

**EFEITOS DA IRRADIAÇÃO TESTICULAR COM  $^{60}\text{Co}$  EM COBAIA**  
***Cavia porcellus*. CARACTERÍSTICAS DO SÊMEN OBTIDO**  
**POR ELETROEJACULAÇÃO**

**Orlando Rebelo dos Santos**

**DISSERTAÇÃO E TESE - IPEN 11**  
**IPEN - DT - 11**

**JULHO/1980**

## **CONSELHO DELIBERATIVO**

### **MEMBROS**

Dr. Luiz Cintra do Prado – Presidente

Dr. Edgardo Azevedo Soares Júnior – Vice-Presidente

### **CONSELHEIROS**

Dr. Hécio Modesto da Costa

Dr. Ivano Humbert Marchesi

Dr. Admar Cervellini

Dr. Waldyr Muniz Oliva

### **REPRESENTANTES**

Dr. Jacob Charcot Pereira Rios

Dr. Paolo Enrico Maria Zaghen

### **SUPERINTENDENTE**

Hernani Augusto Lopes de Amorim

**EFEITOS DA IRRADIAÇÃO TESTICULAR COM  $^{60}\text{Co}$  EM COBAIA**  
***Cavia porcellus*. CARACTERÍSTICAS DO SÊMEN OBTIDO**  
**POR ELETROEJACULAÇÃO**

Orlando Rebelo dos Santos

*Tese para obtenção do Título de "Doutor em Ciências"*  
– Orientador Prof. Dr. Renato Campanarut Barnabe.  
Apresentada e defendida em 31 de maio de 1979, no  
Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

Série DISSERTAÇÃO E TESE IPEN

INIS Categories and Descriptors

C14

COBALT 60: Irradiation

TESTES: Biological radiation effects

GUINEA PIGS: Spermatozoa

## SUMÁRIO

	Página
INTRODUÇÃO .....	1
LITERATURA – PARTE I .....	3
1 – Eletroejaculação .....	3
2 – Características do Ejaculado .....	3
3 – Liquefação do Coágulo .....	4
4 – Características do Sêmen de Cobaia .....	4
4.1 – Volume, Concentração e Motilidade Espermática .....	4
4.2 – Empilhamento .....	5
5 – Idade e Raça .....	5
5.1 – Idade .....	5
5.2 – Raça e Linhagem .....	6
6 – Ciclo do Epitélio Seminífero e Espermatogênese .....	6
7 – Morfologia do Espermatozóide de Cobaia .....	6
8 – Classificação da Morfologia Espermática .....	7
9 – Percentual da Morfologia Espermática na Cobaia .....	7
LITERATURA – PARTE II .....	8
1 – Efeitos das Radiações Ionizantes sobre a Espermatogênese .....	8
2 – Radiossensibilidade .....	8
3 – Efeitos quanto ao Processo de Irradiação .....	9
4 – Taxa de Dose .....	10
5 – Efeitos da Radiação sobre a Qualidade do Sêmen .....	10
MATERIAL E MÉTODO .....	11
1 – Dados Gerais .....	11
1.1 – Animais de Experimentação .....	11
1.2 – Formação dos Grupos .....	11
2 – Tratamento Radioativo .....	12
2.1 – Fonte Radioativa .....	12
2.2 – Arranjo Experimental .....	12
2.2.1 – Suporte para Irradiação dos Animais .....	12
2.2.2 – Dispositivo para a Irradiação Testicular .....	13
2.2.3 – Dispositivo para a Contenção dos Animais quando da Irradiação .....	13

2.3 – Dosimetria .....	13
2.3.1 – Calibração da Fonte de $^{60}\text{Co}$ .....	13
2.3.2 – Teste para Avaliar a Dose Absorvida, Espalhamento Interno e Eficiência do Dispositivo para Irradiação Testicular .....	13
2.3.3 – Comprovação das Doses de Exposição .....	14
2.3.4 – Esquema da Irradiação .....	14
3 – Amostragem .....	14
3.1 – Esquema da Colheita do Sêmen .....	14
3.2 – Eletroejaculador .....	15
3.2.1 – Considerações Gerais .....	15
3.2.2 – Painel de Controle .....	15
3.2.3 – Diagrama em Blocos .....	15
3.2.4 – Descrição dos Circuitos .....	15
3.2.5 – Operação .....	17
3.2.6 – Condições do Instrumento quanto Utilizado no Experimento .....	17
3.2.7 – Eletrodos .....	17
3.3 – Dispositivo para Contenção do Animal .....	18
3.4 – Cilindros Coletores .....	18
3.5 – Tampão Fosfato Sörensen (GOMORI, 1955) .....	18
3.6 – Alfa-Quimotripsina .....	18
3.7 – Preparação dos Animais para a Eletroejaculação .....	18
3.8 – Posicionamento dos Eletrodos .....	18
3.9 – Colheita do Material Espermático .....	19
3.9.1 – Procedimento na Colheita .....	19
4 – Estudo do Sêmen .....	19
4.1 – Características .....	19
4.2 – Volume .....	20
4.3 – Motilidade Percentual .....	20
4.4 – Fixação dos Espermatozoides pelo Formol Salino .....	20
4.5 – Contagem por $\text{mm}^3$ (Concentração/ $\text{mm}^3$ ) .....	20
4.6 – Concentração por Ejaculado (Concentração $\times 10^6$ /ejaculado) .....	21
4.7 – Morfologia dos Espermatozoides .....	21
RESULTADOS .....	33
DISCUSSÃO .....	149
CONCLUSÕES .....	156
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	163

# EFEITOS DA IRRADIAÇÃO TESTICULAR COM $^{60}\text{Co}$ EM COBAIA

## *Cavia porcellus*. CARACTERÍSTICAS DO SÊMEN OBTIDO

### POR ELETROEJACULAÇÃO

Orlando Rebelo dos Santos

#### RESUMO

Os objetivos do trabalho visaram demonstrar: (1) Sistema de colheita de sêmen de cobaia *Cavia porcellus* por meio de processo eficiente e de repetição, utilizando arranjo de contenção e método de eletroejaculação; (2) Arranjos para irradiação testicular de 5 animais simultaneamente e simulador "phantom" para verificação de dose recebida na região alvo e em regiões não irradiadas (espalhamento), (3) Efeitos da irradiação testicular com  $^{60}\text{Co}$  por meio de doses únicas e fracionadas, sobre o volume, motilidade, concentração e alterações morfológicas dos espermatozoides.

Foi utilizada fonte puntiforme, colimada, com taxa de dose de 7 R/minuto.

Lotes de 5 animais, com 12 meses de idade, foram irradiados com doses únicas de 50, 100, 200 e 400 R e fracionadas de 2, 5, 10 e 20 R/semana durante 10 semanas, um grupo com 20 R em intervalos de 21 dias, foi irradiado 4 vezes e 8 animais serviram como testemunha.

As colheitas de sêmen foram realizadas durante 5 semanas pré-irradiação e 11 pós-irradiação. As amostras foram em número de 591. Os exames para observação das alterações morfológicas foram realizados por dois métodos: coloração de Williams e microscopia de contraste de fase, perfazendo um total de 1.182.

Pela contagem, em cada preparação de 200 células espermáticas entre normais e alteradas, atingimos o número de 236.400.

Os resultados são mostrados em tabelas e gráficos.

Esquemas e documentação fotográfica dos arranjos e equipamentos utilizados, bem como, micrografias ópticas de espermatozoides normais e das anormalidades observadas são apresentados.

Os resultados gerais evidenciaram diferenças marcantes a favor das doses únicas de 100 e 200 rad nos aspectos de concentração, motilidade e anormalidades espermáticas quando comparadas às doses fracionadas de 10 e 20 rad semanais, o mesmo não ocorrendo quanto ao volume ejaculado.

#### INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas, dados referentes aos efeitos da radiação sobre a produção de sêmen em animais domésticos e de laboratório têm sido relatados em grande número. É também conhecido que anormalidades na estrutura espermática podem ocorrer após exposição dos testículos à radiação ionizante.

Aprovada para publicação em Maio/1979.

Nota: A redação, ortografia, conceitos e revisão final são de responsabilidade do Autor.

Os efeitos das radiações ionizantes sobre a espermatogênese tem sido investigados por meio de exames histológicos dos testículos, acompanhando a evolução das células germinativas. Este processo exige o sacrifício do animal ou a retrada parcial ou total do órgão, para o exame das secções histológicas. Em consequência, tem sido publicado um grande número de dados qualitativos ou descritivos, sendo que muito poucos podem ser utilizados por outros investigadores para comparações. Isto ocorre devido à variabilidade entre secções seriadas de um ou ambos testículos do mesmo animal, agravando-se o problema quando se trata de animais diferentes. Do mesmo modo, o sacrifício do animal e as mutilações parciais ou totais praticadas sobre os testículos, dificultam as observações seriadas de antes, durante e após o tratamento radioativo.

A avaliação da fertilidade masculina através do uso de testes de cobertura, em animais submetidos às radiações ionizantes, também é passível de falhas, uma vez que não estima acuradamente os efeitos no período crítico do declínio da concentração espermática.

Outros fatores que têm contribuído para dificultar a interpretação dos efeitos da radiação sobre a espermatogênese, quando estudados histologicamente, referem-se ao modo de exposição do animal e ao tratamento com doses únicas ou fracionadas. Realmente, nestes aspectos, os resultados apresentados na literatura têm sido conflitantes, quando realizadas irradiações de corpo inteiro, de corpo inteiro com os testículos protegidos ou dos testículos com o corpo protegido.

Das células germinativas e embrionárias envolvidas no processo de reprodução dos mamíferos, os espermatozoides são os mais facilmente obtidos, quer diretamente do epidídimo, quer pela própria ejaculação, possibilitando rápida avaliação do material. Assim, a porcentagem de anormalidades espermáticas pode traduzir o grau de infertilidade do animal ou sua completa esterilidade. As formas anormais de cabeça podem indicar erros genéticos, pois que sua formação envolve uma série complexa de sincronizados processos bioquímicos e morfológicos. Os núcleos resultantes desses processos, normalmente são muito homogêneos, apresentando marcante estrutura específica, da mesma forma que as disposições cromossômicas em seu interior.

Naturalmente, ao nível do processo de diferenciação celular, existe a possibilidade de ocorrerem falhas, fenômeno este cuja frequência pode aumentar em consequência de irradiações. Assim, algumas formas anormais serão decorrências de complementos cromossômicos também anormais. Exemplificando, uma espermátida com translocações pode originar uma cabeça espermática defeituosa, indicando, por outro lado, que tal célula é portadora de material genético anormal. Tem sido constatado que cabeças espermáticas defeituosas de animais irradiados apresentam massa cefálica muito maior ou menor que as normais. Deste modo, parece improvável que essas células anômalas possam carrear complementos cromossômicos normais, mormente quando se conhece que a maior fração da massa cefálica do espermatozoide é composta de ácido desoxirribonucléico (DNA).

Outros componentes do espermatozoide, como a peça intermediária e a cauda, quando portadores de defeitos morfológicos, também comprometem a fertilidade do animal ao dificultar a progressão celular no trato genital feminino.

No caso específico de cobaias, não houve possibilidade de localizar na literatura disponível, estudos quantitativos dos efeitos das doses de radiação sobre a porcentagem de anormalidades no período de pós-irradiação. Do mesmo modo, as colheitas de sêmen com vagina artificial, que são difíceis ou praticamente impossíveis de serem realizadas nessa espécie, acrescido do fato do sêmen coagular-se imediatamente após a ejaculação, representam alguns dos problemas que surgem para tais empreendimentos e talvez expliquem os poucos dados referentes a cobaias, neste aspecto.

No entanto, o uso de eletroejaculador, embora não totalmente livre de inconvenientes como a variabilidade dos parâmetros utilizados (número de estímulos, voltagens e frequências), tem se mostrado uma útil opção para provocar ejaculação em cobaias.



Nesse sentido, nosso objetivo foi aperfeiçoar um aparelho eletroejaculador para ser utilizado na colheita de sêmen de cobaias submetidas à irradiação testicular com variadas doses únicas e fracionadas de  $^{60}\text{Co}$ , assim como verificar os efeitos destas sobre possíveis alterações nas características seminais.

## LITERATURA

### PARTE I

#### 1 – Eletroejaculação

Na cobaia, a primeira técnica de eletroejaculação foi descrita por BATELLI<sup>(14)</sup> (1922), modificada por MOORE & GALLACHER<sup>(55)</sup> (1930). Seguindo os mesmos princípios desses autores, SAYLES<sup>(74)</sup> (1939) e DURFEE e Col.<sup>(20)</sup> (1940) utilizavam 3 choques de 5 a 35 volts e 60 ciclos de corrente alternada (AC) durante 10 segundos, por meio de um eletrodo duro na boca do animal e outro, do tipo agulha, na base do crânio. A ejaculação era usualmente acompanhada de respostas violentas e espasmódicas de todo corpo, ocorrendo ainda, parada respiratória, contração tônica maciça e eversão da mucosa anal. A ejaculação não ocorria de maneira uniforme e freqüentemente era necessário repetir o estímulo várias vezes. O ejaculado apresentava-se totalmente coagulado e não se liquefazia mesmo após decorridas várias horas.

Na tentativa de desenvolver um processo menos traumatizante, GUNN<sup>(35)</sup> (1936) executou experimentos comparativos da eficiência da ejaculação, utilizando eletrodos colocados na cabeça e no ânus ou nas regiões lombares de cobaias. O autor não encontrou diferenças significativas entre os métodos quanto ao ejaculado, contudo observou mortes de animais como resultado de choques na cabeça, passando então a preconizar o uso dos eletrodos nas regiões ano-lombar.

DALZIEL & PHILLIPS<sup>(17)</sup> (1948), relataram uma técnica para eletroejaculação em coelhos e cobaias usando a via ano-lombar, verificando que o uso de 1000 ciclos AC aboliu os efeitos colaterais e que o estímulo por meio da onda quadrada produzia resposta ejaculatória mais uniforme, contudo não executaram análises do sêmen colhido. O número de estímulos utilizado variou de 1 a 34.

FREUND<sup>(25)</sup> (1958) descreveu um aparelho capaz de fornecer uma onda quadrada intermitente com 1000 ciclos para 0 a 25 volts rms (root mean square), com automático de três segundos de período de abertura e 12 segundos de período de fechamento. O número médio de choques requeridos foi de 5 com uma variação de 3 a 14. Na maior parte dos experimentos foram necessários 24 volts rms.

SCOTT & DZIUK<sup>(75)</sup> (1959), relataram estudos sobre a avaliação da técnica de eletroejaculação e obtenção de sêmen de cobaia, por meio do uso de eletrodo retal bipolar único. Utilizaram fonte de estímulo elétrico com corrente alternada de 60 ciclos e tensão variável de 0 a 25 volts. Aplicaram 3 a 4 estímulos consecutivos de 5 a 10 volts com duração de 4 a 5 segundos e período de descanso de 5 a 10 segundos. Imediatamente após a seqüência de estímulos, o pênis era exteriorizado e aplicada pressão digital e manipulação. O método era repetido até a obtenção do sêmen ou completar 25 estímulos.

SUMAR e Col.<sup>(83)</sup> (1968), descreveram investigações para colheita de sêmen de cobaia *Cavia aperea Tschudii* através de um eletroejaculador abastecido por uma bateria de 12 volts. A voltagem administrada ao eletrodo flutuava de 0 a 9,5 volts e um osciloscópio era usado para calcular a emissão da voltagem, dando uma amperagem de 5 mA na posição mínima e 5,5 mA na máxima. O eletrodo, utilizado por via retal, era bipolar com pólos em forma espiralada ao redor de um cilindro de baquelite de 6 cm de comprimento por 0,4 cm de diâmetro. Para ereção e ejaculação, foram necessários, respectivamente, 5 a 7 e 10 estímulos, com intervalos de 10 segundos.

FREUND<sup>(28)</sup> (1969) descreveu um aparelho com fonte de sinal, amplificador de 12 watts, voltímetro de 0 a 25 volts e amperímetro para 0 a 25 mA. A fonte produzia uma onda quadrada de 1000 ciclos e 12 volts com saída para o amplificador. O eletrodo anal com 8 cm de comprimento e diâmetro de 0,4 cm era confeccionado de latão. Este autor mostrou a superioridade da posição L2-L3 para a eficiência do eletrodo lombar. Verificou ainda, que o número de estímulos requeridos para obtenção do ejaculado era muito variável, sendo freqüentemente possível ultrapassar-se o nível de obtenção do ejaculado normal, por exaustão glandular. Para evitar este inconveniente, preconizou uma padronização dos estímulos, isto é, 5 estímulos em intervalos regulares de 3 segundos de período de abertura e 12 segundos de período de fechamento.

## 2 – Características do Ejaculado

O sêmen ejaculado de várias ordens mamíferas apresenta um característico processo de rápida coagulação que usualmente se completa dentro de poucos minutos. Dentre essas ordens esta a **Rodentia**, na qual o processo parece ser universal. Dentre os animais dessa ordem, o processo de coagulação tem sido mais estudado nos camundongos, ratos e cobaias. O coágulo copulatório, resultante da solidificação do ejaculado, foi observado por LEUCKART em 1847 (STOCKARD & PAPANIKOLAOU<sup>(82)</sup>, 1919).

Segundo GOTTERER e col.<sup>(34)</sup> (1955) o processo é devido à coagulação das proteínas derivadas das vesículas seminais, pela ação da vesiculase ou coagulase (SPEYER<sup>(81)</sup>, 1959), uma enzima secretada pela próstata anterior – glândula coaguladora (WALKER<sup>(86)</sup>, 1910).

## 3 – Liquefação do Coágulo

Durante muito tempo, as pesquisas sobre sêmen de cobaias foram dificultadas pela falta de métodos para colheita de material e ausência de liquefação do coágulo.

FREUND<sup>(25)</sup> (1958) relatou que o coágulo de cobaia não se liquefaz espontaneamente após 6 horas de incubação a 39°C, mesmo quando colhido em solução Ringer cu em tampão fosfato.

Na tentativa de solucionar o problema, muitas investigações foram realizadas por meio do uso de enzimas proteolíticas. FREUND<sup>(25)</sup> (1958) testou algumas substâncias como a bromelaina, papaína, catpsina e tripsina nas concentrações de 0,1% em tampão fosfato, obtendo resultados variáveis, com parcial liquefação do coágulo em algumas amostras e nenhuma em outras. Melhores resultados foram atingidos com a quimotripsina em concentração de 0,1% em tampão fosfato, produzindo consistentemente liquefação dentro do período de 1 hora e não recoagulando durante 6 horas de incubação a 39°C. Em concentrações mais baixas, a liquefação era incompleta e ocorria recoagulação. No entanto, paralelamente, observou que eletroejaculações bissemanais provocavam falhas no mecanismo de coagulação, por meio dos efeitos na vesiculase, resultando em sêmen livre de coágulos, no que foi corroborado por SUMAR e Col.<sup>(83)</sup> (1968), trabalhando com *Cavia aperea Tschudii*.

## 4 – Características do Sêmen de Cobaia

### 4.1 – Volume, Concentração e Motilidade Espermática

FREUND<sup>(25)</sup> (1958) trabalhando em cobaias da raça inglesa obteve volume ejaculado médio de 0,5 ml (0,1 – 1,2) e motilidade média de 51%.

SCOTT & DZIUK<sup>(75)</sup> (1959) relatam que a concentração espermática de 77 ejaculados obtidos de 8 cobaias por meio de eletroejaculação semanal apresentou a média de  $68 \pm 56 \times 10^6$  espermatozoides/ejaculado, porém não citam a raça e linhagem do animal.

LAURENCE & CARPUK<sup>(44)</sup> (1953) julgam haver relativa concordância entre a contagem manual (câmara hematimétrica) e a contagem determinada eletronicamente ("coulter counter"), sendo que a população espermática variava consideravelmente de semana para semana, porém, o volume ejaculado era relativamente constante (0,3 a 0,6 ml).

FREUND & BORRELLI<sup>(30)</sup> (1964) executaram pesquisas em vários grupos de cobaias, obtendo médias de volume de sêmen de 0,51; 0,55; 0,59; e  $0,67 \pm 0,03$  ml/ejaculado; concentrações espermáticas de 9,18; 10,55; 11,36 e  $11,80 \times 10^6$  espermatozoides/ejaculado e motilidade de 38; 40; 41 e  $45 \pm 2\%$ .

FREUND & BORRELLI<sup>(31)</sup> (1965) relatam concentrações espermáticas médias em vários grupos nos valores de 9,834; 11,510; 11,922 e  $14,585 \times 10^6$  espermatozoides/ejaculado e motilidades espermáticas de 32; 34; 39 e 45%. Os mesmos autores relatam ainda, que em outros grupos, obtiveram médias de concentração espermática de 6,381; 6,447; 10,556; 10,621; 10,641; 10,695; 11,022 e  $11,972 \times 10^6$  espermatozoides/ejaculado. As motilidades espermáticas médias foram de 55; 60; 61; 65; 66; 67; e 70%.

FREUND<sup>(28)</sup> (1969), trabalhando com 39 cobaias da raça inglesa, por meio de colheitas semanais, obteve em 870 amostras, média de concentração espermática por ejaculado de  $13,376 \times 10^6$  espermatozoides/ejaculado, com variação de 2,875 a  $35,003 \times 10^6$ . A motilidade média foi de 66% com variações de 52 a 74% e o volume espermático 0,2 a 1,0 ml, com média de 0,5 ml.

MANN (1962) citado por MIES<sup>(5,2,53)</sup> (1975) relatou que a concentração espermática na cobaia é de 5.000 a 17.000 com média de 10.000 células por  $\text{mm}^3$ .

## 4.2 – Empilhamento

A agregação de espermatozoides acumulados, com suas cabeças empilhadas verticalmente, foi descrita em cobaia por FREUND<sup>(25)</sup> (1958) em sêmen ejaculado e por FAWCETT & HOLLENBERG<sup>(24)</sup> (1963) em preparações de corpo e cauda de epidídimo e vaso deferente. A cabeça do epidídimo não contém espermatozoides com esta disposição. Descrevem que a formação de pilhas é devida a um aumento da aderência no espermatozoide maduro.

A natureza de tal propriedade dos espermatozoides desta espécie não é conhecida, e modificações na aderência podem estar relacionadas com a maturação celular. No entanto o ambiente luminal do útero pode influir nessas mudanças (MARTAN & SHEPHERD<sup>(51)</sup>, 1973). A membrana que envolve o acrosoma tem sido apontada como sítio dessas forças (LEBLOND & CLERMONT<sup>(46)</sup>, 1952, FAWCETT & HOLLENBERG<sup>(24)</sup>, 1963) e os resultados de SHEPHERD e Col.<sup>(79)</sup> (1974) concordam com essa sugestão, visto que agentes químicos que não produzem efeitos observáveis sobre o acrosoma não dissociam o empilhamento, enquanto que agentes (por exemplo a tripsina) que alteram ou removem o acrosoma, provocam a dissociação.

## 5 – Idade e Raça

### 5.1 – Idade

FREUND<sup>(27)</sup> (1962) colheu regularmente sêmen de 23 cobaias da quarta a vigésima semana de vida. Os espermatozoides puderam ser verificados em dois animais na sexta semana, em metade na décima primeira e em todos na décima oitava semana. Porém, a concentração espermática não atingiu na vigésima semana os níveis do animal sexualmente maduro, embora, tivessem atingido um peso médio de 850 a 950 g. Motilidade foi somente observada na décima quinta semana e volume de 0,6 ml da décima primeira.

Os andrógenos parecem estar estreitamente relacionados com a maturação dos espermatozoides ao nível do epidídimo. Segundo RIGAUDIÈRE<sup>(66)</sup> (1973) e RIGAUDIÈRE e Col.<sup>(67)</sup> (1976), cobaias machos da raça Dunkin-Hartley são consideradas aptas para a reprodução entre as idades de 3 a 18 meses. Os conteúdos de testosterona testicular e plasmático são constantes do 6º ao 24º mês, diminuindo o conteúdo de androsterona a partir do 18º mês. O período de senescência ocorre entre o 24º e 28º mês e é marcado por uma queda de secreção de testosterona e involução dos túbulos seminíferos e glândulas sexuais acessórias.

## 5.2 – Raça e Linhagem

As características do sêmen, em linhagens e raças diferentes, podem ser um fator conflitante na comparação dos dados relatados por diferentes investigadores. FREUND<sup>(28)</sup> (1969), adianta que obteve resultados desiguais em dois experimentos com cobaias da raça inglesa, fornecidas por dois centros de cruzamento (Rockland Farm e Laboratory Animals). No primeiro experimento, em 870 colheitas, a média do volume foi de 0,5 ml (0,2 a 1,0 ml) e a concentração média de espermatozoides de  $13,376 \times 10^6$  por ejaculado com uma variação de  $2,875$  a  $35,003 \times 10^6$ , enquanto que no segundo, a média do volume foi de 1,5 ml (0,4 a 2,2 ml) em 468 amostras e a concentração média de  $8,033 \times 10^6$  espermatozoides/ejaculado com variação de  $0,484$  a  $31,879 \times 10^6$ .

## 6 – Ciclo do Epitélio Seminífero e Espermatogênese

A duração de um ciclo espermático completo, segundo CLERMONT<sup>(11)</sup> (1972), é de 4 a 7 semanas no rato, camundongo, coelho e cobaia. Para estes estudos todos os métodos aplicados mostraram dificuldades e incertezas. A espermatogênese, segundo ROOSEN-RUNGE<sup>(69)</sup> (1962) inicia-se com a diferenciação da espermatogonia germinal latente "stem-cell", fenómeno este, com frequência não acuradamente identificado. A correlação das gerações através do ciclo do epitélio germinal tem sido enfatizada por vários autores, sendo similar no rato, porco, cão, cavalo e touro, embora diferindo em outras espécies animais.

A primeira reconstrução gráfica dos túbulos seminíferos, mostrando os detalhes do modelo de onda no camundongo e coelho, foi feita por CURTIS<sup>(16)</sup> (1918). Similares reconstruções foram preparadas para a cobaia (CLELAND<sup>(9)</sup>, 1951). Este autor relatou que, na cobaia, nenhum gradiente cíclico regular de estágios é perceptível ao longo do comprimento do túbulo. Embora a onda seja muito irregular na aparência, o autor indicou que o modelo de onda irradia de certos centros de posição fixa dentro dos túbulos e estimou um tempo de 1 a 2 semanas de geração de espermatogonia a espermatozoide. Para LEBLOND & CLERMONT<sup>(46)</sup> (1952) o ciclo espermatogênico do rato, cobaia e hamster requer 26 dias.

CLERMONT<sup>(10)</sup> (1960) relatou que a duração do ciclo do epitélio seminífero na cobaia ainda não foi determinado, mas que o mesmo é semelhante ao dos camundongos (8,6 dias), carneiro (10,5 dias) e rato (12,0 dias).

FREUND & BORRELLI<sup>(30)</sup> (1964), baseando-se em cobaias irradiadas de corpo inteiro com radiação X, verificaram que a concentração espermática declinou da sétima a nona semana, concluindo que o ciclo espermatogênico completo é de cerca de 49 dias.

Por outro lado, segundo NOLLER e Col.<sup>(58)</sup> (1977) a duração da espermatogênese na cobaia é de 33,8 dias, com duração do ciclo epitelial seminífero de 8,45 dias.

## 7 – Morfologia do Espermatozoide de Cobaia

Segundo FAWCETT<sup>(23)</sup> (1965) o espermatozoide é composto de 2 regiões, cabeça e cauda.

sendo esta subdividida em 4 segmentos sucessivos: colo, peça intermediária, peça principal e peça terminal. Contudo, a maioria dos autores, dividem-no em apenas 3 segmentos: cabeça, peça intermediária e cauda.

Ainda, segundo FAWCETT<sup>(23)</sup> (1965), em muitos espermatozóides de mamíferos, o formato da cabeça é determinado pelo tamanho do núcleo, mas na cobaia o acrosoma é incomumente grande e contribui mais do que o normal para determinar a forma total da cabeça. O acrosoma se estende para além das margens anterior e lateral do núcleo e suas finas bordas assemelham-se a abas reviradas de um chapéu. A superfície inferior é profundamente côncava e a superior mostra uma elevação semelhante a uma ferradura que corre paralela às margens lateral e anterior do núcleo. Além disso, a inferior é flexionada ventralmente em um ângulo de 45°, ao longo do eixo da cabeça. Esta ventroflexão ocorre durante a passagem do espermatozóide através do ducto epididimário. O acrosoma da cobaia é o maior entre todas as espécies utilizadas comumente em laboratório. O núcleo é grandemente achatado quando visto de perfil e ovóide quando observado pela região superior, mas truncado, na região posterior, onde o flagelo está inserido. Os espermatozóides reúnem-se em grupos de 3 a 14, de tal modo que suas cabeças ficam empilhadas com a convexidade de uma na concavidade da outra, semelhantemente a uma pilha de colheres. O colo é uma pequena região ligada à cabeça e à bainha mitocondrial. A peça intermediária é 1,25 vezes mais longa que a cabeça e usualmente tem uma gota citoplasmática simétrica e uniforme a meio caminho do comprimento. A peça principal é muito longa e adelgaça gradualmente até a sua junção com a curta peça terminal.

## 8 – Classificação da Morfologia Espermática

A literatura consultada revelou-se falha quanto à classificação morfológica de espermatozóides de cobaia, no entanto, para a espécie bovina, BLOM<sup>(5)</sup> (1950) classificou as anormalidades espermáticas em primárias, secundárias e terciárias.

Com respeito a gota citoplasmática proximal em bovinos segundo LAGERLÖF<sup>(42)</sup> (1934) sua presença deve ser registrada como patológica, mesmo em pequenas porcentagens, o que sugere distúrbios do processo de maturação do espermatozóide. As gotas distais foram observadas em nível superior a 25% em touros com boa saúde e fertilidade. Entretanto, observações de FAWCETT<sup>(22)</sup> (1965) sobre espermatozóides de epidídimo de cobaia revelam que a gota é encontrada usualmente a meio caminho da peça intermediária, com características de dilatação simétrica e fusiforme, onde considerável abundância de citoplasma residual persiste entre a membrana celular e a espiral mitocondrial. Esta estrutura contém numerosas vesículas limitadas por membrana, vacúolos, túbulos e saculações aplanadas. As membranas são de superfície lisa e a matriz citoplasmática é livre de ribossomos, glicogênio e outras inclusões granulares. As membranas são presumivelmente remanescentes do complexo de Golgi e do retículo endoplasmático que não foram incluídos no corpúsculo residual na maturação da espermátida.

Uma concavidade superficial está presente na superfície caudal do núcleo para recepção da superfície articular convexa da base da cauda. Esta é comumente denominada de "soquete de implantação" ou fossa de implantação e que na cobaia, é freqüentemente localizada excentricamente. Ela é revestida por duas membranas estritamente justapostas. A mais externa forma a chapa basal, que em muitas espécies é confinada à área da fossa de implantação, mas que na cabeça do espermatozóide de cobaia se estende em um arco de 0,5 µm ou mais além da margem vertical do núcleo. NICANDER & BANE<sup>(57)</sup> (1966) confirmam e relatam que a base da cabeça é geralmente assimétrica em um plano horizontal porque a fossa de implantação é irregular e freqüentemente deslocada para o lado.

## 9 - Percentual da Morfologia Espermática na Cobaia

FREUND<sup>(28)</sup> (1969) relatou que a média da morfologia normal espermática na cobaia foi de 95% com variação de 92 a 98%. Estes valores contrastam com a morfologia reportada para doadores humanos não selecionados (FREUND<sup>(27)</sup>, 1962).

Este achado mantém a impressão de que a espermatogênese do roedor é um processo mais preciso e bem ordenado do que no homem.

## LITERATURA

### PARTE II

#### 1 – Efeitos das Radiações Ionizantes sobre a Espermatogênese

Os efeitos das radiações ionizantes sobre o sistema reprodutor masculino foram descritos pela primeira vez por ALBERS-SHOENBERG<sup>(1)</sup> (1903) que observou que os testículos de cobaia e coelho eram esterilizados por meio de irradiação X diária.

Os efeitos das radiações ionizantes sobre a espermatogênese foram durante muito tempo investigados somente por exame histológico dos testículos, por meio do acompanhamento da evolução das células germinativas, após a irradiação (WARREN<sup>(88)</sup>, 1936; LACASSAGNE & GRICOUROFF<sup>(41)</sup>, 1941 e WARREN<sup>(87)</sup>, 1943).

HELLER<sup>(37)</sup> (1948) relatou que a injúria ocorre na fase germinativa e que com doses baixas repetitivas há um invariável efeito cumulativo marcante. O modelo de injúria e reparo foi similar em coelho, rato, camundongo e cobaia, após doses únicas e fracionadas de raios X e fracionadas com raios gama. O efeito sobre o testículo foi a gradual eliminação da espermatogênese. Em cobaias irradiadas com 175 R, observou morte das espermatogônias no período de 8 h até 10 dias, sendo muito numerosa após 48 horas. Do 4º ao 7º dia houve acentuada diminuição de espermatogênese e próximo ao 18º dia, muitos túbulos continham espermátidas e espermatozóides, mas nenhuma espermatogônia ou espermatócito. Aparentemente, as células de Sertoli não foram afetadas.

Até recentemente não havia um delineamento preciso dos tipos de células espermatogênicas ou de sua relativa distribuição no ciclo espermatogênico (LEBLON & CLERMONT<sup>(46)</sup>, 1952; CLERMONT & LEBLOND<sup>(12)</sup>, 1953; OAKBERG<sup>(59)</sup>, 1956 e CLERMONT & PEREY<sup>(13)</sup>, 1957).

ROOSEN-RUNGE<sup>(69)</sup> (1962) descreveu três tipos de espermatogônia morfológicamente distintos: tipo A, intermediário e tipo B. No início de cada ciclo a espermatogônia do tipo A se divide em duas e estas produzem quatro; uma dessas quatro não se dividirá, tornando-se latente até o próximo ciclo. As outras três dividem-se sincronicamente, produzindo seis células intermediárias e estas ao se dividirem dão doze espermatogônias do tipo B. Quando estas se dividem produzem 24 células (espermátocitos pré-leptóteno).

LEONARD<sup>(47)</sup> (1970), injetou timidina triciada em camundongos e através do acompanhamento da diferenciação das células marcadas pelo processo de autorradiografia confirmou as observações feitas por ROOSEN-RUNGE<sup>(69)</sup> (1962), demonstrando também que os espermátocitos de primeira ordem efetuam um processo de meiose, formando espermátocitos de segunda ordem, depois espermátidas e estas se transformam em espermatozóides.

#### 2 – Radiossensibilidade

SHAFIRO e Col.<sup>(77)</sup> (1961) relataram que após irradiação de espermatozoides maduros de cobaia, camundongos, ratos e coelhos, a produção de dominantes letais foi menor na cobaia do que nas outras espécies, sendo o coelho o mais sensível. Contudo, não somente em termos de sobrevivência do animal após altas doses de radiação, mas também na produção de aberrações cromossômicas em espermatogônia, a cobaia é a mais sensível. Isso mostra, segundo os autores que a variação entre as espécies mamíferas em radiosensibilidade genética é complexa, e que não é possível extrapolar resultados de uma espécie para outra ou de um estágio celular para outro.

