

Período gestacional e ciclo reprodutivo em preás (*Galea spixii* Wagler, 1831)

Gestational period and reproductive cycle in Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii* Wagler, 1831)

André Menezes do Vale¹ , Gleidson Benevides de Oliveira¹ , Hélio Noberto de Araújo Júnior¹ , Ferdinando Vinícius Fernandes Bezerra¹ , Ana Caroline Freitas Caetano de Sousa¹ , João Augusto Rodrigues Alves Diniz^{1*} , Igor Renno Guimarães Lopes¹ , Moacir Franco de Oliveira¹ 

¹Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil

*Autor correspondente: jaradiniz91@gmail.com

Resumo

O preá é um roedor com elevado potencial biológico e zootécnico a ser explorado, sendo o conhecimento sobre os aspectos reprodutivos fundamentais para que sua criação seja satisfatória. Objetivou-se determinar a duração da gestação em preás, e a caracterização das fases do ciclo reprodutivo, verificando, se existe influência da presença do macho neste processo. Os animais foram separados em três grupos: Acompanhamento gestacional (G1), 5:1, proporção de fêmea e macho no box; Ciclo estral, 5:1, com o macho preso em gaiola (G2) e cinco fêmeas em outro box sem o macho (G3). O exame colpocitológico ocorreu diariamente, identificado o espermatozoide na lâmina como cópula. As fêmeas do G1 foram separadas assim que copulavam e contadas como dia “zero” da gestação. As fêmeas do G2 e G3 foram avaliadas ao longo de dois ciclos estrais completos, avaliados qualitativamente pelo esfregaço vaginal. O período de gestação em preás foi de $59 \pm 2,24$ dias, com um ciclo poliéstrico contínuo, com duração de $14,8 \pm 0,73$ dias no G2 e $14,6 \pm 0,75$ dias no G3. O proestro caracterizou-se pelo predomínio de células parabasais, intermediárias, bactérias e leucócitos; o estro, células superficiais, com predomínio das anucleadas com presença ou não de bactérias; metaestro, células parabasais e grande quantidade de células intermediárias, neutrófilos e bactérias; diestro, predomínio de células basais, parabasais e intermediárias e grande quantidade de muco vaginal, neutrófilos e bactérias. A presença do macho influenciou significativamente a duração do diestro, tornando-se mais longa, fato que pode estar atrelado a influência sobre a produção de progesterona na fêmea.

Palavras-chave: Ciclo estral; estro; *Galea spixii*; gestação; roedor.

Abstract

Spix's yellow-toothed cavies are rodents displaying high biological and farming potential. Knowledge of cavy reproductive aspects is paramount for satisfactory breeding. This study aimed to determine the gestation length and characterize the reproductive cycle phases of Spix's yellow-toothed cavies, also investigating potential male effects on these processes. The investigated animals were categorized into three groups: Gestational follow-up (G1), with a 5:1 female-to-male enclosure ratio; estrous cycle (G2), with a 5:1 female-to-male ratio with a male confined to a cage; and G3, consisting of five females and no male. Daily colpocytological examinations were performed, with the presence of spermatozoa on the microscopy slides indicative of copulation. G1 females were separated from the male immediately after copulation, with this being considered day "zero" of the pregnancy. G2 and G3 females were evaluated for two complete estrous cycles and qualitatively assessed through vaginal smears. The gestation length of the Spix's yellow-toothed cavies averaged 59 ± 2.24 days, with a continuous polyestrous cycle lasting 14.8 ± 0.73 days in G2 and 14.6 ± 0.75 days in G3. The proestrus phase was characterized by the dominance of parabasal cells, dyes, bacteria, and leukocytes; the estrus phase, by superficial cells with the predominance of anucleate cells with and without the presence of bacteria; the metestrus phase, by parabasal cells and numerous genuine cells, neutrophils, and bacteria; and the diestrus phase, mainly by basal, parabasal, and mutant cells, as well as high amounts of vaginal mucus, neutrophils, and bacteria. The presence of a male cavy significantly influenced diestrus duration, prolonging this phase, which is potentially attributed to female progesterone production effects.

Keywords: Estrous cycle; estrus; *Galea spixii*; pregnancy; rodent.

1. Introdução

Os roedores possuem uma ampla variedade de formas e tamanhos, cujas particularidades são identificáveis pela dentição, crânio e mandíbula, que os

capacitam para atividades relacionadas à alimentação, escavação de túneis e dispersão de sementes, fato este que ratifica sua importância em muitos ecossistemas^(1, 2). Os Hábitos de vida particulares e diversidades reprodutivas

Recebido: 17 de julho de 2023. Aceito: 4 de setembro de 2023. Publicado: 9 de outubro de 2023



Este é um artigo de Acesso Aberto distribuído sob os termos da Creative Commons Attribution License, que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o trabalho original seja devidamente citado.

<https://revistas.ufg.br/vet/index>

constituem um desafio para os cientistas que utilizam espécies de roedores em experimentos⁽³⁾. Além disso, considerando a facilidade de manejo e criação de muitas espécies de roedores em cativeiro, vários estudos de cunho genético, ecológico, demográfico e fisiológico se utilizam destes indivíduos como modelos experimentais⁽²⁾.

Os preás são animais pertencentes à família Caviidae, que possui como características um corpo alongado, superfície dorsal cinza-escura e ventre branco. Sendo uma espécie que desperta um interesse comercial devido ao seu elevado potencial zootécnico, podendo ser explorado em um futuro próximo^(4,5). Tem-se verificado que a criação em cativeiro desses animais é realizada com o intuito de proporcionar o conhecimento e a manutenção da referida espécie, sendo os aspectos reprodutivos, em especial os estudos do período reprodutivo e ciclo estral, fundamentais para que esse processo seja satisfatório^(6,7).

Considerando a necessidade em se obter algumas informações sobre os aspectos reprodutivos, a citologia vaginal constitui um método prático e pouco invasivo^(8,9). Nesse método, são realizados esfregaços e colorações com corantes como Giemsa, Azul de Metileno e Shorr que são relativamente rápidos e eficientes⁽¹⁰⁾. Após as colorações aplicadas a este método, os padrões morfológicos e quantitativos das células são avaliados, sendo importantes na avaliação da integridade do sistema reprodutor feminino^(11,12).

