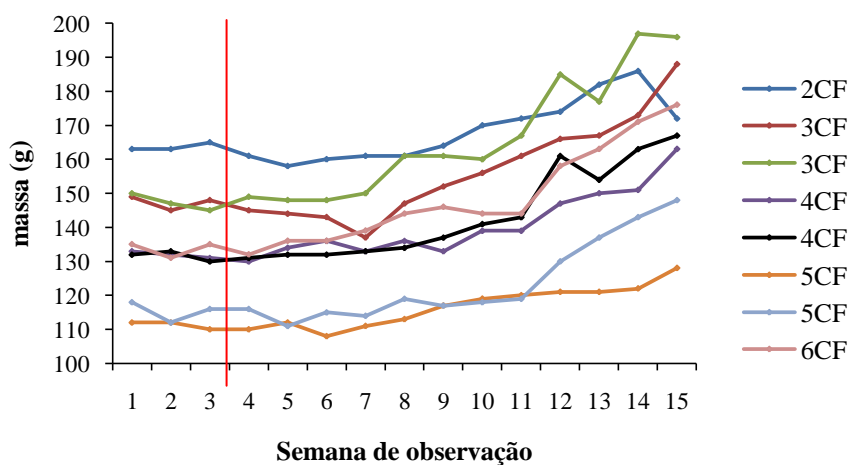
O peso inicial dessas fêmeas era em torno de $134 \pm 15,8\text{g}$. Durante a gestação as fêmeas ganharam em média 25% de sua massa corporal inicial $33 \pm 11,9\text{g}$ (tabela 3.2). É possível observar uma variação nesse ganho entre 11g e 47g. Onde a fêmea com maior massa corporal foi a que ganhou menos durante os três meses (7% do peso inicial) e a com menor massa 16% do peso inicial, ambas tiveram um filhote ao final da gestação.

Tabela 3.2. Massa corporal, ganho de peso e % de ganho das fêmeas de *Trinomys yonenagae* em 8 episódios de gestação

fêmea	p inicial	p final	ganho (g)	%ganho
2CF	161	172	11	7
3CF	145	188	43	30
3CF	149	196	47	31
4CF	130	163	33	25
4CF	131	167	36	28
5CF	110	128	18	16
5CF	116	148	32	28
6CF	132	176	44	33
Média	134	167	33	25
dp	15,8	20,3	11,9	

O aumento da massa corporal durante os três meses se dá de forma contínua, porém discreta no início da gestação nos oito episódios acompanhados. Esse aumento não é significativo no primeiro terço da gestação e só é perceptível no último estágio de gestação (figura 3.1). A partir da análise de variância com medidas repetidas e o teste *post hoc* de Tukey é possível dizer que o peso da 12ª semana de gestação é diferente daqueles do primeiro mês [$F=3,04$; $df= 84$, $p= 0,0018$].

Figura 3.1. Evolução da massa corporal das fêmeas de *Trinomys yonenagae* em 15 semanas de observação (n=8 episódios)



A linha vermelha marca o início do período de gestação. Na 15ª semana ocorreram os nascimentos das ninhadas

3.4.2 Nascimentos durante o desenvolvimento do estudo

Durante o tempo em que foram coletados os esfregaços vaginais das fêmeas em casal houve três nascimentos dentre aquelas cinco que estavam alojadas com machos e que tiveram pelo menos uma ninhada, representando 60% dos casais.

A fêmea 3CF, alojada com o macho 3CM, apresentou a fase de proestro com VA após dois dias do início do experimento (13/03). Após 24 dias desse evento observou-se o macho em comportamento de acasalamento, tentando a monta, entretanto a fêmea mostrou-se pouco receptiva e, a fase do ciclo observada foi diestro com VS, que persistiu por mais 20 dias, quando se observou que o macho cheirou a região anogenital dela após ser devolvida a gaiola tentando montar novamente (AV selada e diestro o material coletado apresentou sangue).

Com os sangramentos observados a fêmea não teve material coletado por 15 dias. Nesse período ocorreu apenas a pesagem semanal dela que se mantinha estável em torno de 145g. Quando foi incluída de volta a fêmea apresentou apenas a fase de diestro por todo o restante do período observado.

E no dia 29/06/08 ela deu a luz a dois filhotes machos. Observou-se o estado vaginal e foi feito o esfregaço buscando-se visualizar estro pós-parto, o que não foi detectado. A fêmea estava com VS e em diestro. Assim como no dia seguinte ao nascimento, quando a vagina estava inchada, avermelhada e com presença de sangue no esfregaço vaginal. O casal foi filmado no dia 29/6 por 1h, na tentativa de pegar o estro pós-parto.

Na 20ª semana de experimento outro casal deu a luz a um filhote pesando 15g no dia 25/07, a fêmea 4CF e macho 4CM. Nesta fêmea foi observado a ocorrência de VA cinco dias antes do parto estando em diestro com presença apenas de leucócitos e um pouco de muco.

Durante o acompanhamento do ciclo estral e abertura vaginal esta fêmea apresentou-se de forma cíclica para os estados vaginais, variando entre selado e aberto. O período observado com a vagina aberta variou entre um e cinco dias (em média 1,67 dia). Com um intervalo médio de cinco dias entre cada abertura (mínimo um e máximo 22 dias). Cerca de 90 dias antes do nascimento, a fêmea estava em uma fase de transição entre diestro e proestro com VS.

Outro casal deu a luz a filhote natimorto em 18/07/08, a fêmea 5CF alojada com o macho 5CM. No dia anterior ao parto, a fêmea estava com a vagina aberta e em diestro. Na coleta pós-parto, ela estava em diestro com a VA e com muito sangue.

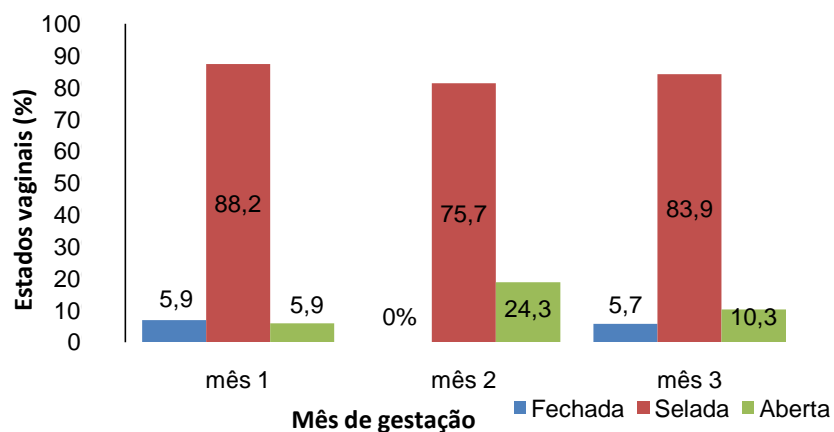
O filhote era uma fêmea, pesando 14g e que foi encontrada morta na gaiola ainda com o cordão umbilical preso a placenta, sem nenhum ferimento aparente. Não se observou estro nesta fêmea antes do nascimento, mas três meses antes do nascimento o esfregaço mostrou uma fase de transição entre diestro e proestro.

Este casal durante todo o experimento mostrou-se bastante particular apresentando resposta ao menor sinal de ruído na sala em que se encontram. A resposta era caracterizada por corridas em círculos na caixa, ficar parado em sinal de alerta e tamborilar no chão de gaiola. O macho é advindo de uma colônia com muitos casos de epilepsia, já a fêmea não.

3.4.3 Ciclo estral e abertura vaginal durante a gestação

Durante os três meses de gestação, nas cinco fêmeas acompanhadas, se observa a ocorrência dos três estados vaginais (**Figura 3.2** e **Anexo 8**). O estado vagina-selada (média 82% do tempo) foi o mais observado nos três meses. Durante o 1º mês de gestação há um predomínio de vagina selada (88,2%) com 5,9% de ocorrências de cada um dos estados vaginais selado e fechado. No segundo mês de gestação não se observa vagina fechada em nenhuma fêmea, ocorrendo 24% dos eventos de vagina aberta. Os valores observados no 3º mês para o estado aberto estão próximos aos daqueles de quando as fêmeas não estão prenhas 10% grávidas, 12% não grávidas e vagina-selada com 84% e 70%, respectivamente. Padrão diferente do que era esperado na nossa hipótese inicial de ocorrência somente de vagina fechada na gestação.

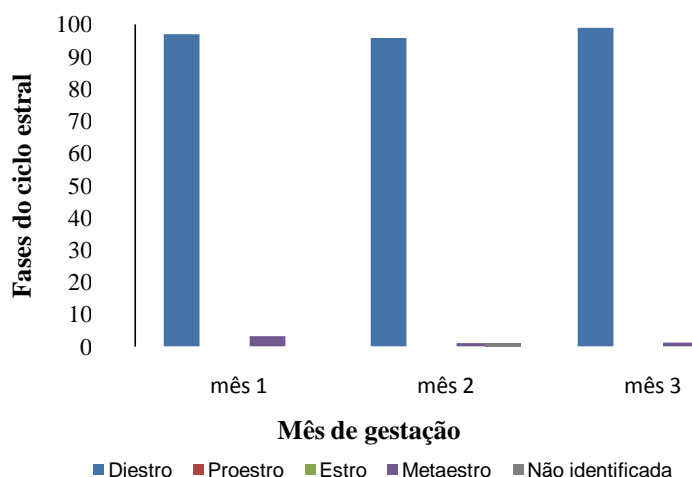
Figura 3.2. Estados vaginais das fêmeas grávidas durante os três meses de gestação (n=5)



Ocorrências de metaestro foram observadas durante a gravidez, embora tenha ocorrido proestro e estro (**figura 3.3**). No primeiro mês há 3% de ocorrência de metaestro; no segundo mês se observa 1% de cada uma das fases metaestro e não identificada; no terceiro mês há 1%

de metaestro, observado quatro dias antes do nascimento da ninhada, respectivamente, o restante do tempo se observou a fase de diestro.

Figura 3.3. Fases do ciclo estral observadas nas fêmeas grávidas durante os três meses de gestação (n=5)



3.4.4 O padrão de acasalamento

A corte e acasalamento do rabo-de-facho mostraram-se violentos, com o macho mordendo e segurando a fêmea pelo pescoço quando montado sobre ela nos dois casais que foram filmados (denominados A e B).

Durante as filmagens foi possível observar a ocorrência de cópula pós-parto, no casal A onde o macho passou cerca de 77% do tempo exibindo comportamentos afiliativos, mesmo com a fêmea não interagindo com ele. A monta representou o maior investimento de tempo do macho para com a fêmea representando 34% do tempo, 17,8% ele a seguiu e passou 8% em *grooming* genital. Apenas 1% do tempo realizou monta com movimentos pélvicos (4 ocorrências, de duração média de 12,8s), sendo que 80% delas foram seguidas de autolimpeza (*grooming*) genital, comportamentos indicativos de ejaculação.