PLATNIKOVA e Col.<sup>(63)</sup> (1962) sugeriram, que uma possível explicação da aparente diferença, relativa à sensibilidade dos espermatozoides e espermatogônias da cobaia e camundongo, seja uma sensibilidade mais baixa aos danos genéticos e à morte celular. A observada produção de aberrações nas espermatogônias é a resultante da indução e eliminação dos danos genéticos. Morte espermatogonial menor pode significar menor eliminação e como resultado, a espermatogônia pode parecer mais sensível. Já, LYON<sup>(49)</sup> (1970) após irradiar cobaias e coelhos com dose de 500 R de raios X, observou que cobaias e coelhos possuem uma mais baixa produção de gens letais dominantes do que o camundongo, mas houve similaridade na sensibilidade nos estágios da célula germinal, com espermátida mais sensível do que espermatozoide maduro.

MILLS<sup>(54)</sup> (1974) considerando animais de experimentação de um modo geral, declarou que o grau de radiosensibilidade varia de acordo com a seqüência do processo de maturação da linha espermatogênica. Assim, as células em processo divisional, seja por mitose ou por meiose, mostram menor grau de tolerância à radiação, fato observado histologicamente. Relatam que duas horas após a irradiação, a coluna celular espermatogênica começa a contrair-se devido a redução no número de espermatogônias, algumas das quais estão passando por mitose anormal. Quatro dias após os elementos mais diferenciados, espermátidas e espermatozoides, são encontrados inalterados, significando que o processo de maturação prosseguiu sem reposição pelas células germinativas, as espermatogônias, as quais desapareceram, resultando em diminuição dos espermátocitos primários que mostram divisão anormal. Oito dias após, não há mais espermátocitos primários e alguns secundários apresentam mitose anormal, com ulterior redução da linhagem celular. Decorridas três semanas, desaparecem, por sua vez, os espermátocitos, restando poucas espermátidas com cabeças morfológicamente anormais, que também deixam de existir por completo após cinco semanas. Nesse ponto, restam apenas células de Sertoli e novas espermatogônias, indicando regeneração do processo. Explicou que, por essa razão, a produção espermática prossegue por algum tempo após a irradiação testicular, seguindo-se período de aspermia, o qual, dependendo da dose da radiação, pode ter diferentes intervalos de duração, assim como ser completo ou incompleto.

### 3 – Efeitos quanto ao Processo de Irradiação

Estudos histológicos sobre o efeito da radiação na espermatogênese mostram resultados contraditórios quando comparados com irradiações de corpo total, corpo total com testículo protegido e de testículo com o corpo protegido (SHAVER<sup>(78)</sup>, 1953; KOHN<sup>(39)</sup>, 1955). Também, irradiações efetuadas com doses única e fracionada tem mostrado resultados conflitantes (SHERIDAN<sup>(80)</sup>, 1971; TIMBERLAKE<sup>(84)</sup>, 1973; RUDNICKI & TROJCZUK<sup>(72)</sup>, 1974; RUDNICKI & KOCHMANSKA-TWARDOWSKA<sup>(71)</sup>, 1975).

LUSHBAUGH & CASARETT<sup>(48)</sup> (1976) citam dados de SPEISER (1973) sobre doses comparativas requeridas para a obtenção de aspermia permanente por meio de exposições testiculares com doses únicas e fracionadas, para alguns animais de laboratório.

ANIMAL	DOSE ÚNICA (R)	DOSE FRACIONADA (R)
Coelho	1500 - 2500	2000 - 2300
Rato	1000 - 3000	800 - 1000
Camundongo	1600 - 3000	500 - 570
Cobaia	4500	2100

ROCHA<sup>(68)</sup> (1976) cita dados de CASARETT (1968) sobre valores de  $DL_{50(30)}$  para algumas espécies animais: cobaia – 400; camundongo – 550; rato – 750 e coelho – 800 rad.

#### 4 – Taxa de Dose

A taxa de dose é importante, tendo OAKBERG & CLARK<sup>(60)</sup> (1964) verificado que, quando baixa, não havia diferenças quanto ao número de espermatogônias destruídas, com doses de 21 a 600 R, administradas em taxas de 86; 9,3 e 0,8 R/minuto. Estes autores verificaram que com taxas de dose bem baixas, da ordem de 0,009 a 0,001 R/minuto, certo equilíbrio pode ser atingido com cerca de 80% da população normal de espermatogônias.

#### 5 – Efeitos da Radiação sobre a Qualidade do Sêmen

Os efeitos da radiação sobre a qualidade do sêmen foram estudados em camundongos e ratos (OAKBERG & DiMINNO<sup>(61)</sup>, 1960; LAWSON e Col.<sup>(45)</sup>, 1967; RUGH & SKAREDOFF<sup>(73)</sup>, 1971; SEARLE & BEECHEY<sup>(76)</sup>, 1974; BRUCE e Col.<sup>(6)</sup>, 1974), em coelhos (ESTON<sup>(22)</sup>, 1974; BARNABE<sup>(3)</sup>, 1975), em cães (CASARETT & HURSH<sup>(8)</sup>, 1956; CASARETT<sup>(7)</sup>, 1964; TOLLE e Col.<sup>(85)</sup> 1972), em suínos (PACE e Col.<sup>(62)</sup>, 1959, COX & WILLHAM<sup>(15)</sup>, 1961; WILLHAM & COX<sup>(89)</sup>, 1961), em touros (GILLETTE e Col.<sup>(32)</sup>, 1964; MURPHREE & PARISH<sup>(56)</sup>, 1956) e no homem (MACLEOD e Col.<sup>(50)</sup>, 1964; ROWLEY e Col.<sup>(70)</sup>, 1974; POPESCU & LANCRANJAN<sup>(64)</sup>, 1975).

ESCHENBRENNER & MILLER<sup>(21)</sup> (1954) verificaram que testículos de cobaias respondem à irradiação contínua de corpo inteiro similarmente aos dos camundongos, isto é, embora o tecido espermatogênico possa estar sensivelmente diminuído em quantidade, a proporção dos vários estágios desde espermatogônia até espermatozóide apresentou-se relativamente normal.

Em cobaias, a produção de sêmen após a irradiação X (220 kV) de corpo inteiro com doses únicas de 75, 150 e 300 R com taxas de dose de 59 R/minuto, foi estudada por FREUND & BORRELLI<sup>(30)</sup> (1964) por meio de colheita semanal pelo método da eletroejaculação. Os autores relataram que não houve efeito aparente da irradiação X sobre o sêmen, em nenhum dos níveis utilizados (75 a 300 R), antes da 7ª semana após a irradiação. O declínio na concentração por ml e por ejaculado ocorreu durante a 8ª semana após a irradiação e prolongou-se por 7 semanas após 75 R; por 21 semanas com 150 R e mais do que 42 semanas após 300 R, demonstrando que o intervalo de diminuição é diretamente proporcional à dose de irradiação. O fato do declínio da concentração espermática ocorrer após a sétima semana é explicado pelo tempo requerido para complementação da espermatogênese e para o movimento dos espermatozoides através do epidídimo e vaso deferente, e que esse tempo, por meio dos dados apresentados é de aproximadamente 49 dias na cobaia. Embora o efeito da irradiação sobre a concentração espermática tenha sido marcante, no período de 8 a 14 semanas, não o foi sobre o volume ejaculado, contudo a motilidade espermática nesse período foi drasticamente reduzida em todos os níveis de radiação. Durante as primeiras 7 semanas não houve diminuição da motilidade. As ligeiras quedas do volume ejaculado após períodos semanais de colheita, parecem ser características à cobaia. Os autores relataram ainda, que não houve mortes devidas à irradiação e que os animais não demonstraram nenhum outro sintoma de dano devido ao processo.

FREUND & BORRELLI<sup>(29)</sup> (1961) e FREUND & BORRELLI<sup>(31)</sup> (1965) investigaram os efeitos da radiação X de 220 kV sobre a produção de sêmen obtido por eletroejaculação semanal de cobaias adultas da raça inglesa, por meio de experimentos com dose única de 300 R sobre o corpo inteiro, sobre os testículos com o corpo e cabeça protegidos e sobre o corpo e cabeça com testículos protegidos. Em todos os tratamentos ocorreu que a acentuada do número de espermatozoides ejaculados, atingindo taxas abaixo de 1 milhão de células por ejaculado durante 12 semanas para irradiação de corpo inteiro, 6 ou 7 semanas para irradiação testicular (cabeça e corpo protegidos), e por somente uma semana para irradiação de cabeça e corpo (testículo protegido). A recuperação aos níveis



da concentração espermática dos controles, ocorreu 21 semanas após a irradiação testicular (cabeça e corpo protegidos) e 47 semanas após cabeça e corpo irradiados (testículo protegido). O tratamento radioativo praticado somente na cabeça não revelou efeitos deletérios sobre a produção espermática, assim como sobre a motilidade até a sétima semana e sobre o volume do ejaculado durante todo o experimento. Nos animais tratados de corpo inteiro e de testículos com corpo e cabeça protegidos, houve declínio da motilidade no período de 8 a 14 semanas, com subsequente retorno aos valores de pré-tratamento.

## MATERIAL E MÉTODO

### 1 – Dados Gerais

#### 1.1 – Animais de Experimentação

Foram utilizadas 53 cobaias<sup>1</sup>, *Cavia porcellus*, machos albinos adultos, com idade de 12 meses e peso oscilando entre 814 e 1202 gramas, no início do experimento.

Os animais, desde a idade de 4 meses, foram mantidos no biotério da Área de Radiobiologia do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – SP. Durante esse tempo, assim como no decorrer da fase experimental, os animais foram alimentados com a mesma ração em forma de "pellets"<sup>2</sup>, constituída de fubá de milho integral, resíduos de trigo, farelo de amendoim, farelo de soja, germen de trigo, farinha de ostras, farinha de ossos, sal iodado, coccidiostático, e enriquecida com minerais (ferro, cobre, cobalto, manganês, zinco, cálcio e fósforo) e vitaminas (A, complexo B, C, E, ácido pantotênico e nicotínico). Receberam ainda, capim, cenoura e água fresca "ad libitum".

#### 1.2 – Formação dos Grupos

Para a realização das fases pré-experimental e experimental, as cobaias foram reunidas em 11 grupos de 5 animais com exceção dos 2 lotes controles que possuíam 4 animais em cada um.

Os animais de cada grupo foram pesados e identificados por meio da coloração da parte superior da cabeça e pescoço (LANE-PETTER & PORTER<sup>(43)</sup>, 1963), de acordo com o seguinte critério:

Animal nº	Coloração	Corante
1	Amarela	Ácido pícrico
2	Verde	Verde malaquita
3	Vermelho	Vermelho neutro
4	Violeta	Violeta de metila
5	Branca	Natural

1 Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

2 Moimho São Cristovão.

Os lotes foram identificados de acordo com o tratamento experimental a que seriam submetidos, assim:

GRUPO Nº	TRATAMENTO EXPERIMENTAL	IDENTIFICAÇÃO
<b>DOSES FRACIONADAS</b>		
1	2 rad/semana	F-2
2	5 rad/semana	F-5
3	10 rad/semana	F-10
4	20 rad/semana	F-20
5	20 rad com intervalos de 21 dias	F4-20
<b>DOSES ÚNICAS</b>		
6	50 rad	U-50
7	100 rad	U-100
8	200 rad	U-200
9	400 rad	U-400
<b>TESTEMUNHAS</b>		
10	Sem irradiação	C-1
11	Sem irradiação	C-2

## 2 – Tratamento Radioativo

### 2.1 – Fonte Radioativa

Utilizamos uma fonte puntiforme (Figura 8) de radiação gama de  $^{60}\text{Co}$  com feixe colimado, operada à distância.

### 2.2 – Arranjo Experimental

#### 2.2.1 – Suporte para Irradiação dos Animais

O suporte para irradiação (Figura 8) foi contruído em forma de prateleira com dois estágios. O primeiro estágio é fixo e contruído por meio de canos com 1,40 m de altura x 1,20 m de largura, mantido por traves de ferro verticais e horizontais. O segundo estágio, móvel, feito com canos de 1,20 m dispostos verticalmente, com diâmetro pouco menor que os do primeiro estágio, onde se encaixam, permitindo regulagens na altura. Na parte superior possui uma chapa de aço com recorte em círculo no centro e um anel de metal com 13 cm de diâmetro.

### 2.2.2 – Dispositivo para a Irradiação Testicular

Após o cálculo da blindagem que seria necessária para evitar ao máximo a irradiação do corpo dos animais, foram construídos 5 discos de Chumbo (Figuras 3 e 7) com 30 cm de diâmetro e 3 cm de altura, com rebaixos e ressaltos de 0,5 cm. Nos discos executou-se cinco perfurações (Figuras 3 e 4) de 5,5 cm de diâmetro e distanciadas do centro 7,75 cm. Na parte superior do último disco colocou-se um parafuso rosqueado.

### 2.2.3 – Dispositivo para a Contenção dos Animais quando da Irradiação

Para a contenção dos animais no momento da irradiação foi construído um dispositivo (Figuras 5 e 6) que consta de 5 madeiras com 19,5 x 9,7 x 1,0 cm com recorte arredondado de 5,5 cm na parte terminal e de cada lado do recorte foram dispostas 2 peças de acrílico (5,5 x 2,0 x 1,0) para evitar que os testículos fossem movimentados lateralmente projetando-se para fora do campo da irradiação. O recorte tem a finalidade de não permitir que as cobaias recolham os testículos para o canal inguinal. Na parte frontal da madeira foi disposta em ângulo de cerca de 60°, uma placa de fórmica de 14 x 9,7 x 0,4 cm com recorte circular de 4,3 cm de diâmetro que se inicia por uma fresta de mais ou menos 4 x 2,3 cm com os cantos arredondados, cuja finalidade é a de conter a cabeça do animal.

Para eliminar ao máximo os movimentos da cobaia, foram colocadas 2 tiras de elásticos de 15 x 10 cm presas à lateral da madeira e três fileiras de ganchos (para animais de porte diferente), mantendo o dorso do animal pressionado para baixo. Duas outras tiras de 18 x 6 cm, com 2 fileiras de ganchos, foram colocadas na altura da região cervical para prevenir que o animal viesse tirar a cabeça da peça de fórmica.

Nas laterais da madeira foram presas 2 peças de alumínio dobradas em L com 3 perfurações, com o propósito duplo de manter o dispositivo no lugar e possibilitar o recuo ou o avanço de animais de portes diferentes.

Para suporte do arranjo de contenção e das tiras para prender a região cervical, utilizamos um círculo de madeira com 60 cm de diâmetro por 1 cm de espessura, cujo centro foi perfurado para encaixe do parafuso disposto no último disco. Assim, por meio de uma porca, todo o conjunto foi mantido preso sem possibilidade de movimento.

## 2.3 – Dosimetria

### 2.3.1 – Calibração da Fonte de $^{60}\text{Co}$

Para a obtenção da taxa de dose de 7R/min, na região alvo (testículos), após a montagem do dispositivo de contenção sobre os discos, utilizamos uma câmara de ionização<sup>1</sup> para as medidas da radiação. Movimentando-se o estágio superior da plataforma, a calibração foi executada até que se conseguisse a taxa de dose pré-estabelecida em todos os furos. Durante todo o experimento a câmara foi utilizada para comprovação.

### 2.3.2 – Teste para Avaliar a Dose Absorvida, Espalhamento Interno e Eficiência do Dispositivo para Irradiação Testicular

Para a efetuação dos testes, um sistema simulador ("phantom") foi construído (Figura 9).

O citado simulador foi construído com tubo plástico (PVC) com 10 cm de diâmetro, 28 cm de comprimento e paredes com 0,2 cm de espessura. Uma extremidade foi fechada com o mesmo material e na outra foi preparada uma rosca para receber uma tampa de lucite.

1 Condenser R Meter, modelo 570, Victoreen Instrument Division, Cleveland, Ohio e câmara medidora nº 553 – 25 R.

O conjunto interno (Figura 10) com 27 cm de comprimento foi construído por meio de 3 circunferências de lucite com 9,8 cm de diâmetro, perfuradas no centro e em níveis circulares, além de 3 tubos de alumínio com 27 cm de comprimento e pontas rosqueadas. Os tubos foram introduzidos nas bordas das circunferências de lucite, dando estabilidade ao conjunto.

A face de uma circunferência de lucite foi numerada de 1 a 10 com distribuição orientada (níveis horizontais). O tubo de alumínio correspondente ao dorso do animal foi dividido em 9 regiões e recebeu as letras de A a I (níveis verticais).

Através dos orifícios da lucite, introduziram-se tubos plásticos e no interior destes foram dispostos dosímetros de tetrafluoreto de Lítio (LiF:Mg), mantidos nos níveis por meio de espaçadores plásticos (espaguete). Terminada a montagem, o "phantom" foi preenchido com água.

O esquema mostrando a distribuição dos dosímetros e os valores encontrados após a irradiação de 1 minuto, bem como, o arranjo sólido do campo de irradiação, são mostrados nas Figuras 11 e 12.

### 2.3.3 – Comprovação das Doses de Exposição

Para comprovação de que o animal recebera a dose de exposição estipulada, utilizamos dosímetros termoluminescentes de estado sólido (BAPAT e Col.<sup>(2)</sup>, 1978), baseados em pastilhas de  $\text{CaSO}_4:\text{Dy}$  (Sulfato de cálcio: Dysprosium compactadas com KCl (Cloreto de Potássio)). Os citados dosímetros são produzidos pelo Centro de Proteção Radiológica (CPRD-AMD) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – SP.

Os dosímetros foram protegidos com capa plástica e presos à região testicular do animal com esparadrapo. Para todas as exposições, a variação do dosímetro foi calculada como sendo de  $\pm 10\%$ .

### 2.3.4 – Esquema da Irradiação

As cobaias foram agrupadas em lotes de 5 animais e irradiadas com doses únicas de 50, 100, 200 e 400 R e doses fracionadas de 2, 5, 10 e 20 R, durante 10 semanas. Um grupo foi irradiado com dose fracionada de 20 R com intervalos de 21 dias (4 tratamentos). A taxa de dose foi de 7 R/minuto. As irradiações foram realizadas sempre pela manhã.

## 3 – Amostragem

### 3.1 – Esquema da Colheita do Sêmen

As colheitas foram realizadas semanalmente, em todos os animais, durante 11 semanas consecutivas. A obtenção do sêmen foi feita por meio do método de eletroejaculação.

As cobaias pertencentes aos grupos de doses únicas (U-50, U-100, U-200 e U-400) foram eletroejaculadas 7 dias após a irradiação e semanalmente, durante 11 semanas.

Os grupos utilizados para as exposições fracionadas (F-2, F-5, F-10 e F-20) foram coletados 4 dias após as irradiações, sendo que o grupo F-20 foi coletado 5 dias após as irradiações e aos 12 e 19 dias dos tratamentos radioativos.

O sêmen dos animais pertencentes aos grupos testemunhas foi colhido semanalmente e na mesma ocasião em que se procedeu a colheita nos grupos irradiados.

### 3.2 – Eletroejaculador

#### 3.2.1 – Considerações Gerais

O instrumento utilizado para a obtenção do sêmen de cobaia, foi projetado após experimentações realizadas com gerador de funções<sup>1</sup>, acoplado a um osciloscópio<sup>2</sup>.

O instrumento após a definição dos parâmetros foi projetado e construído pela Área de Instrumentação Eletrônica do IPEN – SP.

O aparelho (Figuras 13A e 14) produz um sinal elétrico, onda quadrada, com frequência variável e amplitude fixa, que é transferido ao animal por meio de dois eletrodos, sendo um anal e o outro por contato superficial na região lombar.

#### 3.2.2 – Painel de Controle

O painel de controle (Figuras 13 e 13A) é composto das chaves liga-desliga (1) e seletora do modo de operação (2), lâmpada indicadora de funcionamento (3), potenciômetro de ajuste de frequência (4), botão para liberar a corrente (5), potenciômetro de ajuste do tempo de choque (6), potenciômetro de ajuste da corrente de saída (8), chaves de seleção do fundo de escala do amperímetro (9), amperímetro (10) e bornes de saída (7).

#### 3.2.3 – Diagrama em Blocos

Basicamente, o instrumento consta de 4 circuitos distintos, acoplados entre si, como mostra a figura abaixo:

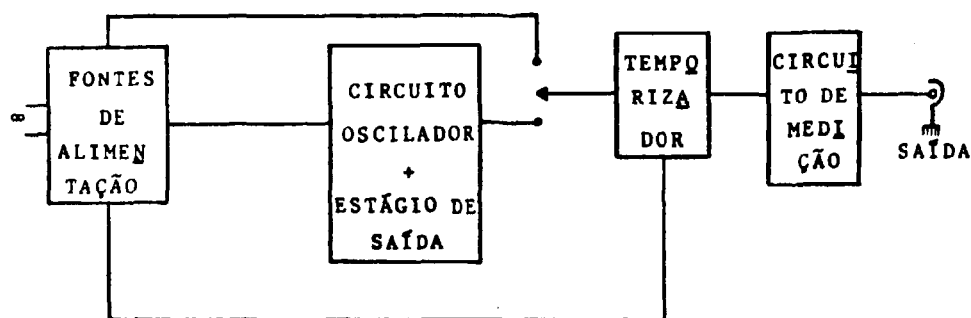


Figura 1 – Diagrama em blocos do eletroejaculador

#### 3.2.4 – Descrição dos Circuitos

##### a) – Fontes de Alimentação

As fontes de alimentação (Diagrama Elétrico Figura 14A) são em números de três, a saber:

1 – IEC (Interstat Electronic Co.) modelo F-34.

2 – Tektronix modelo 213.

F1 – Fonte principal, que alimenta direta ou indiretamente todos os estágios do instrumento. É constituída por Q1, Q2, Q3, e Dz1, e variável de 18,5 a 37 V por meio de ajuste interno R5. Sua corrente máxima de saída é de 400 mA.

F2 – Formada por diodo zener Dz2, polarizado a partir de F1 e cuja função é alimentar o estágio temporizador.

$$V_{\text{saída}} \approx 5,1 V_{\text{dc}}$$

$$I_{\text{saída}} \approx 50 \text{ mA}$$

F3 – Constituída por diodo zener Dz3, também polarizado a partir de F1. Tem a finalidade de fornecer ao instrumento, uma segunda opção de saída, que não uma onda quadrada, por meio da chave seletora do modo de operação (2) do painel.

$$V_{\text{saída}} \approx 12 V_{\text{dc}}$$

$$I_{\text{saída}} \approx 250 \text{ mA.}$$

b) Circuito Oscilador + Estágio de Saída (Blocos A e B do Diagrama dos Circuitos Elétricos) (Figura 14B).

Oscilador: é a base principal do instrumento responsável pela formação da onda quadrada que é obtida na saída, após passar pelos estágios de saída e de medição. É formado por um astável (Q4, Q5) e por um Darlington (Q6, Q7), cuja finalidade é fornecer corrente ao estágio de saída, sem carregar o circuito anterior. O ajuste de frequência da onda gerada (330-1250 Hz) é feito por meio do potenciômetro (4) do painel.

Estágio de saída: no emissor Q7, temos uma onda quadrada positiva de amplitude de 33,0 V. Este sinal é jogado nas bases de 2 Darlington (Q8, Q9 e Q10, Q11) complementares, que formam o estágio de saída, juntamente com C7 e C5, cuja função é cortar o nível DC, tornando a onda quadrada simétrica em relação ao zero, obtendo-se então, um sinal de onda quadrada de 12 VRMS. Esta é a opção AC da chave seletora (2) instalada no painel.

c) Temporizador + Circuito Medidor (Blocos C e D do Diagrama dos Circuitos (Figura 14B).

Temporizador: circuito que determina o tempo (0 a 10 seg.), durante o qual o instrumento fornece à sua saída o sinal AC (onda quadrada) ou DC. É constituído por C1 e Q12 e acionado pelo botão choque (5) que por meio do ajuste do potenciômetro (6) libera o estímulo no tempo pré-selecionado.

Circuito medidor: uma vez que o instrumento fornece, tanto sinal DC quanto AC, utilizou-se um circuito em ponte, formado por D9, D11 e D12, a fim de retificar o sinal (quando em operação AC) para que o mesmo pudesse ser medido pelo amperímetro (10) que é um medidor DC. Além do circuito em ponte, constam do circuito de medição, os resistores R23, R24 e R25, que determinam o fundo de escala do amperímetro.

Para o experimento, o instrumento foi adaptado para saída em tensão, porém, há possibilidade de uma saída em corrente, por meio da conexão da chave CH3B ao circuito, juntamente com os resistores RA, RB, RC e RA'B'C', sendo o último responsável pelo ajuste da corrente máxima de saída do potenciômetro (8) do painel.

### 3.2.5 – Operação

Qualquer que seja o modo de operação escolhido (AC, DC, saída por tensão ou por corrente) o aparelho deve ser ligado à rede em 110 V-60 Hz.

Operação em AC com saída em tensão, utilizada no experimento:

- 1 – Ligar a chave 1;
- 2 – Chave 2 em AC;
- 3 – Ajustar o potenciômetro (4) para a frequência requerida ao sinal de saída;
- 4 – Ajustar o controle de tempo (6);
- 5 – Acionar o botão de choque (5);

### 3.2.6 – Condições do Instrumento quando Utilizado no Experimento

O instrumento foi utilizado com ajuste da fonte F1 para 32 V. O valor da tensão foi obtido por meio de experimentos de aferição da resistência média oferecida pelas cobaias. As medidas foram realizadas por meio do gerador de funções acoplado a um osciloscópio. As medidas variaram entre 700 e 1200 Ohms, com média de 1000 Ohms. Associando uma carga ativa (Figura 2) à saída do aparelho (7), foi fixada a intensidade da corrente em 28 mA, por meio do ajuste interno (R5) da fonte F1.

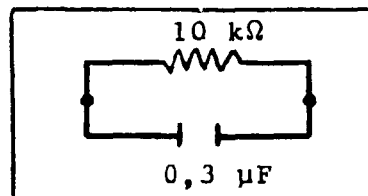


Figura 2 – Carga simuladora da resistência interna média das cobaias

### 3.2.7 – Eletrodos

Para a transferência do sinal elétrico ao animal, utilizamos 2 eletrodos (Figuras 13A, 15 e 16): um anal e outro lombar.

O eletrodo anal foi confeccionado por meio de um fio elétrico com 14 cm de comprimento e 0,4 cm de diâmetro. Parte desse fio, 5 cm foi desencapada e a extremidade foi arredondada. Na outra extremidade foi soldado outro fio (nº 18) com 2 metros de comprimento.

O eletrodo lombar é composto de 2 partes: a primeira constituída de um fio nº 18 com 2 metros de comprimento, tendo em uma extremidade um prendedor do tipo jacaré. A segunda parte é um parafuso de cobre, com 6 cm de comprimento e 3/8" de diâmetro, possuindo uma cabeça em forma de disco com 1,75 cm de diâmetro e espessura de 1 mm, e preso ao sistema de contenção por meio de uma porca. Os eletrodos antes do uso, foram limpos com lixa nº 600.

### 3.3 – Dispositivo para Contenção do Animal

O dispositivo (Figuras 15, 16 e 16A) foi construído por meio de 2 placas de madeira, sendo que a primeira tem a função de manter o animal imobilizado além do eletrodo lombar. Ela foi confeccionada com 2 lâminas de eucatex unidas com cola e prensadas, apresentando dimensões de 30 x 20 x 1,0 cm. No centro da placa, dirigindo-se para as extremidades, foi aberta uma fresta com 1,2 cm de largura e comprimento de 16 cm, com a finalidade de albergar o eletrodo lombar e possibilitar o seu deslocamento para ajuste de animais com portes diferentes. Na parte superior da placa existem 4 furos, através dos quais são passados 2 cordões que mantêm uma peça de pelica com 6,5 cm de comprimento por 6,0 cm de largura, cuja finalidade é suportar o tórax do animal e prevenir movimentos bruscos que possam acarretar luxações nos membros anteriores. Nas laterais foram dispostas 2 tiras de elástico com 10 cm de largura, a primeira com 18 cm e a outra com 14 cm de comprimento, presas lateralmente e por trás da placa. Estão providas de 3 conjuntos de ganchos posicionados verticalmente em linha e em 2 níveis horizontais, para possibilitar a contenção de animais de portes diferentes.

A placa de contenção está presa por meio de dobradiça de 20 cm de comprimento e em ângulo de 45° à segunda placa que atua como suporte e mede 40 x 32 x 2 cm. A angulação é mantida por um calço de madeira preso à placa suporte.

### 3.4 – Cilindros Coletores

Os recipientes para receber o ejaculado foram construídos por meio de seringas de vidro com capacidade para 5 ml. As seringas tiveram seus bicos cortados e soldados à fogo. A outra extremidade foi serrada e arredondada semelhantemente a extremidade superior de um funil. A comprovação de que a capacidade dos tubos coletores não foi alterada foi executada por meio de medidas com pipetas centesimais.

### 3.5 – Tampão Fosfato Sörensen (GOMORI<sup>(33)</sup>, 1955)

Para a colheita do ejaculado, o cilindro coletor recebeu 2 ml de tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4.

### 3.6 – Alfa-Quimotripsina

Devido ao fato do ejaculado da cobaia coagular-se em poucos segundos após a emissão, utilizamos uma enzima proteolítica, alfa-quimotripsina<sup>1</sup>, tipo II de pâncreas bovino, na proporção de 1 mg por ml do tampão fosfato. O teste para comprovação da atividade foi executado pelo método da digestão de caseína (KUNITZ<sup>(40)</sup>, 1947).

### 3.7 – Preparação dos Animais para a Eletroejaculação

As cobaias, possuem 6 vértebras lombares (L1-L6) e 13 torácicas (T1 – T13). Como referência anatômica, a L6 encontra-se entre as margens superiores do íleo. (COOPER & SCHILLER<sup>(14)</sup>, 1975).

Após a contagem das vértebras lombares, a região de interesse L4-T13, foi depilada, operação esta executada semanalmente antes das colheitas.

### 3.8 – Posicionamento dos Eletrodos

O eletrodo lombar foi posicionado entre as vértebras lombares L1-L3 e o outro eletrodo foi inserido 4,5 cm no ânus, situado imediatamente acima do saco perineal (COOPER & SCHILLER<sup>(14)</sup>, 1975).

1 - Dow Química S/A. (22 636 UP/mg).



### 3.9 – Colheita do Material Espermático (Figuras 16 e 16A)

A região depilada recebeu uma fina camada de pasta para eletrodo EKG sol.<sup>1</sup>, com o intuito de melhorar a transmissão dos impulsos elétricos. O animal era preso no dispositivo de contenção, inicialmente mantido pelo sistema sustentador do tórax. Posicionado o eletrodo lombar, as tiras de elástico foram passadas em volta do corpo e presas pelos ganchos. Os membros foram amarrados com os cordões passados nas argolas. O eletrodo anal, untado com vaselina sólida neutra e introduzido no ânus contou com uma tampa de borracha perfurada para evitar introdução excessiva. Para impedir sua expulsão, o eletrodo foi mantido preso por meio de esparadrapo junto à placa de contenção.

Momentos antes de se proceder a eletroejaculação, a alfa-quimotripsina era adicionada à solução tampão contida no cilindro coletor, material este mantido em banho maria a 39°C.

#### 3.9.1 – Procedimento na Colheita

As regiões externas do saco perineal e o pênis desembainhado foram limpos com gaze umedecida em água destilada. O pênis era então introduzido no coletor contendo a enzima e o tampão a 39°C. Ao cessar o primeiro estímulo, o pênis foi manipulado suavemente por meio de um movimento de distensão conjugado com leve pressão na glândula. Na maior parte das vezes esta manobra foi suficiente para que o animal, após um retesamento do corpo acompanhado de guinchos típicos, lançasse ativamente o conteúdo seminal no interior do coletor. Em seguida, movimentos suaves no pênis foram realizados para a colheita do material porventura ainda contido na uretra. O sêmen colhido foi logo movimentado levemente com um bastão de vidro e recolocado no banho maria a 39°C, onde foi mantido por uma hora.

Nos casos de insucesso após o primeiro estímulo, um segundo estímulo foi dado, com intervalo de 10 segundos e o processo de manipulação era repetido.

Como parâmetro, no início do experimento, foi fixado um número máximo de 5 estímulos.

Nos casos, em que não houvesse ejaculação após 3 estímulos, foi efetuada a mudança na posição do eletrodo lombar.

Durante todo o experimento, o eletroejaculador funcionou em AC com o ajuste de tempo de liberação de choque em 4 segundos e a frequência em 1000 Hz. O tempo de descanso entre 2 estímulos, quando necessário, foi sempre de 10 segundos.

## 4 – Estudo do Sêmen

### 4.1 – Características

O sêmen foi classificado visualmente no decorrer da ejaculação (Figuras 16 e 16A), como coagulado ou liquefeito com base em uma variação de +++ coagulado/ 0 liquefeito (completamente coagulado), passando por ++ coagulado/ ++ liquefeito (50% coagulado e 50% liquefeito até 0 coagulado/ +++ liquefeito (completamente liquefeito). As formas gelatinosas foram classificadas como completamente coaguladas. Para facilidade de exposição e interpretação são apresentadas as proporções das formas líquidas, gelatinosas e totalmente coaguladas.

1 - Burton, Parsons & Company, Inc. Washington.

#### 4.2 – Volume

Terminada a ejaculação (Figura 16A), o volume foi verificado diretamente no coletor graduado e os valores para ejaculado total (ejaculado + tampão) e ejaculado, foram anotados.

#### 4.3 – Motilidade Percentual

Decorrido o prazo de 1 hora, estipulado para a ação proteolítica da alfa-quimotripsina, o conteúdo do coletor foi homogeneizado por meio de suaves movimentos rotatórios. Uma alíquota (2 a 3 gotas) foi depositada em lâmina previamente aquecida e em platina aquecida (39°C) observada sob microscópio com aumento de 100 x, verificando-se o movimento dos espermatozoides, em vários campos. A classificação foi feita de 5 em 5%, tomando-se como base a movimentação máxima como sendo 100%. Esta classificação é método subjetivo, portanto foi realizada sempre pela mesma pessoa.

#### 4.4 – Fixação dos Espermatozoides pelo Formol Salino

Após cada exame da motilidade, o tubo, independente do volume ejaculado, recebeu 2 ml de formol salino.

A solução de formol salino foi preparada conforme indicado por HARASYMOWYCZ e Col.<sup>(36)</sup> (1976), da seguinte maneira:

- 1 – Solução "buffer" estoque – 200 ml de solução de 21,682 g de fosfato de sódio bibásico bihidratado<sup>1</sup> em 500 ml de água destilada, mais 80 ml de 22,254 g de fosfato de potássio monobásico<sup>1</sup> em 500 ml de água destilada.
- 2 – Solução estoque de Cloreto de Sódio – 9,01 g de Cloreto de Sódio P.A.<sup>2</sup> em 500 ml de água destilada.
- 3 – Solução de formol salino:
  - a) 100 ml de solução "buffer" estoque;
  - b) 150 ml de solução estoque de Cloreto de Sódio;
  - c) 62,5 ml de formalina comercial<sup>3</sup> (formaldeído 40%);
  - d) completamos o volume para 500 ml com água destilada.