Desta forma, este trabalho teve como objetivo determinar a duração da gestação em preás, bem como, caracterizar o as fases do ciclo reprodutivo verificando se existe alguma influência da presença do macho neste processo.

2. Material e métodos

Os animais e suas respectivas amostras biológicas foram obtidos no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), registrado junto ao IBAMA como criadouro científico sob o número 1478912, sendo o experimento aprovado pelo Comitê de Ética institucional (Processo nº23091.010264/2015-90).

Em box específico de 5,0 m x 4,0 m foram alocadas cinco fêmeas de preás não gestantes (Grupo 1), as quais, para fins de identificação foram diferenciadas mediante pintura com tintura capilar, em diferentes regiões anatómicas. Após período adaptativo de dez dias, adicionou-se um macho neste local, fato este que resultou nas realizações diárias da citologia vaginal com a finalidade de detectar a presença de espermatozoides e o consequente estabelecimento do início do período gestacional após 24 horas do encontro do gameta masculino. Assim, na medida em que as fêmeas estavam, estas eram separadas do box em que se

encontravam e transferidas para outro, o qual era isento de macho e, por conseguinte, as gestações puderam ser acompanhadas.

Para análise do ciclo estral, dez fêmeas foram utilizadas, sendo cinco transferidas para um box que continha um macho preso em gaiola (Grupo 2), o que impedia a fecundação, e as outras colocadas em box sem o macho (Grupo 3). A determinação do ciclo foi feita diariamente por meio da colpocitologia vaginal em esfregaços com o auxílio de corante panótico rápido Instant-Prov (New Prov®) de acordo com as recomendações preconizadas pelo fabricante.

Para tanto, considerou-se como o primeiro dia do ciclo aquele período em que determinada fêmea encontrava-se no estro, apresentando vulva edemaciada e predomínio de células superficiais no esfregaço citológico, sendo estes critérios considerados nas fêmeas que estiveram em contato com o macho, enquanto no outro grupo, analisou-se os aspectos macroscópicos verificados nas vulvas e citologia vaginal, contendo características de fase estrogênica. Assim, em cada lâmina citológica corada, foram analisados diversos campos microscópicos, nos quais eram contabilizadas as escamas anucleadas, células superficiais nucleadas, intermediárias, parabasais, basais de modo a se obter um total de 100 células. Além disto, por meio do estabelecimento de cruzes, observou-se, qualitativamente, os leucócitos, bactérias e filamentos de muco; sendo uma, duas e três cruzes, relacionadas com pequena, moderada e grande quantidade, respectivamente. Ao todo, foram acompanhados dois ciclos completos em cada animal.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) para os percentuais dos diferentes tipos celulares pelo método dos quadrados mínimos⁽¹³⁾ usando os modelos lineares gerais do software estatístico Statistical Analysis System⁽¹⁴⁾ para determinar o efeito da presença do macho e da fase do ciclo estral. Os dados foram expressos em porcentagem média ± erro padrão e o nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$. Posteriormente, os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ($p = 0,1528$).

A ANOVA foi baseada no seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + F_j + I_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Onde, Y_{ijk} é a k -ésima análise colpocitológica realizada no i -ésimo grupo experimental durante a j -ésima fase do ciclo estral, μ é a média geral; M_i é o efeito fixo do i -ésimo tratamento (i =macho ausente, macho presente); F_j é o efeito fixo da j -ésima fase do ciclo estral (j =proestro, estro, metaestro, diestro); I_{ij} é o efeito aninhado da j -ésima fase do ciclo estral dentro do i -ésimo tratamento; ε_{ijk} é o efeito residual que inclui todas as demais fontes de variação não consideradas no modelo.

O efeito da presença do macho sobre a duração de cada fase do ciclo estral foi determinado aplicando-se o teste T de Student por meio da utilização do SAS. Inicialmente, os dados foram verificados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homocedasticidade das variâncias. Os dados que não apresentaram distribuição normal foram transformados em logaritmo de base decimal.

3. Resultados

A duração da gestação em préas apresentou média de 59 dias e erro padrão de 2,24 nas cinco fêmeas utilizadas para este fim, parindo de um (20%) a dois filhotes (80%). Quanto a análise do ciclo estral, no préa, observou-se que as fêmeas apresentam ciclo sexual poliéstrico contínuo, com período médio de 14,8±0,73 dias (12-16) (n=5) para as fêmeas submetidas ao efeito macho (G2) e 14,6±0,75 dias (13-17) (n=5) para aquelas isentas do efeito macho (G3), não sendo verificadas diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$) entre as fêmeas dos dois grupos analisados (Tabela 1).

Por outro lado, comparando-se cada fase do ciclo com a respectiva duração e ainda os dois grupos experimentais, verificou-se que a presença do macho influenciou, significativamente, a fase de diestro, a qual se apresentou mais longa (4,0±0,63 dias) em relação a não presença do macho (2,4±0,24 dias) como se observa na Tabela 1.