No casal B a filmagem foi parcial, mas foi possível observar que o Macho B apresentou comportamentos afiliativos em 27% do tempo de observação. Sendo 20% do

tempo em monta; 5% seguindo a fêmea; 1% em *grooming* genital; e apenas 2% em monta com movimentos pélvicos (uma ocorrência de duração de 2,24s), que também foi seguida de autolimpeza genital.

A duração das montas não seguiu um padrão crescente ou decrescente nos dois machos. No macho A o maior tempo montado sobre a fêmea foi de 94,8s e o menor 1,7s. Esta ocorrência de menor tempo foi seguida de monta com movimentos pélvicos, e da monta de maior tempo. No macho B foram observados 22,9s e 1,37s (mediana 15,8s), que ocorreram em sequência, sendo estas, a segunda e terceira tentativas. Esta última(1,37s) seguida da monta com movimentos pélvicos.

As fêmeas passaram mais tempo em comportamentos não afiliativos, 61% fêmea A e 75% fêmea B. Quanto ao tempo dispensado nas categorias afiliativas a fêmea A passou 26% do tempo se afastando do macho, 8% em *grooming* genital (assim como o macho) e apenas 1% do tempo se aproximando do macho. Já a fêmea B dispendeu 17% do seu tempo se afastando do macho, e 3% se aproximando do macho, não foi possível observar *grooming* genital.

Tendo estes acasalamentos ocorridos num período pós-parto esperava-se observar um alto índice de contato com os filhotes tanto dos machos quanto das fêmeas, entretanto, isso não ocorreu, sendo muito baixa a frequência de contato com os filhotes nos dois casais (média 3,25 vezes). No casal A o macho ficou 5% do tempo com os filhotes e a fêmea 3%. O macho B não exibiu contato com os filhotes e a fêmea passou com os filhotes apenas 2% do tempo de filmagem.

Observações prévias, mostram que o macho pode vocalizar e tamborilar para a fêmea durante a corte. Afêmea não tem a iniciativa do acasalamento. A corte é longa, sendo possível observar tentativas de monta do macho durante dias, quando a fêmea era devolvida a gaiola após a coleta do lavado vaginal. Ainda, reforçam a ocorrência de estro curto, uma vez que, se

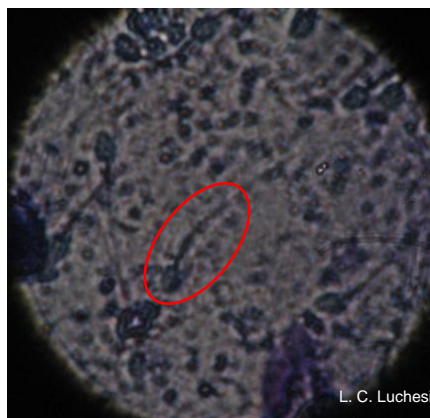
observa ocasionalmente mesmo não se observando a fase de estro no esfregaço vaginal no período pós-parto.

3.4.4.1 Maturação sexual e reprodução da fêmea 080398 (6CF)

Uma fêmea é acompanhada desde o nascimento neste projeto de pesquisa. Esta fêmea (6CF) nasceu em 12/2/2008, e ficou alojada com os pais e um irmão até os três meses de vida (12-17/5/2008) quando então foi separada. Aos 121 dias de vida (4 meses), já alojada numa gaiola individual em sala isolada da influência de machos, a fêmea apresentou o primeiro episódio de vagina selada. Passados 20 dias dessa observação (4,5 meses) a fêmea foi colocada em uma gaiola dupla com um macho (6CM) para procriar (2/7/08). Mesmo não se observando proestro e estro ao redor dos 253 dias de vida (8,4 meses) ocorreu a fecundação de sua primeira ninhada (considerando-se a gestação de 90 dias). A presença do macho, portanto, não garantiu a fertilização da fêmea nos primeiros 122 dias (4 meses) alojados na mesma gaiola. Aos 343 dias de vida sua primeira ninhada nasceu (11,4 meses de vida - dia 19/01/2009), 90 dias após a fecundação.

Um dia após o nascimento do filhote, o esfregaço vaginal foi diestro com presença de espermatozoides e vagina selada com sangue. Passados 28 dias, novamente se observou presença de espermatozoides no esfregaço (Figura 3.4) e a segunda ninhada nasceu 93 dias depois (20/5/2009).

Figura 3.4. Esfregaço vaginal com espermatozoides da fêmea 6CF em janeiro de 2009



Em destaque espermatozóide

3.5 Discussão

A ocorrência de abertura vaginal esporadicamente durante a gestação já foi observada em outras espécies de roedores histricognatas, como no tuco-tuco e no degu, pertencentes à superfamília Octodontoidea (WOODS, 1993) assim como *Trinomys yonenagae* (WEIR, 1974). Em *Lagostomus maximus* Weir (1971a, apud WEIR 1974) observou que no segundo terço da gestação (62º dia) há ocorrência de abertura vaginal. A maior ocorrência de vagina aberta e a ausência de fechada nas fêmeas de *Trinomys yonenagae* no 2º terço da gestação estão de acordo com o observado anteriormente por Weir. Um padrão semelhante também foi observado por Ford (1951, apud WEIR, 1974) em *Cavia porcellus*, pertencente à outra superfamília de histricomorfa, a Caviioidea. Nesta espécie, 80% dos animais também apresentam episódios de vagina aberta no segundo terço da gestação.

Muitos roedores apresentam estro pós-parto, dentre eles representantes dos histricognata, como a *Cavia porcellus*. O rabo-de-facho apresenta cópula pós-parto, o que indica a existência de estro, embora não tenha sido detectado no esfregaço vaginal (LUCHESEI et al, 2007). Entretanto, especula-se que ele ocorra em um intervalo de até 24h após o nascimento, uma vez que foi possível filmar o acasalamento nesse intervalo, e por

observações dos nossos casais que apresentam intervalos entre ninhadas com um mínimo de três meses (MANAF et al, 2008; LUCHESI, et al 2009).

Em roedores sociais de hábito fossorial espera-se que a fêmea inicie a cópula (JARVIS, 1991; BENNETT & JARVIS, 1988b *apud* BENNETT et al 2000). Entretanto, esse padrão não foi observado até o momento no rabo-de-facho. A fêmea não se mostra receptiva se distanciando do macho enquanto ele despende atenção à fêmea durante a maior parte das filmagens.

O macho dedica bastante energia na tentativa de copular e a fêmea passa cerca de 60% do tempo se esquivando dele. Os filhotes não recebem muita atenção de nenhum dos pais nesse momento (média de 1% do tempo das filmagens). As montas seguem um padrão irregular de tempo e a receptividade da fêmea não se altera durante elas, que permanece pouco tempo receptiva durante todo o período de filmagem.

O acasalamento segue o padrão dos histricomorfos com múltiplas intromissões durando de um a 95s (KLEIMAN,1974, VENANCIO et al, 2006). O *Trinomys yonenagae* como o gênero *Proechimys* relatado por Kleiman (1974) não apresenta marcação de urina na fêmea, aproximação bípede, ou o girar a cauda. Muitos parâmetros ainda não foram observados, portanto, não é possível afirmar que eles não ocorram, mas filmagens posteriores em conjunto com estudo da citologia esfoliativa ajudarão a compreender melhor o padrão reprodutivo do rabo-de-facho (*T. yonenagae*).

A gestação nesta espécie tem um período ao redor de 90 dias (LUCHESI, 2009), um período longo se considerar-se seu tamanho (125g±33g). Longos períodos de gestação são associados a animais de grande porte; entre os roedores aqueles de maior tamanho são os caviomorfos, a capivara maior representante do grupo tem um período de gestação de 149 dias (ZARA, 1973, *apud* WEIR, 1974). *Proechimys guairae*, roedor da mesma família de *Trinomys yonenagae* apresenta gestação de 62 dias (WEIR, 1973b).

O tamanho da prole nessa espécie também segue o padrão histricomorfa com ninhadas pequenas, ao redor de dois filhotes e filhotes precoces e o ganho de peso durante a gestação não permite a identificação de gravidez nos primeiros estágios.

A presença do macho numa mesma caixa não garante a fertilização da fêmea, mesmo com a ocorrência de estro pós-parto (LUCESI et al, 2007), como na fêmea 6CF que permaneceu na mesma caixa que o macho por 120 dias sem ocorrência de gravidez.

Não se observa um padrão sazonal de reprodução, com filhotes nascendo em todas as estações do ano. Padrão já relatado na literatura para outros caviomorfos de clima tropical, como a *Cavia aperea* (TRILLMICH, 2000). E na família Echimyidae sabe-se que *Proechimys semispinosus* (ADLER, 1997) também se reproduz de forma não sazonal.

Apesar de seu pequeno porte a espécie parece seguir o padrão de reprodução dos histricomorfa já discutido em detalhes por Kleiman (1974) e Weir (1974) e nesta espécie de forma parcial por Luchesi (2007 e 2009) e Manaf (2008).

3.6 Bibliografia

ADLER, G. H.; BEATTY, R. P. Changing reproductive rates in a Neotropical forest rodent, *Proechimys semispinosus*. **Journal of Animal Ecology**, v. 66, n.4, pp. 472-480, 1997.

ALTMANN, J. Observational study of behavior: sampling methods. **Behaviour**, v. 49, pp. 227-267, 1974.

CRICHTON, E. Reproduction in pseudomyine rodent *Mesembriomys gouldii* (Gray) (Muridae). **Australian Journal of Zoology**, v. 17, pp. 785-797, 1969.

FELICIOLI, A., A. GRAZZINI, SANTINI, L. The mounting behaviour of a pair of crested porcupine *Hystrix cristata* L. **Mammalia**, v. 61, n.1, pp.119-123, 1997.

FORD, D. H.; WEBSTER, R. L.; YOUNG, W. C. Rupture of the vaginal closure membrane during pregnancy in the guinea-pig. **Anatomic Record**, v.109, pp. 707-714, 1951.

KLEIMAN, D. G. Patterns of behaviour in hystricomorph rodents. **Symposia of the Zoological Society of London**, n. 34, pp. 171-209, 1974.

LARA, M. C.; PATTON, J. L.; DA SILVA, M. N. F. The simultaneous diversification of South American echimyid rodents (Hystricognathi) based on complete cytochrome b sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.5, pp. 403-413, 1996.

LARA, M. C.; PATTON, J. L. Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 130, pp. 661-686, 2000.

LUCHESI, L. C.; MANAF, P.; SPINELLI OLIVEIRA, E. Caracterização comportamental do acasalamento pós-parto em *Trinomys yonenagae*. In: **XXV Encontro Anual de Etologia 25 Anos**, v. 25, p. 267, 2007.