Esta solução age como verdadeiro fixador, tendo como característica desvitalizar quase que instantaneamente o espermatozoide, prevenindo que ocorra dano em sua morfologia (DOTT & FOSTER<sup>(18)</sup>, 1975; DOTT e Col.<sup>(19)</sup>, 1976).

#### 4.5 – Contagem por mm<sup>3</sup> (Concentração/mm<sup>3</sup>).

A contagem dos espermatozoides foi feita por método adaptado da hematologia. Após a homogeneização do tubo, uma alíquota foi retirada por meio de pipeta para glóbulos brancos e diluída (1:10) com líquido de Türk (JANNINI<sup>(38)</sup>, 1961). Depois de obter mistura homogênea, a pipeta foi deixada em repouso durante alguns minutos. Após nova homogeneização e desprezadas as primeiras gotas, uma

1 – Carlo Erba

2 – Merck Darmstadt

3 – Quel

gota do líquido foi colocada em cada lado da câmara de Neubauer melhorada e a contagem foi feita sob microscópio com aumento de 100 X. Devido ao sêmen estar diluído pelo tampão (2 ml) e pela solução de formol salino (2 ml) a contagem foi realizada sempre nos 18 mm<sup>2</sup> que compreendem uma câmara completa e o mm<sup>2</sup> foi obtido pela média dos mm<sup>2</sup> contados e divididos por 18. A contagem dos espermatozóides por mm<sup>3</sup> foi obtida multiplicando-se o mm<sup>2</sup> médio por 100.

Quando o número de espermatozóides era muito pequeno, contagens foram feitas em várias câmaras com alíquotas diferentes, efetuando-se no final a média das contagens e multiplicando-se por 100 para obter o mm<sup>3</sup>.

Para efeito de contagem, todos os espermatozóides que tivessem com a cabeça no interior da câmara foram contados, incluindo-se os empilhamentos que foram contados por meio do número de caudas.

#### 4.6 – Concentração por Ejaculado (Concentração X 10<sup>6</sup>/Ejaculado)

A concentração total dos espermatozóides por ejaculado, foi obtida multiplicando-se o valor encontrado em mm<sup>3</sup> pelo volume total ejaculado. Foi considerado como volume total ejaculado, o ejaculado do animal acrescido dos volumes adicionados, isto é, volume ejaculado + 2 ml de sol. tampão fosfato + 2 ml de sol. de formol salino. Este total multiplicado por mm<sup>3</sup> foi representado como concentração dos espermatozóides X 10<sup>6</sup>/ejaculado.

#### 4.7 – Morfologia dos Espermatozóides

Para a classificação morfológica dos espermatozóides da cobaia, foi utilizada a indicada por BLOM<sup>(5)</sup> (1950). O citado autor, denominou de anomalias primárias àquelas que são admitidas como sendo provenientes de desordens do epitélio seminífero, a saber: formas anormais de cabeça, anomalias de desenvolvimento do acrosoma, da peça intermediária e da cauda. Como secundárias, as formas surgidas como resultado de condições não fisiológicas que afetam o espermatozóide após ter deixado o epitélio seminífero, possivelmente durante a permanência no epidídimo ou durante o processo de ejaculação. Estas anomalias compreendem: cabeças normais destacadas, separação do capuchão cefálico, espermatozóides com gotas citoplasmáticas proximais ou distais e caudas dobradas. Como terciárias, células primitivas (espermátidas e espermatócitos), leucócitos, piócitos, hemácias e células epiteliais.

Para a realização do estudo relativo à morfologia dos espermatozóides, foram preparadas lâminas do esperma fixado em formol salino, por 2 métodos diferentes:

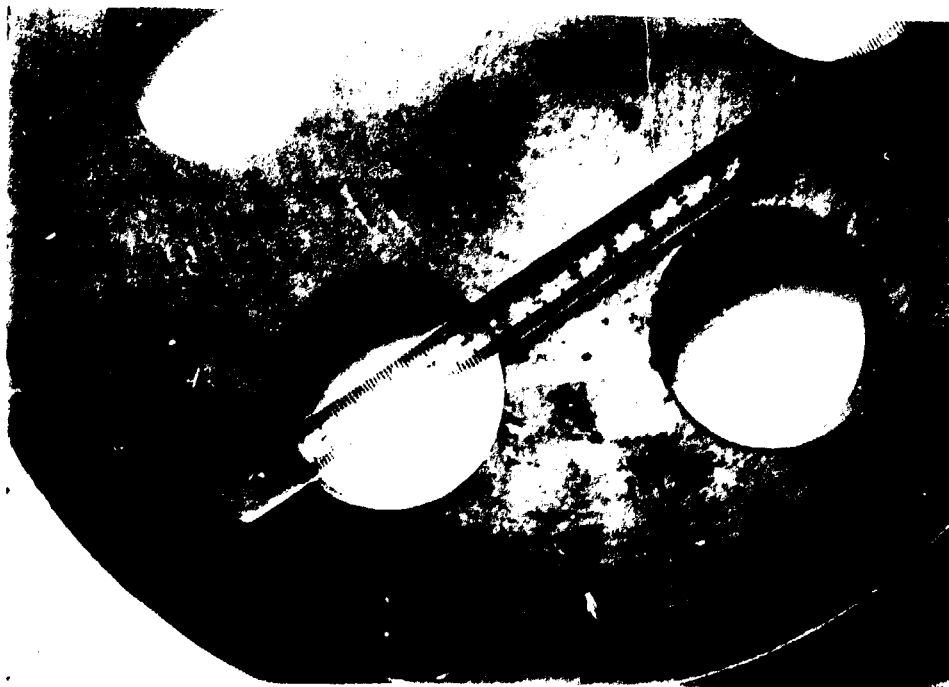
A – Exame de esfregaço corado pelo método de WILLIAMS<sup>(90)</sup> (1920), modificado por LAGERLÖF<sup>(42)</sup> (1934), conforme descreve RAO<sup>(65)</sup> (1971).

- a) preparo do esfregaço de sêmen;
- b) secagem e fixação pelo calor em chapa aquecida;
- c) fixação, 3 a 4 minutos em álcool absoluto;
- d) retirada do muco em solução de Cloramina T (Trihidratada) P.A.<sup>1</sup> a 2,5%, por 2 minutos;
- e) lavagem em água destilada seguida de outra lavagem em álcool 96<sup>o</sup>;
- f) coloração em carbolfucsina-eosina (corante de Williams) por 20 a 30 segundos;

1 – Merck Darmstadt



**Figura 3** — Dispositivo para irradiação testicular de cobaias, com finalidade dupla de blindagem e colimação



**Figura 4** — Disco de chumbo utilizado como blindagem e colimação em irradiação testicular de cobaias

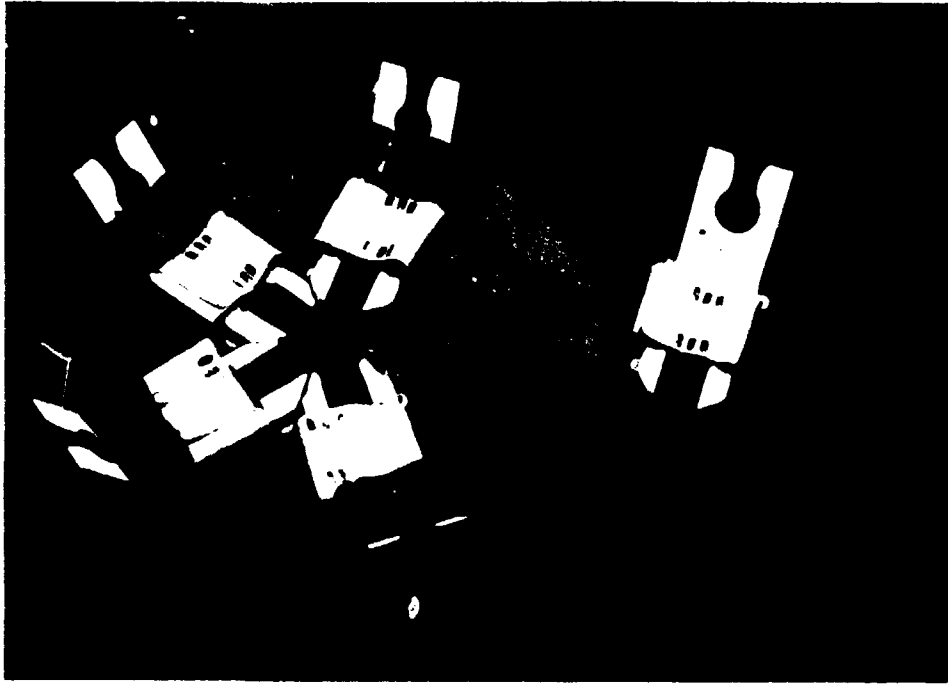


Figura 5 — Dispositivo para contenção das cobaias quando submetidas à irradiação. Detalhes

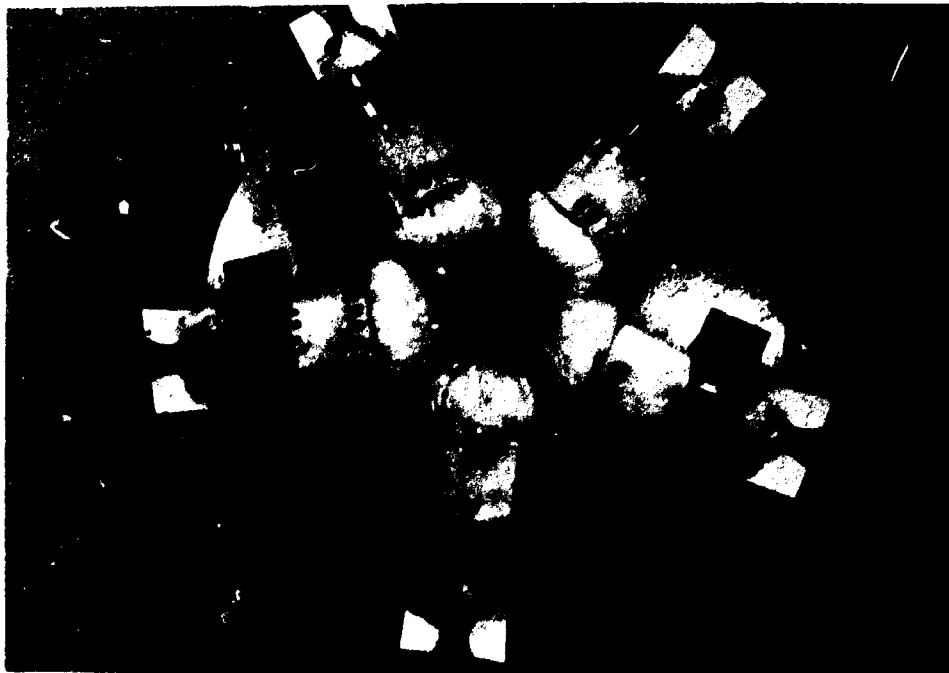
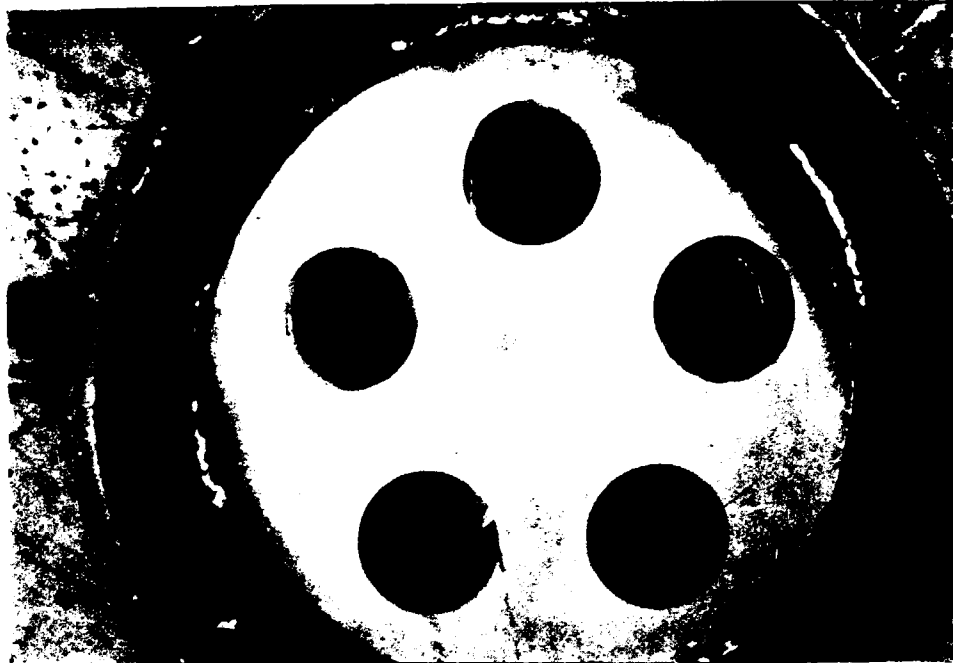


Figura 6 — Dispositivo para contenção das cobaias quando submetidas à irradiação, mostrando a posição dos animais



**Figura 7** – Sistema de blindagem e colimação visto por baixo, para mostrar posição dos testículos das cobaias quando submetidas à irradiação



**Figura 8** – Arranjo experimental para irradiação testicular de cobaias



Figura 9 - Simulador ("phantom"). Mostrando tubo de PVC e conjunto interno com face numerada para os níveis horizontais

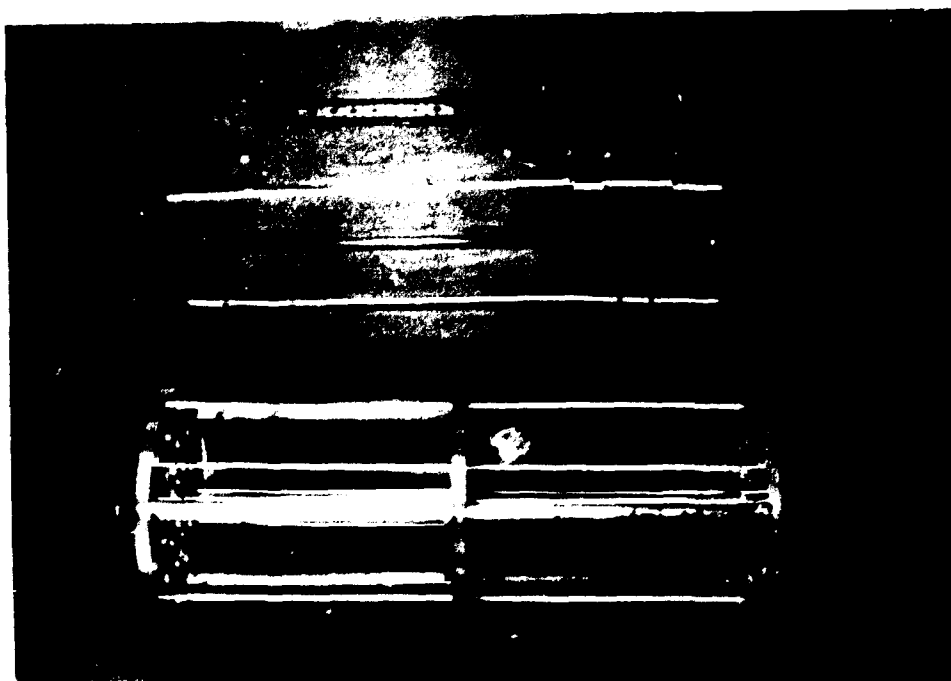


Figura 10 - Conjunto interno do simulador. Mostrando dosímetros, espaçadores, tubos plásticos e níveis verticais

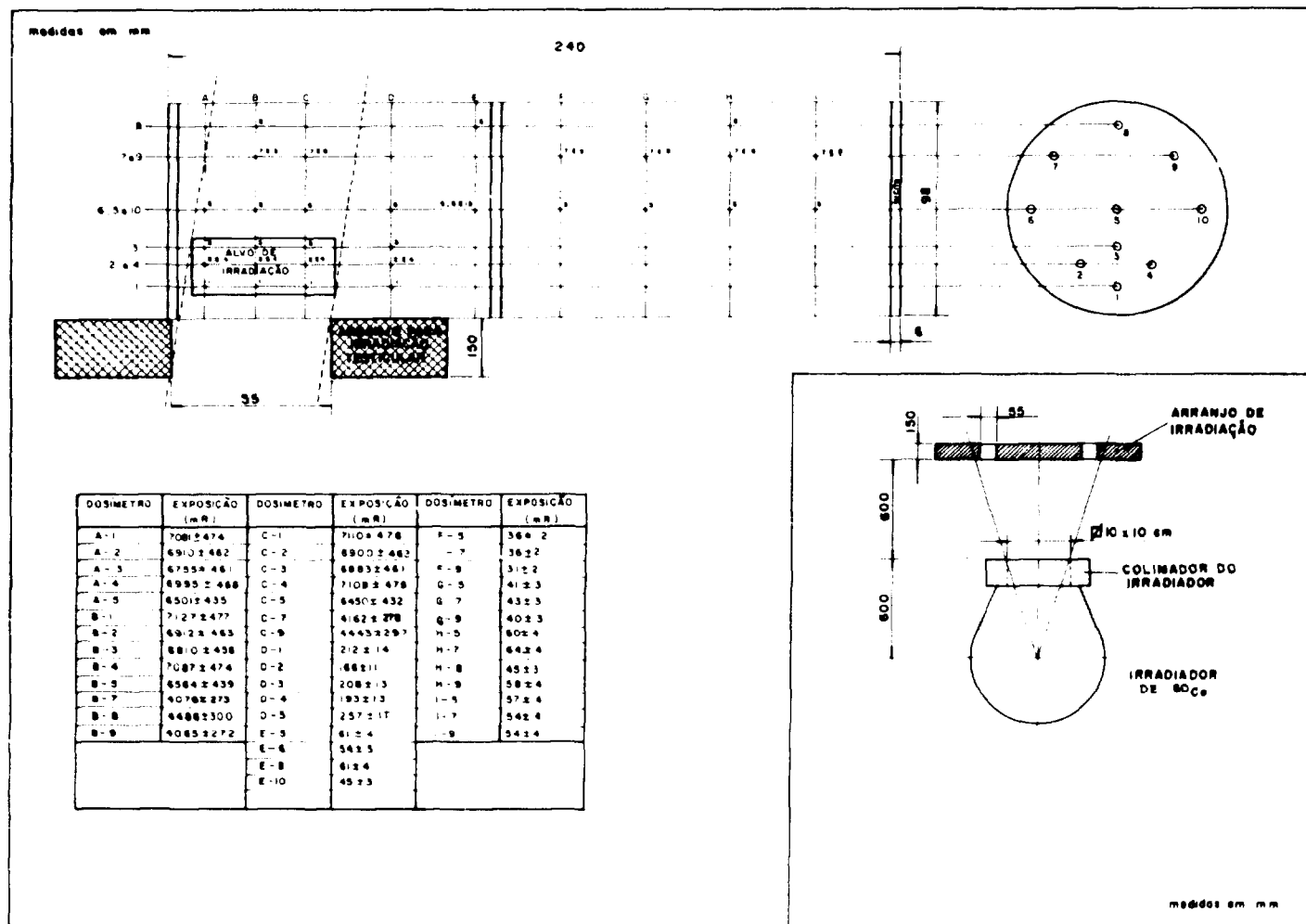
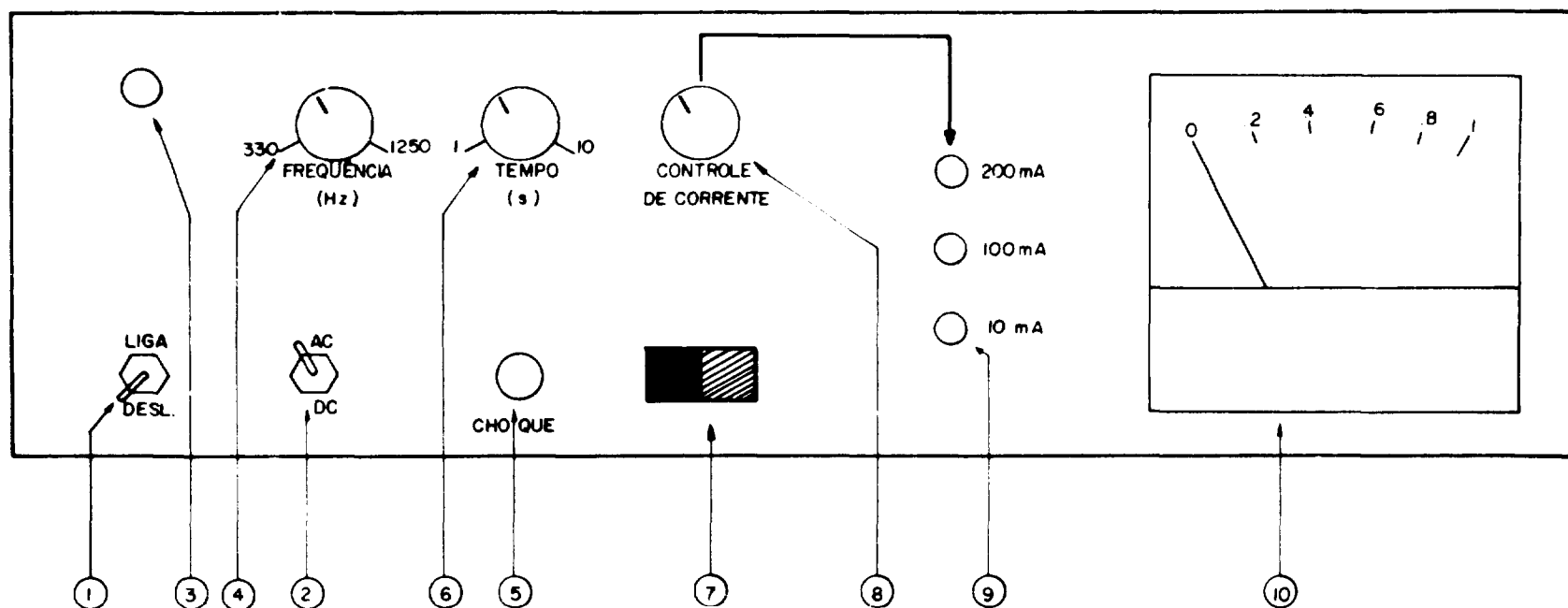


Figura 11 – Esquema do teste com “PHANTOM” mostrando a distribuição dos dosímetros de tetrafluoreto de lítio ( $\text{LiF} = \text{Mg}$ ) e tabela dos valores encontrados após irradiação de 1 minuto com  $^{60}\text{Co}$

Figura 12 – Arranjo sólido do campo de irradiação





- ① CHAVE LIGA-DESLIGA DO INSTRUMENTO (CH1)
- ② CHAVE SELETORA DO MODO DE OPERAÇÃO (CH2)
- ③ LAMPADA INDICADORA DE "APARELHO LIGADO"
- ④ POTENCIÔMETRO DE AJUSTE DE FREQUÊNCIA (R12)
- ⑤ BOTÃO CHOQUE (PB1)

- ⑥ POTENCIÔMETRO DE AJUSTE DE TEMPO (R20)
- ⑦ BORNES DE SAIDA
- ⑧ POTENCIÔMETRO DE AJUSTE DA CORRENTE DE SAIDA (RA',RB',RC')
- ⑨ CHAVES DE SELEÇÃO DO FUNDO DE ESCALA DO MEDIDOR (CH2)
- ⑩ MEDIDOR (M1)

Figura 13 – Painel de controle do eletroejaculador



Figura 13A – Painel do eletroejaculador. Eletrodos anal e lombar



Figura 14 – Parte interna do eletroejaculador

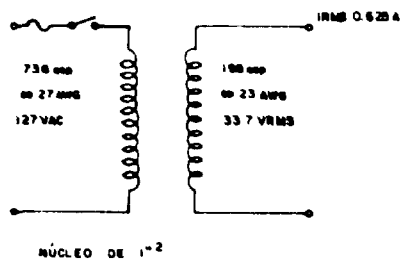
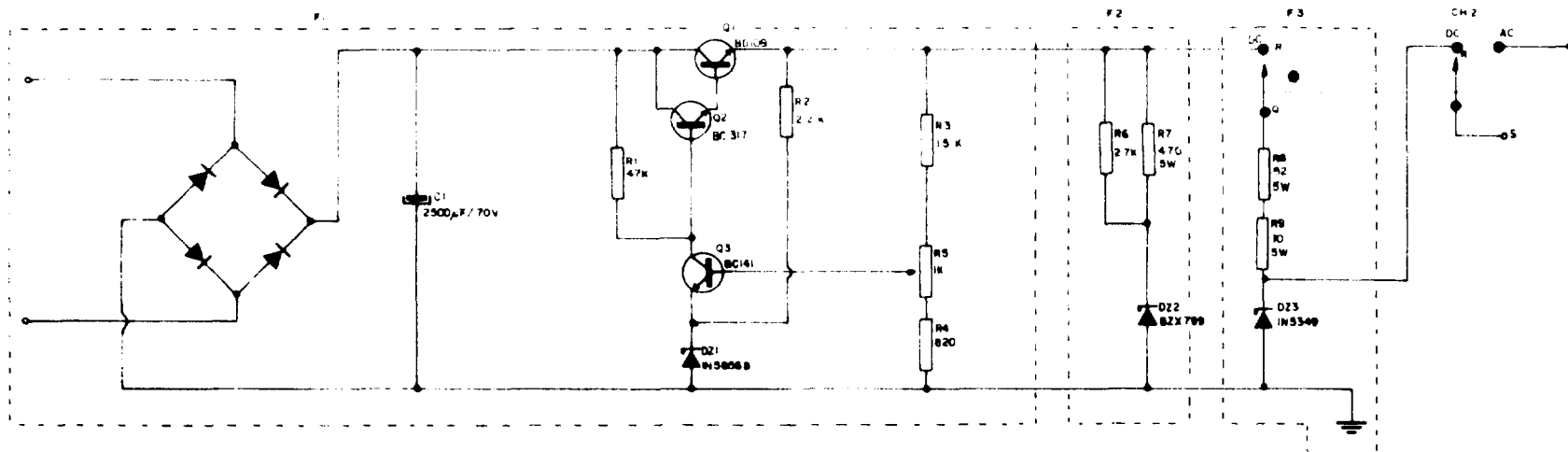


FIG 23 - 206 esp / cm<sup>2</sup>

FIG 27 - 405 esp / cm<sup>2</sup>

ÁREA A SER OCUPADA : 275 cm<sup>2</sup>  
 ÁREA ÚTL P/ L<sup>1</sup> : 4 cm<sup>2</sup>

FIG 23 - 206 esp / cm<sup>2</sup>  
 206 esp → 1 cm<sup>2</sup>  
 195 esp → 1 cm<sup>2</sup>  
 sp<sup>1</sup> : 0,94 cm<sup>2</sup>

FIG 27 - 405 esp / cm<sup>2</sup>  
 405 esp → 1 cm<sup>2</sup>  
 736 esp → 1 cm<sup>2</sup>  
 sp<sup>1</sup> : 1,81 cm<sup>2</sup>

Figura 14A — Diagrama elétrico das fontes de alimentação do eletroejaculador

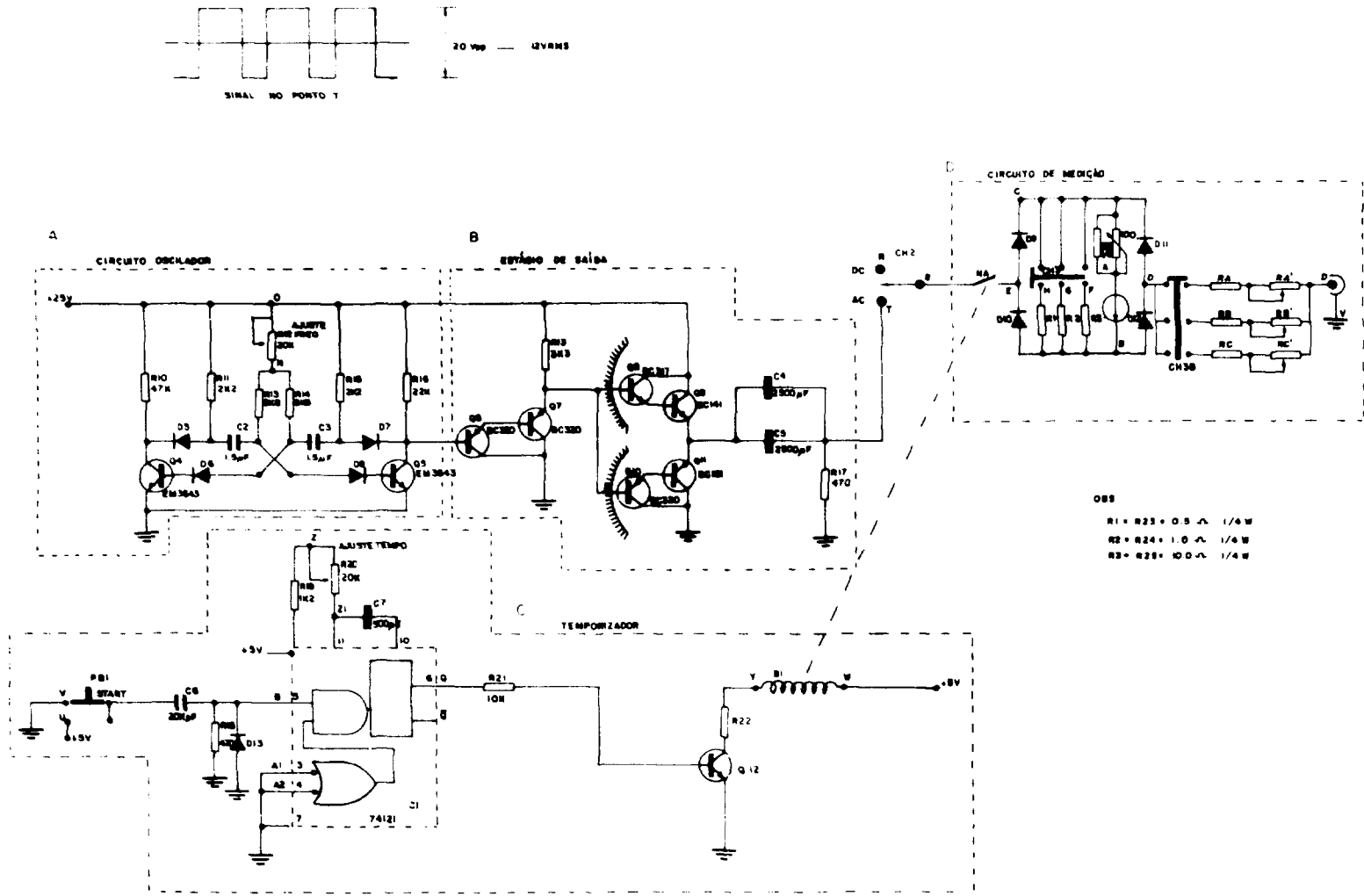
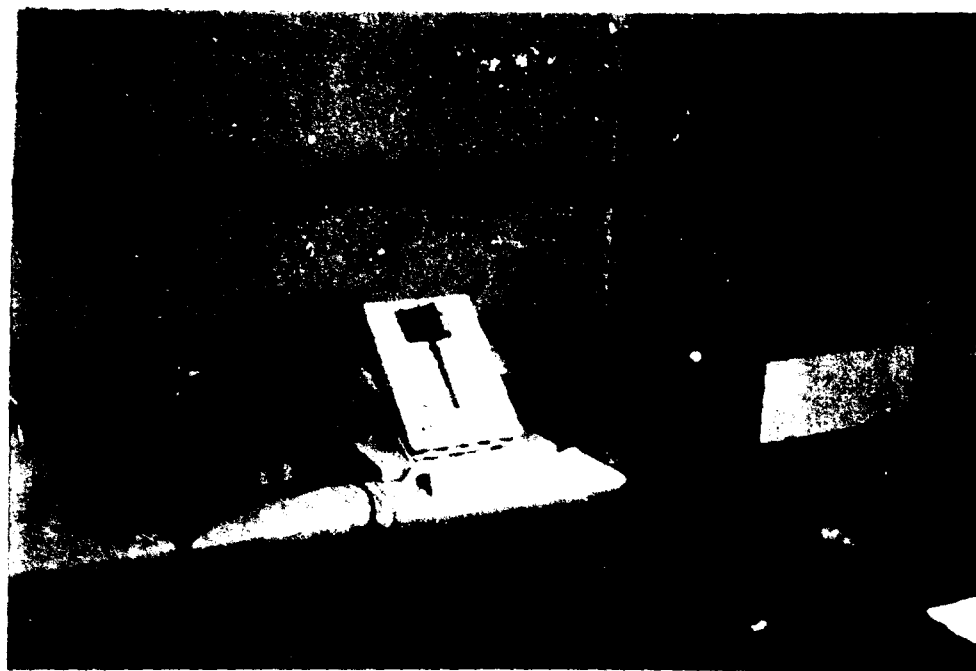


Figura 14B – Diagrama dos circuitos elétricos do eletroejaculador



**Figura 15** — Conjunto para colheita. Eletroejaculador, dispositivo para contenção, eletrodos anal e lombar e cilindros coletores



**Figura 16** -- Detalhes da ejaculação: animal na contenção, disposição do eletrodo anal e ato de colheita



**Figura 16A** -- Detalhe da ejaculação. Cilindro contendo o material espermático

g) lavagem em água corrente, evitando jatos fortes;

h) secagem em chapa aquecida.

Procedemos o exame microscópico com aumento de  $\pm 1000 X$ , utilizando objetiva de imersão, observando em cada esfregaço um total de 200 espermatozóides entre normais e anormais.

Com esse tipo de coloração visamos principalmente evidenciar possíveis defeitos existentes na cabeça do espermatozóide, tais como: cabeças estreitas, cabeças estreitas na base, cabeças piriformes, cabeças gigantes, pequenas, redondas ou largas, cabeças anormais destacadas, espermatozóides abaxiais e espermatozóides subdesenvolvidos.

B – Exame em microscopia de contraste de fase pelo método do formol salino.

Com pipeta Pasteur colocamos uma gota do sêmen fixado em formol salino entre lâmina e lamínula, lutando-se a preparação com esmalte<sup>1</sup>. O exame foi realizado sob contraste de fase<sup>2</sup>, com aumento aproximado de 1000 X e objetiva de imersão.

Como no método precedente, examinamos também 200 células em cada preparação.

Mediante estas preparações úmidas visamos verificar eventuais defeitos na peça intermediária e na cauda dos espermatozóides, tais como: gotas citoplasmáticas, cabeças normais destacadas, defeitos do acrosoma, anomalias da peça intermediária, caudas curvas e em ângulo reto, caudas enroladas sobre ou sob a cabeça.

As amostras totalizaram 591, os exames 1182, sendo 591 em lâminas coradas pelo método de Williams e 591 preparações em microscopia de contraste de fase. O número de células espermáticas examinadas atingiu 236.400.

## RESULTADOS

As Tabelas I a X reproduzem as colheitas e características do material espermático do grupo testemunha e dos irradiados com diferentes doses únicas e fracionadas com <sup>60</sup>Co.

A Tabela XI e os diagramas constantes nas Figuras 17 a 17A, detalham o número de colheitas de sêmen por número de estímulos elétricos aplicados, bem como, a classificação das características físicas do ejaculado, sob dois critérios.