Tabela 1. Efeito da presença do macho sobre a duração das fases do ciclo estral (média ± erro padrão, dias) de préas

Fase do ciclo estral	Grupos experimentais	
	Macho presente (G2)	Macho ausente (G3)
Proestro	4,0±0,55	3,0±0,89
Estro	3,2±0,49	4,0±0,55
Metaestro	3,6±0,68	5,2±0,58
Diestro*	4,0±0,63	2,4±0,24
Ciclo estral	14,8±0,73	14,6±0,75

* $p<0,05$

Para o padrão celular do ciclo estral do préa, denominaram-se as células descamativas vaginais como sendo, em ordem decrescente de maturação: células superficiais anucleadas (escamas anucleadas), contendo morfologia poligonal, citoplasma eosinofílico, delimitado e ausência de núcleo - muitas vezes podendo serem encontradas granulações basofílicas resultantes da cariorrexe (fragmentação nuclear) - (Figura 1B, 1C e 1D); células superficiais nucleadas, dotadas de formato poligonal, limites citoplasmáticos bem definidos, citoplasma levemente basofílico ou eosinofílico e núcleo pequeno, contendo cromatina finamente granulosa (Figura 1B) ou acentuadamente condensada (picnose nuclear) (Figura 1D); células intermediárias, possuindo forma variando do

redondo ao poligonal, citoplasma basofílico, limites celulares pouco definidos, núcleo pequeno, porém maior do que na célula superficial, e cromatina finamente granular (Figura 1A, 1E, 1F, 1G, 1H e 1I); células parabasais, caracterizadas por serem basofílicas, redondas e de moderada relação núcleo/citoplasma (Figura 1A, 1E, 1F, 1G, 1H e 1I); células basais, redondas, acentuadamente basofílicas, diminutas em tamanho e com elevada relação núcleo/citoplasma (Figura 1G, 1H e 1I).

Com base no conhecimento de cada padrão celular foram identificados cada fase do ciclo estral do préa. O início do ciclo é o proestro que se caracterizou pelo predomínio de células parabasais e intermediárias bem como pela presença de bactérias e leucócitos (Figura 1A), sendo o final deste período, similar a fase estrogênica. Durante o estro, a segunda fase, observaram-se numerosas células superficiais, cujos percentuais, por diversas ocasiões, ultrapassavam 80%, no tocante a celularidade deste tipo. As células superficiais nucleadas apresentavam cromatina finamente granular (Figura 1B). Nesta fase, houve predomínio das escamas anucleadas em detrimento das superficiais nucleadas (Figura 1B, 1C e 1D). Outro aspecto importante consistiu na ausência de leucócitos e presença de bactérias, estas últimas em pequeno número ou até mesmo não sendo visualizadas em alguns esfregaços citológicos (Figura 1D).

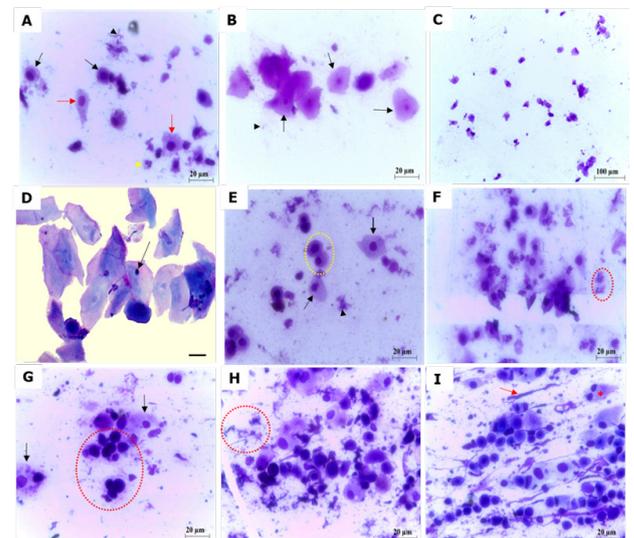


Figura 1. Fases do ciclo estral em fêmeas de préas. Proestro - A: Células parabasais (setas pretas) e intermediárias (setas vermelhas), bactérias (cabeça de seta preta) e um neutrófilo (cabeça de seta amarela). Estro (B, C e D) - B: Células superficiais nucleadas (setas) e bactérias (cabeça de seta); C: Descamação de células superficiais, presença de bactérias e ausência de leucócitos; D: Células superficiais anucleadas e célula superficial contendo núcleo picnótico (seta). Metaestro (E e F) - E: Células parabasais (elipse tracejada), células intermediárias (setas) e bactérias (cabeça de seta); F: Predomínio de células intermediárias, células parabasais, bactérias e leucócitos (elipse tracejada). Diestro (G, H e I) - G: Células intermediárias (setas) e células basais (elipse tracejada); H: Células basais (profundas) e bactérias (elipse tracejada); I: Filamentos de muco (seta), e célula intermediária binucleada (*).

Posteriormente, na fase de metaestro, verificaram-se grande quantidade de células intermediárias, neutrófilos e bactérias, seguidas de regular quantidade de células parabasais (Figura 1E e 1F). O fim do ciclo é caracterizado pelo o diestro, verificando a predominância de células basais, parabasais e intermediárias. Nesta fase os esfregaços apresentaram-se com o aspecto “sujo” mediante intensa produção de muco vaginal bem como pela grande quantidade de neutrófilos e bactérias (Figura 1G, 1H e 1I).

Além disso, por meio do cálculo percentual das médias gerais dos tipos celulares identificados pela citologia vaginal, foi possível observar, na fase de estro, que os percentuais de escamas anucleadas e superficiais nucleadas ($59,42 \pm 1,48\%$ e $15,84 \pm 0,79$, respectivamente) representaram mais de 70% da celularidade total, ao passo que no diestro, as células profundas (parabasais e basais), cujos percentuais médios foram $30,65 \pm 1,06\%$ e $18,67 \pm 0,87\%$, respectivamente, estiveram constituindo quase a metade de todas as células identificadas e contabilizadas nessa fase. Ademais, as fases de proestro e metaestro demonstraram-se semelhantes no que se refere a celularidade encontrada, sendo as médias de células superficiais nucleadas maiores no proestro e as intermediárias, superiores no metaestro (Figura 2).

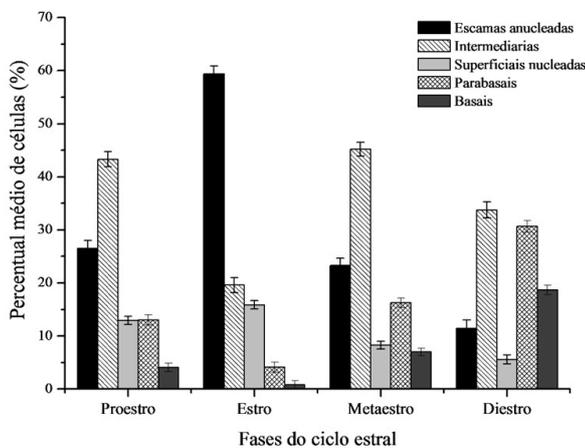


Figura 2. Percentual médio geral dos diferentes tipos celulares identificados pelo método colpocitológico durante as fases do ciclo estral de preás.