LUCHESI, L. C.; SPINELLI OLIVEIRA, E. K selection in *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae). In: **46th Meeting of the Animal Behavior Society**. 22-26 June, 2009. Pirenópolis – Brazil, p. 104, 2009.

MANAF, P. Behavioral repertoire of *Proechimys [Trinomys] yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) in captivity. **Revista de Etologia**, v. 2, n. 1, pp. 1-15, 2000.

MANAF, P; SPINELLI OLIVEIRA, E. Behavioral repertoire of the spiny rats *Proechimys (Trinomys) yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) in captivity. **Revista de Etologia**, v.2, pp. 3-15, 2000.

MANAF, P.; SPINELLI OLIVEIRA, E. Reproductive parameters of the Brazilian caviomorph rodent *Trinomys yonenagae* (Rocha, 1995) in captivity. In: **I Congresso Latinoamericano de Etologia Aplicada**, p. 108, 2008.

OTTONI, E. B. Etholog 2.2 - A tool for the transcription and timing of behavior observations. **Behavior Research Methods, Instruments, & Computers**, v. 32, n.3, pp. 446-449, 2000.

SEVER e MENDELSON, SEVER, Z. & MENDELSSOHN, H. Copulation as a possible mechanism to maintain monogamy in porcupines, *Hystrix indica*. **Animal Behaviour**, v.36, pp. 1541-1542, 1988.

SEVER, Z. & MENDELSSOHN, H. The use of shelters by Indian porcupines (*Hystrix indica*). **Israel Journal of Zoology**, v.38, n. 3-4, p. 423, 1992.

ROBERTS, C. M.; WEIR, B. J. Implantation in the plains viscacha *Lagostomus maximus*. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.33, pp. 333-360, 1973.

ROOD, J. P. Ecological and behavioral comparisons of three genera of Argentine cavies. **Animal Behavior Monographs**, v. 5, pp. 1-83, 1972.

TRILLMICH, F. Effects of low temperature and photoperiod on reproduction in the female wild guinea pig (*Cavia aperea*). **Journal of Mammalogy**, v. 81, n. 2, pp. 586-594, 2000.

VENANCIO, D. C.; BARBOSA, L. P.; FERREIRA, G. C. M.; RODRIGUES, M. V.; PIRES, V. B.; NEVES, M. M.; COELHO, C. D. P.; BORGES, J. M. Estudo do comportamento reprodutivo de capivaras (*Hydrochaeris Hydrochaeris*) criadas em cativeiro. In: **VII Semana de Iniciação Científica - PIC/UnilesteMG**, 2006.

WEIR, B. J. The reproductive physiology of the plains viscacha, *Lagostomus maximus*. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.24, pp. 355-363, 1971

WEIR, B. J. Another hystricomorph rodent: keeping casiragua (*Proechimys gauairae*) in captivity. **Laboratory Animal**, v.7, pp. 125-134, 1973b.

WOODS, C.A. Suborder Hystricognathi. In: Wilson, D.E., Reeder, D.M. (Eds.), **Mammals Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. Smithsonian Institution Press, Washington, pp. 771–806, 1993.

ZARA, J. L. Breeding and husbandry of capybara *Hydrochoerus hydrochaeris*, at Evansville Zoo. **International Zoo Yearbook**, v.13, pp. 137-139, 1973.

CAPÍTULO IV – RITMO DE TEMPERATURA CORPORAL

4.1 Introdução

A temperatura corporal (T_c) apresenta um ritmo circadiano que se estabelece precocemente. Em *Rattus norvegicus*, por exemplo, é observado ao redor dos 24 dias de vida.

Este ritmo é bem conhecido em várias espécies e sabe-se que ele está em relação positiva de fase com o ritmo de atividade e repouso. Nos ratos Wistar, uma espécie noturna os picos de temperatura corporal são noturnos e em humanos, que são diurnos, os picos de temperatura são diurnos.

Em hamsters, o ciclo da temperatura ser um *zeitgeber* pode arrastar ciclos de atividade (SULZMAN et al, 1977, ASCHOFF & TOKURA, 1986; TOKURA & OISHI, 1985, *apud* MARQUES, 1997). O mesmo acontece em *Octodon degus* e nos gerbilos (*Pachyuromys duprasi*) que apresentam um robusto ritmo circadiano de temperatura (REFINETTI, 1998).

Em *T. yonenagae* o ritmo de temperatura é desconhecido apesar de ser um parâmetro de grande importância para a compreensão da biologia desse pequeno roedor, que habita o semi-árido, onde as temperaturas da superfície das dunas durante o dia são extremamente altas.

Sabe-se que o valor da T_c dos rabos de facho pode ser significativamente reduzido (anapirexia) por aumento das concentrações de gás carbônico no sangue (hipercapnia), segundo resultados do LECO realizados em colaboração com o laboratório do Prof. L. G. S. Branco (BARROS et al, 1998). É importante se considerar que esses animais se abrigam em galerias, onde a concentração de gás carbônico pode estar elevada em comparação com a concentração encontrada em ambientes abertos e mais ventilados.

Em inúmeras espécies de mamíferos ocorre uma variação da T_c durante o ciclo estral. Essa relação está estabelecida em várias espécies de roedores Sciurognathi. Entre os Caviomorpha esta associação é conhecida em *Octodon degus* (LABYAK, 1995).

É justificável, portanto, a investigação da ritmicidade da temperatura corporal em *T. yonenagae*.

4.2 Objetivos

Os objetivos desse estudo são identificar e caracterizar o ritmo de temperatura corporal no roedor *Trinomys yonenagae*.

4.3 Material e Métodos

4.3.1 Animais

Foram estudadas 16 fêmeas alojadas em gaiolas individuais, nascidas no biotério do LECO, que foram colocadas em sala sem influência de machos por pelo menos três meses antes das medidas.

Os animais foram divididos em dois grupos contendo oito fêmeas cada (grupos A e B). O grupo A também pertence ao experimento sobre ciclo estral e o B apenas participa desse experimento.

4.3.2 Manutenção

As fêmeas foram mantidas em gaiolas individuais de propileno em sala isolada da influência de machos, como apresentado na parte introdutória, e com temperatura controlada ($22 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$, UR $67 \pm 4,8\%$).

4.3.3 Procedimento e equipamentos do estudo do ritmo de temperatura corporal

Para conhecer o padrão do ciclo de temperatura de *T. yonenagae* fêmeas alojadas individualmente foram estudadas durante 72 horas. As coletas foram realizadas em janelas de 3 horas. O delineamento transversal (cada indivíduo representa um ponto de coleta) foi

utilizado como medida para minimizar a manipulação dos animais e, com isso, diminuir erros de interpretação do padrão rítmico dessa espécie.

A temperatura corporal foi obtida através de um termômetro digital (BD, DT 203, importado por Becton Dickinson Indústrias cirúrgicas Ltda.) inserido no reto das fêmeas. Este protocolo foi testado em um projeto-piloto com 20 fêmeas e verificou-se a viabilidade e reprodutibilidade do procedimento experimental.

Foram analisados os seguintes parâmetros: porcentagem rítmica, mesor, amplitude do ritmo e acrofase de acordo com NELSON et al, 1979. Primeiramente analisaram-se os dados nos dois grupos, A e B, em separado e depois unindo todos os animais se fez uma análise geral.

4.3.4 Análise dos dados

A análise do padrão do ritmo de temperatura corporal foi feita pelo ajuste dos dados a uma curva co-seno através do software Cossana (BENEDITO-SILVA, 1996). Os horários apresentados referem-se ao horário do *Zeitgeber* (ciclo claro-escuro do Biotério) assim 0h ZT corresponde ao início da fase de claro (02:00h) e 12h ZT ao início da fase de escuro (14:00h).

4.4 Resultados

4.4.1 Ritmo de temperatura nos dois grupos de fêmeas

Nas oito fêmeas do grupo A, a T_c apresenta um padrão circadiano altamente significativo $p= 0,002$, com porcentagem rítmica de 45,01%. A acrofase (ϕ) do ritmo de temperatura é observada na primeira metade da fase de escuro 17h11min ZT ($35,4 \pm 0,55^\circ\text{C}$) e a temperatura média (mesor) é de $33,93 \pm 0,16^\circ\text{C}$. Valores semelhantes aos reportados por Barros (1998) com variação 33,4 a $35,7^\circ\text{C}$, menores do que é conhecido para outros roedores. A **figura 4.1** mostra a oscilação da temperatura, o mesor, os valores medidos e os ajustados à

curva co-seno em 24h, a barra negra representa a fase de escuro e a clara, o claro (ver também Anexo 9).

Figura 4.1 Oscilação de temperatura nas fêmeas do grupo A (n=8) de *Trinomys yonenagae* em 24 horas. A barra negra representa a fase de escuro

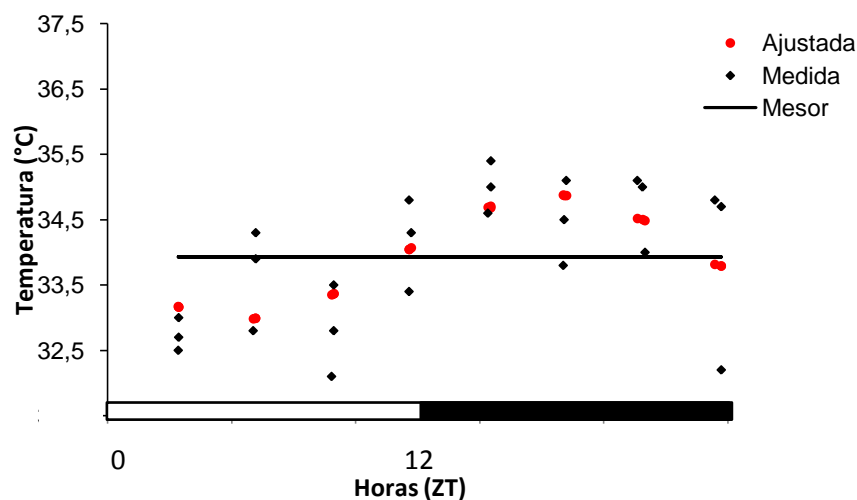
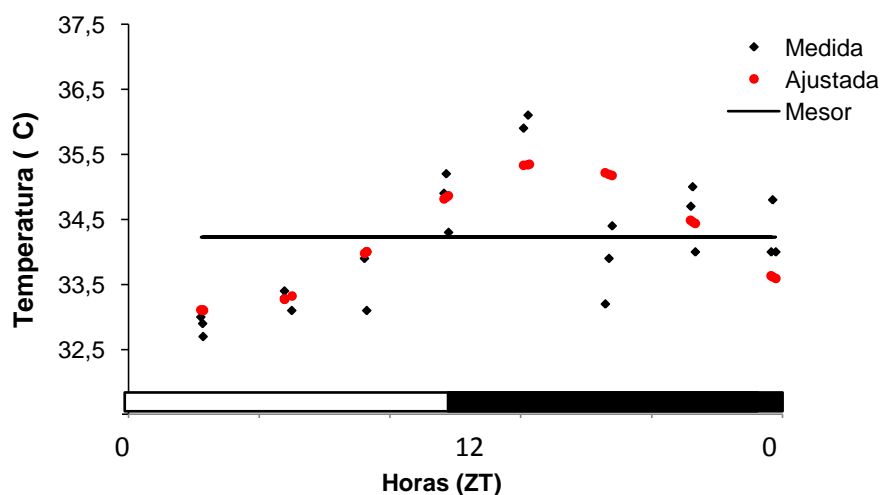