Os valores numéricos das Tabelas I a X foram representados graficamente em média, abrangendo os aspectos do volume ejaculado (Figuras 18 a 29), motilidade (Figuras 30 a 41) e concentração espermática (Figuras 42 a 53).

De modo análogo foram confeccionadas as Tabelas XII a XXI contendo as anormalidades espermáticas primárias e secundárias, cujos resultados médios foram expressos graficamente nas Figuras 54 a 63A.

Os espermatozóides normais e as anormalidades espermáticas surpreendidas estão documentadas nas Figuras 64 a 75.

1 - Esmalte sintético para unhas "Niasi".

2 - Fotomicroscópio I Zeiss - Alemanha

Tabela I

Colheitas e Características do Material Espermático de Cobaias *Cavia porcellus* Testemunhas

Identificação do Animal	Alfa-Quimo Tripsina (mg)	Solução Tampão (ml)	Solução Tampão + Ejaculado	Volume Ejaculado (ml)	Nº de Estimulos	Características do Ejaculado Coag./Liquef.	Motilidade %	Volume Formol Salino (ml)	Ejaculado Total (ml)	Concentração Espermática /mm <sup>3</sup>	Concentração Espermática X10 <sup>6</sup> /Ejacul.
<b>FASE PRÉ-EXPERIMENTAL (MÉDIA DE 5 SEMANAS)</b>											
* C-1-1	2	2	3,46	1,46	1	+++/+	87	2	5,46	9128	49,838
* C-1-2	2	2	3,06	1,06	1	+++/+	85	2	5,06	7033	35,586
* C-1-3	2	2	2,80	0,80	2	+++/+	86	2	4,80	7355	35,304
C-1-4	2	2	2,96	0,96	2	++++/0	85	2	4,96	6955	34,496
C-2-1	2	2	2,80	0,80	1	+++/+	86	2	4,80	5500	26,400
* C-2-2	2	2	2,82	0,82	2	+++/+	86	2	4,82	8317	40,087
* C-2-3	2	2	3,38	1,38	2	++++/0	85	2	5,38	6005	32,306
C-2-5	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	85	2	5,00	6601	33,305
TOTAL				5,52			429		25,52	37838	193,121
MÉDIA				1,10			85,80		5,10	7668	38,624
D.P.				0,31			0,84		0,31	1201	6,857
<b>1ª COLHEITA</b>											
* C-1-1	2	2	4,10	2,10	1	+++/+	80	2	6,10	11589	70,692
* C-1-2	2	2	4,50	2,50	1	+++/+	80	2	6,50	4894	31,811
* C-1-3	2	2	3,50	1,50	1	+++/+	90	2	5,50	4322	23,771
C-1-4	2	2	2,90	0,90	1	+++/+	90	2	4,90	3655	17,909
C-2-1	2	2	3,40	1,40	1	+++/+	80	2	5,40	4383	23,668
* C-2-2	2	2	2,80	0,80	1	+++/+	85	2	4,80	8928	42,854
* C-2-3	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	80	2	5,00	4728	23,640
C-2-5	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	90	2	5,00	6089	30,445
TOTAL				7,90			415		27,90	34461	192,768
MÉDIA				1,58			83,00		5,58	6892	38,554
D.P.				0,72			4,47		0,72	3221	19,607

\* Animais escolhidos aleatoriamente para fins de normalização dos dados



2ª COLHEITA											
*C-1-1	2	2	4,20	2,20	3	+++/+	90	2	6,20	11828	73,333
*C-1-2	2	2	3,00	1,00	2	+++/+	80	2	5,00	5061	25,305
*C-1-3	2	2	3,00	1,00	1	+++/+	90	2	5,00	6633	33,165
C-1-4	2	2	3,90	1,90	2	+++/+	80	2	5,90	9128	53,855
C-2-1	2	2	2,80	0,80	1	+++/+	90	2	4,80	9283	44,558
*C-2-2	2	2	2,90	0,90	2	+++/+	80	2	4,90	9767	47,858
*C-2-3	2	2	3,50	1,50	2	++++/0	85	2	5,50	2705	14,877
C-2-5	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	90	2	5,00	9355	46,755
TOTAL				6,60			425		26,60	35994	194,538
MÉDIA				1,32			85,00		5,32	7199	38,908
D.P.				0,54			5,00		0,54	3644	22,697
3ª COLHEITA											
*C-1-1	2	2	3,40	1,40	1	+++/+	90	2	5,40	8344	45,057
*C-1-2	2	2	2,80	0,80	2	++++/0	90	2	4,80	4217	20,241
*C-1-3	2	2	2,30	0,30	4	++++/0	85	2	4,30	6150	26,445
C-1-4	2	2	2,50	0,50	2	++++/0	75	2	4,50	5272	23,724
C-2-1	2	2	2,70	0,70	1	+++/+	85	2	4,70	4417	20,759
*C-2-2	2	2	2,50	0,50	2	+++/+	90	2	4,50	11055	49,747
*C-2-3	2	2	3,10	1,10	2	++++/0	85	2	5,10	5439	27,738
C-2-5	2	2	2,90	0,90	2	++++/0	85	2	4,90	6200	30,380
TOTAL				4,10			440		24,10	35205	169,228
MÉDIA				0,82			88,00		4,82	7041	33,846
D.P.				0,44			2,74		0,44	2699	12,803

\* Animais escolhidos aleatoriamente para fins de normalização dos dados

4ª COLHEITA												
*C-1-1	2	2	2,90	0,90	1	++++/0	90	2	4,90	5867	28,748	
*C-1-2	2	2	2,60	0,60	1	+ /+++	80	2	4,60	6478	29,798	
*C-1-3	2	2	2,70	0,70	2	++++/0	75	2	4,70	8205	38,563	
C-1-4	2	2	2,30	0,30	3	++++/0	85	2	4,30	6533	28,091	
C-2-1	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	80	2	4,50	5228	24,048	
*C-2-2	2	2	2,50	0,50	1	+ /+++	90	2	4,50	10717	48,226	
*C-2-3	2	2	4,20	2,20	1	++++/0	90	2	6,20	3572	22,146	
C-2-5	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	80	2	5,20	3350	17,420	
TOTAL				4,90			425		24,90	34839	167,481	
MÉDIA				0,98			85,00		4,98	6968	33,496	
D.P.				0,70			7,07		0,70	2673	10,096	
5ª COLHEITA												
*C-1-1	2	2	3,50	1,50	1	++++/0	80	2	5,50	5617	30,893	
*C-1-2	2	2	2,40	0,40	1	++++/0	90	2	4,40	4050	17,820	
*C-1-3	2	2	2,40	0,40	3	++++/0	90	2	4,40	5361	23,588	
C-1-4	2	2	3,00	1,00	3	++++/C	90	2	5,00	7889	39,445	
C-2-1	2	2	2,50	0,50	1	++++/0	85	2	4,50	4261	19,174	
*C-2-2	2	2	2,40	0,40	3	++++/0	80	2	4,40	5111	22,488	
*C-2-3	2	2	3,60	1,60	2	++++/0	90	2	5,60	7833	43,864	
C-2-5	2	2	2,50	0,50	3	++++/0	80	2	4,50	5033	22,648	
TOTAL				4,30			430		24,30	27972	138,653	
MÉDIA				0,86			86,00		4,86	5594	27,731	
D.P.				0,63			5,48		0,63	1386	10,163	

\* Animais escolhidos aleatoriamente para fins de normalização dos dados

6ª COLHEITA											
*C-1-1	2	2	3,20	1,20	1	+++/+	90	2	5,20	8767	45,588
*C-1-2	2	2	2,40	0,40	2	++/++	90	2	4,40	7655	33,682
*C-1-3	2	2	2,30	0,30	2	++/++	90	2	4,30	10655	45,816
C-1-4	2	2	3,20	1,20	3	++++/0	90	2	5,20	12850	66,820
C-2-1	2	2	2,40	0,40	2	++++/0	90	2	4,40	6339	27,891
*C-2-2	2	2	2,30	0,30	4	0/++++	80	2	4,30	10366	44,573
*C-2-3	2	2	3,60	1,60	1	++++/0	80	2	5,60	3294	18,429
C-2-5	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	85	2	5,00	3689	18,445
TOTAL				3,80			430		23,80	40737	188,088
MÉDIA				0,76			86,00		4,76	8147	37,618
D.P.				0,60			5,48		0,60	2975	11,862
7ª COLHEITA											
*C-1-1	2	2	3,40	1,40	1	+++/+	85	2	5,40	10722	57,898
*C-1-2	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	90	2	4,60	6300	28,980
*C-1-3	2	2	2,40	0,40	2	++/++	85	2	4,40	9833	43,265
C-1-4	2	2	2,50	0,50	3	++++/0	75	2	4,50	4894	22,023
C-2-1	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	85	2	5,00	3161	15,805
*C-2-2	2	2	2,60	0,60	2	+++/+	85	2	4,60	6422	29,541
*C-2-3	2	2	3,80	1,80	2	++++/0	90	2	5,80	5428	56,798
C-2-5	2	2	2,80	0,80	1	++++/0	85	2	4,80	11833	31,482
TOTAL				4,80			435		24,80	38705	191,166
MÉDIA				0,96			87,00		4,96	7741	38,233
D.P.				0,61			2,74		0,61	2368	12,438

\* Animais escolhidos aleatoriamente para fins de normalização dos dados

8ª COLHEITA											
*C-1-1	2	2	4,00	2,00	2	+++/+	90	2	6,00	11039	66,234
*C-1-2	2	2	2,40	0,40	2	+++/+	90	2	4,40	15633	68,785
*C-1-3	2	2	2,90	0,90	2	++++/0	90	2	4,90	8072	39,552
C-1-4	2	2	2,40	0,40	2	++++/0	85	2	4,40	8694	38,253
C-2-1	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	90	2	5,00	6428	32,140
*C-2-2	2	2	2,70	0,70	1	++++/0	90	2	4,70	9944	46,736
*C-2-3	2	2	3,10	1,10	2	++++/0	90	2	5,10	4739	23,221
C-2-5	2	2	2,90	0,90	2	++++/0	90	2	4,90	10961	53,708
TOTAL				5,10			450		25,10	49427	244,528
MÉDIA				1,02			90,00		5,02	9885	48,906
D.P.				0,61			0,00		0,61	4004	19,022
9ª COLHEITA											
*C-1-1	2	2	2,80	0,80	1	+++/+	90	2	4,80	8967	43,041
*C-1-2	2	2	2,80	0,80	1	+++/+	90	2	4,80	9117	43,761
*C-1-3	2	2	3,00	1,00	3	++/++	90	2	5,00	9428	47,140
C-1-4	2	2	3,60	1,60	4	++++/0	90	2	5,60	17650	98,840
C-2-1	2	2	2,90	0,90	1	++++/0	85	2	4,90	3772	18,482
*C-2-2	2	2	3,40	1,40	2	+++/+	90	2	5,40	10522	56,818
*C-2-3	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	85	2	5,20	4550	23,660
C-2-5	2	2	3,50	1,50	2	++++/0	90	2	5,50	3678	20,229
TOTAL				5,20			445		25,20	42584	214,420
MÉDIA				1,04			89,00		5,04	8517	42,884
D.P.				0,26			2,24		0,26	2299	12,069

\* Animais escolhidos aleatoriamente para fins de normalização dos dados

10ª COLHEITA											
*C-1-1	2	2	3,00	1,00	2	+++/+	90	2	5,00	12350	61,750
*C-1-2	2	2	4,30	2,30	2	++++/0	90	2	6,30	7150	45,045
*C-1-3	2	2	3,90	1,90	2	++/++	90	2	5,90	8617	50,840
C-1-4	2	2	2,70	0,70	3	++++/0	80	2	4,70	6705	31,513
C-2-1	2	2	3,40	1,40	2	++++/0	90	2	5,40	6878	37,141
*C-2-2	2	2	3,60	1,60	2	++++/0	90	2	5,60	5528	30,956
*C-2-3	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	80	2	5,20	5044	26,228
C-2-5	2	2	2,80	0,80	1	++++/0	80	2	4,80	6100	29,280
TOTAL				8,00			440		28,00	38689	214,819
MÉDIA				1,60			88,00		5,60	7738	42,964
D.P.				0,52			4,47		0,52	2938	14,522
11ª COLHEITA											
*C-1-1	2	2	3,00	1,00	3	++++/0	90	2	5,00	8039	40,195
*C-1-2	2	2	4,30	2,30	2	++++/0	90	2	6,30	8961	56,454
*C-1-3	2	2	3,20	1,20	2	++++/0	90	2	5,20	9183	47,751
C-1-4	2	2	3,40	1,40	5	++++/0	90	2	5,40	10683	57,688
C-2-1	2	2	2,90	0,90	1	++++/0	90	2	4,90	9044	44,315
*C-2-2	2	2	3,40	1,40	1	++++/0	90	2	5,40	6055	32,697
*C-2-3	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	90	2	5,00	11250	56,250
C-2-5	2	2	2,50	0,50	1	++++/0	70	2	4,50	10222	45,999
TOTAL				6,90			450		26,90	43488	233,347
MÉDIA				1,38			90,00		5,38	8698	46,669
D.P.				0,54			0,00		0,54	1887	10,318

\* Animais escolhidos aleatoriamente para fins de normalização dos dados

Tabela II

Colheitas e Características do Material Espermático de Cobaias *cavia porcellus*  
Irradiadas com Doses Fracionadas de 2 Rad

40

Identificação do Animal	Alfa Quimo Tripsina (mg)	Solução Tampão (ml)	Solução Tampão + Ejaculado	Volume Ejaculado (ml)	Nº de Estímulos	Características do Ejaculado Coag./Liquef.	Motilidade %	Volume Formol Salino (ml)	Ejaculado Total (ml)	Concentração Espermática /mm <sup>3</sup>	Concentração Espermática X10 <sup>6</sup> /Ejacul.
Fase Pré-Experimental (Média de 5 Semanas)											
F-2-1	2	2	2,42	0,42	3	0/++++	71	2	4,42	3944	17,432
F-2-2	2	2	3,51	1,51	1	++++/0	70	2	5,51	2867	15,797
F-2-3	2	2	3,24	1,24	3	++++/0	81	2	5,24	3328	17,438
F-2-4	2	2	2,64	0,64	4	++++/0	76	2	4,64	4884	22,661
F-2-5	2	2	2,72	0,72	4	++++/0	72	2	4,72	4389	20,716
TOTAL				4,53			370		24,53	19412	94,044
MÉDIA				0,91			74,00		4,91	3882	18,809
D.P.				0,45			4,53		0,45	806	2,798
1ª COLHEITA											
F-2-1	2	2	2,40	0,40	2	0/++++	65	2	4,40	3639	16,011
F-2-2	2	2	3,70	1,70	2	++++/0	70	2	5,70	2583	14,723
F-2-3	2	2	2,20	0,20	2	++++/0	80	2	4,20	2800	11,760
F-2-4	2	2	2,40	0,40	3	++++/0	65	2	4,40	3539	15,571
F-2-5	2	2	2,90	0,90	4	++++/0	65	2	4,90	4817	23,603
TOTAL				3,60			345		23,60	17378	81,668
MÉDIA				0,72			69,00		4,72	3476	16,334
D.P.				0,60			6,52		0,60	878	4,389

2ª COLHEITA												
F-2-1	2	2	2,40	0,40	2	++/++	70	2	4,40	4183	18,405	
F-2-2	2	2	3,40	1,40	1	++++/0	65	2	5,40	1383	7,468	
F-2-3	2	2	2,50	0,50	2	+++/+	75	2	4,50	3605	16,222	
F-2-4	2	2	2,30	0,30	2	+++/+	40	2	4,10	2650	11,395	
F-2-5	2	2	2,40	0,40	2	+++/+	40	2	4,40	3878	17,063	
TOTAL				3,00			290		23,00	15699	70,553	
MÉDIA				0,60			58,00		4,60	3140	14,111	
D.P.				0,45			16,81		0,45	1137	4,558	
3ª COLHEITA												
F-2-1	2	2	2,20	0,20	4	0/++++	80	2	4,20	4189	17,593	
F-2-2	morreu 13 dias após início do experimento											
F-2-3	2	2	2,40	0,40	3	++++/0	75	2	4,40	2117	9,314	
F-2-4	2	2	2,20	0,20	4	++++/0	30	2	4,20	4017	16,871	
F-2-5	2	2	2,20	0,20	4	++++/0	30	2	4,20	4133	17,358	
TOTAL				1,00			215		17,00	14456	61,136	
MÉDIA				0,25			53,75		4,25	3614	15,284	
D.P.				0,10			27,50		0,10	1000	3,991	
4ª COLHEITA												
F-2-1	2	2	2,40	0,40	5	0/++++	80	2	4,40	2539	11,171	
F-2-2	morreu 13 dias após início do experimento											
F-2-3	2	2	2,40	0,40	4	0/++++	80	2	4,40	3122	13,736	
F-2-4	2	2	2,30	0,30	5	+ /+++	80	2	4,30	6544	28,139	
F-2-5	2	2	2,30	0,30	5	++++/0	20	2	4,30	4717	20,283	
TOTAL				1,40			260		17,40	16922	73,329	
MÉDIA				0,35			65,00		4,35	4230	18,332	
D.P.				0,06			30,00		0,06	1796	7,580	

5ª COLHEITA											
F-2-1	2	2	2,40	0,40	5	0/++++	50	2	4,40	3022	13,296
F-2-2	morreu 13 dias após início do experimento										
F-2-3	2	2	2,50	0,50	4	++++/0	85	2	4,50	1467	6,601
F-2-4	2	2	2,30	0,30	5	0/++++	50	2	4,30	5167	22,218
F-2-5	2	2	2,30	0,30	5	++++/0	15	2	4,30	4289	18,442
TOTAL				1,50			200		17,50	13945	60,557
MÉDIA				0,37			50,00		4,37	3486	15,139
D.P.				0,09			28,58		0,09	1608	6,765
6ª COLHEITA											
F-2-1	2	2	2,40	0,40	2	0/++++	50	2	4,40	3311	14,568
F-2-2	morreu 13 dias após início do experimento										
F-2-3	2	2	4,30	2,30	4	++++/0	80	2	6,30	9378	59,081
F-2-4	2	2	2,50	0,50	5	+++/+	85	2	4,50	8283	37,273
F-2-5	2	2	3,10	1,10	5	++++/0	85	2	5,10	3205	16,345
TOTAL				4,30			300		20,30	24177	127,267
MÉDIA				1,07			75,00		5,07	6044	31,817
D.P.				0,87			16,83		0,87	3248	20,896
7ª COLHEITA											
F-2-1	2	2	2,40	0,40	3	+ /+++	75	2	4,40	3700	16,280
F-2-2	morreu 13 dias após início do experimento										
F-2-3	2	2	4,00	2,00	4	++++/0	80	2	6,00	8644	51,864
F-2-4	2	2	2,80	0,80	3	++++/0	70	2	4,80	7028	33,734
F-2-5	2	2	2,80	0,80	3	++++/0	65	2	4,80	4517	21,681
TOTAL				4,00			290		20,00	23889	123,559
MÉDIA				1,00			72,50		5,00	5972	30,890
D.P.				0,69			6,45		0,69	2275	15,772



## 8ª COLHEITA

F-2-1	2	2	2,40	0,40	4	0/++++	70	2	4,40	2378	10,463
F-2-2	morreu 13 dias após o início do experimento										
F-2-3	2	2	3,30	1,30	4	++++/0	40	2	5,30	3572	18,931
F-2-4	2	2	2,80	0,80	5	+++/+	80	2	4,80	9339	44,827
F-2-5	2	2	2,50	0,50	5	+++/+	70	2	4,50	7489	33,700
TOTAL				3,00			260		19,00	22778	107,921
MÉDIA				0,75			65,00		4,75	5694	26,530
D.P.				0,40			17,32		0,40	3266	15,289

## 9ª COLHEITA

F-2-1	2	2	2,40	0,40	4	+ /+++	40	2	4,40	3928	17,283
F-2-2	morreu 13 dias após o início do experimento										
F-2-3	2	2	3,40	1,40	2	++++/0	75	2	5,40	1139	6,150
F-2-4	2	2	3,30	1,30	5	++++/0	80	2	5,30	9733	51,584
F-2-5	2	2	2,60	0,60	5	++++/0	60	2	4,60	4041	18,602
TOTAL				3,70			255		19,70	18344	93,619
MÉDIA				0,92			63,75		4,92	4711	23,405
D.P.				0,50			17,97		0,50	3607	19,599

## 10ª COLHEITA

F-2-1	2	2	2,30	0,30	2	0/++++	65	2	4,30	3461	14,882
F-2-2	morreu 13 dias após o início do experimento										
F-2-3	2	2	4,20	2,20	2	++++/0	90	2	6,20	9567	59,315
F-2-4	2	2	2,80	0,80	5	++++/0	70	2	4,80	3883	18,638
F-2-5	2	2	3,40	1,40	5	++++/0	80	2	5,40	4244	22,917
TOTAL				4,70			305		20,70	21155	115,752
MÉDIA				1,17			76,25		5,17	5289	28,938
D.P.				0,82			11,09		0,82	2870	20,516

11ª COLHEITA

†

F-2-1	2	2	2,90	0,90	2	0/++++	80	2	4,90	3139	15,381
F-2-2	morreu 13 dias após o início do experimento										
F-2-3	2	2	4,10	2,10	4	+++/+	80	2	6,10	1750	10,675
F-2-4	2	2	2,90	0,90	5	+++/+	85	2	4,90	3344	16,385
F-2-5	2	2	3,00	1,90	5	++++/0	80	2	5,00	7467	37,335
TOTAL				5,80			325		21,80	15700	79,776
MÉDIA				1,45			81,25		5,22	3925	19,944
D.P.				0,64			2,50		0,58	2465	11,858

Tabela III

Colheitas e Características do Material Espermático de Cobaias *Cavia porcellus*  
Irradiadas com Doses Fracionadas de 5 Rad

Identificação do Animal	Alfa-Quimo Tripsina (mg)	Solução Tampão (ml)	Solução Tampão + Ejaculado	Volume Ejaculado (ml)	Nº de Estímulos	Características do Ejaculado Coag./Liquef.	Motilidade %	Volume Formol Salino (ml)	Ejaculado Total (ml)	Concentração Espermática /mm <sup>3</sup>	Concentração Espermática X10 <sup>6</sup> /Ejacul.
Fase Pré-Experimental (Média de 5 Semanas)											
F-5-1	2	2	2,90	0,90	2	+++/+	82	2	4,90	5061	24,798
F-5-2	2	2	2,78	0,78	1	+++/+	73	2	4,78	5883	28,120
F-5-3	2	2	3,14	1,14	2	+++/+	83	2	5,14	6405	32,921
F-5-4	2	2	3,18	1,18	2	+++/+	75	2	5,18	4972	25,754
F-5-5	2	2	2,30	0,30	3	+++/+0	74	2	4,30	5478	23,555
TOTAL				4,30			387		24,30	27799	135,148
MÉDIA				0,86			77,40		4,86	5560	27,030
D.P.				0,35			4,72		0,35	596	3,694
1ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	3,00	1,00	2	+++/+	80	2	5,00	5172	25,860
F-5-2	2	2	3,00	1,00	1	+++/+	80	2	5,00	6955	34,775
F-5-3	2	2	2,70	0,70	1	+++/+	60	2	4,70	4328	20,341
F-5-4	2	2	3,60	1,60	1	+++/+	55	2	5,60	3967	22,215
F-5-5	2	2	2,40	0,40	3	+++/+	70	2	4,40	4589	20,191
TOTAL				4,70			345		24,70	25011	123,382
MÉDIA				0,94			69,00		4,94	5002	24,676
D.P.				0,44			11,40		0,44	1177	6,090

2ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	2,80	0,80	2	+++/+	20	2	4,80	3372	16,185
F-5-2	2	2	2,60	0,60	2	+++/+	40	2	4,60	6267	28,828
F-5-3	2	2	3,10	1,10	2	+++/+	70	2	5,10	8239	42,018
F-5-4	2	2	3,60	1,60	2	+++/+	70	2	5,60	6378	35,716
F-5-5	2	2	2,40	0,40	3	++++/+	60	2	4,40	4250	18,700
TOTAL				4,50			260		24,50	28506	141,447
MÉDIA				0,90			52,00		4,90	5701	28,289
D.P.				0,47			21,68		0,47	1920	10,982
3ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	2,70	0,70	4	++++/0	40	2	4,70	2489	11,698
F-5-2	2	2	2,70	0,70	2	+++/+	30	2	4,70	7128	33,501
F-5-3	2	2	2,40	0,40	2	+++/+	70	2	4,40	5739	25,251
F-5-4	2	2	2,40	0,40	2	++++/0	30	2	4,40	3817	16,794
F-5-5	2	2	2,20	0,20	2	++++/0	30	2	4,20	5228	21,957
TOTAL				2,40			200		22,40	24401	109,201
MÉDIA				0,48			40,00		4,48	4880	21,840
D.P.				0,22			17,32		0,22	1786	8,306
4ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	2,20	0,20	2	++++/0	70	2	4,20	4333	18,198
F-5-2	2	2	2,40	0,40	1	+ /+++	45	2	4,40	11650	51,260
F-5-3	2	2	3,40	1,40	2	+++/+	85	2	5,40	9844	53,157
F-5-4	2	2	2,60	0,60	2	++++/0	60	2	4,60	5189	23,869
F-5-5	2	2	2,20	0,20	2	++++/0	40	2	4,20	5528	23,217
TOTAL				2,80			300		22,80	36544	169,701
MÉDIA				0,56			60,00		4,56	7309	33,940
D.P.				0,50			18,37		0,50	3232	16,834

5ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	4,60	2,60	1	+/+++	90	2	6,60	9322	61,525
F-5-2	2	2	2,80	0,80	1	+++/+	70	2	4,80	5211	25,012
F-5-3	2	2	3,40	1,40	1	++++/0	80	2	5,40	6472	34,948
F-5-4	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	70	2	5,30	4883	25,879
F-5-5	2	2	2,20	0,20	5	++++/0	70	2	4,20	5905	24,801
TOTAL				6,30			380		26,30	31793	172,165
MÉDIA				1,26			76,00		5,26	6359	34,433
D.P.				0,89			8,94		0,89	1767	15,724
6ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	2,90	0,90	1	++/++	90	2	4,90	4561	22,348
F-5-2	2	2	2,60	0,60	2	++/++	80	2	4,60	3089	14,209
F-5-3	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	85	2	5,30	7050	37,365
F-5-4	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	70	2	5,00	3783	18,915
F-5-5	2	2	2,20	0,20	4	++++/0	65	2	4,20	6661	27,976
TOTAL				4,00			390		24,00	25144	120,813
MÉDIA				0,80			78,00		4,80	5029	24,163
D.P.				0,42			10,37		0,42	1752	8,927
7ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	70	2	4,60	4800	22,080
F-5-2	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	70	2	5,00	5950	29,750
F-5-3	2	2	2,70	0,70	2	++/++	75	2	4,70	7611	35,771
F-5-4	2	2	2,30	0,30	2	+++/+	75	2	4,30	5461	23,482
F-5-5	2	2	2,20	0,20	5	+++/+	65	2	4,20	4694	19,714
TOTAL				2,80			355		22,80	28516	130,797
MÉDIA				0,56			71,00		4,56	5703	26,159
D.P.				0,32			4,18		0,32	1182	6,531

8ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	2,50	0,50	2	++++/0	80	2	4,50	5405	24,322
F-5-2	2	2	2,50	0,50	1	+++/+	75	2	4,50	6761	30,424
F-5-3	2	2	3,40	1,40	2	+++/+	80	2	5,40	4050	21,870
F-5-4	2	2	3,60	1,60	2	++++/0	80	2	5,60	4572	25,603
F-5-5	2	2	2,30	0,30	3	++++/0	75	2	4,30	6161	26,492
TOTAL				4,30			390		24,30	26949	128,711
MÉDIA				0,86			78,00		4,86	5390	25,742
D.P.				0,59			2,74		0,59	1111	3,143
9ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	3,10	1,10	4	++++/0	80	2	5,10	3394	17,309
F-5-2	2	2	2,70	0,70	2	++++/0	80	2	4,70	4872	22,898
F-5-3	2	2	2,70	0,70	3	++/++	90	2	4,70	11683	54,910
F-5-4	2	2	2,90	0,90	2	++++/0	80	2	4,90	7900	38,710
F-5-5	2	2	2,20	0,20	5	++++/0	75	2	4,20	6833	28,698
TOTAL				3,60			405		23,60	34682	162,525
MÉDIA				0,72			81,00		4,72	6936	32,505
D.P.				0,33			5,48		0,33	3173	14,817
10ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	2,80	0,80	2	++++/0	65	2	4,80	4194	20,131
F-5-2	2	2	3,00	1,00	1	+++/+	75	2	5,00	7244	36,220
F-5-3	2	2	3,20	1,20	2	++++/0	85	2	5,20	6478	33,685
F-5-4	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	75	2	5,30	5017	26,590
F-5-5	2	2	2,40	0,40	4	+++/+	80	2	4,40	5583	24,565
TOTAL				4,70			380		24,70	28516	141,191
MÉDIA				0,94			76,00		4,94	5703	28,238
D.P.				0,36			7,42		0,36	1198	6,620

11ª COLHEITA											
F-5-1	2	2	2,80	0,80	1	++++/0	85	2	4,80	4872	23,385
F-5-2	2	2	2,90	0,90	1	+++/+	80	2	4,90	4694	23,000
F-5-3	2	2	2,70	0,70	2	+ /+++	85	2	4,70	3111	14,621
F-5-4	2	2	3,70	1,70	1	++++/0	80	2	5,70	9500	54,150
F-5-5	2	2	2,30	0,30	2	++++/0	75	2	4,30	4344	18,679
TOTAL				4,40			405		24,40	26521	133,835
MÉDIA				0,88			81,00		4,88	5304	26,767
D.P.				0,51			4,18		0,51	2444	15,719

Tabela IV

Colheitas e Características do Material Espermático de Cobaias *Cavia porcellus*  
Irradiadas com Doses Fracionadas de 10 Rad

Identificação do Animal	Alfa-Quimo Tripsina (mg)	Solução Tampão (ml)	Solução Tampão + Ejaculado	Volume Ejaculado (ml)	Nº de Estímulos	Características do Ejaculado Coag./Liquef.	Motilidade %	Volume Formol Salino (ml)	Ejaculado Total (ml)	Concentração Espermática /mm <sup>3</sup>	Concentração Espermática X10 <sup>6</sup> /Ejacul.
Fase Pré-Experimental (Média de 5 Semanas)											
F-10-1	2	2	2,65	0,65	2	+ /+++	83	2	4,65	10278	47,792
F-10-2	2	2	3,42	1,42	2	++++/0	69	2	5,42	7122	38,601
F-10-3	2	2	3,64	1,64	1	++++/0	83	2	5,64	7972	44,962
F-10-4	2	2	3,88	1,88	2	++++/0	77	2	5,88	7905	46,481
F-10-5	2	2	3,14	1,14	2	++++/0	84	2	5,14	5839	30,012
TOTAL				6,73			396		26,73	39116	207,848
MÉDIA				1,35			79,20		5,35	7823	41,570
D.P.				0,47			6,34		0,47	1619	7,361
1ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	2,80	0,80	1	+++ /+	90	2	4,80	8728	41,894
F-10-2	2	2	2,70	0,70	2	++++/0	70	2	4,70	7222	33,943
F-10-3	2	2	3,80	1,80	2	+++ /+	85	2	5,80	7328	42,502
F-10-4	2	2	2,40	0,40	4	++++/0	70	2	4,40	4667	20,534
F-10-5	2	2	2,70	0,70	4	++++/0	85	2	4,70	4133	19,425
TOTAL				4,40			440		24,40	32078	158,298
MÉDIA				0,88			80,00		4,88	6416	31,660
D.P.				0,53			9,35		0,53	1943	11,191



2ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	2,70	0,70	3	+/+++	80	2	4,70	13500	63,450
F-10-2	2	2	3,10	1,10	..	++++/0	40	2	5,10	2839	14,478
F-10-3	2	2	4,00	2,00	2	++++/0	85	2	6,00	4672	28,032
F-10-4	2	2	3,00	1,00	4	++++/0	70	2	5,00	8122	40,610
F-10-5	2	2	3,80	1,80	2	+++/+	90	2	5,80	4555	26,419
TOTAL				6,60			365		26,60	33688	172,989
MÉDIA				1,32			73,00		5,32	6738	34,598
D.P.				0,55			19,87		0,55	4239	18,597
3ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	2,50	0,50	3	0/++++	90	2	4,50	7711	34,699
F-10-2	2	2	3,30	1,30	3	++++/0	70	2	5,30	4383	23,229
F-10-3	2	2	3,70	1,70	3	++++/0	75	2	5,70	8572	48,860
F-10-4	2	2	2,90	0,90	3	+++/+	90	2	4,90	4150	20,335
F-10-5	2	2	2,70	0,70	2	+++/+	90	2	4,70	2344	11,016
TOTAL				5,10			415		25,10	27160	138,139
MÉDIA				1,02			83,00		5,02	5432	27,628
D.P.				0,48			9,75		0,48	2614	14,571
4ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	2,40	0,40	2	++/++	60	2	4,40	4322	19,016
F-10-2	2	2	3,10	1,10	1	++++/0	50	2	5,10	511	2,606
F-10-3	2	2	3,80	1,80	1	++++/0	85	2	5,80	2717	15,758
F-10-4	2	2	3,60	1,60	1	++++/0	80	2	5,60	9589	53,698
F-10-5	2	2	2,80	0,80	1	++++/0	75	2	4,80	1367	6,561
TOTAL				5,70			350		25,70	18506	97,639
MÉDIA				1,14			70,00		5,14	3701	19,528
D.P.				0,57			14,58		0,57	3593	20,227

5ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	2,50	0,50	1	0/++++	90	2	4,50	10378	46,701
F-10-2	2	2	3,10	1,10	1	++++/0	15	2	5,10	211	1,076
F-10-3	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	20	2	5,00	239	1,195
F-10-4	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	75	2	5,30	5611	29,738
F-10-5	2	2	2,40	0,40	5	++++/0	80	2	4,40	822	3,616
TOTAL				4,30			280		24,30	17261	82,326
MÉDIA				0,86			56,00		4,86	3452	16,465
D.P.				0,39			35,60		0,39	4483	20,769

6ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	3,00	1,00	1	0/++++	90	2	5,00	7928	39,640
F-10-2	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	45	2	5,20	405	2,106
F-10-3	2	2	4,10	2,10	1	++++/0	85	2	6,10	139	0,847
F-10-4	2	2	3,00	1,00	1	+++/+	85	2	5,00	10355	51,775
F-10-5	2	2	3,80	1,80	1	++++/0	85	2	5,80	4378	25,392
TOTAL				7,10			390		27,10	23205	119,760
MÉDIA				1,42			78,00		5,42	4641	23,952
D.P.				0,50			18,57		0,50	4520	22,546

7ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	2,90	0,90	2	0/++++	90	2	4,90	9283	45,486
F-10-2	2	2	4,10	2,10	1	++++/0	75	2	6,10	372	2,269
F-10-3	2	2	3,50	1,50	1	++++/0	75	2	5,50	133	0,731
F-10-4	2	2	2,40	0,40	2	0/++++	5	2	4,40	10483	46,125
F-10-5	2	2	3,70	1,70	1	++++/0	90	2	5,70	6578	37,494
TOTAL				6,60			335		26,60	26849	132,105
MÉDIA				1,32			67,00		5,32	5370	26,421
D.P.				0,67			35,46		0,67	4881	23,009

8ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	2,40	0,40	1	0/++++	75	2	4,40	14183	62,405
F-10-2	2	2	4,10	2,10	2	++++/0	55	2	6,10	6644	40,528
F-10-3	2	2	4,00	2,00	2	++++/0	75	2	6,00	583	3,498
F-10-4	2	2	2,30	0,30	2	0/++++	0	2	4,30	889	3,822
F-10-5	2	2	3,20	1,20	2	++++/0	90	2	5,20	8567	44,548
TOTAL				6,00			295		26,00	30866	154,801
MÉDIA				1,20			59,00		5,20	6173	30,960
D.P.				0,85			35,25		0,85	5685	26,247
9ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	2,30	0,30	3	0/++++	50	2	4,30	9628	41,400
F-10-2	2	2	3,20	1,20	3	++++/0	50	2	5,20	6533	33,971
F-10-3	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	75	2	5,00	172	0,860
F-10-4	2	2	2,80	0,80	1	+ /+++	30	2	4,80	2528	12,134
F-10-5	2	2	3,10	1,10	1	++++/0	90	2	5,10	2733	13,938
TOTAL				4,40			295		24,40	21594	102,303
MÉDIA				0,88			59,00		4,88	4319	20,461
D.P.				0,36			23,56		0,36	3742	16,711
10ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	2,60	0,60	1	0/++++	5	2	4,60	10172	46,791
F-10-2	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	70	2	5,30	4344	23,023
F-10-3	2	2	3,50	1,50	1	++++/0	75	2	5,50	322	1,771
F-10-4	2	2	3,00	1,00	2	++/++	60	2	5,00	3950	19,750
F-10-5	2	2	3,30	1,30	2	++++/0	90	2	5,30	8211	43,518
TOTAL				5,70			360		25,70	26999	134,853
MÉDIA				1,14			72,00		5,14	5400	26,971
D.P.				0,35			11,51		0,35	3862	18,503

11ª COLHEITA											
F-10-1	2	2	2,70	0,70	2	0/++++	80	2	4,70	9791	46,017
F-10-2	2	2	4,70	2,70	2	++++/0	70	2	6,70	4772	31,972
F-10-3	2	2	3,50	1,50	2	++/++	80	2	5,50	1528	8,404
F-10-4	2	2	2,60	0,60	2	+ /+++	65	2	4,60	6016	27,673
F-10-5	2	2	3,00	1,00	2	++++/0	85	2	5,00	2444	12,220
TOTAL				6,50			380		26,50	24551	126,286
MÉDIA				1,30			76,00		5,30	4910	25,257
D.P.				0,86			8,21		0,86	3263	15,296

**Tabela V**

Colheitas e Características do Material Espermático de Cobaias *Cavia porcellus*  
Irradiadas com Doses Fracionadas de 20 Rad

Identificação do Animal	Alfa-Quimo Tripsina (mg)	Solução Tampão (ml)	Solução Tampão + Ejaculado	Volume Ejaculado (ml)	Nº de Estímulos	Características do Ejaculado Coag./Liquef.	Motilidade %	Volume Formol Salino (ml)	Ejaculado Total (ml)	Concentração Espermática /mm <sup>3</sup>	Concentração Espermática X10 <sup>6</sup> /Ejacul.
Fase Pré-Experimental (Média de 5 Semanas)											
F-20-1	2	2	3,20	1,20	2	++++/0	69	2	5,20	6789	35,302
F-20-2	2	2	3,38	1,38	1	++++/0	70	2	5,38	6212	33,420
F-20-3	2	2	2,74	0,74	3	++++/0	73	2	4,74	6644	31,492
F-20-4	2	2	3,58	1,58	1	++++/0	55	2	5,58	2028	11,316
F-20-5	2	2	3,94	1,94	1	++++/0	80	2	5,94	3539	21,021
TOTAL				6,84			347		26,84	25212	132,551
MÉDIA				1,37			69,40		5,37	5042	26,510
D.P.				0,44			9,13		0,44	2141	10,135
1ª COLHEITA											
F-20-1	2	2	2,50	0,50	4	++++/0	50	2	4,50	7394	33,273
F-20-2	2	2	2,90	0,90	1	+++/+	50	2	4,90	5483	26,866
F-20-3	2	2	2,20	0,20	5	+++/+	70	2	4,20	5150	21,630
F-20-4	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	50	2	4,50	3972	18,271
F-20-5	2	2	3,30	1,30	2	+++/+	85	2	5,30	2883	15,279
TOTAL				3,50			305		23,50	24882	115,319
MÉDIA				0,70			61,00		4,70	4976	23,064
D.P.				0,42			15,97		0,42	1697	7,147

2ª COLHEITA											
F-20-1	2	2	2,20	0,20	5	++++/0	50	2	4,20	6372	26,762
F-20-2	2	2	3,20	1,20	2	++++/0	50	2	5,20	2028	10,545
F-20-3	2	2	2,40	0,40	3	+++/+	80	2	4,40	1204	5,693
F-20-4	2	2	3,20	1,20	2	++++/0	40	2	5,20	2094	10,888
F-20-5	2	2	2,30	0,30	1	+++/+	60	2	4,30	1178	5,065
TOTAL				3,30			280		23,30	12966	58,953
MÉDIA				0,66			56,00		4,66	2593	11,791
D.P.				0,50			15,16		0,50	2153	8,788
3ª COLHEITA											
F-20-1	2	2	2,80	0,80	3	+++/+	50	2	4,80	1928	9,254
F-20-2	2	2	3,00	1,00	3	+++/+	55	2	5,00	1233	6,165
F-20-3	2	2	2,10	0,10	3	++++/0	60	2	4,10	911	3,735
F-20-4	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	50	2	5,20	3128	16,265
F-20-5	2	2	2,30	0,30	2	++++/0	65	2	4,30	2267	9,748
TOTAL				3,40			280		23,40	9467	45,167
MÉDIA				0,68			56,00		4,68	1893	9,033
D.P.				0,46			6,52		0,46	875	4,721
4ª COLHEITA											
F-20-1	2	2	2,80	0,80	1	++++/0	50	2	4,80	3878	18,614
F-20-2	2	2	3,80	1,80	1	++++/0	80	2	5,80	1467	8,508
F-20-3	2	2	2,20	0,20	3	++++/0	20	2	4,20	522	2,192
F-20-4	2	2	3,40	1,40	1	++++/0	0	2	5,40	1250	6,750
F-20-5	2	2	2,70	0,70	1	++++/0	50	2	4,70	639	3,003
TOTAL				4,90			200		24,90	7756	39,067
MÉDIA				0,98			40,00		4,98	1551	7,813
D.P.				0,63			30,82		0,63	1360	6,576

5ª COLHEITA												
F-20-1	2	2	4,40	2,40	5	+++ / +	75	2	6,40	1211	7,750	
F-20-2	2	2	4,00	2,00	1	++++ / 0	80	2	6,00	1950	11,700	
F-20-3	2	2	2,50	0,50	5	++ / ++	85	2	4,50	761	3,424	
F-20-4	2	2	3,00	1,00	1	+++ / +	0	2	5,00	1433	7,165	
F-20-5	2	2	3,10	1,10	1	++++ / 0	90	2	5,10	467	2,381	
TOTAL				7,00			330		27,00	5822	32,420	
MÉDIA				1,40			66,00		5,40	1164	6,484	
D.P.				0,78			37,32		0,78	579	3,724	
6ª COLHEITA												
F-20-1	2	2	3,00	1,00	1	++++ / 0	60	2	5,00	455	2,275	
F-20-2	2	2	2,60	0,60	2	+++ / +	75	2	4,60	2133	9,811	
F-20-3	2	2	2,20	0,20	2	++++ / 0	75	2	4,20	522	2,192	
F-20-4	2	2	2,70	0,70	1	++++ / 0	75	2	4,70	1083	5,090	
F-20-5	2	2	2,90	0,90	1	++++ / 0	80	2	4,90	1044	5,115	
TOTAL				3,40			365		23,40	5237	24,483	
MÉDIA				0,68			73,00		4,68	1047	4,897	
D.P.				0,31			7,58		0,31	672	3,099	
7ª COLHEITA												
F-20-1	2	2	3,90	1,90	1	++++ / 0	80	2	5,90	278	1,640	
F-20-2	2	2	4,20	2,20	1	++++ / 0	50	2	6,20	900	5,580	
F-20-3	2	2	2,20	0,20	3	++++ / 0	50	2	4,20	450	1,890	
F-20-4	2	2	3,70	1,70	2	++++ / 0	25	2	5,70	594	3,385	
F-20-5	2	2	3,30	1,30	1	++++ / 0	75	2	5,30	1283	6,799	
TOTAL				7,30			280		27,30	3505	19,294	
MÉDIA				1,46			56,00		5,46	701	3,859	
D.P.				0,78			22,19		0,78	397	2,271	

8ª COLHEITA											
F-20-1	2	2	3,10	1,10	1	++++/0	80	2	5,10	344	1,754
F-20-2	2	2	3,40	1,40	1	++++/0	70	2	5,40	811	4,379
F-20-3	2	2	2,30	0,30	4	++++/0	70	2	4,30	1161	4,992
F-20-4	2	2	3,30	1,30	2	++++/0	0	2	5,30	439	2,328
F-20-5	2	2	2,70	0,70	1	++++/0	75	2	4,70	1717	8,069
TOTAL				4,80			295		24,80	4472	21,519
MÉDIA				0,96			59,00		4,96	894	4,304
D.P.				0,46			33,24		0,46	562	2,503
9ª COLHEITA											
F-20-1	2	2	3,60	1,60	1	++++/0	75	2	5,60	183	1,024
F-20-2	2	2	2,50	0,50	4	++++/0	65	2	4,50	500	2,250
F-20-3	2	2	3,00	1,00	5	++++/0	70	2	5,00	2250	11,250
F-20-4	2	2	4,60	2,60	2	++++/0	5	2	6,60	322	2,125
F-20-5	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	35	2	4,60	1167	5,368
TOTAL				6,30			250		26,30	4422	22,017
MÉDIA				1,26			50,00		5,26	884	4,403
D.P.				0,86			29,58		0,86	851	4,155
10ª COLHEITA											
F-20-1	2	2	2,80	0,80	2	++++/0	10	2	4,80	722	3,465
F-20-2	2	2	2,30	0,30	2	++++/0	0	2	4,30	467	2,008
F-20-3	2	2	2,90	0,90	2	+ / +++	75	2	4,90	1317	6,453
F-20-4	2	2	3,10	1,10	1	++++/0	0	2	5,10	472	2,407
F-20-5	2	2	2,80	0,80	1	++++/0	50	2	4,80	1655	7,944
TOTAL				3,90			135		23,90	4633	22,277
MÉDIA				0,78			27,00		4,78	927	4,455
D.P.				0,29			33,84		0,29	534	2,614



11ª COLHEITA											
F-20-1	2	2	3,70	1,70	2	++++/0	40	2	5,70	1305	7,438
F-20-2	2	2	2,40	0,40	3	++++/0	60	2	4,40	989	4,351
F-20-3	2	2	2,80	0,80	2	+++/+	80	2	4,80	1039	4,987
F-20-4	2	2	3,40	1,40	2	++++/0	0	2	5,40	377	2,035
F-20-5	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	60	2	5,00	2189	10,945
TOTAL				5,30			240		25,30	5899	29,756
MÉDIA				1,06			48,00		5,06	1180	5,951
D.P.				0,51			30,33		0,51	658	3,390

Tabela VI

Colheitas e Características do Material Espermático de Cobaias *Cavia porcellus*  
Irradiadas com Doses Fracionadas de 20 Rad com Intervalos de 21 Dias

Identificação do Animal	Alfa-Quimo Tripsina (mg)	Solução Tampão (ml)	Solução Tampão + Ejaculado	Volume Ejaculado (ml)	Nº de Estímulos	Características do Ejaculado Coag./Liquef.	Motilidade %	Volume Formol Salino (ml)	Ejaculado Total (ml)	Concentração Espermática /mm <sup>3</sup>	Concentração Espermática X10 <sup>6</sup> /Ejacul.
Fase Pré-Experimental (Média de 5 Semanas)											
F4-20-1	2	2	2,70	0,70	4	++++/0	80	2	4,70	6572	30,888
F4-20-2	2	2	3,62	1,62	1	+++/+	81	2	5,62	6167	34,658
F4-20-3	2	2	3,54	1,54	1	++++/0	73	2	5,54	2144	11,877
F4-20-4	2	2	3,66	1,66	1	+++/+	78	2	5,66	4544	25,719
F4-20-5	2	2	2,82	0,82	3	++++/0	78	2	4,82	705	3,398
TOTAL				6,34			390		26,34	20132	106,540
MÉDIA				1,27			78,00		5,27	4026	21,308
D.P.				0,47			3,08		0,47	2545	13,221
1ª COLHEITA											
F4-20-1	2	2	2,70	0,70	4	+++/+	60	2	4,70	6833	32,115
F4-20-2	2	2	2,30	0,30	1	+++/+	70	2	4,30	7489	32,202
F4-20-3	2	2	3,80	1,80	1	+++/+	60	2	5,80	1561	9,053
F4-20-4	2	2	3,70	1,70	1	+++/+	70	2	5,70	3917	22,326
F4-20-5	2	2	4,10	2,10	1	+++/+	85	2	6,10	511	3,117
TOTAL				6,60			345		26,60	20311	98,813
MÉDIA				1,32			69,00		5,32	4062	19,763
D.P.				0,77			10,25		0,77	3095	13,282

2ª COLHEITA												
F4-20-1	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	60	2	4,60	4055	18,653	
F4-20-2	2	2	4,10	2,10	1	+++/+	85	2	6,10	6839	41,717	
F4-20-3	2	2	3,10	1,10	1	+++/+	85	2	5,10	1489	7,593	
F4-20-4	2	2	3,90	1,90	1	+++/+	60	2	5,90	1805	10,649	
F4-20-5	2	2	2,10	0,10	5	++++/0	70	2	4,10	483	1,980	
TOTAL				5,80			360		25,80	14371	80,592	
MÉDIA				1,16			72,00		5,16	2934	16,118	
D.P.				0,85			12,55		0,85	2543	15,526	
3ª COLHEITA												
F4-20-1	2	2	2,30	0,30	5	++++/0	85	2	4,30	1689	7,262	
F4-20-2	2	2	3,50	1,50	2	+++/+	80	2	5,50	3017	16,593	
F4-20-3	2	2	3,10	1,10	2	++++/0	70	2	5,10	1294	6,599	
F4-20-4	2	2	3,80	1,80	2	+++/+	80	2	5,80	1072	6,217	
F4-20-5	2	2	2,10	0,10	3	++++/0	30	2	4,10	167	0,684	
TOTAL				4,80			345		24,80	7239	37,355	
MÉDIA				0,96			69,00		4,96	1448	7,471	
D.P.				0,74			22,47		0,74	1040	5,737	
4ª COLHEITA												
F4-20-1	2	2	2,30	0,30	5	++++/0	60	2	4,30	839	3,607	
F4-20-2	2	2	3,50	1,50	1	++++/0	85	2	5,50	2978	16,379	
F4-20-3	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	60	2	5,30	217	1,150	
F4-20-4	2	2	4,30	2,30	1	++++/0	85	2	6,30	4344	27,367	
F4-20-5	2	2	2,10	0,10	5	++++/0	60	2	4,10	211	0,865	
TOTAL				5,50			350		25,50	8589	49,368	
MÉDIA				1,10			70,00		5,10	1718	9,874	
D.P.				0,90			13,69		0,90	1856	11,671	

5ª COLHEITA												
F4-20-1	2	2	2,40	0,40	5	++++/0	60	2	4,40	1850	8,140	
F4-20-2	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	80	2	4,60	3417	15,718	
F4-20-3	2	2	4,10	2,10	1	++++/0	60	2	6,10	2022	12,334	
F4-20-4	2	2	3,40	1,40	1	++/++	85	2	5,40	4105	22,167	
F4-20-5	2	2	2,10	0,10	4	++++/0	0	2	4,10	422	1,730	
TOTAL				4,60			285		24,60	11816	60,089	
MÉDIA				0,92			57,00		4,92	2363	12,018	
D.P.				0,82			33,84		0,82	1440	7,708	

6ª COLHEITA												
F4-20-1	2	2	2,50	0,50	5	+++/+	85	2	4,50	4083	18,373	
F4-20-2	2	2	3,40	1,40	1	++++/0	75	2	5,40	4989	26,940	
F4-20-3	2	2	3,50	1,50	1	++++/0	75	2	5,50	822	4,521	
F4-20-4	2	2	3,60	1,60	1	++++/0	85	2	5,60	2089	11,698	
F4-20-5	2	2	2,40	0,40	5	++++/0	65	2	4,40	628	2,763	
TOTAL				5,40			365		25,40	12611	64,205	
MÉDIA				1,08			73,00		5,08	2522	12,859	
D.P.				0,58			8,37		0,58	1948	10,018	

7ª COLHEITA												
F4-20-1	2	2	2,40	0,40	5	++++/0	80	2	4,40	3294	14,493	
F4-20-2	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	75	2	5,30	1505	7,976	
F4-20-3	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	0	2	5,20	317	1,648	
F4-20-4	2	2	3,60	1,60	1	++++/0	85	2	5,60	6844	38,886	
F4-20-5	2	2	2,30	0,30	5	+++/+	70	2	4,30	255	1,086	
TOTAL				4,80			310		24,80	12315	64,099	
MÉDIA				0,96			62,00		4,96	2463	12,820	
D.P.				0,58			35,11		0,58	2791	15,556	

8ª COLHEITA											
F4-20-1	2	2	2,20	0,20	3	++++/0	80	2	4,20	3017	12,671
F4-20-2	2	2	3,00	1,00	3	++++/0	75	2	5,00	2772	13,860
F4-20-3	2	2	3,60	1,60	2	++++/0	60	2	5,60	750	4,200
F4-20-4	2	2	3,00	1,00	2	+++/+	70	2	5,00	1478	7,390
F4-20-5	2	2	2,60	0,60	5	++++/0	85	2	4,60	361	1,660
TOTAL				4,40			370		24,40	8378	39,781
MÉDIA				0,88			74,00		4,88	1676	7,956
D.P.				0,52			9,62		0,52	1186	5,271

9ª COLHEITA											
F4-20-1	2	2	3,10	1,10	5	++++/0	80	2	5,10	4689	23,913
F4-20-2	2	2	4,80	2,80	4	+++/+	75	2	6,80	3228	21,950
F4-20-3	2	2	4,40	2,40	3	++++/0	75	2	6,40	650	4,160
F4-20-4	2	2	2,80	0,80	2	0/++++	80	2	4,80	12067	57,921
F4-20-5	2	2	2,50	0,50	5	++++/0	70	2	4,50	389	1,750
TOTAL				7,60			380		27,60	21023	109,694
MÉDIA				1,52			76,00		5,52	4205	21,939
D.P.				1,02			4,18		1,02	4749	22,485

10ª COLHEITA											
F4-20-1	2	2	3,10	1,10	4	+++/+	85	2	5,10	2600	13,260
F4-20-2	2	2	3,70	1,70	2	+++/+	80	2	5,70	2072	11,525
F4-20-3	2	2	3,20	1,20	2	+++/+	55	2	5,20	717	3,728
F4-20-4	2	2	3,10	1,10	2	C/++++	75	2	5,10	7861	40,091
F4-20-5	2	2	2,90	0,90	5	++++/0	40	2	4,90	311	1,523
TOTAL				6,00			335		26,00	13511	70,127
MÉDIA				1,20			67,00		5,20	2702	14,025
D.P.				0,30			18,91		0,30	3031	15,400

11ª COLHEITA

F4-20-1	2	2	3,30	1,30	4	++++/0	75	2	5,30	5683	30,119
F4-20-2	2	2	3,70	1,70	2	++++/0	80	2	5,70	4044	23,050
F4-20-3	2	2	3,40	1,40	2	++++/0	50	2	5,40	322	1,738
F4-20-4	2	2	3,40	1,40	1	++++/0	65	2	5,40	1233	6,658
F4-20-5	2	2	2,70	0,70	5	++++/0	40	2	4,70	805	3,783
TOTAL				6,50			310		26,50	12088	65,348
MÉDIA				1,30			62,00		5,30	2418	13,070
D.P.				0,37			16,81		0,37	2330	12,709

Tabela VII

Colheitas e Características do Material Espermático de Cobaias *Cavia porcellus*  
Irradiadas com Dose Única de 50 Rad

Identificação do Animal	Alfa-Quimo Tripsina (mg)	Solução Tampão (ml)	Solução Tampão + Ejaculado	Volume Ejaculado (ml)	Nº de Estímulos	Características do Ejaculado Coag./Liquef.	Motilidade %	Volume Formol Salino (ml)	Ejaculado Total (ml)	Concentração Espermática /mm <sup>3</sup>	Concentração Espermática X10 <sup>6</sup> /Ejacul.
Fase Pré-Experimental (Média de 5 Semanas)											
U-50-1	2	2	2,68	0,68	4	++++/0	77	2	4,68	2405	11,255
U-50-2	2	2	2,80	0,80	2	+++/+	83	2	4,80	7555	36,264
U-50-3	2	2	2,36	0,36	3	0/++++	68	2	4,36	3283	14,313
U-50-4	2	2	3,48	1,48	1	++++/0	70	2	5,48	6511	35,680
U-50-5	2	2	2,75	0,78	3	++++/0	80	2	4,78	4033	19,277
TOTAL				4,10			378		24,10	23787	116,789
MÉDIA				0,82			75,60		4,82	4757	23,358
D.P.				0,41			6,43		0,41	2187	11,867
1ª COLHEITA											
U-50-1	2	2	2,50	0,50	4	++++/0	80	2	4,50	2278	10,251
U-50-2	2	2	2,60	0,60	3	+++/+	85	2	4,60	6711	30,871
U-50-3	2	2	2,20	0,20	4	0/++++	85	2	4,20	3311	13,906
U-50-4	2	2	3,60	1,60	1	+++/+	30	2	5,60	6033	33,784
U-50-5	2	2	4,00	2,00	1	+++/+	60	2	6,00	3411	20,466
TOTAL				4,90			340		24,90	21744	109,278
MÉDIA				0,98			68,00		4,98	4349	21,856
D.P.				0,77			23,61		0,77	1914	10,288

2ª COLHEITA											
U-50-1	2	2	2,60	0,60	4	++++/0	75	2	4,60	728	3,348
U-50-2	2	2	2,70	0,70	3	++++/0	90	2	4,70	7878	37,026
U-50-3	2	2	2,50	0,50	1	0/++++	40	2	4,50	2967	13,351
U-50-4	2	2	3,30	1,30	2	+++/+	70	2	5,30	1939	10,278
U-50-5	2	2	2,20	0,20	3	++++/0	85	2	4,20	1567	6,581
TOTAL				3,30			360		23,30	15079	70,582
MÉDIA				0,66			72,00		4,66	3016	14,116
D.P.				0,40			19,56		0,40	2834	13,350
3ª COLHEITA											
U-50-1	2	2	2,40	0,40	3	++++/0	70	2	4,40	933	4,105
U-50-2	2	2	2,30	0,30	3	+++/+	80	2	4,30	1628	7,000
U-50-3	2	2	2,40	0,40	3	0/++++	10	2	4,40	1717	7,554
U-50-4	2	2	3,10	1,10	1	++++/0	20	2	5,10	483	2,463
U-50-5	2	2	2,50	0,50	3	+++/+	85	2	4,50	2883	12,973
TOTAL				2,70			265		22,70	7644	34,095
MÉDIA				0,54			53,00		4,54	1529	6,819
D.P.				0,32			35,28		0,32	912	4,024
4ª COLHEITA											
U-50-1	2	2	2,20	0,20	3	++++/0	70	2	4,20	894	3,754
U-50-2	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	85	2	5,30	4833	25,614
U-50-3	2	2	2,10	0,10	1	0/++++	0	2	4,10	1011	4,145
U-50-4	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	70	2	5,30	239	1,266
U-50-5	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	90	2	5,30	1183	6,269
TOTAL				4,20			315		24,20	8160	41,048
MÉDIA				0,84			63,00		4,84	1632	8,210
D.P.				0,63			36,33		0,63	1825	9,890



5ª COLHEITA												
U-50-1	2	2	2,20	0,20	4	++++/0	60	2	4,20	361	1,516	
U-50-2	2	2	2,10	0,10	3	++++/0	40	2	4,10	411	1,685	
U-50-3	2	2	2,10	0,10	4	0/++++	0	2	4,10	489	2,004	
U-50-4	2	2	3,70	1,70	1	++++/0	35	2	5,70	250	1,425	
U-50-5	2	2	2,40	0,40	3	++/++	70	2	4,40	1633	7,185	
TOTAL				2,50			205		22,50	3144	13,815	
MÉDIA				0,50			41,00		4,50	629	2,763	
D.P.				0,68			27,02		0,68	568	2,482	
6ª COLHEITA												
U-50-1	2	2	2,20	0,20	5	++++/0	10	2	4,20	422	1,772	
U-50-2	2	2	2,70	0,70	1	++++/0	70	2	4,70	294	1,381	
U-50-3	2	2	2,20	0,20	4	0/++++	30	2	4,20	1244	5,224	
U-50-4	2	2	3,40	1,40	1	++++/0	60	2	5,40	1055	5,697	
U-50-5	2	2	2,40	0,40	4	++/++	60	2	4,40	978	4,303	
TOTAL				2,90			230		22,90	3993	18,377	
MÉDIA				0,58			46,00		4,58	799	3,675	
D.P.				0,50			25,10		0,50	416	1,985	
7ª COLHEITA												
U-50-1	2	2	2,60	0,60	5	++++/0	70	2	4,60	122	0,561	
U-50-2	2	2	2,90	0,90	1	++++/0	85	2	4,90	338	1,656	
U-50-3	2	2	2,50	0,50	2	0/++++	5	2	4,50	1067	4,801	
U-50-4	2	2	3,60	1,60	1	++++/0	60	2	5,60	355	1,988	
U-50-5	2	2	2,30	0,30	4	++++/0	50	2	4,30	1650	7,095	
TOTAL				3,90			270		23,90	3532	16,101	
MÉDIA				0,78			54,00		4,78	706	3,220	
D.P.				0,51			30,29		0,51	637	2,671	

8ª COLHEITA											
U-50-1	2	2	3,50	1,50	5	++++/0	75	2	5,50	189	1,039
U-50-2	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	90	2	5,00	872	4,360
U-50-3	2	2	2,40	0,40	4	0/++++	5	2	4,40	1122	4,936
U-50-4	2	2	3,70	1,70	1	++++/0	55	2	5,70	739	4,212
U-50-5	2	2	2,40	0,40	4	++++/0	35	2	4,40	2050	9,020
TOTAL				5,00			260		25,00	4972	23,567
MÉDIA				1,00			52,00		5,00	994	4,713
D.P.				0,60			33,47		0,60	682	2,849
9ª COLHEITA											
U-50-1	2	2	3,80	1,80	5	++++/0	40	2	5,80	361	2,093
U-50-2	2	2	3,00	1,00	2	++++/0	75	2	5,00	672	3,360
U-50-3	2	2	2,40	0,40	3	0/++++	20	2	4,40	1039	4,571
U-50-4	2	2	3,60	1,60	2	++++/0	10	2	5,60	633	3,544
U-50-5	2	2	2,60	0,60	3	++++/0	50	2	4,60	1872	8,611
TOTAL				4,00			195		25,40	4577	22,179
MÉDIA				0,80			39,00		5,08	915	4,436
D.P.				0,61			25,59		0,61	587	2,494
10ª COLHEITA											
U-50-1	2	2	2,60	0,60	5	++++/0	30	2	4,60	694	3,192
U-50-2	2	2	3,00	1,00	2	++++/0	75	2	5,00	1889	9,445
U-50-3	2	2	2,20	0,20	2	0/++++	40	2	4,20	1211	5,086
U-50-4	2	2	3,90	1,90	3	++++/0	0	2	5,90	794	4,684
U-50-5	2	2	2,50	0,50	3	++++/0	60	2	4,50	2144	9,648
TOTAL				4,20			205		24,20	6732	32,055
MÉDIA				0,84			41,00		4,84	1316	6,411
D.P.				0,66			28,81		0,66	648	2,949

11ª COLHEITA

U-50-1	2	2	2,80	0,80	3	++++/0	70	2	4,80	1944	9,331
U-50-2	2	2	3,00	1,00	2	++++/0	90	2	5,00	7583	37,915
U-50-3	2	2	2,50	0,50	4	0/++++	50	2	4,50	1533	6,898
U-50-4	2	2	3,30	1,30	2	++++/0	0	2	5,30	1239	6,566
U-50-5	2	2	2,60	0,60	4	++++/0	55	2	4,60	2311	10,630
TOTAL				4,20			265		24,20	14610	71,340
MÉDIA				0,84			53,00		4,84	2922	14,268
D.P.				0,32			33,47		0,32	2637	13,327

Tabela VIII

Colheitas e Características do Material Espermático de Cobaias *Cavia porcellus*  
Irradiadas com Dose Única de 100 Rad

Identificação do Animal	Alfa-Quimo Tripsina (mg)	Solução Tampão (ml)	Solução Tampão + Ejaculado	Volume Ejaculado (ml)	Nº de Estímulos	Características do Ejaculado Coag./Liquef.	Motilidade %	Volume Formol Salino (ml)	Ejaculado Total (ml)	Concentração Espermática /mm <sup>3</sup>	Concentração Espermática X10 <sup>6</sup> /Ejacul.
Fase Pré-Experimental (Média de 5 Semanas)											
U-100-1	2	2	2,38	0,38	3	++++/0	76	2	4,38	7744	33,918
U-100-2	2	2	3,10	1,10	2	++++/0	83	2	5,10	11828	60,322
U-100-3	2	2	2,66	0,66	2	++++/0	83	2	4,66	5333	24,851
U-100-4	2	2	2,82	0,82	2	++++/0	80	2	4,82	8367	40,328
U-100-5	2	2	3,26	1,26	1	++++/0	81	2	5,26	2644	13,907
TOTAL				4,22			403		24,22	35916	173,326
MÉDIA				0,84			80,60		4,84	7183	34,665
D.P.				0,35			2,88		0,35	3439	17,451
1ª COLHEITA											
U-100-1	2	2	2,20	0,20	3	+++/+	85	2	4,20	7644	32,104
U-100-2	2	2	4,20	2,20	1	++++/0	90	2	6,20	9183	56,934
U-100-3	2	2	2,70	0,70	1	++++/0	90	2	4,70	4767	22,404
U-100-4	2	2	3,30	1,30	2	++++/0	60	2	5,30	7233	34,24
U-100-5	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	80	2	5,20	2478	12,885
TOTAL				5,60			405		25,60	31305	162,661
MÉDIA				1,12			81,00		5,12	6261	32,532
D.P.				0,75			12,45		0,75	2643	16,717

## 2ª COLHEITA

U-100-1	2	2	2,10	0,10	4	++++/0	50	2	4,10	6017	24,669
U-100-2	2	2	3,80	0,80	1	++++/0	90	2	5,80	9517	55,198
U-100-3	2	2	2,30	0,30	2	++++/0	85	2	4,30	4278	18,395
U-100-4	2	2	2,20	0,20	2	0/++++	90	2	4,20	7144	30,004
U-100-5	2	2	2,90	0,90	1	+++/+	80	2	4,90	1617	7,923
TOTAL				3,30			395		23,30	28573	136,189
MÉDIA				0,66			79,00		4,66	5715	27,238
D.P.				0,71			16,73		0,71	2977	17,658

## 3ª COLHEITA

U-100-1	2	2	2,30	0,30	4	+/+++	85	2	4,30	5589	23,172
U-100-2	2	2	2,90	0,90	2	++++/0	85	2	4,90	1278	6,262
U-100-3	2	2	3,00	1,00	2	+++/+	85	2	5,00	5061	25,305
U-100-4	2	2	2,30	0,30	2	++++/0	70	2	4,30	4228	18,180
U-100-5	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	85	2	5,30	1622	8,596
TOTAL				3,80			410		23,80	17578	81,515
MÉDIA				0,76			82,00		4,76	3516	16,303
D.P.				0,44			6,71		0,44	1935	8,543

## 4ª COLHEITA

U-100-1	2	2	2,20	0,20	4	+++/+	90	2	4,20	4828	20,277
U-100-2	2	2	2,20	0,20	4	++++/0	85	2	4,20	639	2,683
U-100-3	2	2	3,30	1,30	2	++++/0	60	2	5,30	1261	6,683
U-100-4	2	2	2,70	0,70	1	++++/0	75	2	4,70	1455	6,838
U-100-5	2	2	2,80	0,80	1	++++/0	85	2	4,80	883	4,238
TOTAL				3,20			395		23,20	9066	40,719
MÉDIA				0,64			79,00		4,64	1813	8,144
D.P.				0,46			11,94		0,46	1715	7,002

5ª COLHEITA											
U-100-1	2	2	2,10	0,10	5	++++/0	30	2	4,10	278	1,139
U-100-2	2	2	2,30	0,30	5	++++/0	70	2	4,30	300	1,290
U-100-3	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	60	2	4,60	122	0,561
U-100-4	2	2	2,50	0,50	1	++++/0	75	2	4,50	1867	8,401
U-100-5	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	60	2	5,00	355	1,775
TOTAL				2,50			295		22,50	2922	13,166
MÉDIA				0,50			59,00		4,50	584	2,633
D.P.				0,34			17,46		0,34	722	3,253
6ª COLHEITA											
U-100-1	2	2	2,30	0,30	2	+++/+	75	2	4,30	761	3,272
U-100-2	2	2	2,20	0,20	5	++++/0	75	2	4,20	211	0,886
U-100-3	2	2	2,50	0,50	3	++++/0	75	2	4,50	722	3,249
U-100-4	2	2	2,30	0,30	1	++++/0	70	2	4,30	1111	4,777
U-100-5	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	70	2	5,20	172	0,894
TOTAL				2,50			365		22,50	2977	13,078
MÉDIA				0,50			73,00		4,50	595	2,616
D.P.				0,41			2,74		0,41	399	1,692
7ª COLHEITA											
U-100-1	2	2	2,20	0,20	5	++++/0	65	2	4,20	1733	7,278
U-100-2	2	2	3,00	1,00	5	++++/0	90	2	5,00	189	0,945
U-100-3	2	2	2,30	0,30	1	++++/0	50	2	4,30	483	2,076
U-100-4	2	2	3,80	1,80	1	++++/0	75	2	5,80	505	2,929
U-100-5	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	75	2	5,00	144	0,720
TOTAL				4,30			355		24,30	3054	13,948
MÉDIA				0,86			71,00		4,86	611	2,790
D.P.				0,65			14,75		0,65	648	2,663