A contagem (porcentagem) de escamas anucleadas sofreu efeito significativo ($p < 0,05$) da interação entre tratamento (macho ausente, macho presente) e fase do ciclo estral (Figura 3). A diferença entre os tratamentos foi observada no proestro, com as fêmeas no G2 ($35,05 \pm 1,97\%$) apresentando uma porcentagem média de escamas anucleadas superior às do G3 ($18,00 \pm 2,28\%$). No estro foram registrados os maiores valores médios em ambos os tratamentos, $59,19 \pm 2,21\%$ para as fêmeas do

G2 e $59,65 \pm 1,97\%$ para as fêmeas do G3. As fêmeas do G2 apresentaram menor valor médio de escamas anucleadas na fase diestro ($14,55 \pm 1,97\%$). Por outro lado, não houve diferença significativa entre os resultados obtidos no proestro ($18,00 \pm 2,28\%$) e diestro ($8,33 \pm 2,55\%$) para o grupo em que o macho esteve ausente.

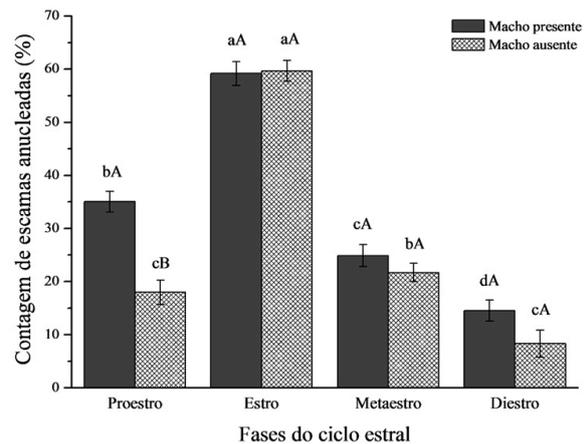


Figura 3. Efeito do macho sobre a contagem média de escamas anucleadas pelo método colpocitológico em preás nas diferentes fases do ciclo estral. * Letras minúsculas iguais dentro de cada grupo experimental (macho presente, macho ausente) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ** Letras maiúsculas iguais dentro de cada fase do ciclo estral (proestro, estro, metaestro, diestro) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As células intermediárias também sofreram efeito significativo ($p < 0,05$) da interação entre tratamentos e fase do ciclo estral (Figura 4), sendo que no proestro, as fêmeas do G3 apresentaram uma porcentagem média destas células ($48,73 \pm 2,17\%$) significativamente superior às do G2 ($37,85 \pm 1,88\%$). Vale destacar que no G3, não foi observada diferença significativa no valor médio de células intermediárias entre as fases proestro e metaestro ($46,34 \pm 1,65\%$), sendo a menor média obtida no estro ($18,45 \pm 1,88\%$). Da mesma forma, ocorreu no G2, não ocorrendo diferenças significativas para esse tipo celular entre as fases proestro ($37,85 \pm 1,88\%$), metaestro ($44,05 \pm 1,98\%$) e diestro ($30,75 \pm 1,88\%$), sendo o estro a fase com a menor média ($20,69 \pm 2,10\%$).

As células superficiais nucleadas, parabasais e basais sofreram efeito significativo entre as fases do ciclo estral ($p < 0,05$). A proporção média de células superficiais nucleadas foi significativamente mais elevada durante as fases proestro e estro, quando comparado as fases de metaestro e diestro (Figura 5). O estro ainda foi marcado pela menor porcentagem média de células parabasais ($4,10 \pm 0,97\%$) e basais ($0,72 \pm 0,79\%$). Por outro lado, o diestro foi caracterizado pela maior porcentagem média de células parabasais ($30,65 \pm 1,06\%$) e basais ($18,66 \pm 0,86\%$). A porcentagem média de células

parabasais não diferiu entre o proestro (13,03±0,99%) e o metaestro (16,23±0,89%) conforme se observa na Figura 5.

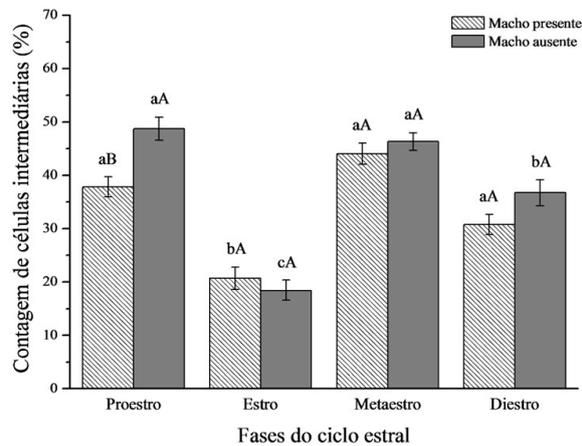


Figura 4. Efeito do macho na contagem média de células intermediárias pelo método colpocitológico em preás nas diferentes fases do ciclo estral. * Letras minúsculas iguais dentro de cada grupo experimental (macho presente, macho ausente) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ** Letras maiúsculas iguais dentro de cada fase do ciclo estral (proestro, estro, metaestro, diestro) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

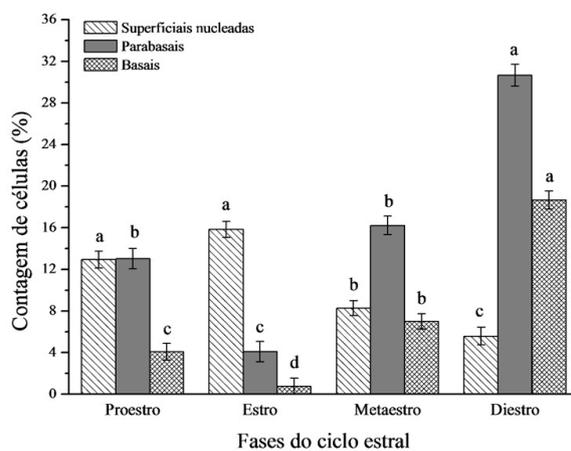


Figura 5. Contagem média de células superficiais nucleadas, parabasais e basais pelo método colpocitológico em preás nas diferentes fases do ciclo estral. * Letras minúsculas iguais dentro de cada tipo celular (superficiais nucleadas, parabasais e basais) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4. Discussão