Figura 4.2 Oscilação de temperatura nas fêmeas do grupo B (n=8) de *Trinomys yonenagae* em 24 horas. A barra negra representa a fase de escuro



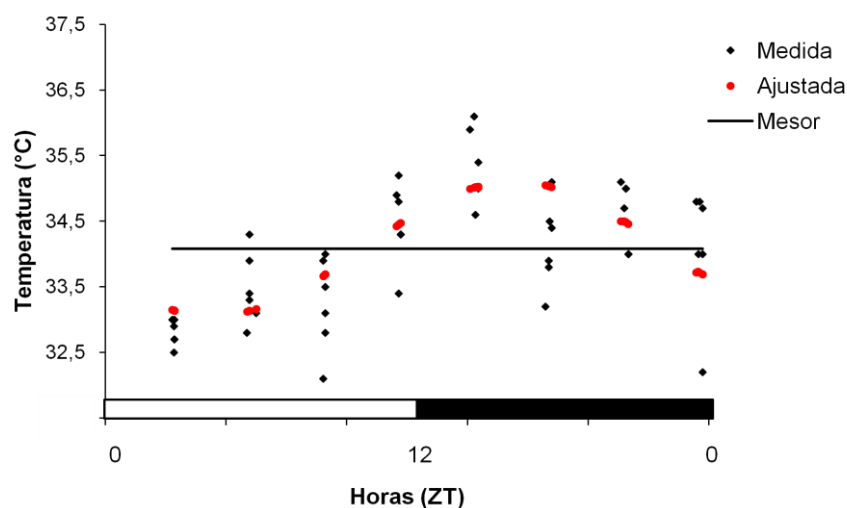
Para o grupo B (figura 4.2), a porcentagem rítmica foi 48,42%; $p = 0,001$. A amplitude do ritmo de temperatura nessas 8 fêmeas foi de $1,14 \pm 0,26^{\circ}\text{C}$, com mesor de $34,23^{\circ}\text{C}$. Como no grupo A, temperaturas baixas se comparadas a outros roedores. A acrofase ocorreu às 15h30 min. ZT duas horas antes do que a observada no grupo A (17h11min).

O padrão de temperatura nesta espécie parece ter dois picos noturnos, um que começa com o aumento gradual da T_c no início da fase escura, atingindo o valor máximo no meio da noite e o segundo pico na segunda metade da fase de escuro (figuras 4.1 e 4.2 e **anexo 9**).

4.4.2 Ritmo de temperatura geral

A figura 4.3 apresenta o padrão de temperatura obtido das 16 fêmeas que participaram deste estudo sendo, portanto, uma união dos dados obtidos. O padrão circadiano de temperatura mostrou-se de forma robusta (porcentagem rítmica 43,52%; $p=0,001$), a acrofase foi observada às 16h15 min. ZT. A amplitude do ritmo foi de $1,02\pm 0,17$ °C, com mesor de $34,08\pm 0,12$ °C. Valores que ficam entre os obtidos em cada um dos grupos separadamente.

Figura 4.3 Oscilação de temperatura das fêmeas de *Trinomys yonenagae* (n=16) em 24 horas. A barra preta representa a fase de escuro



4.5 Discussão

O ritmo de temperatura corporal em geral, segue o mesmo padrão que o ritmo de atividade. Sabe-se que apresenta relação de fase positiva com o ritmo de atividade e repouso.

Os gerbilos apresentam acrofase na fase escura com uma variação de 3°C ao longo do dia e amplitude de 2°C, assim como foi observado nas fêmeas de *Trinomys yonenagae*. Castilho e colaboradores (2005) estudando duas linhagens de camundongos *Mus musculus*, roedores Sciurognathi que fazem dois tipos de ninhos, grandes ou pequenos, observou que a temperatura corporal média é de $36,72 \pm 0,07^\circ\text{C}$ no primeiro grupo e $36,90 \pm 0,21^\circ\text{C}$, no segundo. A amplitude do ritmo também é diferente nestes dois grupos, sendo de $1,95 \pm 0,05$ e $2,31 \pm 0,08^\circ\text{C}$, respectivamente. Estes valores de amplitude são semelhantes aos que foram observados nas fêmeas de rabo-de-facho ($1,02 \pm 0,17^\circ\text{C}$). Essa variação de T_c ao longo do dia está de acordo com o que é conhecida na literatura para mamíferos, uma variação diária entre $1^\circ - 4^\circ\text{C}$ (BROWN, 2002).

Além do ritmo de claro/escuro sabe-se que o ritmo de temperatura também é ajustado pelo ritmo de atividade e repouso. Estudos com o roedor crepuscular *Octodon degus* (KAS, 2001) mostraram que o ritmo de temperatura corporal em livre curso é de 23,39h. Quando há acesso a uma roda de atividade (um *Zeitgeber*) durante um intervalo fixo de tempo ele é ajustado para um período de 24h. Labyak (1995) estudando a mesma espécie de roedor mostrou que a temperatura e o ritmo de atividade estão em relação positiva de fase e que ainda, a T_c é mais elevada nas fases de proestro e estro do que nas outras fases do ciclo estral, o que ainda não foi estudado em *T. yonenagae*.

Nos rabos-de-facho os ritmos de temperatura e atividade/repouso mostraram-se sincronizados, com uma correlação positiva de fase, uma vez que o pico de atividade desses animais ocorre na metade da fase escura, às 18h36min ZT (MARCOMINI, 2003), com o ritmo de atividade antecedido em uma hora pelo pico de temperatura (17h11min ZT). O padrão rítmico observado nas fêmeas de *T. yonenagae* está de acordo com o exposto por Kas (2001) para *O. degus*, um histricognata, da família Octodontidae, que como os Echimyidae fazem parte dos Octodontoidea.

A diferença entre os dois grupos de fêmeas quanto à acrofase e a amplitude pode ser consequência limitante da metodologia adotada, uma vez que, o método transversal não permite um acompanhamento da expressão rítmica dentro dos limites da variabilidade intra-individual.

Embora os valores de temperatura observados nesta espécie estejam abaixo dos conhecidos para outras espécies de roedores, como já relatado por Barros (1998), *Trinomys yonenagae* segue o mesmo padrão rítmico e de oscilações que os ritmos conhecidos para outras espécies de roedores noturnos, apresentando picos noturnos de temperatura corporal.

4.6 Bibliografia

ASCOFF, J.; TOKURA, H. Circadian Activity Rhythms in Squirrel Monkeys: Entrainment by temperature Cycles. **Journal of Biological Rhythms**, v.1, pp-91-100, 1986.

BARROS, R. C. H.; OLIVEIRA, E. S.; ROCHA, P. L. B.; BRANCO, L. G. S. Respiratory and metabolic responses of the spiny rats *Proechimys yonenagae* and *Proechimys iheringi* to CO₂. **Respiration Physiology**, v. 111, pp. 223-231, 1998.

BROWN, S. A.; ZUMBRUNN, G.; FLEURY-OLELA, F.; PREITNER, N.; SCHIBLER, U. Rhythms of mammalian body temperature can sustain peripheral circadian clocks. **Current Biology**, v. 12, 1574–1583, 2002.

CASTILLO, M. R.; HOCHSTETLER, K. J.; GREENE, D. M.; FIRMIN, S. I.; TAVERNIER, R. J.; RAAP, D. K.; BULT-ITO, A. Circadian rhythm of core body temperature in two laboratory mouse lines. **Physiology & Behavior**, v. 86, 538-545, 2005.

KAS, M. J. H.; EDGAR, D. M. Scheduled voluntary wheel running activity modulates free-running circadian body temperature rhythms in *Octodon degus*. **Journal of Biological Rhythms**, v. 16, n.1, 66-75, 2001

LABYAK, S. E.; LEE, T. M. Estrus and steroid-induced changes in circadian rhythms in a diurnal rodent, *Octodon degus*. **Physiology & Behavior**, v. 58, n. 3, 573-585, 1995.

MARCOMINI, M.; SPINELLI OLIVEIRA, E. Activity pattern of echimyid rodent species from the Brazilian Caatinga in captivity. **Biological Rhythm Research** v. 34, pp. 157-166, 2003.

MARQUES, M. D.; GOLOMBEK, D.; MORENO, C. Adaptação temporal. In: MARQUES, N. & MENNA-BARRETO, L. (orgs). **Cronobiologia: Princípios e aplicações**. São Paulo, EDUSP/FioCruz, 2003, pp. 55-98.

NELSON, W.; TONG, Y. L.; LEE, J. K.; HALBERG, F. Methods for cosinor-rhythmometry. **Chronobiologia**, v. 6, 305–323, 1979.

REFINETTI, R. Homeostatic and Circadian control of body temperature in the fat-tailed gerbil. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.119A, n. 1, 295–300, 1998.

SULZMAN, F. M.; FULLER, C. A.; MOORE-EDE, C. Environmental synchronizers of Squirrel Monkey Circadian rhythms. **Journal of Applied Physiology**, v. 43, pp.795-806, 1977.

TOKURA, H.; OISHI, T. Circadian locomotor activity rhythm under the influences of temperature cycle in the Djungarian Hamnster, *Phodopus sungorus*, entrained by 12 hours light-12 hour dark cycle. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.81A, pp. 271-275, 1985.

CONCLUSÕES FINAIS

Os resultados apresentados trazem novas e importantes informações para o conhecimento da biologia desse roedor de ambiente semi-árido. Pode-se então concluir que:

A VA não necessariamente indica o estado de estro tendo sido observadas ocorrências de VA+diestro; VA+proestro; VS+proestro. Os pesquisadores de campo devem, portanto, ser cautelosos ao utilizar este critério como indicativo de atividade reprodutora em rabos-de-facho.

Embora marque o início da vida reprodutiva o estado vaginal não pode ser usado como único indicativo de atividade reprodutiva uma vez que, há raras coincidências de vagina aberta com as fases de proestro ou estro (fases reprodutivas).

As fases de proestro e metaestro são curtas, com menos de um dia de duração. A fase de estro é inferior à 24h, pois houve dificuldade de observá-la mesmo realizando coleta de material poucas horas após ter sido observado um proestro (oito ocorrências). Tendo sua ocorrência confirmada também pela observação de gestações seguidas.