8ª COLHEITA											
U-100-1	2	2	2,50	0,50	2	++++/0	65	2	4,50	1672	7,524
U-100-2	2	2	2,50	0,50	5	++++/0	85	2	4,50	2139	9,625
U-100-3	2	2	2,50	0,50	2	++++/0	55	2	4,50	972	4,374
U-100-4	2	2	3,50	1,50	2	++/++	90	2	5,50	1361	7,485
U-100-5	2	2	2,90	0,90	2	++++/0	65	2	4,90	150	0,735
TOTAL				3,90			360		23,90	6294	29,743
MÉDIA				0,78			72,00		4,78	1259	5,949
D.P.				0,44			14,83		0,44	753	3,465
9ª COLHEITA											
U-100-1	2	2	2,90	0,90	3	++++/0	50	2	4,90	572	2,802
U-100-2	2	2	2,80	0,80	4	+++/+	70	2	4,80	4544	21,811
U-100-3	2	2	2,70	0,70	1	++++/0	60	2	4,70	2311	10,861
U-100-4	2	2	3,10	1,10	1	++++/0	80	2	5,10	2433	12,408
U-100-5	2	2	4,00	2,00	2	+++/+	80	2	6,00	1172	7,032
TOTAL				5,50			340		25,50	11032	54,914
MÉDIA				1,10			68,00		5,10	2206	10,983
D.P.				0,52			13,04		0,52	1522	7,103
10ª COLHEITA											
U-100-1	2	2	2,50	0,50	3	++++/0	50	2	4,50	2083	9,373
U-100-2	2	2	3,20	1,20	4	+++/+	70	2	5,20	2339	12,162
U-100-3	2	2	2,60	0,60	2	++++/0	50	2	4,60	883	4,061
U-100-4	2	2	2,60	0,60	4	++++/0	40	2	4,60	5717	26,298
U-100-5	2	2	3,40	1,40	2	++++/0	80	2	5,40	1255	6,777
TOTAL				4,30			290		24,30	12277	58,671
MÉDIA				0,86			58,00		4,86	2455	11,734
D.P.				0,41			16,43		0,41	1917	8,679

11ª COLHEITA											
U-100-1	2	2	2,70	0,70	3	++++/0	50	2	4,70	1067	5,014
U-100-2	2	2	3,20	1,20	4	++++/0	75	2	5,20	5672	29,494
U-100-3	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	60	2	4,60	2972	13,671
U-100-4	2	2	2,60	0,60	3	++++/0	50	2	4,60	8644	39,762
U-100-5	2	2	4,00	2,00	1	++++/0	45	2	6,00	561	3,366
TOTAL				5,10			280		25,10	18916	91,307
MÉDIA				1,02			56,00		5,02	3783	18,261
D.P.				0,60			11,94		0,60	3377	15,866



Tabela IX

Colheitas e Características do Material Espermático de Cobaias *Cavia porcellus*  
Irradiadas com Dose Única de 200 Rad

Identificação de Anima	Ata-Quimo Trypsina (mg)	Solução Tampão (ml)	Solução Tampão Ejaculado	Volume Ejaculado (ml)	Nº de Estímulos	Características do Ejaculado Coag./Liquef.	Motilidade %	Volume Formol Salino (ml)	Ejaculado Total (ml)	Concentração Espermática /mm <sup>3</sup>	Concentração Espermática X10 <sup>6</sup> /Ejacul.
Fase Pré-Experimental (Média de 5 Semanas)											
U-200-1	2	2	3,52	1,52	4	++++/0	75	2	5,52	8750	48,300
U-200-2	2	2	3,48	1,48	2	++++/0	79	2	5,48	9461	51,846
U-200-3	2	2	3,12	1,12	1	++++/0	50	2	5,12	5583	28,584
U-200-4	2	2	3,38	1,38	1	++++/0	59	2	5,38	3494	18,797
U-200-5	2	2	2,90	0,90	2	++++/0	67	2	4,90	4228	20,717
TOTAL				6,40			330		26,40	31516	168,244
MÉDIA				1,28			66,00		5,28	6303	33,649
D.P.				0,26			11,79		0,26	2677	15,486
1ª COLHEITA											
U-200-1	2	2	5,00	3,00	2	++++/0	80	2	7,00	6694	46,858
U-200-2	2	2	3,60	1,60	1	++++/0	80	2	5,60	9472	53,043
U-200-3	2	2	2,40	0,40	1	++++/0	50	2	4,40	5428	23,883
U-200-4	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	50	2	5,30	3405	18,046
U-200-5	2	2	3,20	1,20	5	++++/0	60	2	5,20	4183	21,751
TOTAL				7,50			320		27,50	29182	163,581
MÉDIA				1,50			64,00		5,50	5836	32,716
D.P.				0,95			15,16		0,95	2386	16,021

2ª COLHEITA											
U-200-1	2	2	4,50	2,50	5	++++/0	65	2	6,50	5822	37,843
U-200-2	2	2	3,30	1,30	2	++++/0	65	2	5,30	7617	40,370
U-200-3	2	2	2,80	0,80	1	++++/0	50	2	4,80	5268	25,286
U-200-4	2	2	3,70	1,70	1	++++/0	50	2	5,70	2578	14,694
U-200-5	2	2	2,70	0,70	2	++++/0	65	2	4,70	2817	13,239
TOTAL				7,00			295		27,00	24102	131,432
MÉDIA				1,40			59,00		5,40	4820	26,286
D.P.				0,73			8,21		0,73	2125	12,624
3ª COLHEITA											
U-200-1	2	2	2,70	0,70	5	++++/0	40	2	4,70	3789	17,808
U-200-2	2	2	4,60	2,60	3	++++/0	85	2	6,60	8250	54,450
U-200-3	2	2	3,70	1,70	1	++++/0	50	2	5,70	2917	16,626
U-200-4	2	2	3,50	1,50	1	++++/0	60	2	5,50	2083	11,456
U-200-5	2	2	2,50	0,50	2	+++/+	40	2	4,50	2328	10,476
TOTAL				7,00			275		27,00	19367	110,816
MÉDIA				1,40			55,00		5,40	3873	22,163
D.P.				0,84			18,71		0,84	2533	18,325
4ª COLHEITA											
U-200-1	2	2	4,20	2,20	4	++++/0	75	2	6,20	3976	24,663
U-200-2	2	2	2,50	0,50	3	++/++	80	2	4,50	5783	28,023
U-200-3	2	2	3,10	1,10	1	++++/0	40	2	5,10	4289	21,873
U-200-4	2	2	2,80	0,80	1	++++/0	45	2	4,80	1205	5,784
U-200-5	2	2	2,40	0,40	1	++++/0	85	2	4,40	4372	19,236
TOTAL				5,00			325		25,00	19627	97,579
MÉDIA				1,00			65,00		5,00	3925	19,516
D.P.				0,72			20,92		0,72	1672	8,109

## 5ª COLHEITA

U-200-1	2	2	2,20	0,20	3	++/++	50	2	4,20	2117	8,891
U-200-2	2	2	2,60	0,60	2	++/++	80	2	4,60	1500	6,900
U-200-3	2	2	3,00	1,00	3	++/++	10	2	5,00	1933	9,665
U-200-4	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	70	2	5,20	828	4,305
U-200-5	2	2	2,40	0,40	3	++++/0	50	2	4,40	1322	5,816
TOTAL				3,40			260		23,40	7700	35,577
MÉDIA				0,68			52,00		4,68	1540	7,115
D.P.				0,41			26,83		0,41	511	2,196

## 6ª COLHEITA

U-200-1	2	2	2,70	0,70	5	++++/0	55	2	4,70	1328	6,241
U-200-2	2	2	3,20	1,20	1	++++/+	90	2	5,20	1444	7,508
U-200-3	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	45	2	4,60	122	0,561
U-200-4	2	2	3,30	1,30	1	++++/0	65	2	5,30	244	1,293
U-200-5	2	2	3,30	1,30	3	++++/0	65	2	5,30	544	2,883
TOTAL				5,10			320		25,10	3682	18,486
MÉDIA				1,02			64,00		5,02	736	3,697
D.P.				0,34			16,73		0,34	614	3,052

## 7ª COLHEITA

U-200-1	2	2	2,30	0,30	5	++++/0	60	2	4,30	78	0,335
U-200-2	2	2	3,70	1,70	2	++++/+	85	2	5,70	567	3,231
U-200-3	2	2	3,70	1,70	2	++++/+	45	2	5,70	128	0,729
U-200-4	2	2	3,40	1,40	1	++++/0	60	2	5,40	194	1,047
U-200-5	2	2	3,00	1,00	3	++++/0	70	2	5,00	678	3,390
TOTAL				6,10			320		26,10	1645	8,732
MÉDIA				1,22			64,00		5,22	329	1,746
D.P.				0,59			14,75		0,59	274	1,451

8ª COLHEITA											
U-200-1	2	2	2,50	0,50	5	++++/0	85	2	4,50	39	0,175
U-200-2	2	2	3,00	1,00	2	++/++	75	2	5,00	205	1,025
U-200-3	2	2	3,40	1,40	2	++++/0	25	2	5,40	194	1,047
U-200-4	2	2	3,30	1,30	2	++++/0	55	2	5,30	233	1,234
U-200-5	2	2	2,90	0,90	2	++++/0	50	2	4,90	344	1,685
TOTAL				5,10			290		25,10	1015	5,166
MÉDIA				1,02			58,00		5,02	203	1,033
D.P.				0,36			23,34		0,36	109	0,548
9ª COLHEITA											
U-200-1	2	2	2,60	0,60	4	++++/0	70	2	4,60	283	1,301
U-200-2	2	2	3,70	1,70	1	++++/0	50	2	5,70	117	0,666
U-200-3	2	2	3,50	1,50	1	++++/0	0	2	5,50	461	2,535
U-200-4	2	2	2,90	0,90	1	++++/0	0	2	4,90	189	0,926
U-200-5	2	2	3,30	1,30	4	++++/0	30	2	5,30	250	1,325
TOTAL				6,00			150		26,00	1300	6,753
MÉDIA				1,20			30,00		5,20	260	1,351
D.P.				0,45			30,82		0,45	129	0,717
10ª COLHEITA											
U-200-1	2	2	2,80	0,80	5	++++/0	50	2	4,80	1150	5,520
U-200-2	2	2	3,40	1,40	2	++++/0	10	2	5,40	228	1,231
U-200-3	2	2	2,60	0,60	1	++++/0	0	2	4,60	261	1,200
U-200-4	2	2	3,50	1,50	1	++++/0	0	2	5,50	144	0,792
U-200-5	2	2	2,40	0,40	2	+ / + + +	30	2	4,40	283	1,245
TOTAL				4,70			90		24,70	2066	9,988
MÉDIA				0,94			18,00		4,94	413	1,998
D.P.				0,49			21,68		0,49	415	1,978

11ª COLHEITA											
U-200-1	2	2	3,20	1,20	5	++++/0	70	2	5,20	578	3,005
U-200-2	2	2	3,30	1,30	4	++++/0	10	2	5,30	250	1,325
U-200-3	2	2	2,40	0,40	4	++++/0	0	2	4,40	300	1,320
U-200-4	2	2	3,80	1,80	2	++++/0	0	2	5,80	450	2,610
U-200-5	2	2	3,30	1,30	3	++++/0	40	2	5,30	233	1,234
TOTAL				6,00			120		26,00	1811	9,494
MÉDIA				1,20			24,00		5,20	362	1,899
D.P.				0,50			30,49		0,50	148	0,842

Tabela X

Colheitas e Características do Material Espermático de Cobaias *Cavia porcellus*  
Irradiadas com Dose Única de 400 Rad

Identificação do Animal	Alfa-Quimo Tripsina (mg)	Solução Tampão (ml)	Solução Tampão + Ejaculado	Volume Ejaculado (ml)	Nº de Estímulos	Características do Ejaculado Coag./Liquef.	Motilidade %	Volume Formol Salino (ml)	Ejaculado Total (ml)	Concentração Espermática /mm <sup>3</sup>	Concentração Espermática X10 <sup>6</sup> /Ejacul. (ml)
Fase Pré-Experimental (Média de 5 Semanas)											
U-400-1	2	2	3,06	1,06	2	++++/0	83	2	5,06	11089	56,110
U-400-2	2	2	2,54	0,54	3	++++/0	81	2	4,54	7050	32,007
U-400-3	2	2	3,56	1,56	1	++++/0	71	2	5,56	9328	51,863
U-400-4	2	2	2,76	0,76	2	++++/0	83	2	4,76	6555	31,201
U-400-5	2	2	2,96	0,96	2	++++/0	75	2	4,96	10828	53,706
TOTAL				4,88			393		24,88	44850	224,887
MÉDIA				0,98			78,60		4,98	8970	44,977
D.P.				0,38			5,37		0,38	2097	12,304
1ª COLHEITA											
U-400-1	2	2	3,40	1,40	2	++++/0	80	2	5,40	10011	54,059
U-400-2	2	2	2,30	0,30	5	++++/0	70	2	4,30	6822	29,334
U-400-3	2	2	3,30	1,30	1	+++/+	50	2	5,30	8655	45,871
U-400-4	2	2	2,90	0,90	2	+++/+	90	2	4,90	5844	28,635
U-400-5	2	2	3,20	1,20	2	+++/+	70	2	5,20	10628	55,265
TOTAL				5,10			360		25,10	41960	213,164
MÉDIA				1,02			72,00		5,02	8392	42,633
D.P.				0,44			14,83		0,44	2040	12,975

2ª COLHEITA												
U-400-1	2	2	2,60	0,60	2	++++/0	80	2	4,60	7578	34,858	
U-400-2	2	2	2,40	0,40	3	++++/0	85	2	4,40	6233	27,425	
U-400-3	2	2	2,70	0,70	2	++++/0	70	2	4,70	9300	43,710	
U-400-4	2	2	2,60	0,60	2	++++/0	85	2	4,60	1139	5,239	
U-400-5	2	2	2,80	0,80	2	++++/0	35	2	4,80	4555	21,864	
TOTAL				3,10			355		23,10	28805	133,096	
MÉDIA				0,62			71,00		4,62	5761	26,619	
D.P.				0,15			21,04		0,15	3117	14,494	
3ª COLHEITA												
U-400-1	2	2	3,30	1,30	2	+++/+	90	2	5,30	9333	49,464	
U-400-2	2	2	2,30	0,30	3	+++/+	80	2	4,30	2644	11,369	
U-400-3	2	2	4,50	2,50	1	++++/0	90	2	6,50	8511	55,321	
U-400-4	2	2	2,40	0,40	2	++++/0	85	2	4,40	683	3,005	
U-400-5	2	2	3,10	1,10	2	+++/+	85	2	5,10	822	4,132	
TOTAL				5,60			430		25,60	21993	123,351	
MÉDIA				1,12			86,00		5,12	4399	24,670	
D.P.				0,88			4,18		0,88	4211	25,592	
4ª COLHEITA												
U-400-1	2	2	2,90	0,90	1	++++/0	80	2	4,90	322	1,577	
U-400-2	2	2	3,00	1,00	5	++++/0	90	2	5,00	1122	5,610	
U-400-3	2	2	3,80	1,80	1	++++/0	75	2	5,80	411	2,383	
U-400-4	2	2	2,90	0,90	1	++++/0	90	2	4,90	489	2,396	
U-400-5	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	10	2	5,20	511	2,657	
TOTAL				5,80			345		25,80	2855	14,623	
MÉDIA				1,16			69,00		5,16	571	2,925	
D.P.				0,38			33,62		0,38	317	1,555	

5ª COLHEITA											
U-400-1	2	2	3,50	1,50	3	++++/0	85	2	5,50	255	1,402
U-400-2	2	2	2,60	0,60	3	++++/0	65	2	4,60	450	2,070
U-400-3	2	2	3,50	1,50	2	++++/0	50	2	5,50	139	0,764
U-400-4	2	2	2,20	0,20	2	++++/0	65	2	4,20	311	1,306
U-400-5	2	2	2,70	0,70	1	++++/0	50	2	4,70	850	3,995
TOTAL				4,50			315		24,50	2005	9,537
MÉDIA				0,90			63,00		4,90	401	1,907
D.P.				0,58			14,40		0,58	275	1,256
6ª COLHEITA											
U-400-1	2	2	2,80	0,80	1	++++/0	85	2	4,80	128	0,614
U-400-2	2	2	2,40	0,40	4	+/++	75	2	4,40	317	1,394
U-400-3	2	2	2,90	0,90	1	++++/0	50	2	4,90	83	0,406
U-400-4	2	2	2,90	0,90	1	++++/0	45	2	4,90	35	0,171
U-400-5	2	2	2,50	0,50	2	++++/0	0	2	4,50	217	0,976
TOTAL				3,50			255		23,50	780	3,561
MÉDIA				0,70			51,00		4,70	156	0,712
D.P.				0,23			33,05		0,23	112	0,482
7ª COLHEITA											
U-400-1	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	75	2	5,20	105	0,546
U-400-2	2	2	2,40	0,40	5	++++/0	45	2	4,40	216	0,950
U-400-3	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	50	2	5,20	172	0,894
U-400-4	2	2	3,50	1,50	1	++++/0	65	2	5,50	25	0,137
U-400-5	2	2	2,40	0,40	5	++++/0	0	2	4,40	194	0,853
TOTAL				4,70			235		24,70	712	3,380
MÉDIA				0,94			47,00		4,94	142	0,676
D.P.				0,51			28,85		0,51	78	0,340



8ª COLHEITA												
U-400-1	2	2	3,20	1,20	1	++++/0	75	2	5,20	128	0,665	
U-400-2	2	2	2,70	0,70	3	++++/0	45	2	4,70	250	1,175	
U-400-3	2	2	4,00	2,00	1	++++/0	50	2	6,00	183	1,098	
U-400-4	2	2	3,00	1,00	1	++++/0	50	2	5,00	20	0,100	
U-400-5	2	2	2,40	0,40	4	++++/0	15	2	4,40	133	0,585	
TOTAL				5,30			235		25,30	714	3,623	
MÉDIA				1,06			47,00		5,06	143	0,725	
D.P.				0,61			21,39		0,61	84	0,434	
9ª COLHEITA												
U-400-1	2	2	2,80	0,80	2	+++/+	70	2	4,80	289	1,387	
U-400-2	2	2	2,20	0,20	5	++++/0	40	2	4,20	189	0,793	
U-400-3	2	2	3,50	1,50	2	++++/0	60	2	5,50	222	1,221	
U-400-4	2	2	3,50	1,50	1	++++/0	75	2	5,50	178	0,979	
U-400-5	2	2	2,70	0,70	2	+++/+	80	2	4,70	39	0,183	
TOTAL				4,70			325		24,70	917	4,563	
MÉDIA				0,94			65,00		4,94	183	0,913	
D.P.				0,56			15,81		0,56	92	0,467	
10ª COLHEITA												
U-400-1	2	2	2,60	0,60	3	++/++	65	2	4,60	255	1,173	
U-400-2	2	2	2,60	0,60	4	+/+++	40	2	4,60	244	1,122	
U-400-3	2	2	3,90	1,90	1	++++/0	45	2	5,90	72	0,424	
U-400-4	2	2	2,70	0,70	5	++++/0	20	2	4,70	167	0,784	
U-400-5	2	2	3,60	1,60	2	+++/+	0	2	5,60	22	0,123	
TOTAL				5,40			170		25,40	760	3,626	
MÉDIA				1,08			34,00		5,08	152	0,725	
D.P.				0,62			24,85		0,62	103	0,451	

11ª COLHEITA

U-400-1	2	2	3,30	1,30	2	++++/0	75	2	5,30	322	1,706
U-400-2	2	2	3,00	1,00	5	+++/+	40	2	5,00	228	1,140
U-400-3	2	2	3,80	1,80	2	++++/0	60	2	5,80	188	1,090
U-400-4	2	2	2,40	0,40	2	+ /+++	10	2	4,40	244	1,073
U-400-5	2	2	3,60	1,60	3	++++/0	0	2	5,60	100	0,560
TOTAL				6,10			185		26,10	1082	5,569
MÉDIA				1,22			37,00		5,22	216	1,114
D.P.				0,55			31,94		0,55	81	0,406

Tabela XI

Sêmen de Cobaia *Cavia porcellus* Obtido por Eletroejaculação  
Distribuição dos Estímulos Elétricos Aplicados e das Características do Ejaculado

GRUPOS	COLHEITAS	COLHEITAS POR Nº DE ESTÍMULOS					CLASSIFICAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO EJACULADO							
		1	2	3	4	5	CRITÉRIO I					CRITÉRIO II		
							++++/0	+++/*	**/**	+/**	0/****	COMPLETAMENTE COAGULADO	GELATINOSO LIQUEFEITO	
F-2	51	2	12	7	14	16	28	8	1	3	11	6	31	14
F-5	60	20	28	5	4	3	29	24	4	3	0	4	53	3
F-10	60	25	24	7	3	1	38	5	3	4	10	0	46	14
F-20	60	28	16	8	3	5	47	11	1	1	0	2	57	1
F4-20	60	24	11	5	6	14	38	19	1	0	2	5	53	2
U-50	60	16	9	17	13	5	39	7	2	0	12	6	42	12
U-100	60	21	18	7	8	6	49	8	1	1	1	5	53	2
U-200	60	22	16	8	6	8	50	4	5	1	0	4	55	1
U-400	60	19	21	10	3	7	46	10	2	2	0	3	55	2
** TESTEMUNHAS	60	26	27	5	2	0	29	23	5	2	1	1	56	3
TOTAL	591	203	182	79	62	65	393	119	25	17	37	36	501	54
%	100,00	34,35	30,80	13,37	10,49	10,99	66,50	20,13	4,23	2,88	6,26	6,09	84,77	9,14

I - Estado Físico de Coagulação (++++/0) → Liquefeito (0/++++)

II - Estado Físico Predominante

\* - Para Efeito de Distribuição no Critério II, Foi Considerada a Fração Sólida.

\*\* - Os Dados Correspondem aos 5 Animais Sorteados Dentre os 8 Animais Pesquisados.

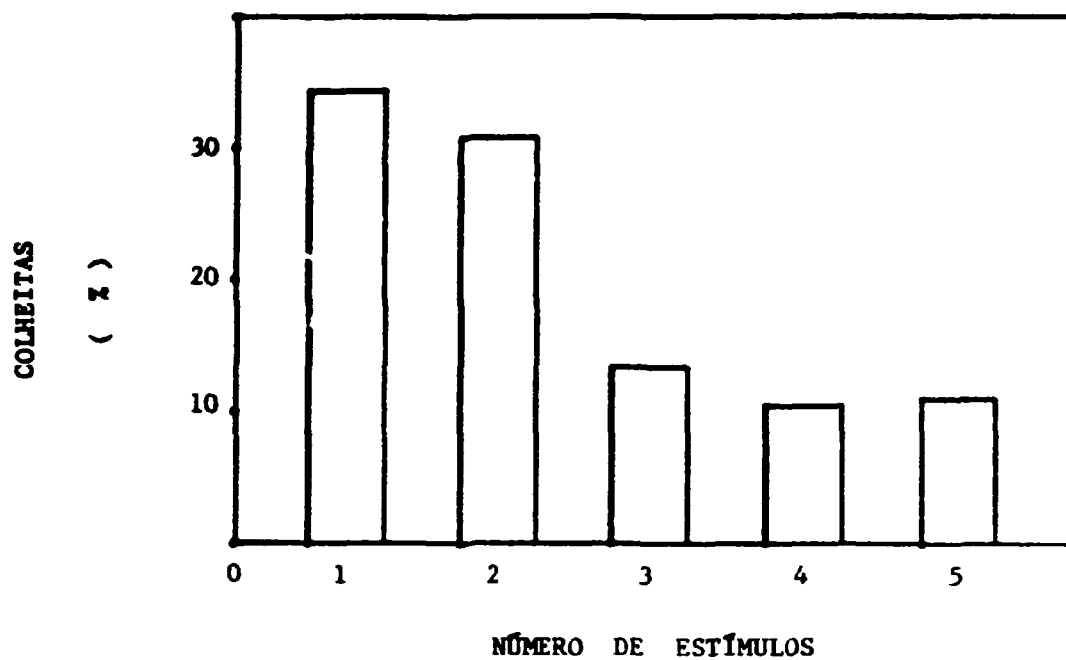


Figura 17 – Sêmen de cobaia *Cavia porcellus* obtido por eletroejaculação. Distribuição dos estímulos elétricos aplicados

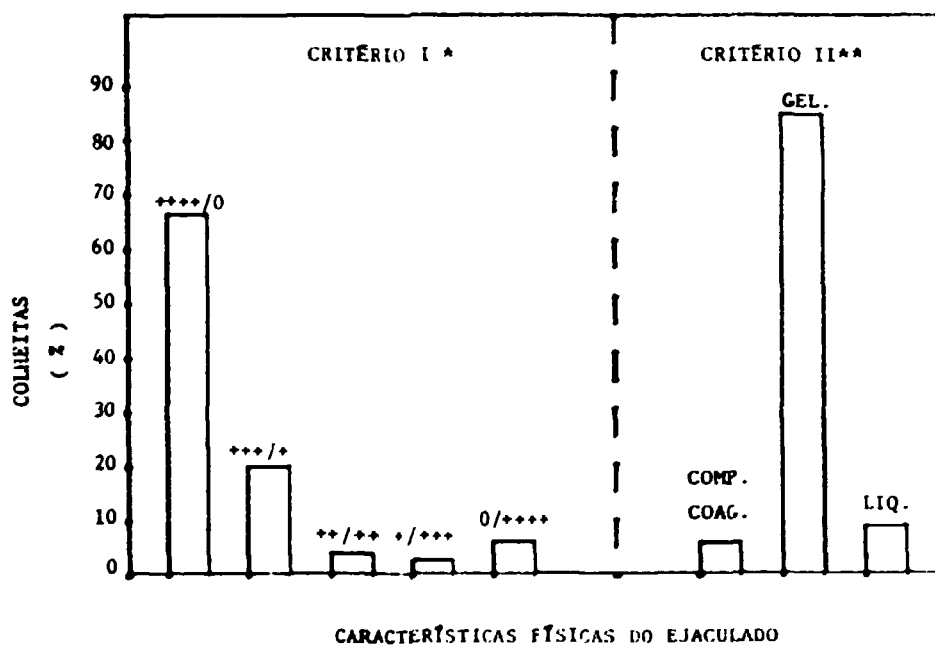


Figura 17A – Sêmen de cobaia *Cavia porcellus* obtido por eletroejaculação. Distribuição das características físicas do ejaculado

\*I = Estado físico de coagulação (++++/0) → liquefeito (0/++++)

\*\*II = Estado físico predominante

COMP. COAG. = Completamente coagulado

GEL. = Gelatinoso

LIQ. = Liquefeito

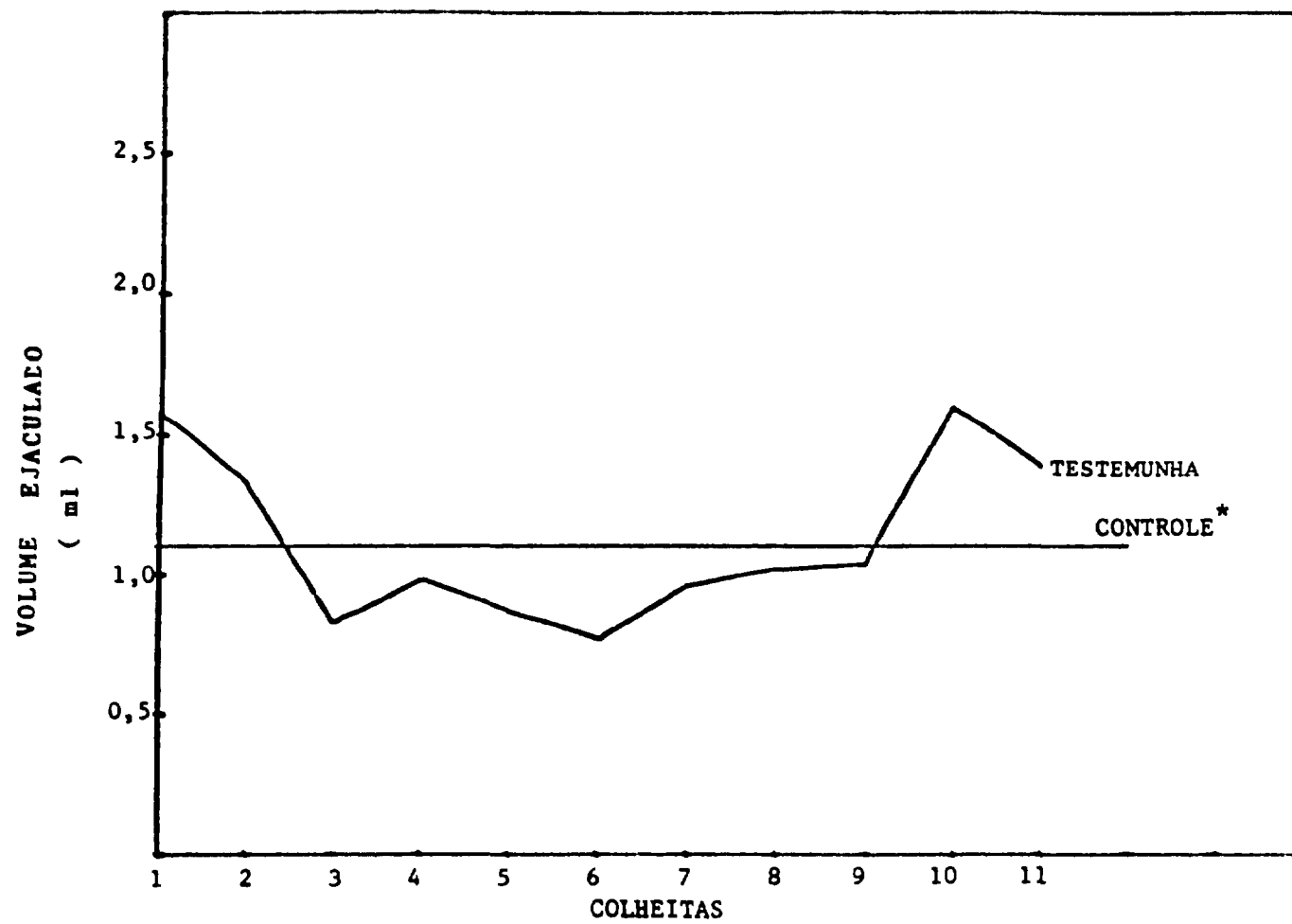


Figura 18 - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo testemunha. Volume ejaculado (média por colheita)  
\* média das 5 semanas da fase pré-experimental

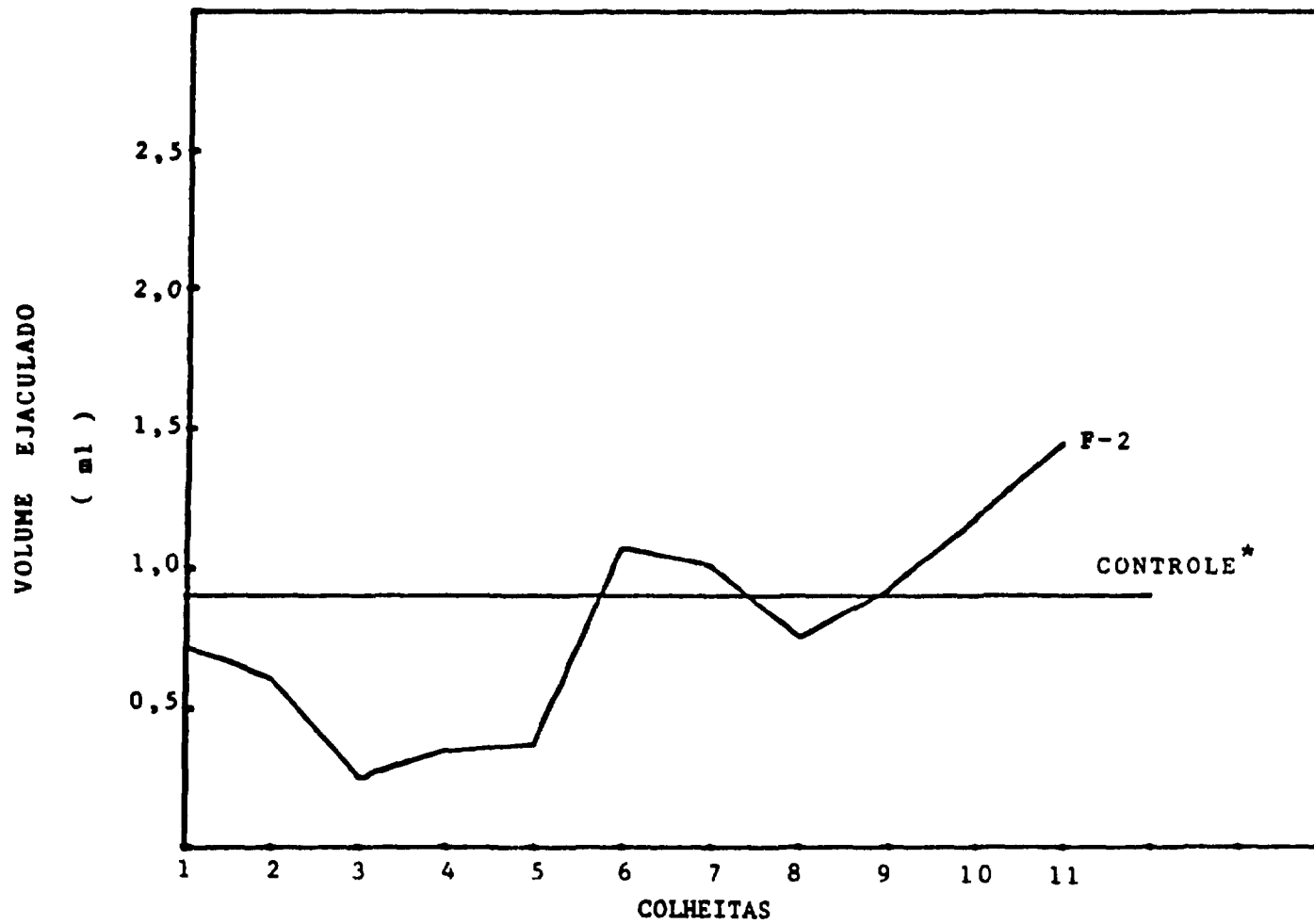


Figura 19 - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 2 rad. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