Estudos com roedores murídeos mostraram uma curta fase lútea, seguindo a hipótese de que a implantação ocorria precocemente nos cornos uterinos. Esse fato

motivou a caracterização do período gestacional, como também, da sugestão de um desenvolvimento inicial do blastocisto em gestações sobrepostas, nas quais as fêmeas realizavam aleitamento da ninhada anterior. Nas espécies avaliadas, os períodos que foram estudadas as gestações, foi inferior a 10 dias, o que contrastou bastante com as durações das gestações isentas de sobreposição: *Calomys musculinus* (21 dias), *Calomys laucha* (21 dias), *Microtus ochrogaster* (21 dias) e *Akodon molinae* (25 dias) – estas espécies compreendendo roedores sulamericanos sigmodontíneos e *Peromyscus maniculatus bairdii* (25 dias) - roedor norte-americano sigmodontíneo ⁽¹⁵⁾.

Adicionalmente, as informações convergiram no tocante às estimativas de duração da gestação das espécies *Clethrionomys glareolus*, *Mus musculus* e *Rattus norvegicus* como sendo 19, 20 e 22 dias respectivamente ^(16,17) e cutias em torno de 104 a 120 dias ⁽¹⁸⁾. Em condições naturais não controladas, foi estabelecido como 48 dias o tempo decorrido de uma gestação em preás ^{(6),(19)(20)}, sendo tal parâmetro utilizado como referência em estudo de placentação em *Galea spixii* ⁽²¹⁾, divergindo dos nossos resultados, no qual identificamos um período médio de gestação de 59 dias para a espécie, cujos animais encontravam-se em cativeiro.

Quanto a análise citológica, os perfis evidenciados dos tipos descamativos cervicovaginais refletem a dinâmica endócrina associada aos ciclos reprodutivos, nas espécies mamíferas, podendo o estudo do ciclo estral, feito por análise qualitativa e quantitativa das referidas células, bem como dos elementos figurados associados, serem utilizados com eficiência para predizer o período fértil da espécie em análise e, por conseguinte, possíveis distúrbios relacionados à reprodução ⁽²²⁾.

Trabalhos já realizados, com a utilização de 12 fêmeas não gestantes mantidas isoladas e outras cinco, na presença de um macho, buscaram caracterizar o ciclo estral em preás. No primeiro grupo, avaliaram dois ciclos completos, obtendo-se, em média, 15,8±1,4 dias para a duração do ciclo, com variações de 14 a 19 dias ⁽²³⁾. As fêmeas mantidas na presença do macho não puderam ser avaliadas, pois a maioria foram fecundadas. Em nosso estudo, tal problemática não foi evidenciada, pois o macho utilizado estava impossibilitado de fecundar as fêmeas do grupo por estar preso em gaiola.

O monitoramento do ciclo reprodutivo de cutias (*Dasyprocta leporina*), criadas em cativeiro no semiárido, foi realizado pela citologia vaginal associada a ultrassonografia transabdominal, sendo caracterizado oito ciclos completos, com média 28,2±0,7 dias com variações de 24 a 31 dias ⁽²⁴⁾, resultados estes aproximados aos reportados em cutias (*Dasyprocta prymnolpha*), chegando-se a média de 30,69±4,65 dias (variação de 19 a 40 dias) ⁽²⁵⁾ e 29,94 ± 6,77 dias (18 a 41 dias) ⁽²⁶⁾.

Outro estudo com *Dasyprocta prymnolpha*, obteve uma média do ciclo estral de 32,05±4,17 dias

(variando de 25 a 40 dias), caracterizando 20 ciclos totais, entretanto não diferiu estatisticamente em relação ao efeito macho dos grupos experimentais estudados sob a duração do ciclo. No entanto, a maioria dos grupos experimentais formados continham fêmeas adultas e jovens, ambas em contato com machos vasectomizados. Ao serem realizadas dosagens hormonais por radioimunoensaio, os autores verificaram que para o 17β -estradiol, ocorriam dois picos de concentração, o primeiro na fase de metaestro e o segundo, no proestro, fato este capaz de se sugerir tratarem-se de duas fases de desenvolvimento folicular. Para progesterona, houve significância estatística ($p < 0,05$) em suas concentrações entre as fases do ciclo, estando evidentemente baixa no estro, elevando-se 24 horas após esta fase e atingindo a maior média, na fase de diestro⁽²⁷⁾.

Nesse sentido, comparando-se as durações de cada fase do ciclo reprodutivo de preás, verificamos que a presença do macho influenciou de forma significativa a fase do diestro, a qual foi mais longa ($4,0 \pm 0,63$ dias) quando comparadas com o grupo de cinco fêmeas mantidas na ausência daquele ($2,4 \pm 0,24$ dias) pela análise da citologia vaginal. Os resultados sugerem que a presença do macho pode influenciar a concentração de progesterona, após a ovulação, por subsequente atuação sob a atividade do corpo lúteo.

Em se tratando da citologia, os critérios inclusos para determinação de cada fase do ciclo reprodutivo de preás bem como os aspectos morfológicos celulares foram estabelecidos que a fase de estro deveria conter, somando-se as células superficiais e escamas anucleadas, pelo menos 70% destes tipos descamativos, cujas células demonstravam citoplasma eosinofílico, morfologia poligonal, baixa relação núcleo/citoplasma, cromatina finamente granular ou com núcleo picnótico no caso das superficiais e isentas de núcleo, nas escamas. Além disto, não se observava a presença de leucócitos e as bactérias, em pequeno número ou ausente.