O ciclo estral parece ser espontâneo nas fêmeas de *T. yonenagae* uma vez que, observou-se ocorrência de estro em fêmeas em sala livre da influência de macho. E a duração do ciclo estral é variável. Das 26 fêmeas nenhuma apresentou regularidade do ciclo estral, independente das condições de alojamento (individual, pareada com fêmea ou pareada com macho). A existência de um co-específico influencia o ciclo estral, podendo até chegar ao ponto de inibi-lo (dupla de irmãs). Além disso, existem diferenças no ciclo de fêmeas alojadas em gaiola individual ou pareada com outra fêmea quanto à frequência de observação das fases do ciclo e dos estados vaginais.

T. yonenagae apresenta estro pós-parto. E apesar de haver atividade reprodutiva a presença do macho não garante a gravidez uma vez que, foi possível observar casais em que o intervalo entre o nascimento de duas ninhadas foi 591 dias.

Em roedores em que o estro é curto o período de corte é longo e elaborado, como pudemos observar nos rabo-de-facho. As fêmeas não apresentam a iniciativa do acasalamento, padrão observado em roedores sociais e fossoriais. O comportamento de acasalamento, com tentativas de monta e contato naso-anal por parte do macho são observados no início da gravidez.

Durante a gestação a vagina pode estar episodicamente aberta, com predomínio do estado vagina selada. O ganho de peso na fêmea só é perceptível no último mês. Além disso, a gestação tem duração de aproximadamente 90 dias, com ninhadas pequenas. Não se observando efeito de sazonalidade em cativeiro, com nascimentos espalhados ao longo do ano. Seguindo o que está na literatura de campo sobre esta espécie.

E para encerrar, *Trinomys yonenagae* apresenta um ritmo circadiano de temperatura corporal em sincronia com o ritmo de atividade/repouso, acrofase na fase escura.

Os resultados sugerem que esta espécie segue o padrão da família Echimyidae, como gestação longa e ciclo estral longo e de duração variável sem relação com o estado vaginal. A presença de co-específicos influencia a reprodução em *Trinomys yonenagae* modulando o ciclo estral, e que a temperatura corporal apresenta um ritmo circadiano com picos noturnos de acordo com o seu ritmo de atividade, uma vez que, a espécie que vive nas dunas de areia da Caatinga se encontra ativa durante a noite.

BIBLIOGRAFIA

AB'SABER, A. N. Províncias geológicas e domínios morfoclimáticos no Brasil. **Geomorfologia**, v.20, pp. 1-26, 1970.

AB'SABER, A. N. O domínio morfoclimático semi-árido das caatingas brasileiras. **Geomorfologia**, São Paulo, 1974.

ASCHOFF, J. Die 24-Stunden-Periodik der Maus unter kontanten Umweltbedingungen. **Naturwissenschaften**, n. 35, pp. 2326-2332, 1951.

_____. Tierische Periodik unter der aktivitätsperiodik bei Mäusen in Dauerdunkel und Dauerlicht. **Arc. Ges. Physiol.**, v. 255, pp. 197-203.

BARROS, R. C. H.; OLIVEIRA, E. S.; ROCHA, P. L. B.; BRANCO, L. G. S. Respiratory and metabolic responses of the spiny rats *Proechimys yonenagae* and *Proechimys iheringi* to CO₂. **Respiration Physiology**, v. 111, pp. 223-231, 1998.

BENEDITO-SILVA, A. A. **Programa Cossana para Análise Ritmo métrica de Séries Temporais Individuais**. Version 3.1, 1996.

BENNETT, N. C.; FAULKES, C. G.; MOLTENO, A. J. Reproduction in subterranean rodents. In: LACEY, E. A.; PATTON, J. L.; CAMERON, G. N. (eds.) **Life underground: the biology of subterranean rodents**. Chicago University Press; 2nd Ed, pp. 145-177, 2000.

BENNETT, N. C.; JARVIS, J. U. M. The social structure and reproductive biology of colonies of the mole-rat *Cryptomys damarensis* (Rodentia: Batergidae). **Journal of mammalogy**, v. 69, pp.293-302, 1988b.

BERGALLO, H. G. Comparative life-history characteristics of two species of rats, *Proechimys iheringi* and *Oryzomys intermedius*, in an Atlantic Forest of Brazil. **Mammalia**, v. 59, n. 1, pp. 51-64, 1995.

CARLETON, M. D.; MUSSER, G. G. Order Rodentia. In: WILSON, D. E. & REEDER, D. M. (eds.). **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. 3rd ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, pp. 745-752, 2005.

DAVIDSON, A. J. Search for the feeding-entrainable circadian oscillator: a complex proposition. **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and comparative Physiology**, v. 290, pp. R1524-R1526, 2006.

DIAS-MUNOZ, M.; VAZQUEZ-MARTINEZ, O.; AGUILAR-ROBLERO, R.; ESCOBAR, C. Anticipatory changes in liver metabolism and entrainment of insulin, glucagon, and corticosterone in food-restricted rats. **American Journal of Physiology. Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 279 pp. 2048-2056, 2000.

EMMONS, L. H. **Neotropical rainforest mammals (A field guide)**. Chicago, the University of Chicago Press, 1997, 307p.

ESCOBAR, C.; DÍAZ-MUNÓZ, N.; ENCINAS, F; AGUILAR-ROBLERO, R. Persistence of metabolic rhythmicity during fasting and its entrainment by restricted feeding schedules in rats. **The American Journal of Physiology**, v. 274, pp. 1309-1316, 1998.

FONSECA, A. P. **Comparação do comportamento de ingestão de sacarina, sacarose e frutose em roedores de Caatinga e Mata Atlântica**. 1998. 54p. Monografia (Iniciação Científica) – Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

FREITAS, J. N. S.; EL-HANI, C. N.; ROCHA, P. B. L. Affiliation in the Torch Tail Rat, *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae), a Sand-dwelling rodent from Brazilian Semiarid Caatinga: Evolutionary Implications. **Revista de Etologia**, v.5, n.2, pp. 61-73, 2003.

_____. Affiliation in four Echimyid rodent species based on intrasexual dyadic encounters: evolutionary implications. **Ethology**, v.114, pp. 389–397, 2008.

FREITAS, J. N. S.; CARVALHO, L. A. da S.; EL-HANI, C., N.; ROCHA, P. L.B. Affiliation in the social interactions in captivity of the torch tail rat, *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae). **Journal of Ethology**, v. 28, n.1, pp. 105-112, 2010.

GALEWSKI T, J; MAUFFREY, J-F.; LEITE, Y. L. R.; PATTON, J. L.; DOUZERY, E. J. P. Ecomorphological diversification among South American spiny rats (Rodentia; Echimyidae): a phylogenetic and chronological approach. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 34, n. 3, pp. 601-615, 2005.

GOLOMBEK, D.; CARDINALI, D.; AGUILAR-ROBLERO, R. Mecanismos de temporarização em vertebrados. In: MARQUES, N. & MENNA-BARRETO, L. (orgs). **Cronobiologia: Princípios e aplicações**. São Paulo, EDUSP/FioCruz, 2003, pp. 163-190.

GROOT, J. De. **The rat forebrain in Stereotaxic coordenates**. Trans Royal Neth Academy of Sciences, v. 52, n. 4, 1959.

HILDEBRAND, M. Digging of quadrupeds. In: HILDEBRAND, M.; LIEM, K. F. & WAKE, D. B. (eds.). **Functional vertebrate morphology**. London: Belknap Press, pp 89-109, 1985.

HUCHON, D; DOUZERY, E. J. P. From the Old World to the New World: A Molecular Chronicle of the Phylogeny and Biogeography of Hystricognath Rodents. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 20, n. 2, pp. 238–251, 2001.

IWASAKI, H.; DUNLAP, J.C. Microbial circadian oscillatory systems in *Neurospora* and *Synechococcus*: models for cellular clocks. **Current Opinion in Microbiology**, v. 3, 189-196, 2000.

JARVIS, J. U. M. Reproduction of the naked mole-rats. In: SHERMAN, P. W.; JARVIS, J. U. M.; ALEXANDER, R. D. (eds.) **The biology of the naked mole-rat**. Princeton, NJ: Princeton University Press, pp. 384-426, 1991.

KLEIMAN, D. G. Patterns of behaviour in hystricomorph rodents. In: ROWLANDS W. I.; WEIR B. (Orgs.). **The biology of hystricomorph rodents**. London: Academic Press, pp.171-209, 1974.

KONDO, T.; ISHIURA, M. The circadian clock of cyanobacteria. **BioEssays** , v.22, pp. 10-15, 2000.

LARA, M. C.; PATTON, J. L.; DA SILVA, M. N. F. The simultaneous diversification of South American echimyid rodents (Hystricognathi) based on complete cytochrome b sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.5, pp. 403-413, 1996.

LARA, M. C.; PATTON, J. L. Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 130, pp. 661-686, 2000.

MACDONALD, D. (ed.). **The encyclopedia of mammals**. Facts on File: Andromeda Oxford Limited, 4. reimpressão, 1995, 895p.

MANAF, P.; SPINELLI OLIVEIRA, E. Roedores com cheiro de tutti-frutti. **Ciência hoje**, v. 38, pp. 68-70, 2006.

_____. Female choice in *Trinomys yonenagae*, a spiny rat from the Brazilian Caatinga. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 11, n. 3, pp. 200-207, 2009.

_____. Behavioral repertoire of the spiny rats *Proechimys (Trinomys) yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) in captivity. **Revista de Etologia**, v.2, pp. 3-15, 2000.

MANAF, P. **Efeitos do bloqueio de receptores opióides sobre o comportamento social de *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) em cativeiro**. 2005, 104p. Tese (Doutorado em psicologia) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, Núcleo de pesquisa em Neurociência e Comportamento, São Paulo, 2005.

_____. **Estudo do comportamento social de uma população de *Proechimys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) em cativeiro**. 2000, 114p. Dissertação (Mestrado em psicologia) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

MANAF, P.; BRITO-GITIRANA, L.; SPINELLI OLIVEIRA, E. Evidence of chemical communication in the spiny rat (*Trinomys yonenagae*, Echimyidae): anal scent gland and social interactions. **Canadian Journal of Zoology**, v. 81, pp. 1-6, 2003 (b).

MANAF, P.; MORATO, S.; SPINELLI OLIVEIRA, E. Profile of wild Neotropical spiny rats (*Trinomys*, Echimyidae) in two behavioral tests. **Physiology & Behavior**, v. 79, pp. 129-133, 2003 (a).

MARCOMINI, M. **Cronobiologia de duas espécies de *Trinomys* (Rodentia, Echimyidae)**. 2004. 73p. Dissertação (Mestrado em psicologia) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

MARCOMINI, M.; SPINELLI OLIVEIRA, E. Activity pattern of echimyid rodent species from the Brazilian Caatinga in captivity. **Biological Rhythms Research** v. 34, pp. 157-166, 2003.