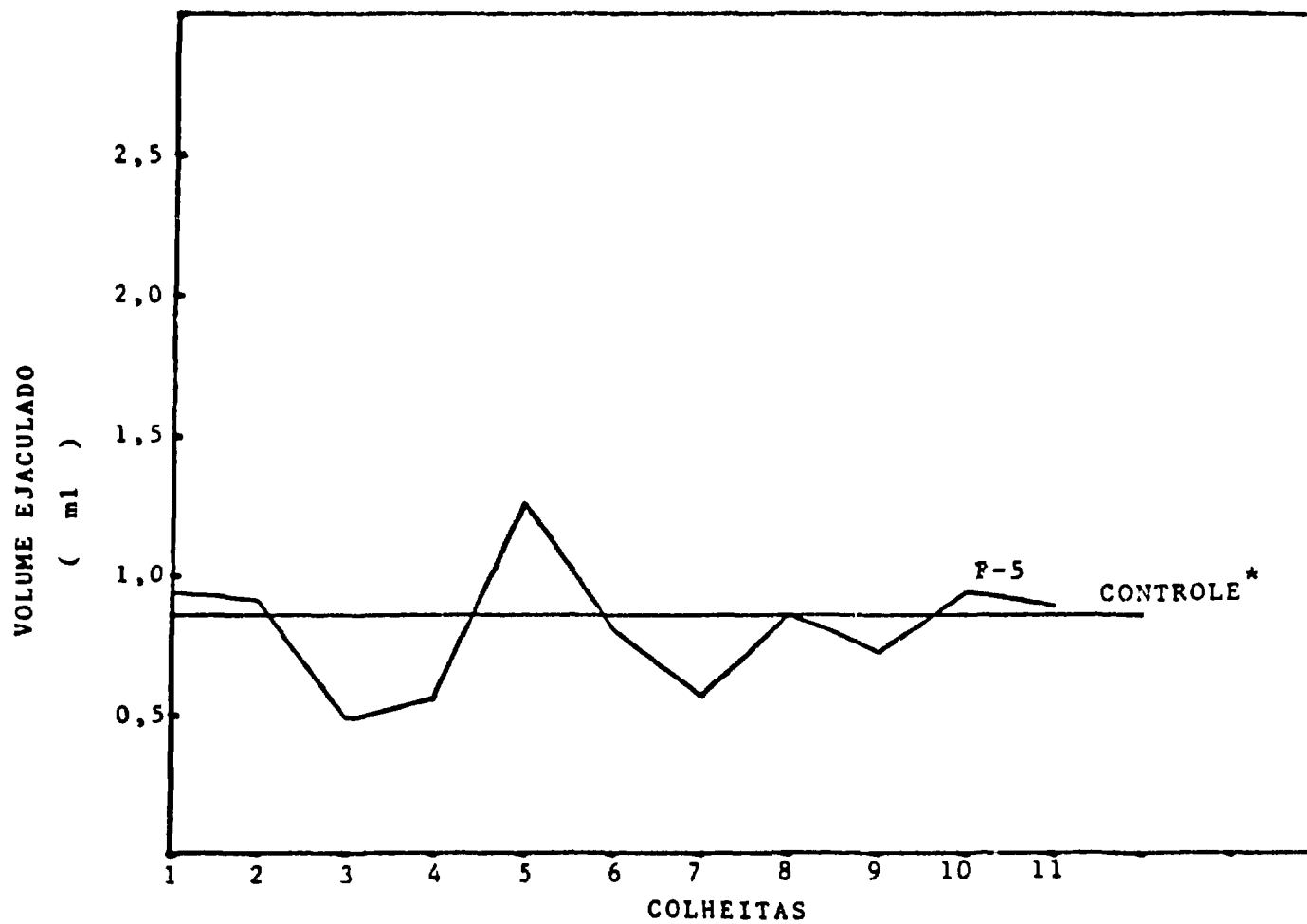


Figura 20 -- Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 5 rad. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

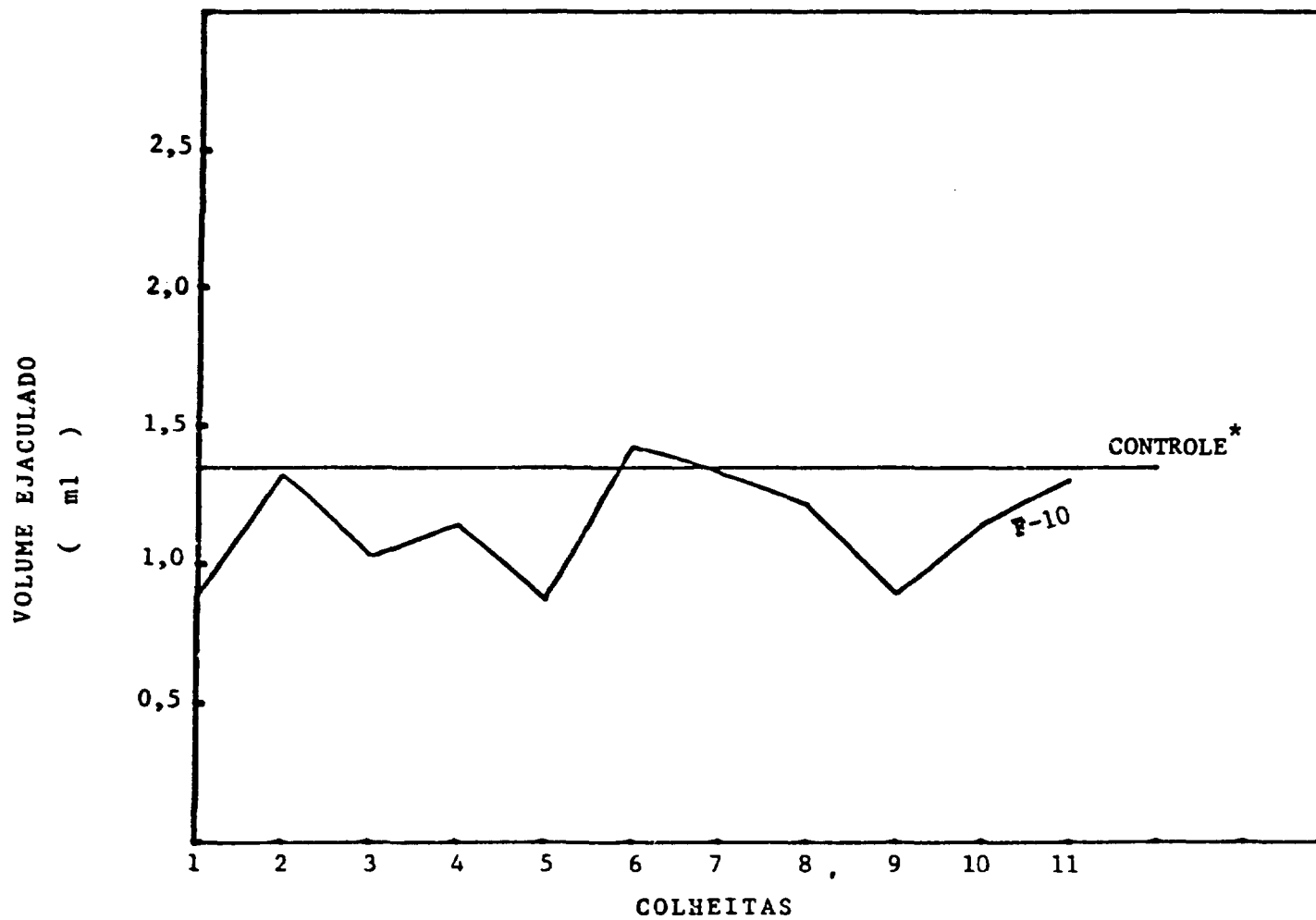


Figura 21 — Cobaías *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 10 rad. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental



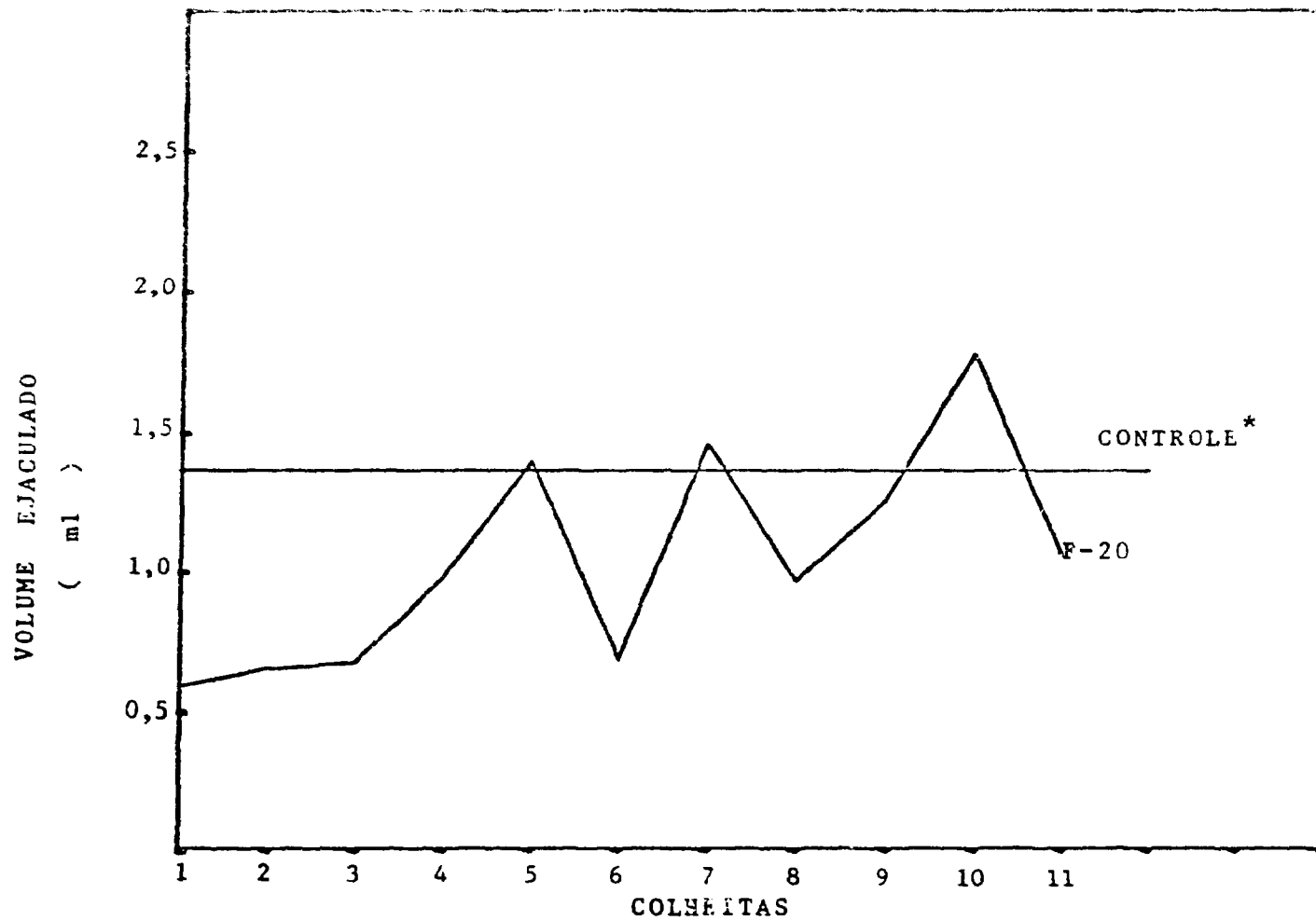


Figura 22 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 20 rad. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

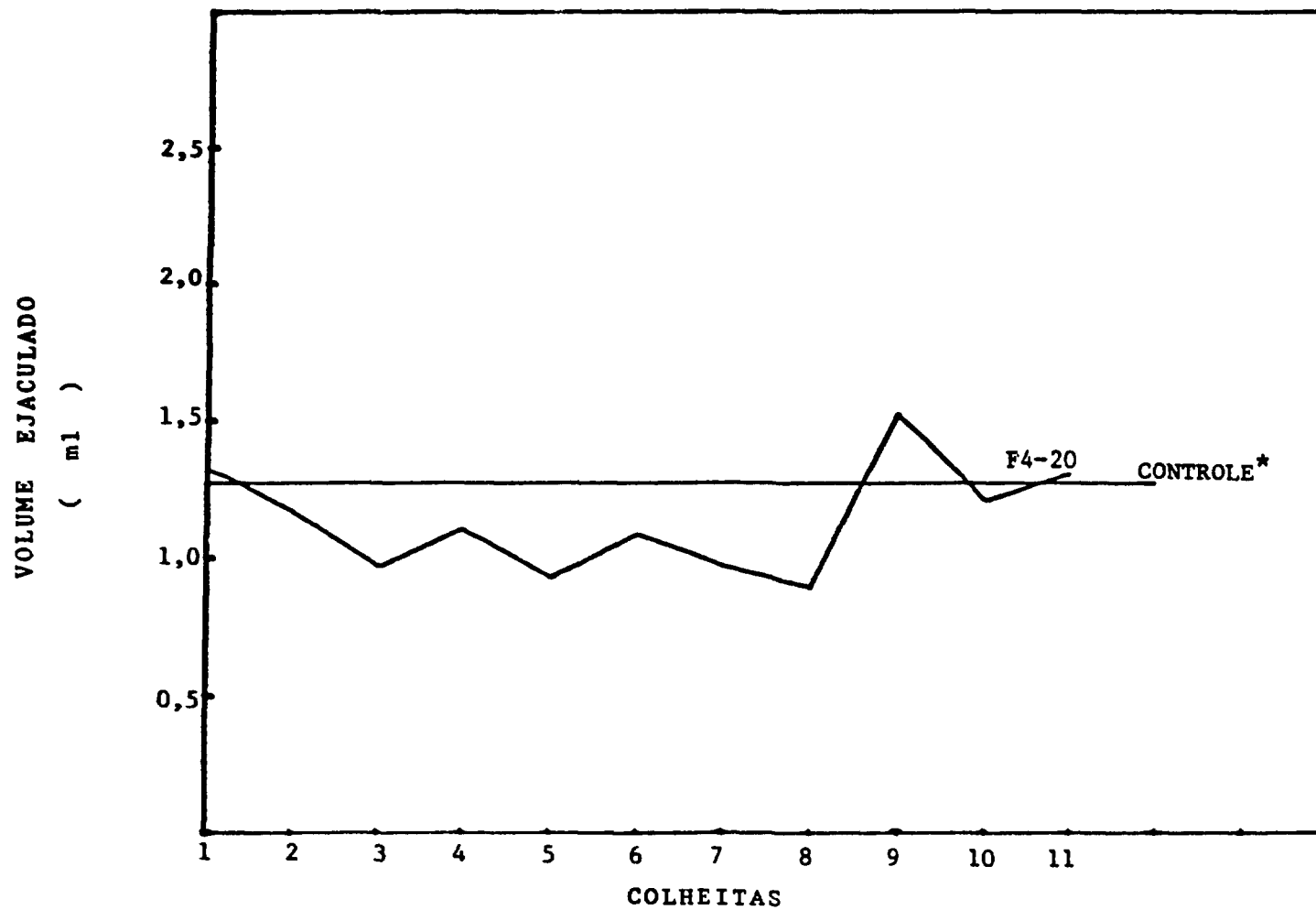


Figura 23 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 20 rad com intervalos de 21 dias. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita).

\*média das 5 semanas da fase pré-experimental

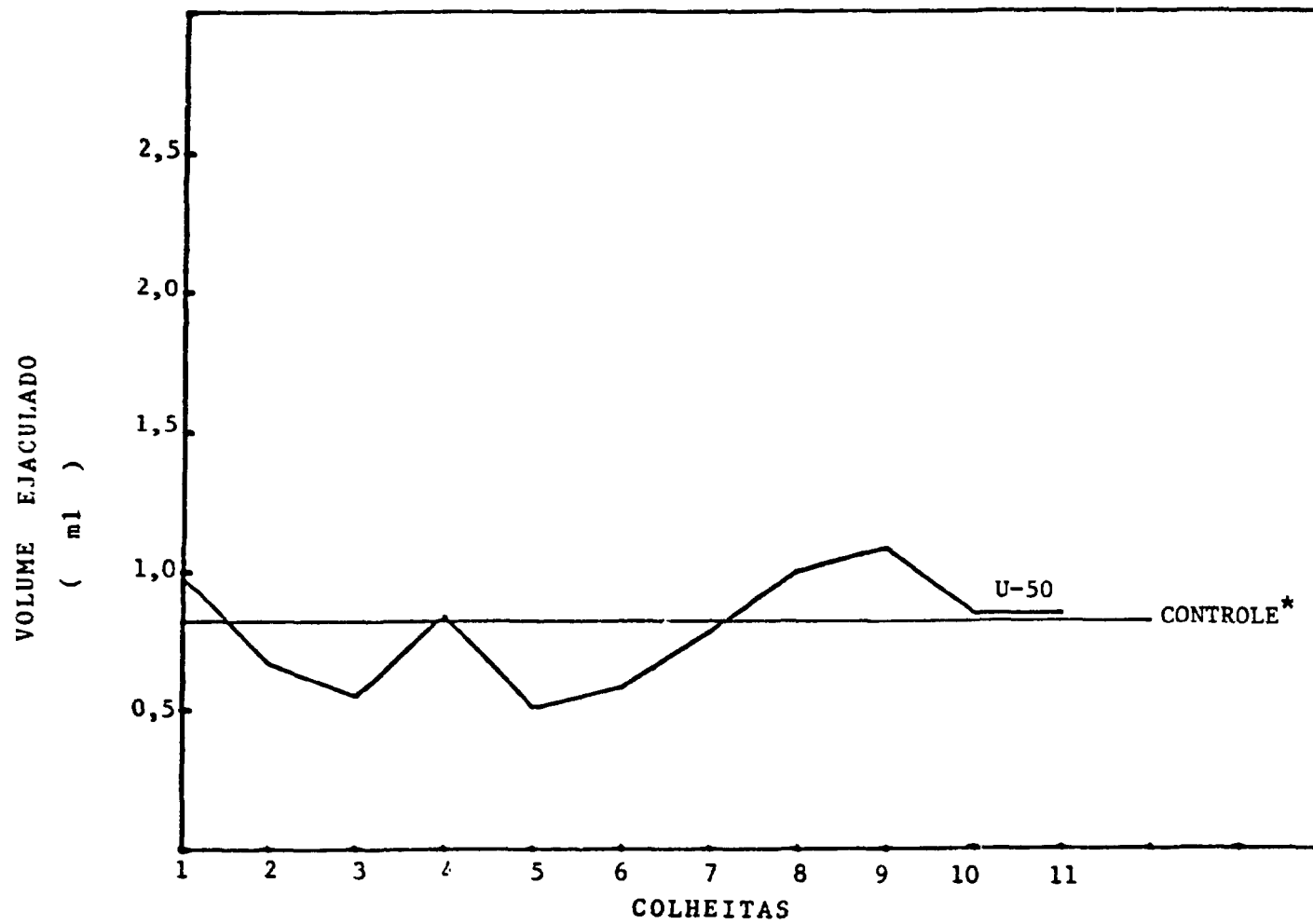


Figura 24 — Cobais *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 50 rad. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

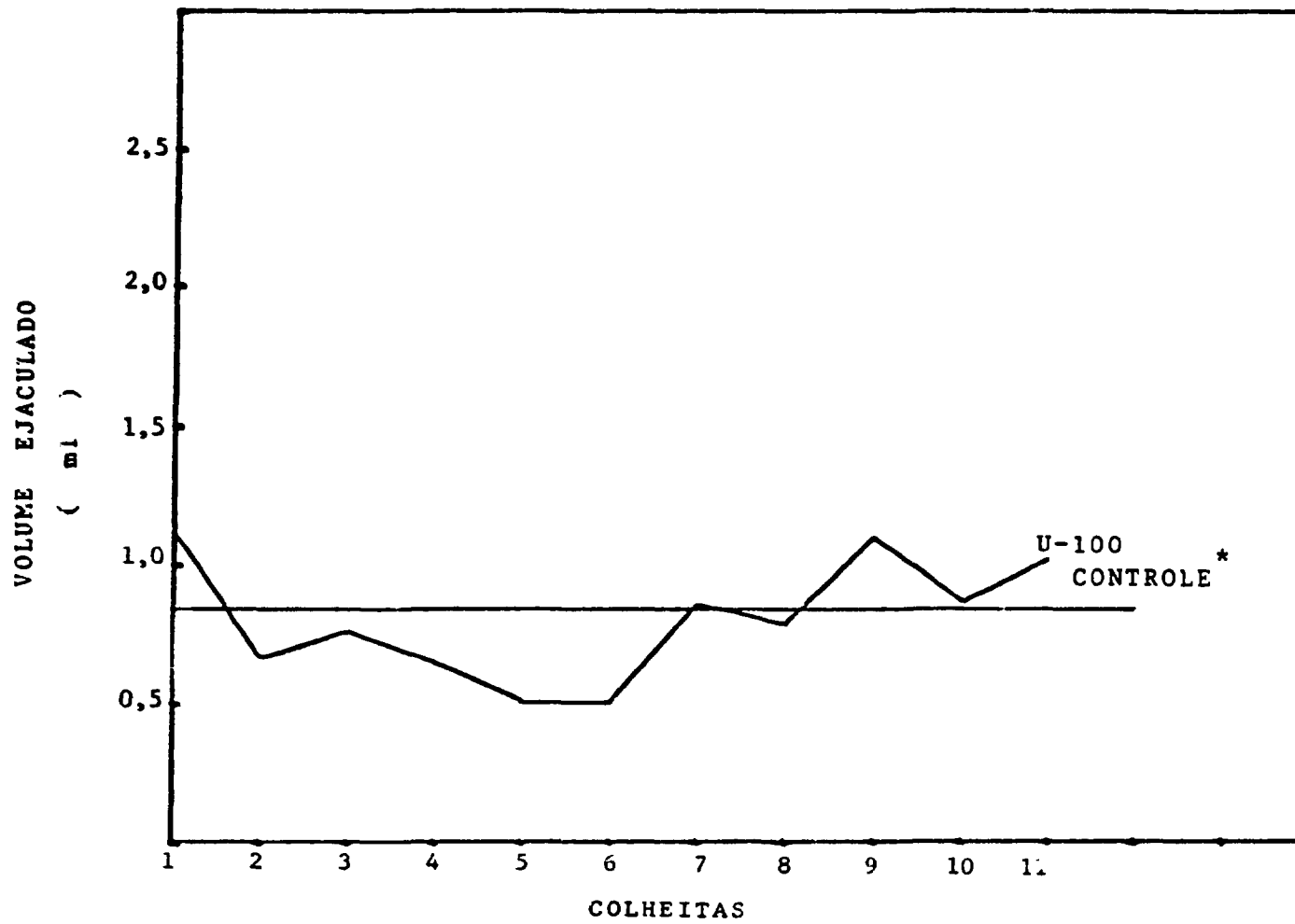


Figura 25 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 100 rad. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

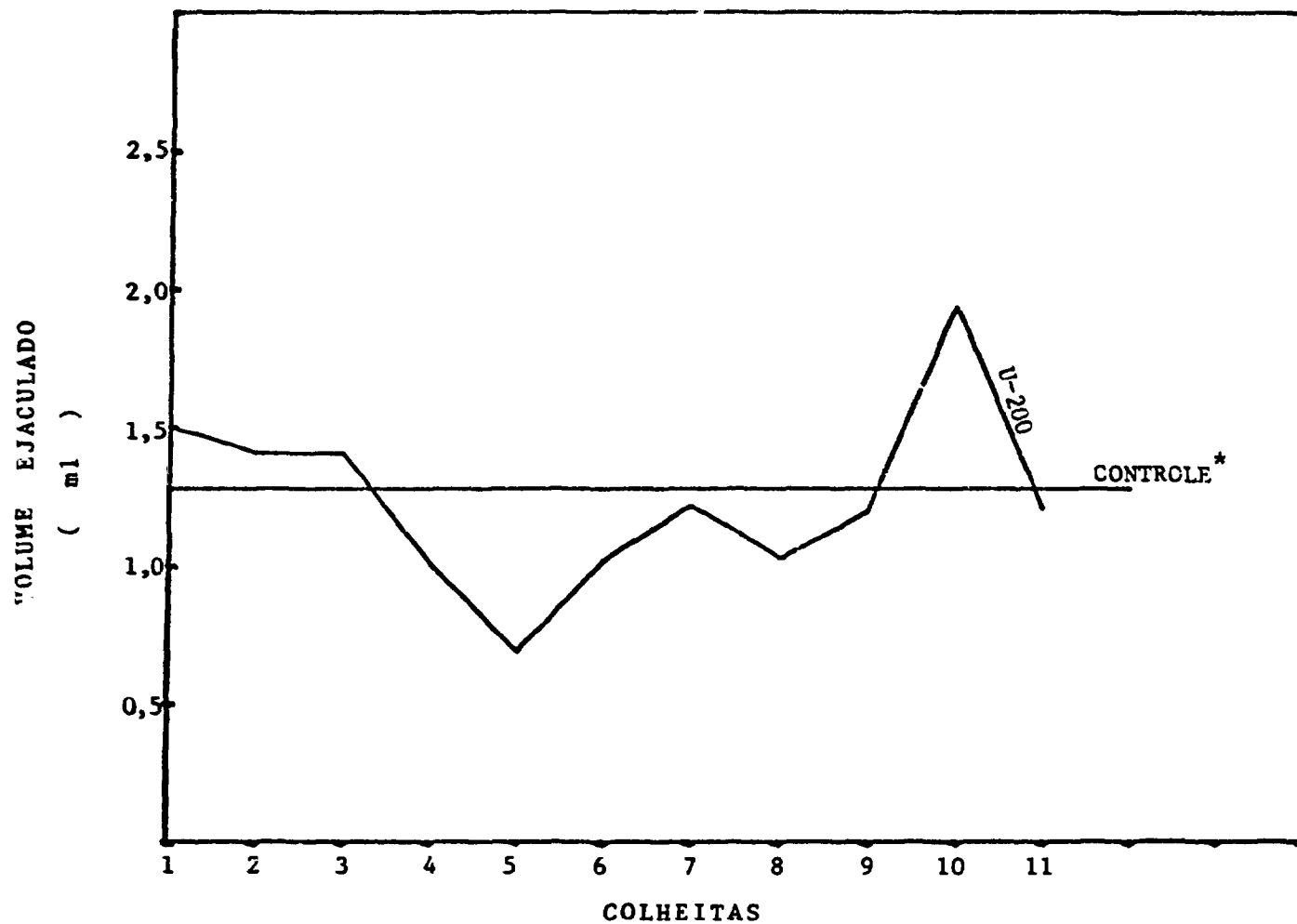


Figura 26 - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 200 rad. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

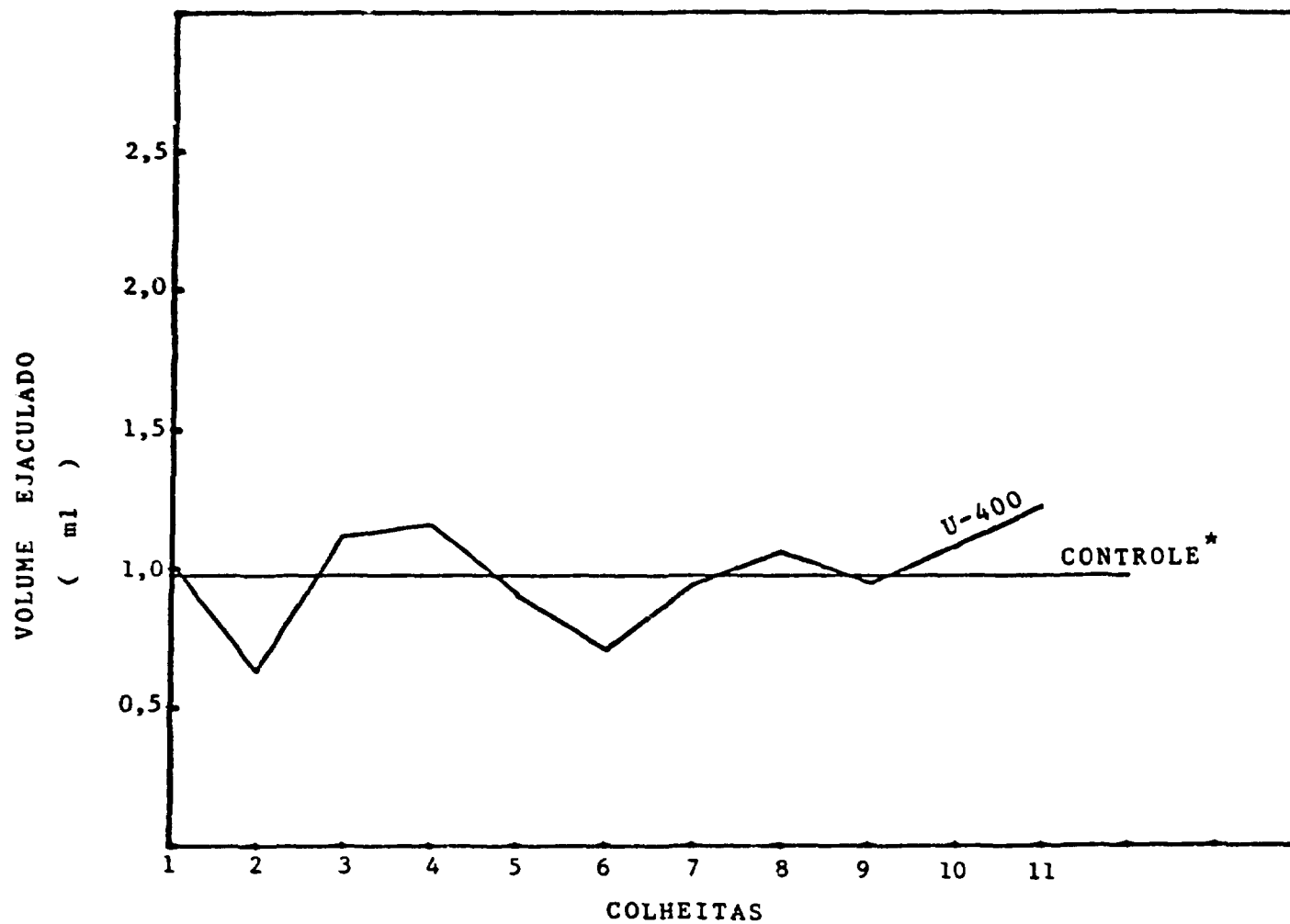


Figura 27 - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 400 rad. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

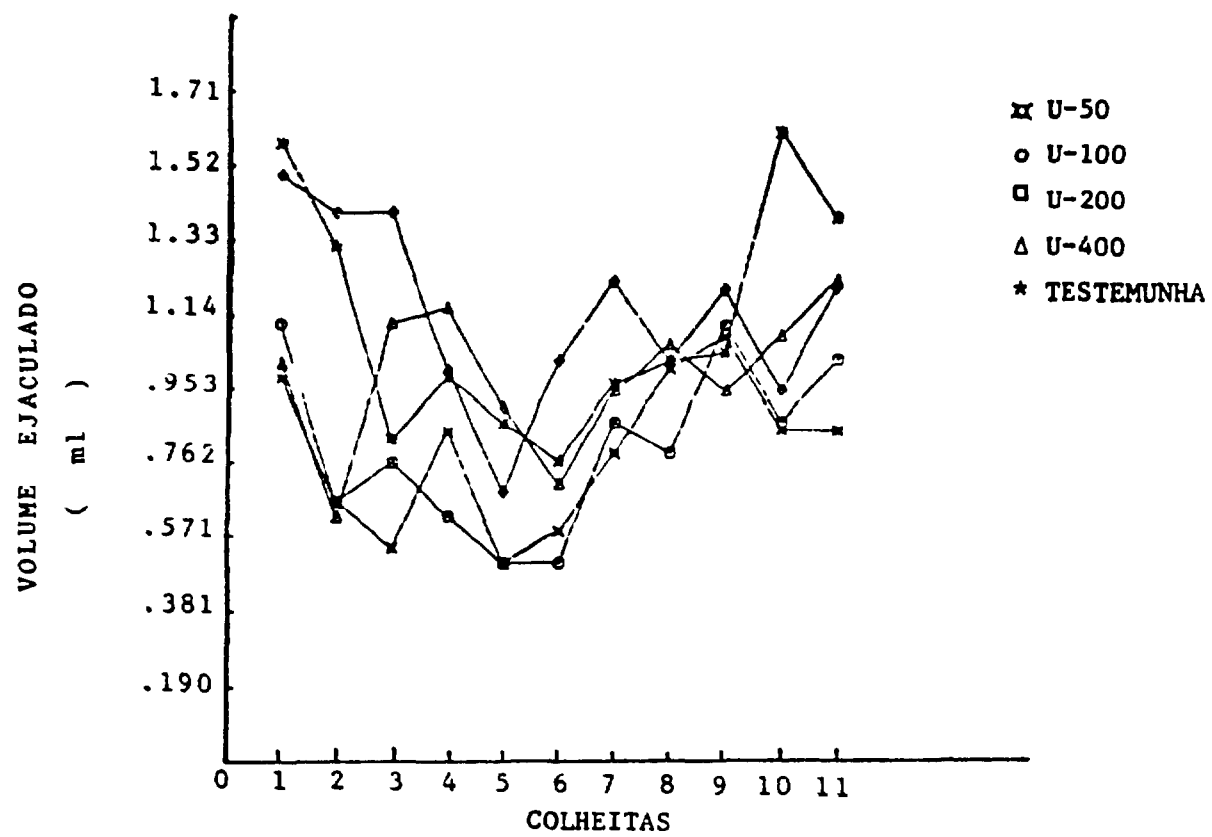


Figura 28 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupos irradiados com diferentes doses únicas. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita)

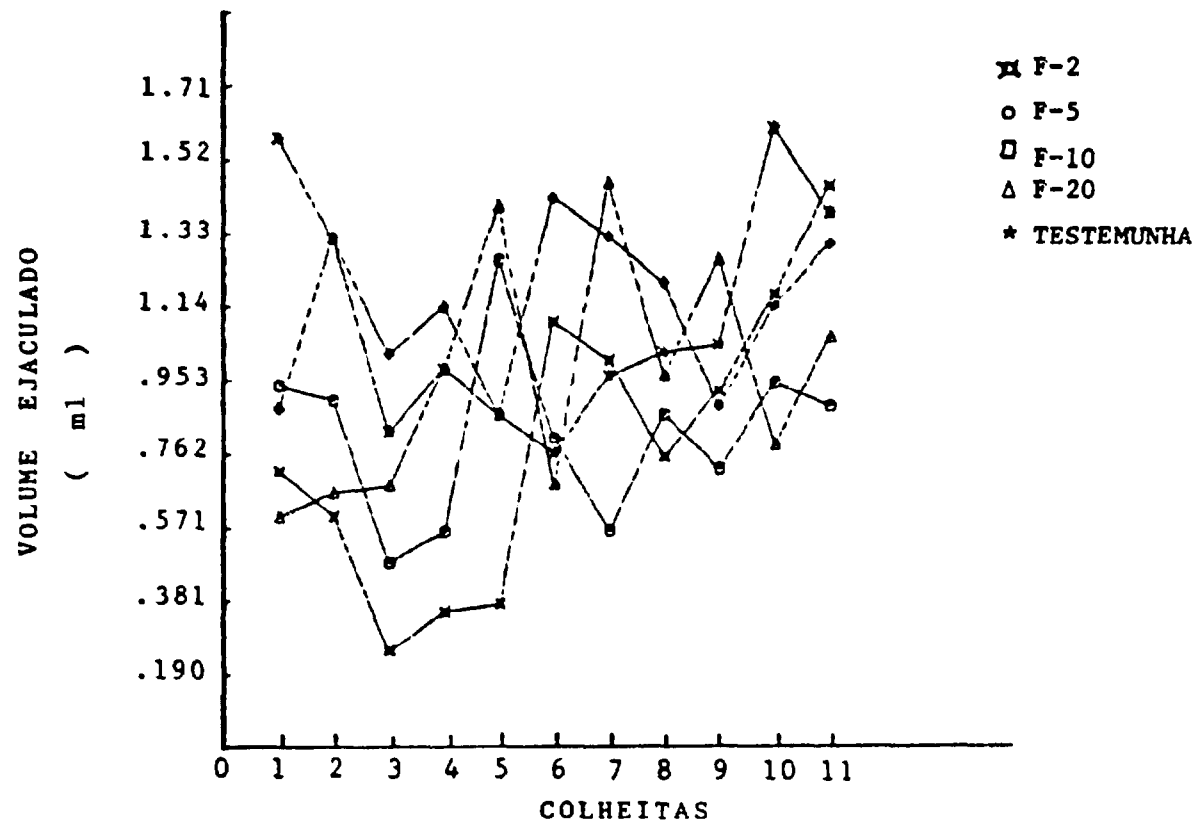


Figura 29. – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupos irradiados com diferentes doses fracionadas. Efeitos sobre o volume ejaculado (média por colheita)