Na fase de metaestro, o tipo celular predominante em valores percentuais era representado pelas células intermediárias, seguidas por quantidades consideráveis de bactérias e leucócitos. Tais células apresentavam-se com forma variando do ovalado ao poligonal, núcleo centrado e com cromatina dispersa e granulosa além de citoplasma basofílico. Para a fase de diestro, consideramos que o somatório de células profundas (parabasais e basais) deveriam perfazer valores relativos acima de 40% e ainda possuir células intermediárias como o segundo tipo predominante. Ademais, numeroso infiltrado leucocitário, de bactérias e muco também foram evidenciados. As células parabasais e basais continham formato redondo, núcleo grande e central, cromatina granular e elevada relação núcleo/citoplasma. Diferiam entre si, pois estas últimas eram menores e possuíam citoplasma intensamente basofílico.

Subsequentemente, a fase de proestro iniciava-se com o predomínio de células intermediárias além da presença de bactérias e muco, sendo a chegada do estro, compatível quando as células superficiais retornavam a valores percentuais iguais ou superiores a 70%. Tais aspectos morfológicos celulares de cada fase foram similares ao descrito na cutia^(24, 25, 27), capivara⁽¹⁰⁾, paca⁽⁸⁾ e preá⁽²³⁾. No caso dos elementos figurados associados as células da colpocitologia, decidimos não os incluir nos resultados. Limitamo-nos, então, a afirmar que as bactérias, leucócitos e filamentos mucosos são abundantes entre as fases de metaestro e diestro.

Nossos resultados referentes as médias gerais, dadas em percentual, dos tipos celulares evidenciados no ciclo estral de preás, foram muito semelhantes, na fase de metaestro, e na superioridade quantitativa das escamas anucleadas frente as superficiais nucleadas – em todas as fases do ciclo, o que indica um escalonamento maturativo normal, aos verificados em cutias⁽²⁵⁾ e divergentes quando comparadas as médias gerais nas demais fases, bem como dos resultados obtidos colpocitologia vaginal de mocós (*Kerodon rupestris*)^(23, 28) ao demonstrarem a distribuição percentual dos tipos celulares em cada fase do ciclo reprodutivo de preás criados em cativeiro.

Foi possível sinalizar por meio da estatística que pode haver efeito significativo ($p < 0,05$) da contagem de escamas anucleadas entre as fases do ciclo estral nos dois grupos experimentais, sendo as maiores médias evidenciadas no estro e as menores, no diestro. Este achado diferiu dos encontrados em cutias, que indicou haver diferença significativa das células superficiais anucleadas apenas na fase de estro, a qual produziu maiores contagens quando comparadas as demais fases e entre estas, não houve diferença⁽²⁵⁾. Quando comparados os tratamentos (macho presente e ausente), em preás, verificamos que ocorreu diferença estatística na fase de proestro, sendo evidenciado maior percentual de escamas no grupo de fêmeas mantidas acasaladas ($35,05 \pm 1,97\%$) do que naquele privado da presença do macho ($18,00 \pm 2,28\%$).

A prática corrente da inserção de um macho para a sincronização do ciclo estral é uma atividade indispensável quando se objetiva a criopreservação de embriões, limpeza sanitária de colônias e transgênese murina⁽²⁹⁾. Em caprinos e ovinos, pela importância econômica, ambiental e sociológica⁽³⁰⁾, a performance reprodutiva relaciona-se, diretamente, com os lucros obtidos na produção de leite e carne. Para tanto, a sincronização do ciclo estral traz grandes benefícios aos produtores pecuários⁽³¹⁾.

Apesar de poucos estudos com a indução do estro em roedores silvestres, o uso de tal ferramenta poderia facilitar no manejo reprodutivo dessas espécies. Em cutias, a utilização de prostaglandina isolada ou associada ao análogo GnRH na indução do estro mostrou-se com

eficiência limitada ⁽³²⁾, já em porquinhos-da-índia a utilização de protocolo semelhante não demonstrou efeito positivo ⁽³³⁾, evidenciando, assim, a necessidade de padronização de protocolos para uma melhor eficácia reprodutiva em cativeiro.

Em nosso trabalho, não houve propriamente uma sincronização do ciclo, porém, a presença do macho relacionou-se direta ou indiretamente com o estímulo das ações estrogênicas, na fase de proestro, as quais cursaram com o aumento proliferativo do epitélio vaginal que tende a sofrer estratificação das camadas mais diferenciadas e, conseqüentemente, descamação das células superficiais anucleadas. A manutenção de grupos de fêmeas de mocós em contato com um macho, ocorreu significância estatística para o percentual de escamas anucleadas na fase de estro quando comparada as demais fases, utilizando-se para tal, o teste de Tukey ⁽²⁸⁾, diferindo, pois dos nossos resultados, que demonstraram diferenças significativas, deste tipo celular, em todas as fases do ciclo, tanto para o grupo contendo o macho quanto para os que contiveram fêmeas isoladas.

Quanto as células intermediárias em préas, observou-se também efeitos significativos da interação entre os tratamentos na fase de proestro. Entretanto, o grupo isento de macho foi o que apresentou maiores porcentagens médias ($48,73 \pm 2,17\%$) na contagem deste tipo de célula quando comparados ao outro grupo em análise ($37,85 \pm 1,88\%$). Desta forma, quando o macho estava ausente (G3), havia menor descamação de células superficiais anucleadas, provavelmente devido a menor concentração de estrógenos circulantes, fato este que poderia acarretar em maior percentual de células intermediárias, proporcionalmente, por maiores níveis de progesterona, no grupo em questão, e, conseqüentemente, maior desprendimento do tipo celular intermediário. Ademais, no grupo das fêmeas G3, as fases de proestro e metaestro representaram as maiores produções de células intermediárias, não diferindo entre si, porém sendo significantes quando comparadas com as fases de diestro e estro, fase esta que obteve a menor média para este tipo celular.