MARCONATO, D. A. **Escavação de tocas e armazenamento de alimentos: suas implicações na biologia de espécies filogeneticamente próximas de ratos-de-espinho neotropicais (Rodentia: Echimyidae)**. 2003. 81p. Dissertação (Mestrado em psicologia) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MARES, M. A.; OJEDA, R. A. Patterns of diversity and adaptation in South American hystricognath rodents. In: MARES, M. A.; GENOWAYS, H. H. (ed.) **Mammalian biology in South America**, University of Pittsburgh, Pymatuning Laboratory of Ecology, pp. 393–432, 1982.

MARES, M. A.; WILLING, M. R.; STREILEIN, K. E.; LACHER, T. E., JR. The mammals of Northeastern Brazil: a preliminary assessment. **Annals of Carnegie Museum**, v. 50, n. 4, pp. 81-237, 1981.

MARQUES, N.; MENNA-BARRETO, L. (orgs). **Cronobiologia: Princípios e aplicações**. São Paulo, EDUSP/FioCruz, 2003.

MARTIN, T. Schmelzmikrostruktur in den Inzisiven alt-und neuweltlicher hystricognather Nagetiere. **Paleovertebrata, Montpellier, Mémoire Extraordinaire**, pp. 1–168, 1992.

MENDES, L. A. F. **Estudo da Biologia de Roedores Silvestres Brasileiros: aspectos do balanço hídrico e do consumo alimentar**. 1998. 67p. Monografia (Iniciação Científica) – Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

MISTLBERGER, R. E.; SKENE, D. J. Social influences on mammalian circadian rhythms: animal and human studies. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 79, pp. 533-556, 2004.

MOORE-EDE, M. C.; SULZAMAN, F. M.; FULLER, C. A. **The clocks that time us**. Harvard University Press, Cambridge, 1982, p. 448.

MONEIA, N. M. **Comentários sobre a biologia de *Trinomys yonenagae* com observações sobre o seu ciclo estral**. 2004, 37p. Monografia (Iniciação Científica) - Departamento de

Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

NEVES, E. L.; VIANA, B. F. Comunidade de machos de Euglossinae (Hymenoptera: Apidae) das matas ciliares da margem esquerda do Médio Rio São Francisco, Bahia. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, v.28, n.2 [online], Londrina, pp201-210, 1999.

NEVES, E. S. **Avaliação de risco de predação e comportamento de tamborilar em *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae)**. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, 49p. 2007.

NOWAK, R. M. **Walker's mammals of the world**. Baltimore. The Johns Hopkins University Press, v. 2, 6. ed., 1629p, 1999.

OLIVEIRA SPINELLI, E.; COIMBRA, T. M.; ROCHA, P. L. B. Determinação de alguns parâmetros fisiológicos do roedor *Proechimys* sp. In: **X Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE**, São Paulo, 1995.

PERRY, S. F.; SPINELLI OLIVEIRA, E. Respiration in a changing environment. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, 2010. No prelo.

RIBEIRO, M. F. S. **Encéfalos de espécies de roedores *Trinomys* de diferentes habitats e seu correlato ecoetológico**. 2004. 48p. Dissertação (Mestrado em psicologia) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

ROCHA, P. L. B. **Ecologia e morfologia de uma nova espécie de *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae) das dunas interiores do rio São Francisco (BA)**. 1992. Dissertação (Mestrado em zoologia) – Depto. de Zoologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 154p. 1992.

_____. *Proechimys yonenagae*, a new species of spiny rat (Rodentia: Echimyidae) from fossil sand dunes in the Brazilian Caatinga. **Mammalia**, v. 59, n. 4, pp. 537-549, 1995.

ROCHA, P. L. B.; RENOUS, S. ABOURACHID, A.; HÖFLING, E. Evolution toward asymmetrical gaits in Neotropical spiny rats (Rodentia: Echimyidae): evidences favoring adaptation. **Canadian Journal of Zoology** (Online), v. 85, pp. 709-717, 2007.

RODRIGUES, M. T. Herpetofauna das dunas interiores do Rio São Francisco, Bahia, Brasil. I. Introdução à área e descrição de um novo gênero de microteídeo (*Calyptommatius*) com notas sobre sua ecologia, distribuição e especiação (Sáuria, Teiidae). **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 37, n. 20, pp. 321-327, 1991.

REIS, A. C. S. Contribuição ao conhecimento das floras nordestinas. **Rodriguesia**, v.41, pp. 137-193, 1976.

RODRIGUES, M. T. Lizards, Snakes, and Amphisbaenians from the Quaternary Sand Dunes of the Middle Rio São Francisco, Bahia, Brazil. **Journal of Herpetology**, v. 30, n. 4, pp. 513-523, 1996.

ROTENBERG, L.; MARQUES, N.; MENNA-BARRETO, L. História e perspectivas da cronobiologia. In: MARQUES, N.; MENNA-BARRETO, L. (orgs). **Cronobiologia: Princípios e aplicações**. São Paulo, EDUSP/FioCruz, pp. 31-53, 2003.

SANTOS, E. M. R. **Teor de água em itens disponíveis a *Proechimys yonenagae* (Rodentia:Echimyidae) das dunas interiores do rio São Francisco com discussão da evolução do balanço hídrico no gênero**. 1997, 49p. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 1997.

SANTOS, J. W. A. **Ecologia da socialidade do roedor psamófilo *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) em uma área das dunas do rio São Francisco na caatinga**. 2004. 119p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Desert animals: Physiological problems of heat and water**. Dover Publications. New York. 1964.

SPINELLI OLIVEIRA E, Social behavior of spiny rats (*Trinomys*, Echimyidae) that differ with respect to habitat. **Revista de Etologia**, v. 5, pp. 24-25, 2003.

SPINELLI OLIVEIRA, E.; PERRY, S. F.; MONEA, N. M.; BARBOSA, F. L.; LUCHESI, L. C. Does vaginal opening coincide with reproductive activity in a dune-living spiny rat? In: **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, n. 148, Supplement 1, S22, 2007.

VARLINSKA, E. I.; SPEAR, L. P.; SPEAR, N. E. Social behavior and social motivation in adolescent rats: role of housing conditions and partner's activity. **Physiology & Behavior**, v. 67, pp. 475-482, 1999.

VIVO, M. DE. Mammalian evidence of historical ecological change in the Caatinga semiarid vegetation of northeastern Brazil. **Journal of Comparative Biology**, v.2, pp. 65-73, 1997.

WEIR, B. J. Reproductive characteristics of hystricomorph rodents. **Symposium of Zoological Society of London**. n. 34, p. 265-301, 1974.

WILSON, D. E. & REEDER, D. M. (eds.). **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. 3rd ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2005.

WOOD, A. E. Eocene radiation and phylogeny of the rodents. **Evolution**, v. 13, pp. 354–361, 1959.

WOOD, A. E. The relationship, origin and dispersal of the Hystricognathous rodents. In: LUCKETT, W. P.; HARTENBERGER, J. L. **Evolutionary relationship among rodents: a multidisciplinary analysis**. New York: Nato ASI series A: Life Sciences, v. 92, 1985.

YOUNG, M. W. Life's 24-hour clock: molecular control of circadian rhythms in animal cells **Trends in Biochemical Sciences**, v. 25, n.12, pp. 601-606, 2000.

ZAR, J. H., **Biostatistical analysis**. 3 ed., New Jersey: Prentice-hall. Inc., 1996, 662p.

Redigido de acordo com as diretrizes:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: Referência –Elaboração; Rio de Janeiro, 2002.

_____. **NBR 10520**: Informação e documentação: citações em documentos - apresentação. Rio de Janeiro, 2002.

_____. **NBR 6024**: Informação e documentação - Numeração progressiva das seções de um documento escrito – Apresentação, Rio de Janeiro, 2003.

MALERBO, M. B. **Referências e citações bibliográficas: Manual de orientação**, Ribeirão Preto, PCARP – USP (Serviço de Biblioteca e documentação), 1996.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Sistema Integrado de bibliotecas. Grupo DiTesis. In: FURANO, V.M. B. de O. (coord.). **Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP**: documento eletrônico e impresso. São Paulo: SIBi-USP, 110p., 2004.

ANEXOS

Anexo 1 – Descrição do grupo de fêmeas de *Trinomys yonenagae* que participam do experimento de idade da abertura vaginal (AV)

Tabela 1. Grupo de fêmeas que tiveram a idade da abertura vaginal acompanhada n=12

Gaiola	nº experimental	animal	mãe	Pai
21	1	060370	020222	010207
22	2	060372	030281	030273
23	3	060376	010211	010199
24	4 e	070390	010211	010199
25	5 e	070394	060381	060380
26	6	070395	020222	010207
27	7 e 6c	080398	030284	030272
28	8	080405	020233	030292
29	9	090446	060381	060380
30	10	090447	080398	030311
31	11	090451	080398	030311
32	12	090456	020233	030292

Tabela 2. Idade da AV em *Trinomys yonenagae* acompanhada desde o nascimento (n=12)

Fêmea	Nascimento	Data abertura	AV	Idade na abertura	
				Meses	Dias
1	29/3/2006	21/7/06	S	3,5	105
2	22/5/2006	28/8/06	S	2,5	75
3	31/5/2006	21/9/06	S	3,0	90
4	31/10/2007	14/2/08	S	3,5	105
5	27/11/2007	3/3/08	S	3,1	94
6	17/12/2007	18/2/08	A	2	61
7	12/2/2008	12/6/08	S	4	121
8	25/7/2008	22/10/08	S	3	89
9	7/1/2009	1/4/09	S	2,8	84

Anexo 2 – Descrição dos animais utilizados no estudo do ciclo estral (EV) e abertura vaginal (AV) de acordo com o grupo experimental ao qual pertencem

Tabela 3. Grupo A fêmeas alojadas com fêmeas n=12

Gaiola	Nº	Animal	Mãe	Pai	Parentesco
1	1DA	050356	030284 D13/C3	030272 C1/D13	irmãs
	1DB	050357	030284 D13/C3	030272 C1/D13	
2	2DA	050358	000189E D13	990167 C3	irmãs
	2DB	050359	000189E D13	990167 C3	
3	3DA	060378	010211 C1/D13	010199 C3	irmãs
	3DB	060379	010211 C1/D13	010199 C3	
4	4DA	030297	010201 C1	010207E D13/C2	não irmãs
	4DB	030298	960034	960019	
5	5DA	010204	000179 C1	000191 C5	não irmãs
	5DB	050344	030281 C1	030276 C3/D13	
6	6DA	020252	010196 D13	010205 C3	não irmãs
	6DB	030306	990169 C2	000192 C1	

E - animal com epilepsia; Cn colônias originárias; Dn duna originária

Tabela 4. Grupo B fêmeas alojadas sozinhas nas gaiolas n=8

Gaiola	Nº	Animal	Mãe	Pai	Histórico
7	7I	030263	960030 C1	960038/970009 C1	Já esteve com ♀
8	8I	060371	030284 D13/C3	030272 C3/D13	Isolada aos 3m
9	9I	070390	010211 C1/D13	010199 C3	Isolada aos 3m
10	10I	070394	060381C1/C4	060380 C1/C4	Isolada aos 3m; pais irmãos
11	11I	010208	000189E D13	990167 C3	Já esteve c/ ♂
12	12I	070387	030284 D13/C3	030272 C3/D13	Esteve com irmão até 6m de vida
13	13I	070385	010211 C1/D13	010199 C3	Esteve com irmão ate 6m de vida
14	14I	040329	030271 C5/C2	030272 D13/C3	Esteve na sala com ♂

E- Animal com epilepsia; Cn colônias originárias; Dn duna originária

Tabela 5. Grupo C fêmeas alojadas em casal

n=6

Gaiola	Nº	Fêmea	Mãe	Pai	Macho	Nº	Mãe	Pai
1C (15)	1CF	020250	000190 C1	000188 D13	010209E	1CM	000193 C1	000177 C4
2C (16)	2CF	030284	010196 D13	010205 C3	030272	2CM	010211 C1/D13	010199 C3
3C (17)	3CF	060381	030281 C1	030273 C3/D13	060380	3CM	030281 C1	030273
4C (18)	4CF	020233	9700071 C4	970020 C4	030292E	4CM	000193 C1	000177 C4
5C (19)	5CF	050365	010201 C1	010199 C3	030285	5CM	010203 C1/C5	030266D13/C3
6C (20)	6CF	080398	030284 D13/C3	030272 C3/D13	030311	6CM	030281 C1	030276 C3/D13

E - Animal com epilepsia; Cn colônias originárias; Dn duna originária

Fêmea 080398 inserida no experimento a partir de julho /08

O código Do animal é dado pelo número da gaiola seguido de código de alojamento: **D** duplas, seguido de **A** e **B** para identificação intra-dupla; **I** fêmeas alojadas individualmente; e **C** animais alojados em casal, seguido de **F** para fêmea e **M** para macho.

Anexo 3 – Dados do ciclo estral das fêmeas alojadas em duplas (n=12)

Tabela 6. Porcentagem das fases do ciclo estral nas fêmeas alojadas em duplas (grupo A) durante o 1º semestre de observação (março-ago/2008)

Dupla	Fêmea	D	P	E	M
1	1DA	99	0	0	1
	1DB	0	0	0	0
2	2DA	97	1	0	2
	2DB	100	0	0	0
3	3DA	97	3	0	0
	3DB	100	0	0	0
4	4DA	100	0	0	0
	4DB	81	2,5	2,5	12
5	5DA	92	4	0	4
	5DB	80	2	2	16
6	6DA	88	7	0	5
	6DB	96	0	0	4

D- Diestro; P-Proestro; E-Estro; M-Metaestro

Tabela 7. Porcentagem dos estados vaginais nas fêmeas alojadas em duplas (grupo A) durante o 1º semestre de observação (março-ago/2008)

Dupla	Fêmea	F	S	A
1	1DA	1,1	96	3,2
	1DB	100	0	0
2	2DA	6,5	88	5,4
	2DB	98	2,2	0
3	3DA	5,4	91	3,2
	3DB	82	16	2,2
4	4DA	69	29	2,2
	4DB	13	80	7,5
5	5DA	70	27	3,2
	5DB	2,2	95	3,2
6	6DA	56	44	0
	6DB	42	58	0

F- Fechada; S-Selada; A-Aberta Em destaque estado vaginal mais observado em cada fêmea. E aquela que apresentou somente vagina fechada

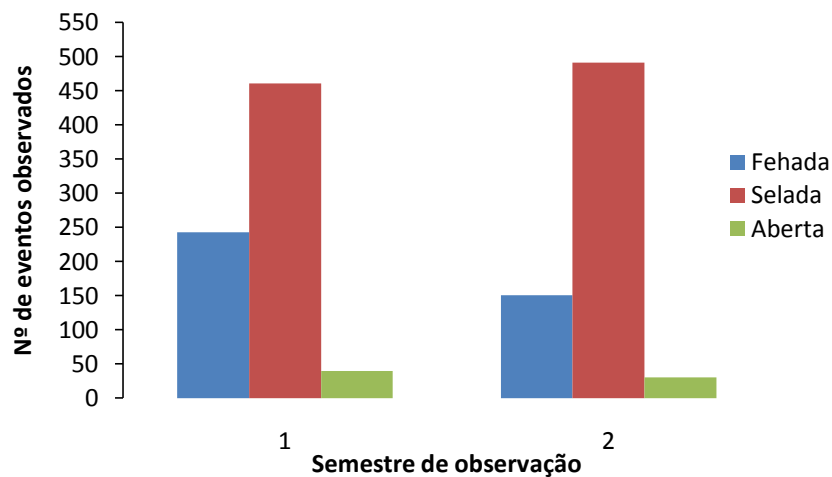
Anexo 4 – Tabelas com frequência dos eventos do ciclo estral nas fêmeas alojadas em gaiolas individuais (n=8)

Tabela 8. Fases do ciclo estral, em porcentagem, de fêmeas alojadas em gaiolas individuais (grupo B), 1º semestre de observação (março-ago/08); 2º semestre (set-março/09)

Fêmea	1º semestre				2º semestre				Total %
	D	P	E	M	D	P	E	M	
7I	100	0	0	0	100	0	0	0	0
8I	91	9	0	0	92	8	0	0	8
9I	88	6	0	7	97	3	0	0	8
10I	80	10	1	8	91	7	1	1	15
11I	77	0	0	23	98	0	0	2	9
12I	87	7	2	4	95	4	0	1	9
13I	92	2	1	4	98	0	1	1	6
14I	80	7	2	11	95	4	0	1	4

Observações feitas no 1º semestre (março a agosto) diariamente ou em dias intercalado; no 2º semestre (agosto a abril) em intervalos de 2 a 4 dias. Fases: Diestro (D), Proestro (P), Estro (E), Metaestro (M). Total: porcentagem total de eventos não-diestro. Em destaques o % de estro observado em cada fêmea.

Figura 4.1. Estados vaginais nas fêmeas alojadas em gaiolas individuais (grupo B) no 1º (março-agosto/08) e 2º (setembro-abril) semestres



Anexo 5 – Tabelas com frequência dos eventos do ciclo estral nas fêmeas alojadas com machos (n=6)

Tabela 9. Frequência de estados vaginais de fêmeas alojadas com machos quando fora do período de gravidez no 1º semestre de observação (março-ago/2008); 2º semestre (setembro-março)

Fêmea	1º Semestre			Total	2º Semestre			Total
	F	S	A		F	S	A	
1CF	5	83	5	93	4	58	3	65
2CF	10	48	1	59	10	54	1	65
3CF	0	10	1	11	5	59	1	65
4CF	0	19	16	35	16	46	4	66
5CF	1	33	3	37	4	58	2	64
6CF	16	193	26	*	21	42	2	65

Observações feitas no 1º semestre (março a agosto) diariamente ou em dias intercalado; no 2º semestre (agosto a abril) em intervalos aleatórios Total: porcentagem total de eventos por fêmea fora da gravidez. * Fêmea 6Cf incluída em julho de 2008.

Anexo 6 – Descrição do grupo de fêmeas de *Trinomys yonenagae* que participam do experimento

Tabela 10. Grupo de fêmeas alojadas em casal (grupo C experimento AV e EV) que tiveram a gestação acompanhada n=5

Gaiola	Nº	Fêmea	Macho	Nº
2C (16)	2CF	030284	030272	2CM
3C (17)	3CF	060381	060380	3CM
4C (18)	4CF	020233	030292E	4CM
5C (19)	5CF	050365	030285	5CM
6C (20)	6CF	080398	030311	6CM

E- Animal com epilepsia

Tabela 11. Grupo de fêmeas alojadas em casal que tiveram a gestação acompanhada a partir do histórico do biotério n=8

Gaiola	Nº	Animal	Macho	Nº
*	7CF	990169	000192	7CM
*	8CF	000189	990167	8CM
*	9CF	000190	000188	9CM
*	10CF	000193	000177	10CM
*	11CF	010211	010199	11CM
*	12CF	030281	030276/030273/ 000177	12CM
*	13CF	960012 col	960016	13CM
*	14CF	960030 col	960038/970009	14CM
*	15CF	960034 col	960019	15CM

E-Animal com epilepsia; col. Animal coletado

O código Do animal é dado pelo número da gaiola seguido de código de alojamento em casal **C**, seguido de **F** para fêmea e **M** para macho.

Anexo 7 - Histórico de nascimentos no biotério

Fêmeas que participam do experimento do ciclo estral e que tiveram os nascimentos acompanhados pela experimentadora

Tabela 12. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 2CF (030284)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação		Macho	Fêmea
030284	030272	13-20/7/05	-	2	f050356	f050357	0	2
		28/4/06	283	1	f060371		0	1
		3/10/06	158	2	m060382	m060383	2	0
		25/5/07	234	2	m070386	m07387	2	0
		12/2/08	263	2	f080398	m080399	1	1
		24/9/08	210	2	m080406	f080407	1	1
		23/12/08	91	4	m080413	m080414	3	1
		15/7/09		1	m090427		1	0
				Total	15	Total	9	6
				Média	2,0	%	60	40
				Dp	0,9			

f -fêmea; m- macho; ?- sexo desconhecido

Tabela 13. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 3CF (060381)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação			Macho	Fêmea
060381	060380	27/11/07	-	2	m 070393	f070394		1	1
		29/6/08	215	2	m 080403	m080404		2	0
		2/10/08	95	3	f 080408	m080409	m 080410	2	1
		7/1/09	97	1	f 090417			0	1
		17/6/09	161	2	m090424	m090425		2	0
				Total	8	Total	7	3	
				Média	2	%	87,5	37,5	
				dp	0,7				

Tabela 34. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 3CF (020233)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação		Macho	Fêmea
020233	030292	25/7/08	-	1	f 080405		0	1
		22/6/09		1	f090426		0	1
				Total	2	Total	0	2
				Média	1	%	0	100
				dp	0			

Tabela 15. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 5CF (050365)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação	Macho	Fêmea
050365	030285	18/7/08	-	1	natimorta	0	1
		25/5/09		2	m090422 m090423	2	0
				Total		Total	
				Média	3	%	1
				dp	1,5		33,3
					0,7	66,7	

Tabela 16. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 6CF (080398)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação	Macho	Fêmea
080398	030311	19/1/09	-	1	f 090418	0	1
		20/5/09	121	2	f090420 m090422	1	1
				Total		Total	
				Média	3	%	2
				dp	1,5		66,7
					0,7	33,3	