Nas fêmeas do G2, a fase do estro também apresentou os menores valores percentuais, diferindo, de forma significativa, das demais fases e estas últimas não diferiram entre si. No entanto, a fase de metaestro possuiu os maiores percentuais médios de células intermediárias, assemelhando-se aos descrito em cutias ⁽²⁵⁾ e em pacas ⁽²⁷⁾, sendo que, de acordo com estes dois autores, os maiores valores de células intermediárias, verificados nas respectivas espécies, ocorreram no metaestro e a produção neste período diferiu significativamente das demais fases, estas últimas não diferindo entre si. Além disso, em préas, era esperado um maior quantitativo de células superficiais nucleadas nas fases de proestro e estro, as quais sofrem maior estímulo para a diferenciação

e proliferação celulares, em decorrências das maiores concentrações de estrógenos nas referidas fases. Como a ovulação ocorre no estro, sob pico do hormônio luteinizante, verificamos que o maior percentual médio deste tipo celular ocorreu nessa fase, porém não diferindo estatisticamente da fase que a antecedia e diferindo, pois, das demais fases. Excetuando-se o proestro, tais informações concordaram com os resultados obtidos dos ciclos reprodutivos de cutias ⁽²⁵⁾.

A diferença entre a média das células parabasais, na fase de diestro, mostrou significância estatística quando comparada às demais, todavia, não houve diferença entre as fases de metaestro e proestro, sendo a fase de estro responsável pela menor média observada. Característica semelhante ocorreu para as basais que tiveram maiores valores percentuais na fase de diestro, cuja significância ($p > 0,05$) as diferiu das demais fases. Entretanto, em cada fase do ciclo houve diferença significativa e a menor quantidade também foi verificada no estro.

Esse padrão, verificado na fase de diestro, condiz com elevadas concentrações circulantes de progesterona, as quais induzem a uma menor espessura do epitélio vaginal, acarretando na formação de uma fina camada germinativa de células profundas ⁽³⁴⁾.

5. Conclusão

A duração da gestação em préas apresentou média de 59 dias, com parição de um a dois filhotes por parto. As fêmeas de préa apresentam ciclo sexual poliéstrico contínuo, com período médio de $14,8 \pm 0,73$ dias para as fêmeas submetidas ao efeito macho e $14,6 \pm 0,75$ dias para aquelas isentas do efeito macho, não sendo verificado influência do efeito macho na duração do ciclo. O padrão de caracterização do ciclo no préa apresentou-se semelhante a outros cavídeos, com fases de proestro, estro, metaestro e diestro. A ausência do macho influenciou significativamente a quantidade de células intermediárias e superficiais anucleadas na fase de proestro, enquanto a presença do macho aumentou a duração da fase diestro, o que pode estar relacionado a níveis elevados de progesterona e níveis baixos de estrógenos circulantes.

Declaração de conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuições do autor

Conceituação: A. M. do Vale e M. F. de Oliveira. *Curadoria de dados:* A. M. do Vale. *Análise formal:* G. B. de Oliveira e F. V. F. Bezerra. *Investigação:* A. M. do Vale, G. B. de Oliveira, H. N. A. Júnior, F. V. F. Bezerra, A. C. F. C. de Sousa, J. A. R. A. Diniz e I. R. G. Lopes. *Metodologia:* A. M. do Vale e M. F. de Oliveira. *Recursos:* M. F. de Oliveira. *Supervisão:* M. F. de

Oliveira. *Validação*: A. M. do Vale e M. F. de Oliveira. *Redação (esboço original)*: A. M. do Vale. *Redação: (revisão e edição)*: A. M. do Vale e M. F. de Oliveira.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Código Financeiro 001) pela bolsa de doutorado concedida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA-UFERSA).