Fêmeas que tiveram os dados de nascimentos levantados pelo histórico do biotério

Tabela 47. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 7CF (990169)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação	Macho	Fêmea
990169	000192	22/3/02	-	2	f020226 m020227	1	1
		10/12/02	263	2	m020255 m020256	2	0
		30/5/03	171	2	m030279 m030280	2	0
		4/11/03	158	2	f030305 f030306	0	2
		11/5/04	189	2	f040323 m040324	1	1
				Total		Total	
				Média	10	%	4
				dp	2		40
					0	60	

f -fêmea; m- macho; ?- sexo desconhecido

Tabela 18. Nascimento, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 8CF (000189)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação		Macho	Fêmea	
000189	990167	16/10/01	-	2	m010207	f010208	1	1	
		4/3/02	139	2	f020223	f020223	0	1	
		15/9/02	195	2	m020244	f020245	1	1	
		31/1/03	138	2	m030266	f030267	1	1	
		5/5/03	94	1	m030276		1	0	
		4/8/03	91	3	m030287	f030288	f030289	1	2
		4/11/03	92	3	?030301	?030302	?030303	0	0
		23/5/04	201	2	m040325	m040326		2	0
		25/10/04	155	3	f040336	m040337	m040338	2	1
		24/3/05	150	3	m050351	f050352	f050353	1	2
		24/8/05	150	2	f050358	f050359		0	2
		22/11/05	90	2	m050363	m050364		2	0
		25/2/06	95	2	m060368	f060369		1	1
		25/5/06	90	3	f060373	f060374	f060375	0	3
			Total	32			Total	13	15
			Média	2,29			%	44,8	51,7
			dp	0,61					

Tabela 19. Nascimento, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 9CF (000190)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação		Macho	Fêmea	
000190	000188	27/10/01	-	2	m010209	f010210	1	1	
		29/4/02	91	2	m020228	f020229	1	1	
		29/7/02	91	2	m020241	f020242	1	1	
		30/10/02	93	1	f020250		0	1	
		29/1/03	91	2	m030264	f030265	1	1	
			Total	9			Total	4	5
			Média	1,80			%	44,4	55,6
			dp	0,45					

Tabela 20. Nascimento, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 10CF (000193)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação		Macho	Fêmea	
000193	000177	22/10/01	-	1	m010209		1	0	
		12/3/02	141	1	?020224	Natimorto	0	0	
		30/12/02	293	1	m020257		1	0	
		1/6/03	152	1	f030281		0	1	
		2/9/03	93	2	m030292	f030293	1	1	
		28/9/04	392	2	f040332	m040333	1	1	
		28/2/05	153	1	f050348		0	1	
		1/11/05	245	2	f050361	m050362	1	1	
			Total	11			Total	6	5
			Média	1,38			%	54,5	45,5
			dp	0,52					

Tabela 21. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 11CF (010211)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação		Macho	Fêmea	
010211	010199	31/5/02	-	2	m020231	f020232	1	1	
		18/10/02	140	2	m020248	f020249	1	1	
		19/1/03	93	2	f030260	m030261	1	1	
		16/4/03	88	2	f030272	f030273	0	2	
		12/8/03	118	2	m030290	m030291	2	0	
		10/11/03	90	3	f030307	f030308	m030309	1	2
		6/3/04	117	2	m040317	m040318		2	0
		5/6/04	91	2	f040327	f040328		0	2
		15/10/04	132	2	f040334	f040335		0	2
		15/1/05	92	3	m050339	f050340	m050341	2	1
		5 a 6/05		2	m050354	m050355		2	0
		1 a 7/9/05	90	1	m050360			1	0
		2/12/05	86	3	f050365	m050366	m050367	2	1
		31/5/06	179	1	f060376			0	1
		4/9/06	96	2	f060378	f060379		0	2
		3/5/07	243	2	m070384	f070385		1	1
		4/8/07	91	1	f070389			0	1
		31/10/07	88	3	f070390	m070391	m070392	2	1
			Total	37			Total	18	19
			Média	2,06			%	48,6	51,4
			dp	0,64					

Tabela 22. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 12CF (030281)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação		Macho	Fêmea	
030281	030276	17/12/03		2	m030311	f030312	1	1	
		17/1/05	396	2	f050344	f050345	0	2	
030281	030273	22/5/06		1	m060372		1	0	
		18/9/06	119	2	m060380	f060381	1	1	
030281	000177	12/6/08			m080401	m080402	2	0	
			Total	7			Total	5	4
			Média	1,75			%	71,4	57,1
			dp	0,5					

A linha em negrito é a separação entre os diferentes machos que foram pareados com a fêmea

**Fêmeas capturadas que tiveram os dados de nascimentos levantados pelo histórico do
biotério**

Tabela 23. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 13CF (960012)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação	Macho	Fêmea	
960012 coletada	960016	15/3/99	.	2	m990168 f990169	1	1	
		21/11/99	251	2	m990173 m990174	2	0	
		28/4/00	158	2	m000186 f000187	1	1	
		5/12/00	221	1	m000194	1	0	
		20/8/01	258	2	f010197 m010198	1	1	
		17/11/01	89	2	f010213 m010212	1	1	
		24/5/02	188	1	m020230	1	0	
				Total		Total	9	4
				Média		%	69,2	30,8
				Dp	0,38			

f -fêmea; m- macho; ?- sexo desconhecido

Tabela 24. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 13CF (960030)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	Nº filhotes	Identificação	Macho	Fêmea	
960030 coletada	960038	19/11/99	.	1	m990172	1	0	
	ou	16/3/00	117	2	m000178 f000179	1	1	
	970009	14/8/00	151	1	f000190	0	1	
	960038	6/11/00	-	2	m000192 f00193	1	1	
			15/9/01	397	2	f010201 m010202	1	1
			4/7/02	292	2	f020237 f020238	0	2
			21/1/03	201	2	f030262 f030263	0	2
	960038		17/5/03	116	2	m030277 m030278	2	0
	ou		17/9/03	123	2	m030294 f030295	1	1
	970009		1/3/04	170	2	m040315 f040316	1	1
			12/8/04	169	1	f040331	0	1
			21/1/05	153	2	m050346 m050347	2	0
					Total		Total	10
				Média	1,7	%	47,6	52,4
				Dp	0,47			

A linha em negrito é a separação entre os diferentes machos que foram pareados com a fêmea

Tabela 25. Nascimentos, intervalo entre ninhadas, nº de filhotes e relação macho:fêmea da fêmea 14CF (960034)

Fêmea	Macho	Ninhadas	Inter. (d)	N filhos	Identificação		Macho	Fêmea
960034 coletada	960019	6/5/00	-	2	m000188	f000189	1	1
		15/4/01	344	2	m010195	f010196	1	1
		27/7/02	468	2	f020239	m020240	1	1
		17/2/03	205	2	?030268	?030269	0	0
		26/9/03	221	1	f030298		0	1
		11/5/05	592	2	? s/nº	? s/nº	0	0
			Total	11	Total		3	4
			Média	1,8	%		27,3	36,4
			Dp	0,45				

Anexo 8 – Tabelas de frequência dos eventos do ciclo estral nas fêmeas enquanto grávidas (n=5)

Tabela 26. Frequência dos estados vaginais (AV) durante os três meses de gravidez em *Trinomys yonenagae* durante o ano 2008/2009 (grupo C)⁴ (n=5♀)

FÊMEA/ AV	Mês 1			Mês 2			Mês 3		
	F	S	A	F	S	A	F	S	A
4CF	0	12	3	0	16	3	0	20	5
2CF	5	23	0	0	0	0	1	11	0
5CF	0	14	1	0	13	6	1	17	4
3CF ²	1	12	1	0	10	0	1	16	0
3CF	1	28	1	0	0	0	2	10	0
Total	7	89	6	0	39	9	5	74	9
%	7	87	6	0	81	19	6	84	10
Total Mês	102			48			88		

F- Fechada; S-Selada; A-Aberta

Tabela 27. Frequência das fases do ciclo estral (EV) durante os três meses de gravidez em *Trinomys yonenagae* durante o ano 2008/2009 (Grupo C)¹ (n=5♀)

FÊMEA	Mês 1					Mês 2					mês 3				
	D	P	E	M	?	D	P	E	M	?	D	P	E	M	?
4CF	14	0	0	1	0	18	0	0	1	0	25	0	0	0	0
2CF	23	0	0	1	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0
5CF	14	0	0	0	0	18	0	0	0	1	20	0	0	0	0
3CF	12	0	0	1	0	9	0	0	0	0	15	0	0	1	0
3CF	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0
total	92	0	0	3	0	45	0	0	1	1	81	0	0	1	0
%	96,8	0	0	3,2	0	95,7	0	0	2,1	2,1	98,8	0	0	1,2	0,0
total mês	95,0					47,0					82,0				

D- Diestro; P- Proestro; E- Estro; M- Metaestro; ?- Fase não identificada

⁴ Participam apenas as fêmeas do grupo C do experimento de AV e EV que tiveram pelo menos um episódio de gestação. Sendo portanto, apresentadas 5 fêmeas.

Anexo 9 – Oscilação de temperatura corporal nas fêmeas de *Trinomys yonenagae* nas 72h de experimento

Figura 9.1. Oscilação da temperatura corporal nas 8 fêmeas que compõem o grupo A em 72h

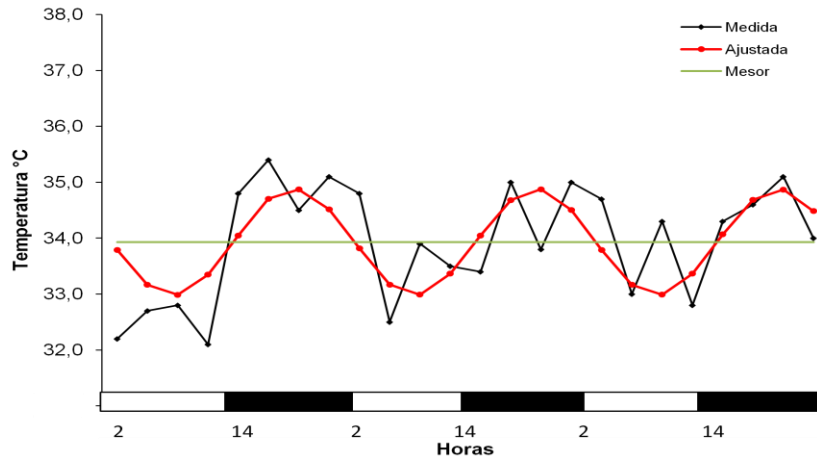


Figura 9.2. Oscilação da temperatura corporal nas 8 fêmeas que compõem o grupo B em 72h