Referências

- Brasil. Ministério da Saúde. Manual de controle de roedores. 2002.
- Wolff JO, Sherman PW. Rodent Societies: An Ecological Evolutionary Perspective. Chicago: The University of Chicago Press; 2007.
- Upham NS, Patterson BD. Diversification and biogeography of the Neotropical caviomorph lineage Octodontoidea (Rodentia: Hystricognathi). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2012;63(2):417–29. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.01.020>
- Oliveira GB, Rodrigues MN, Sousa RDS, Moura CEB, Miglino MA, Oliveira MF. Origin of the lumbosacral plexus in *Galea spixii* (Wagler, 1831) (Rodentia, Caviidae). *Biotemas*. 2014; 15;27(4):107. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2014v27n4p107>
- Oliveira GB, Santos AC, Oliveira REM, Câmara FVC, Bezerra FVF, Araújo Júnior HN, Silva AVN, Oliveira MF. Artérias mesentéricas cranial e caudal do preá (*Galea spixii*). *Acta Scientiae Veterinariae*, 2015; 21;43(1):1–8. <https://www.ufrgs.br/actavet/43/PUB%201297.pdf>
- Pinheiro MJP, Andrade SA, Cunha JN. Preservação e exploração de animais silvestres nativos: preá, cutia e mocó. *Caatinga*, 1989; 6(1):28-49. <https://periodicos.ufersa.edu.br/caatinga/article/view/2534/4991>
- Roberts M, Maliniak E, Deal M. The reproductive biology of the rock cavy, *Kerodon rupestris* in captivity: a study of reproductive adaptation in a tropic specialist. *Mammalia*, 1984; 48(2):252-266. <https://doi.org/10.1515/mamm.1984.48.2.253>
- Bastos LV, Guimarães DA, Luz-Ramos RS, Ferreira ACS, Ohashi OM. Aspectos da citologia vaginal durante o ciclo estral de *Agouti paca* criada em cativeiro. *Revista Brasileira de Reprodução*. 2003; 27(2):294-295.
- Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology* [Internet]. 2002; 62(4A):609–14. https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842002000400008&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- Barbosa LP, Rodrigues MV, Neves MM, Morais DB, Melo BED, Balarini MK, Coelho CDP, Cíntia M. Caracterização da colpocitologia em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 2007; 8(4):258-266. <https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/1928/1/762-2976-2-PB.pdf>
- Goldman JM, Murr AS, Cooper RL. The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*. 2007;80(2):84–97. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bdrb.20106>.
- Lohmiller JJ, Swing SP. Reproduction and breeding. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL. *The Laboratory Rat*. Elsevier; 2005.
- Da Silva RG. Manual de procedimentos em análise por quadrados mínimos. FUNEP, Jaboticabal. 1993.
- SAS Institute. Statistical Analysis System. SAS User's guide, version 8. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA. 1999.
- Buzzio OL, Koninckx A, Carreno NB, Castro-Vazquez A. Embryo implantation during the short luteal phase of the corn mouse, *Calomys musculinus*, and the apparent lack of a lactorial diapause in South American murid rodents. *Reproduction*, 2001; 1;815–23. <https://dx.doi.org/10.1530/rep.0.1210815>
- Richmond M, Conaway CH. Induced ovulation and oestrus in *Microtus ochrogaster*. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1969; Supplement 6: 357-376.
- Clarke JR, Hellwing S. Fertility of the post-partum bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Journal of Reproduction and Fertility*. 1983; 68(1): 241-246. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0680241>
- Lange RR, Schmidt EMS. Rodentia: roedores silvestres. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. *Tratado de animais selvagens Medicina Veterinária*. Sao Paulo (Brasil) Editora Roca; 2014.
- Lacher TE. The comparative social behavior of *Kerodon rupestris* and *Galea spixii* and the evolution of behavior in the Caviidae. *Bulletin of Carnegie Museum of Natural History*. 1981; 17:1–71. <https://doi.org/10.5962/p.228596>
- Mares MA, Streilein KE, De La Rosa MP. Nonsynchronous Molting in Three Genera of Tropical Rodents from the Brazilian Caatinga (*Thrichomys*, *Galea*, and *Kerodon*). 1982; 63(3):484–8. <https://doi.org/10.2307/1380447>
- Oliveira MF, Mess A, Ambrosio CE, Dantas CAG, Favaron PO, Miglino MA. Chorioallantoic Placentation in *Galea spixii* (Rodentia, Caviomorpha, Caviidae). *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2008; 6(1). <https://doi.org/10.1186/1477-7827-6-39>
- Moxon R, Copley D, England GCW. Quality assurance of canine vaginal cytology: A preliminary study. *Theriogenology*. 2010; 74(3):479–85. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.02.031>
- Santos AC, Viana DC, Bertassoli BM, Oliveira GB, Oliveira DM, Bezerra FVF, Oliveira MF, Assis-Neto AC. Characterization of the estrous cycle in *Galea spixii* (Wagler, 1831). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2015; 35(1):89-94. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015000100017>.
- Campos LB, Peixoto GCX, Lima GL, Castelo TS, Souza ALP, Oliveira MF, Silva AR. Monitoramento do ciclo estral de cutias (*Dasyprocta leporina* Lichtenstein, 1823) através de citologia esfoliativa vaginal e ultrassonografia. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2015; 35(2):188-192. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2015000200016>
- Guimarães DA, Moreira D, Vale WG. Determinação do ciclo reprodutivo da cutia (*Dasyprocta prymnolopha*) através do diagnóstico colpocitológico. *Acta Amazônica*. 1997. 27(1):55-64. <https://doi.org/10.1590/1809-43921997271064>.
- Carreiro AN, Diniz JARA, Souza JG, Araújo DVF, Dias RFF, Azerêdo LMS, Rocha EF, Salles AYZ, Peña-Alfaro CE, Carvalho MAM, Illera MJ, Menezes DJA. Ovary and vaginal epithelium dynamics during the estrous cycle in *Dasyprocta prymnolopha* Wagler, 1831: ultrasound and cytological examinations. *Journal of veterinary science*. 2018; 31(3):446-451. <https://doi.org/10.4142/jvs.2018.19.3.446>.

27. Guimarães DA, Ramos RL, Ohashi OM, Garcia GW, Vale WG. Plasma concentration of progesterone and 17β -estradiol of black-rumped agouti (*Dasyprocta prymnolopha*) during the estrous cycle. *Revista de Biologia Tropical*. 2011; 59(1):29-35. <https://doi.org/10.15517/rbt.v59i1.3176>.
28. Zogno MA. Aspectos reprodutivos da fêmea de mocó (*Kerodon rupestris*): Análise bioquímica dos líquidos fetais e caracterização colpocitológica do ciclo estral [Internet] [Tese]. [Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo]; 2002. <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10132/tde-04042003-103133/en.php>
29. Mattaraia VGM, Silva APR, Sartori DRS, Távora MFCLF, Rodrigues UP, Moreira VB, Moura ASAMT. Efeito macho na indução do estro em ratas Wistar (*Rattus norvegicus*). *Veterinária e Zootecnia*. 2009; 16(4):669-677. <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/1266>
30. Rancourt M, Fois N, Lavín MP, Tchakérian E, Vallerand F. Mediterranean sheep and goat production: An uncertain future. *Small Ruminant Research*. 2006; 62(3):167-179. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448805003433>
31. Gonzalez-Bulnes A, Veiga-Lopez A, Garcia P, Garcia-Garcia RM, Ariznavarreta C, Sanchez MA, Tresguerres JA, Cocero MJ, Flores JM. Effects of progestogens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*. 2005; 63(9):2523-2534. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.10.013>
32. Peixoto GCX, Maia KM, Almeida LM, Campos LB, Oliveira GB, Oliveira MF, Brito AB, Domingues SFS, Silva AR. Indução do estro em cutias (*Dasyprocta leporina*) utilizando-se protocolos à base de prostaglandina isolada ou em associação com análogo de GnRH. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2018; 70 (3), 806-814. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9907>
33. Grégoire A, Allard A, Huamán E, León S, Silva RM, Buff S, Berard M, Joly T. Control of the estrous cycle in guinea-pig (*Cavia porcellus*). *Theriogenology*. 2012; 78(4), 842-847. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.03.034>
34. Westwood FR. The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicologic Pathology*. 2008; 36(3):375-384. <https://doi.org/10.1177/0192623308315665>