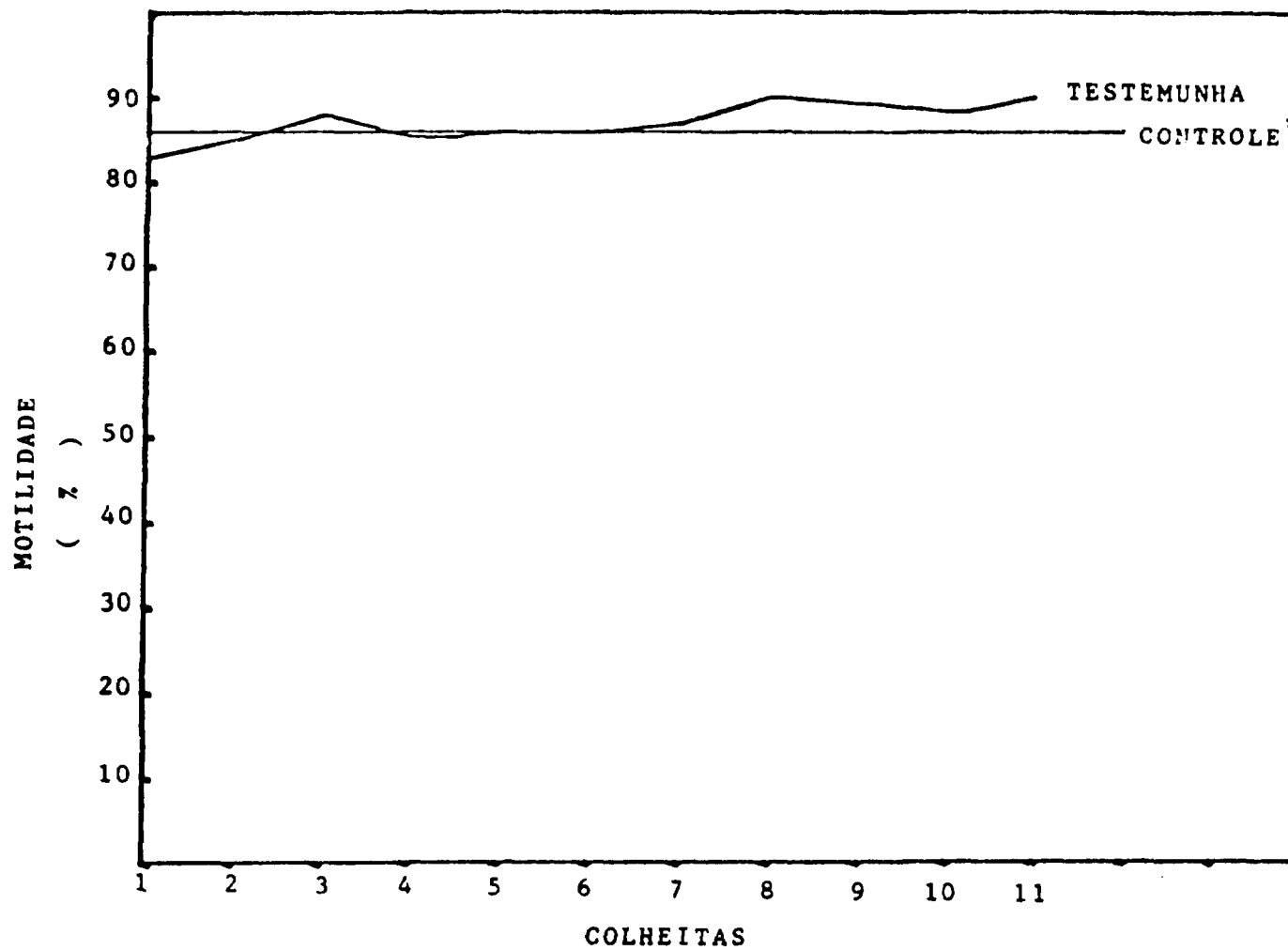


Figura 30 – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo testemunha. Motilidade (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

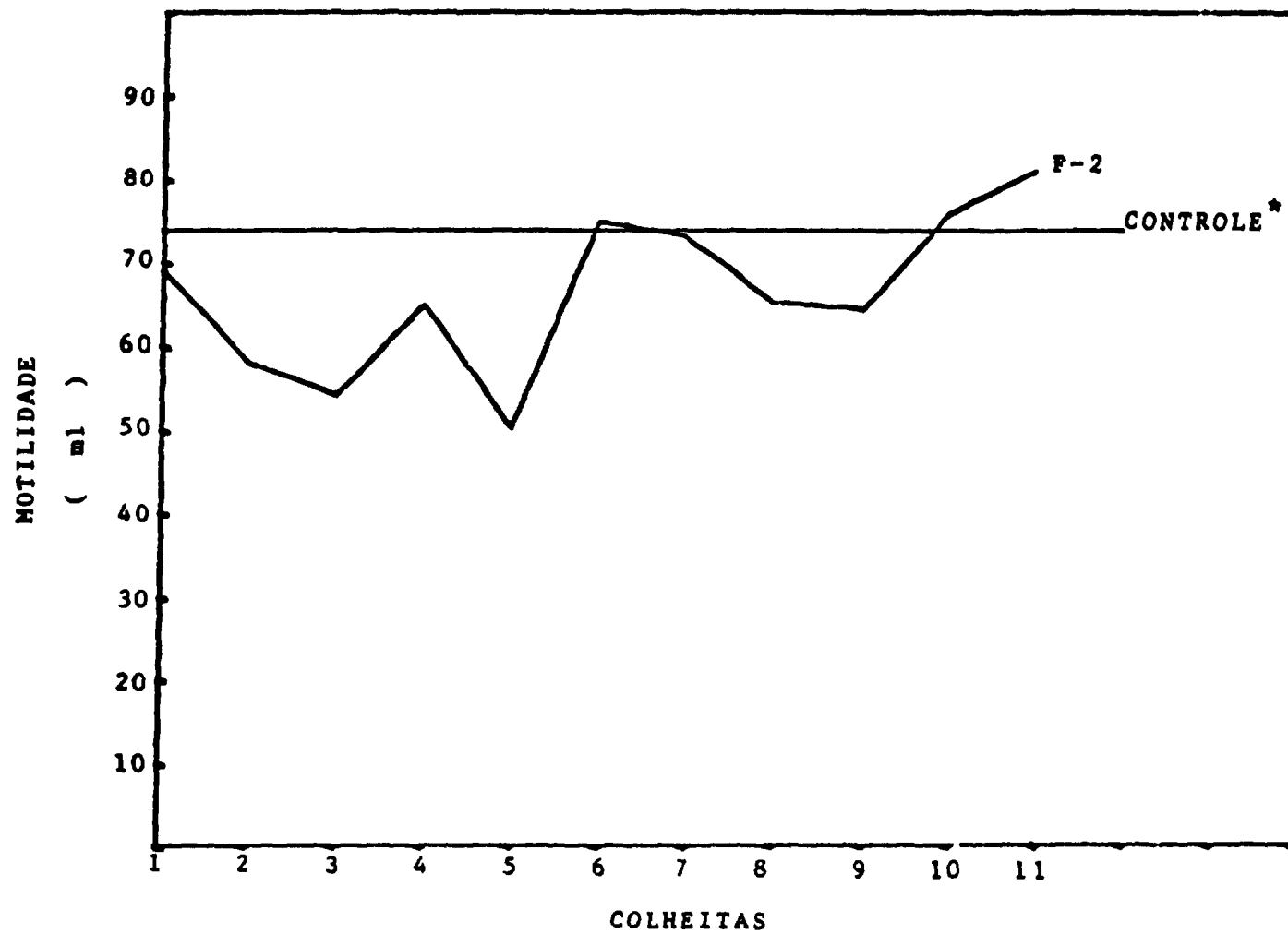


Figura 31 - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 2 rad. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)  
 \* média das 5 semanas da fase pré-experimental

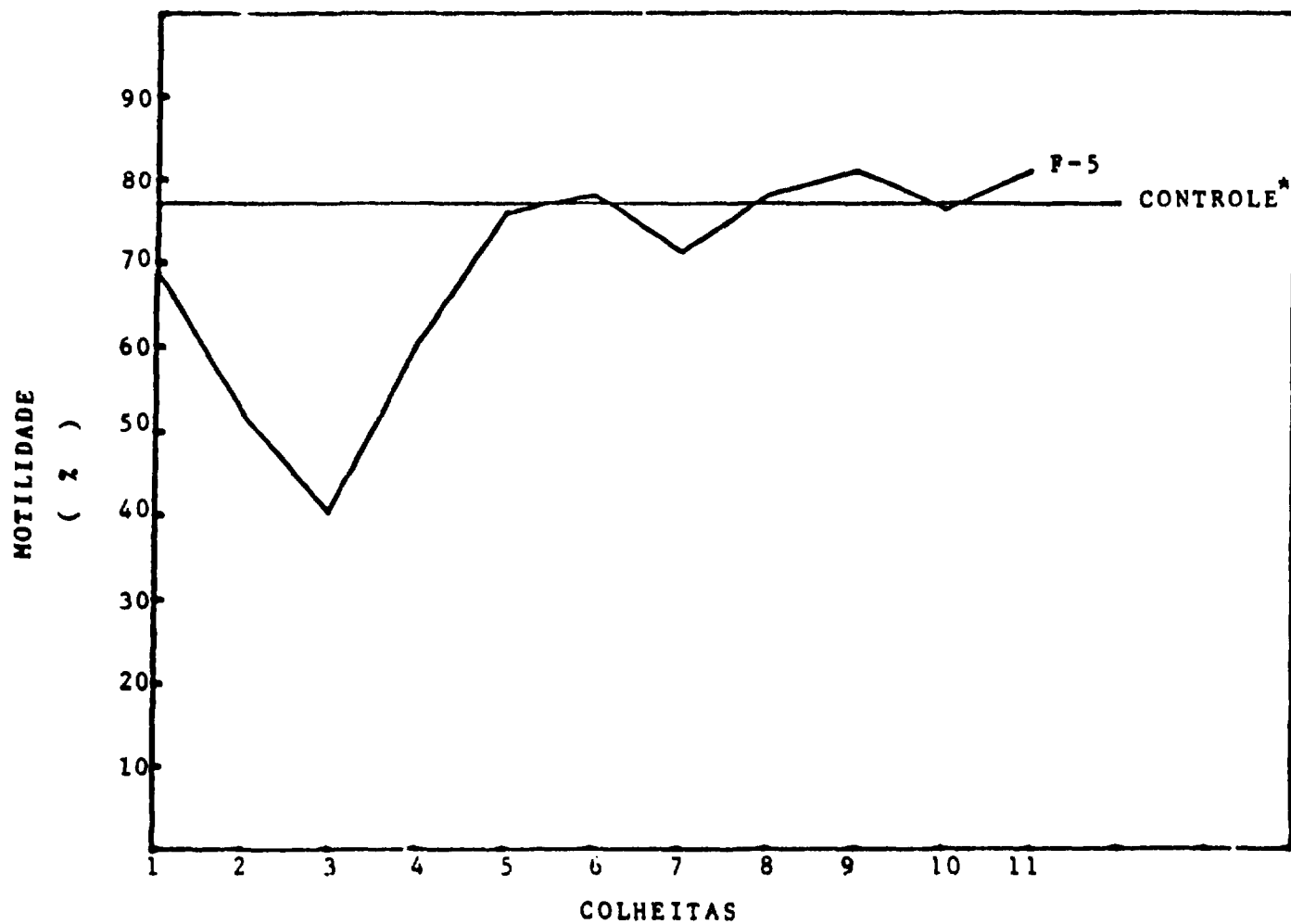


Figura 32 - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 5 rad. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)  
 \* média das 5 semanas da fase pré experimental

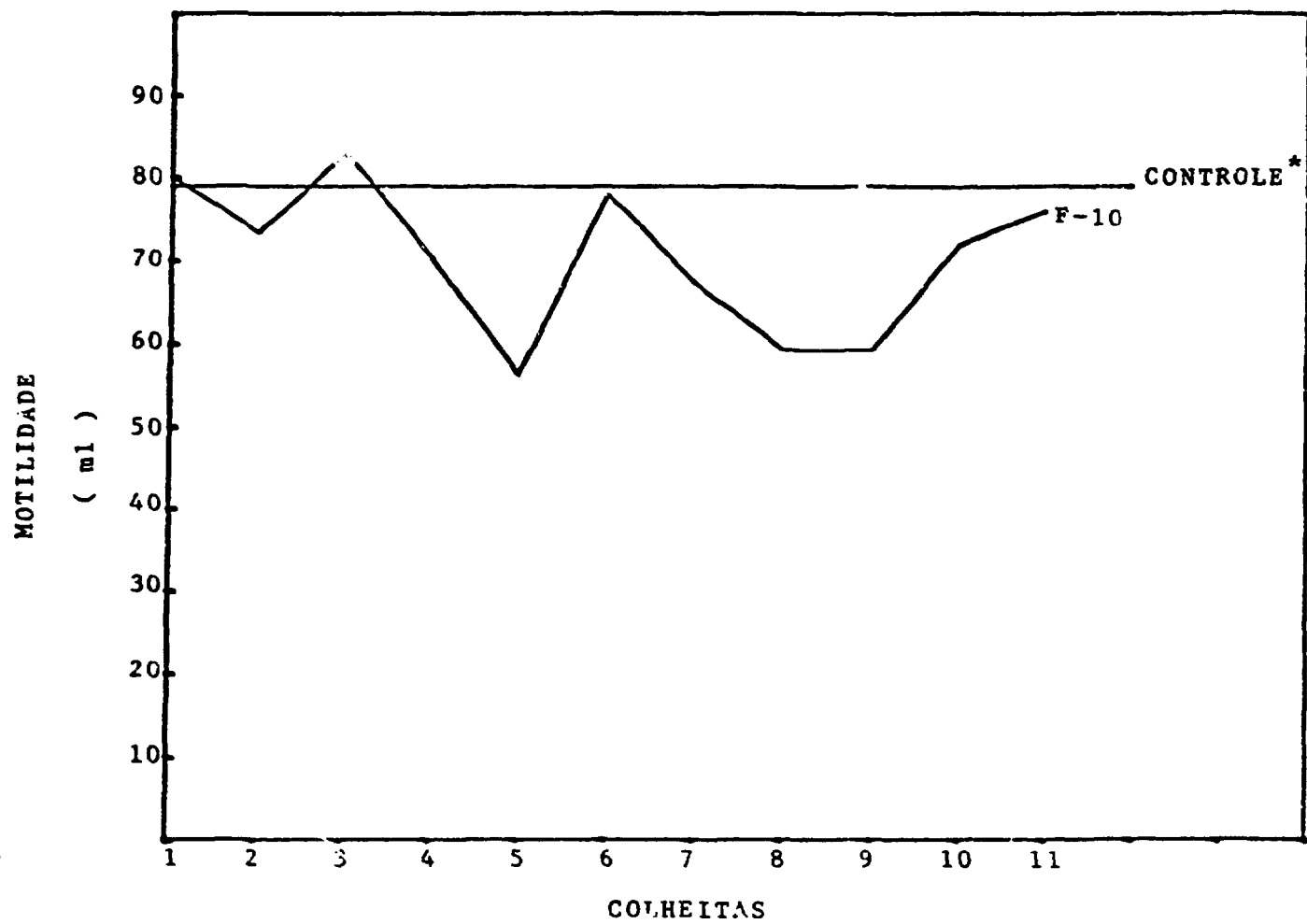


Figura 33 – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 10 rad. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)  
\*média das 5 semanas da fase pré-experimental

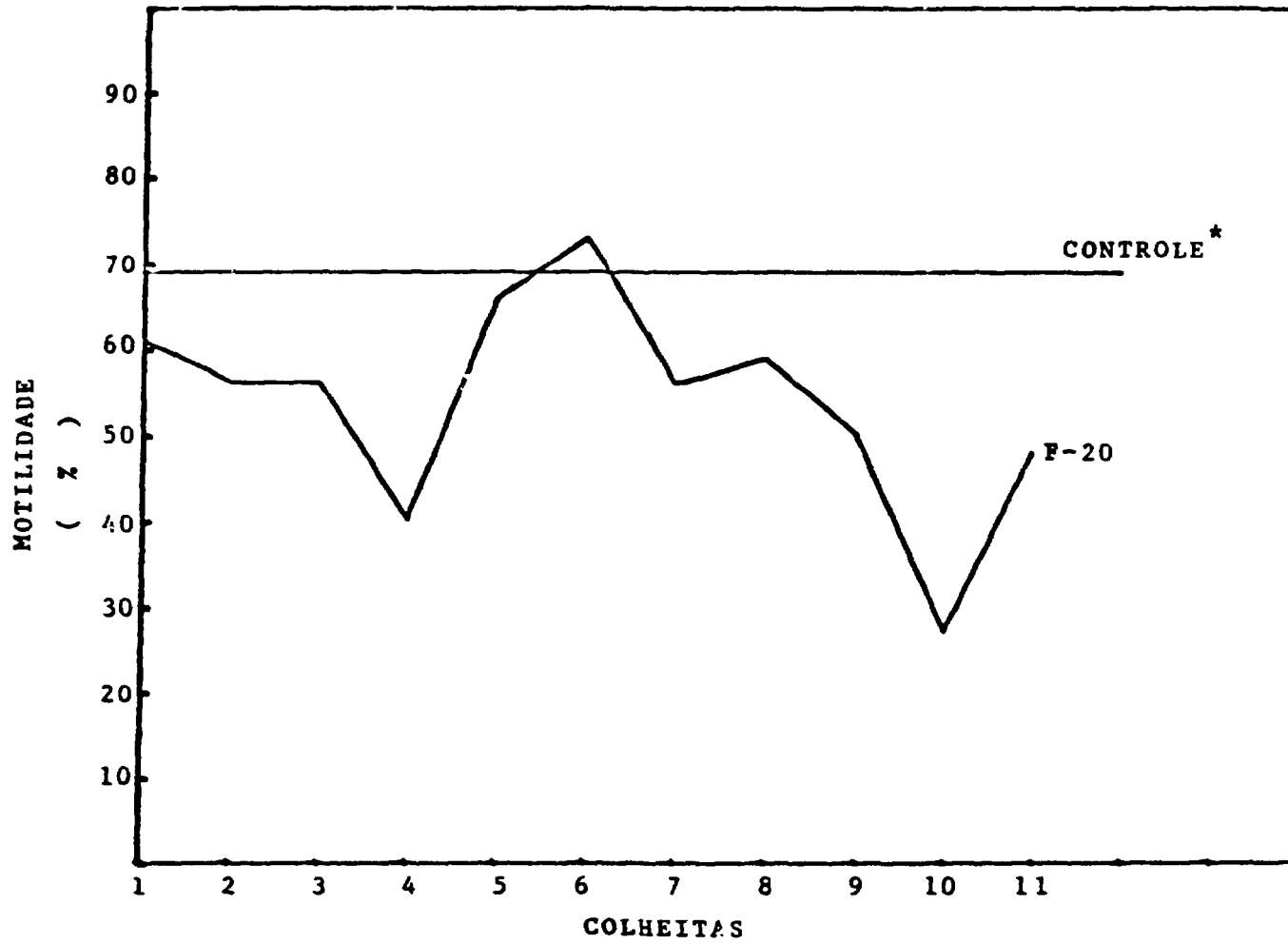


Figura 34 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 20 rad. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

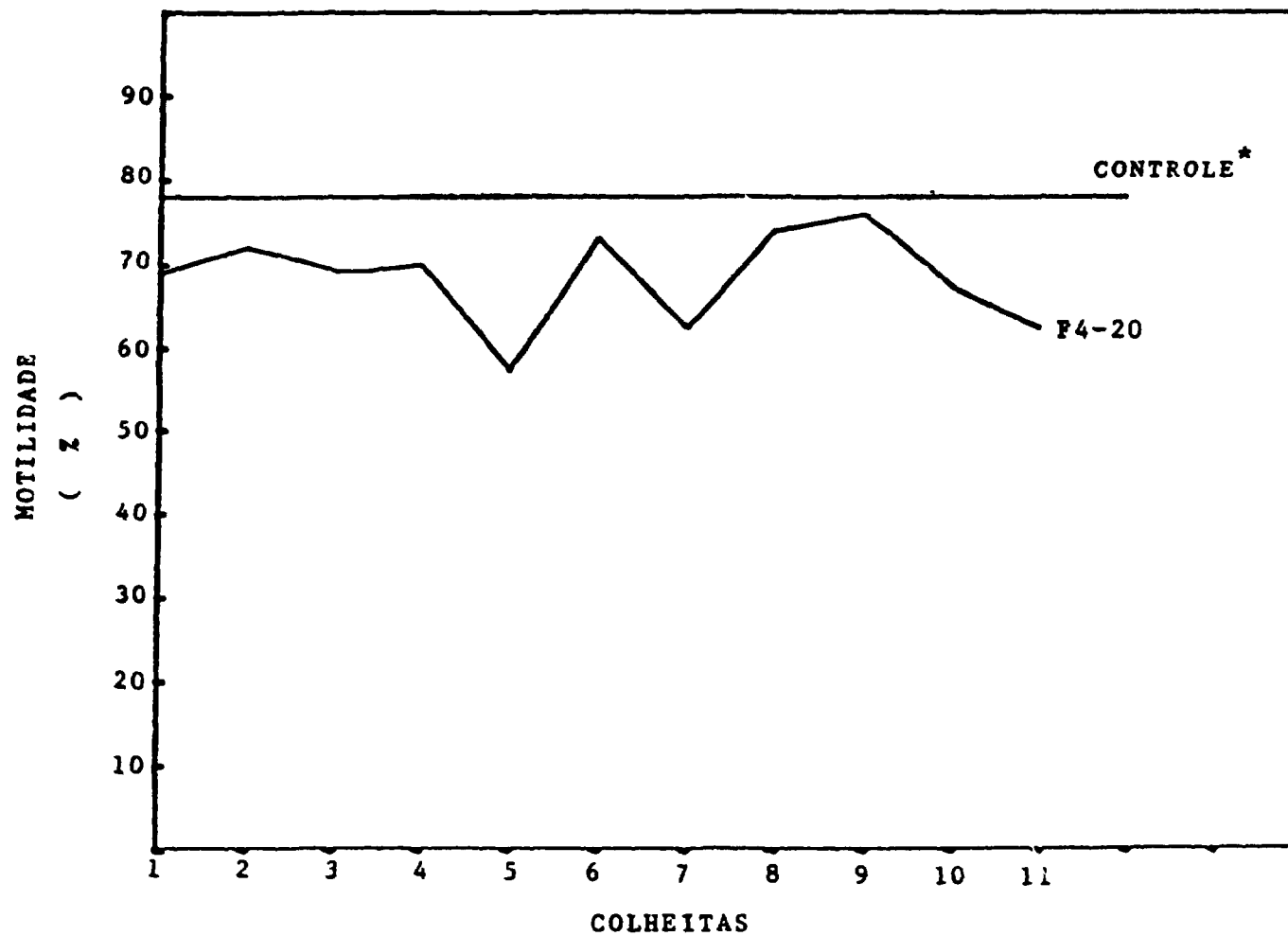


Figura 35 – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 20 rad com intervalos de 21 dias. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)

\* média das 5 semanas da fase pré-experimental

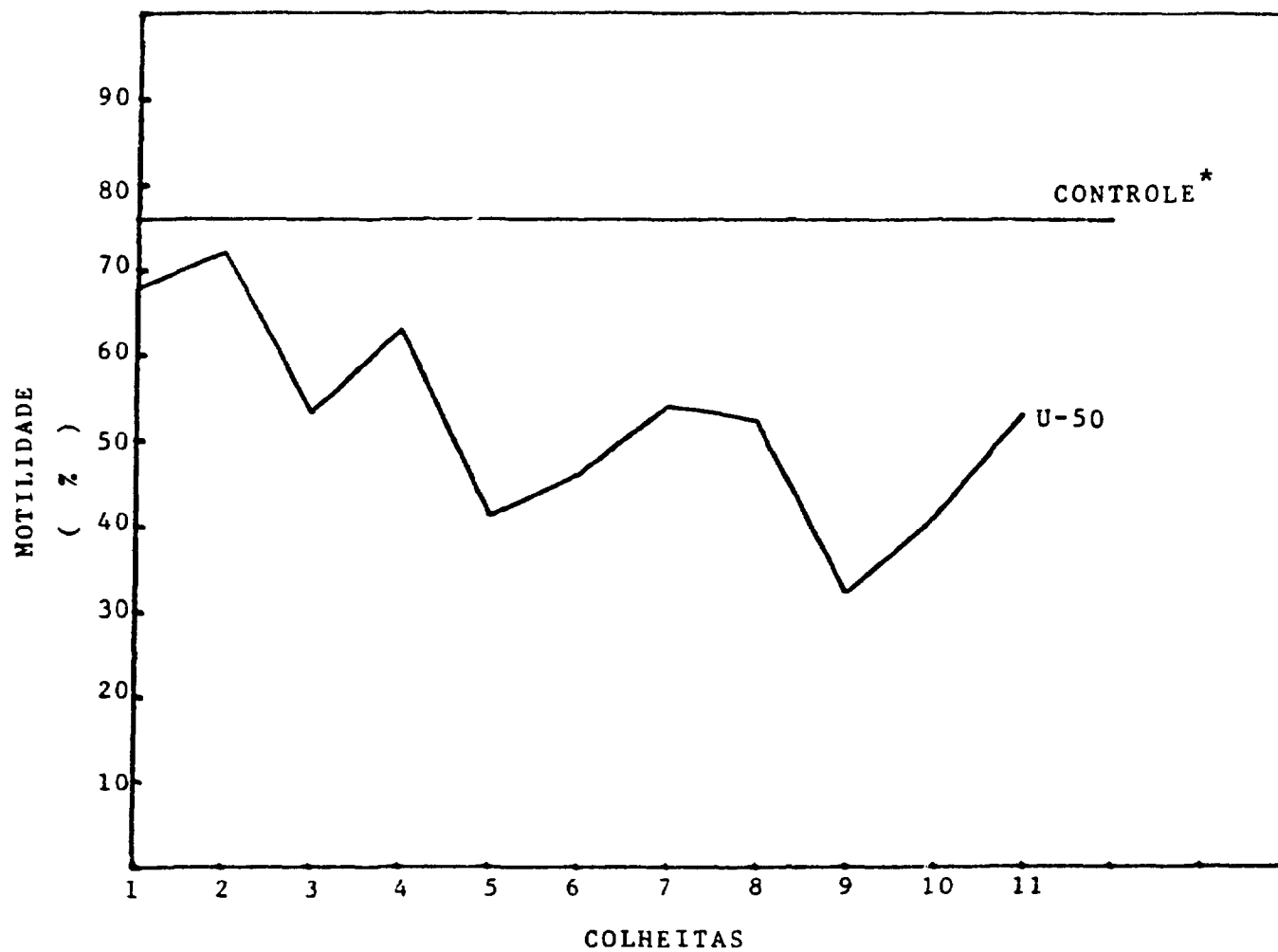


Figura 36 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 50 rad. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

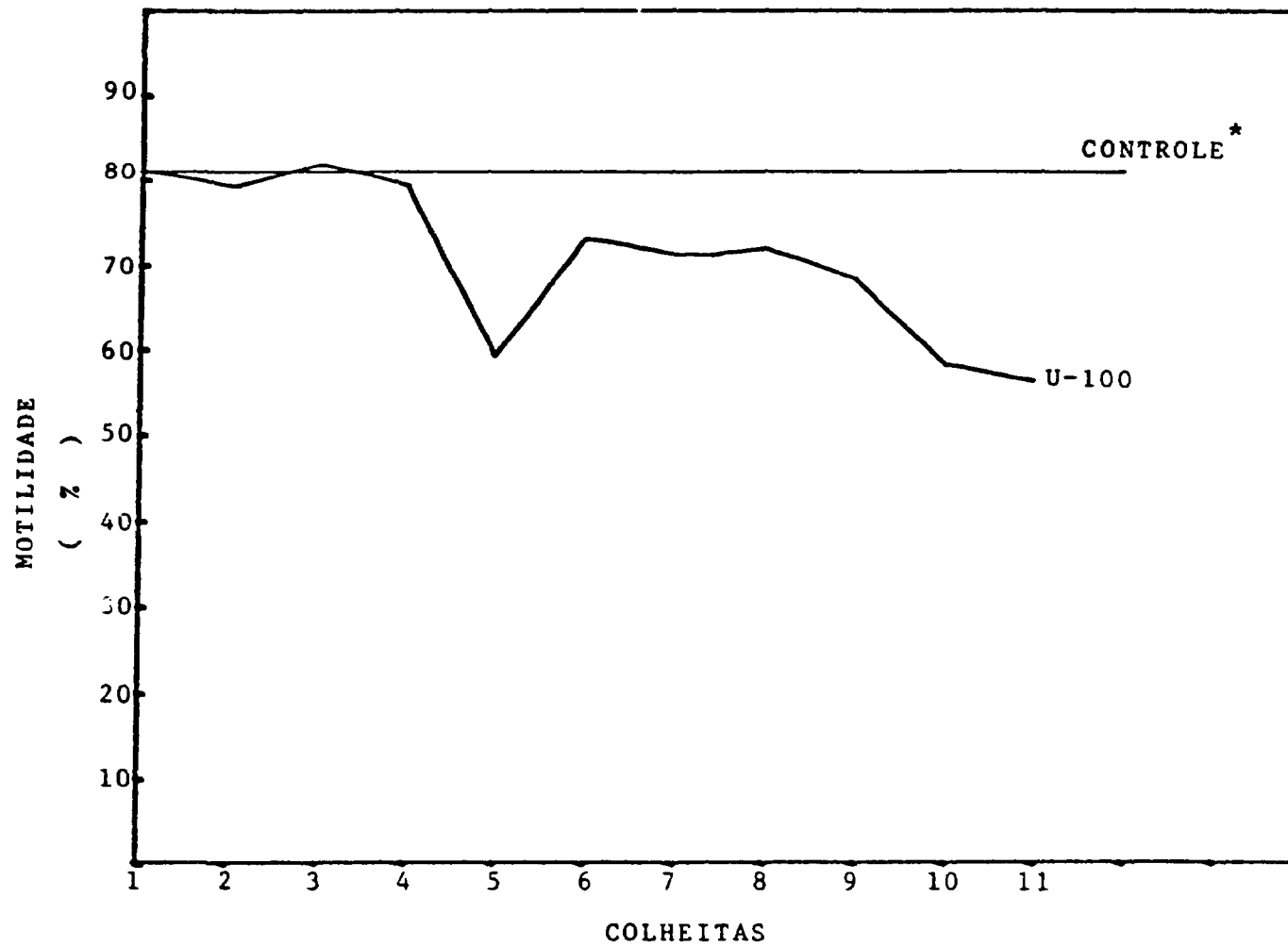


Figura 37 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 100 rad. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)  
\*média das 5 semanas da fase pré-experimental



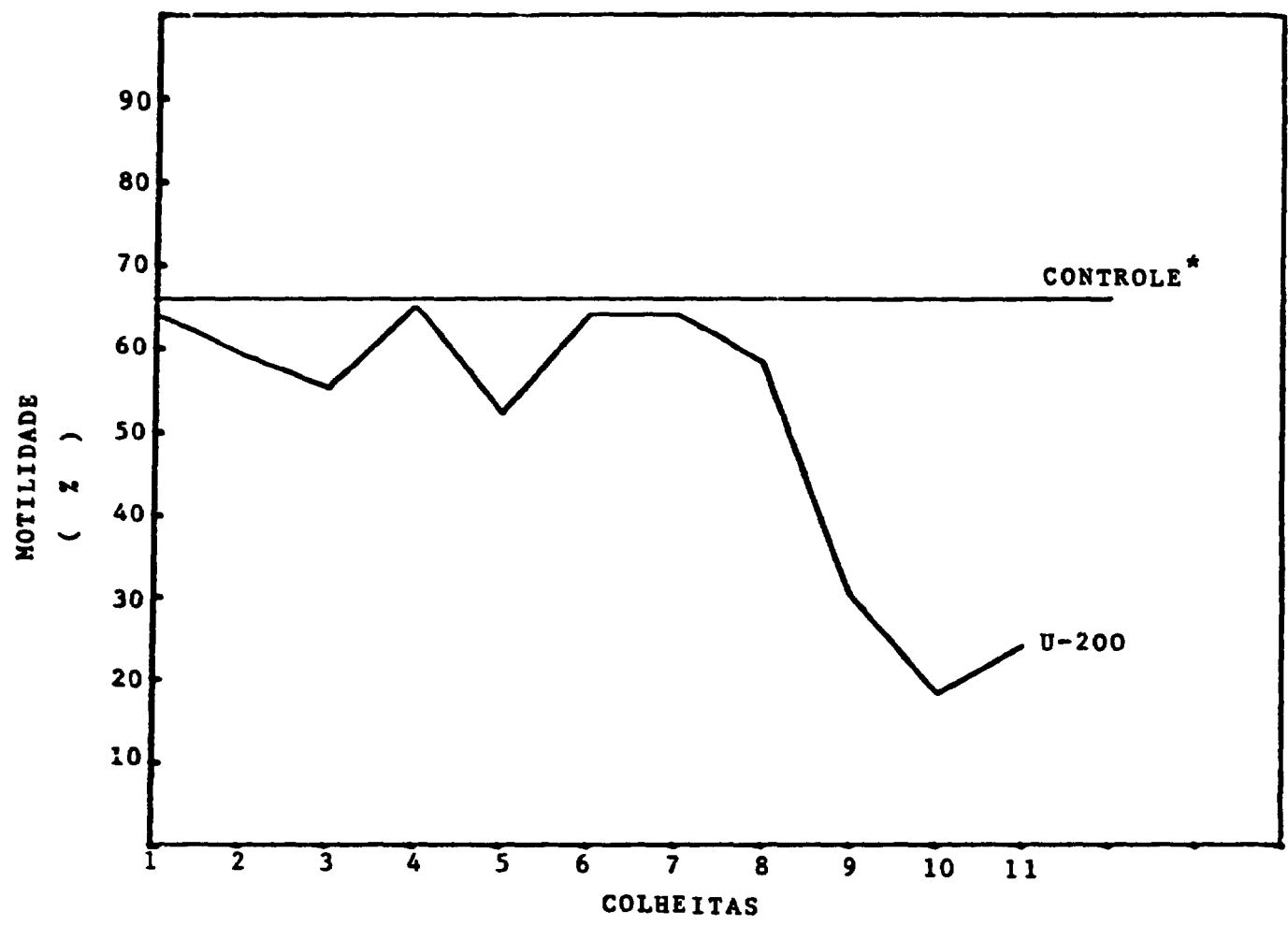


Figura 38 — Cobaías *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 200 rad. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

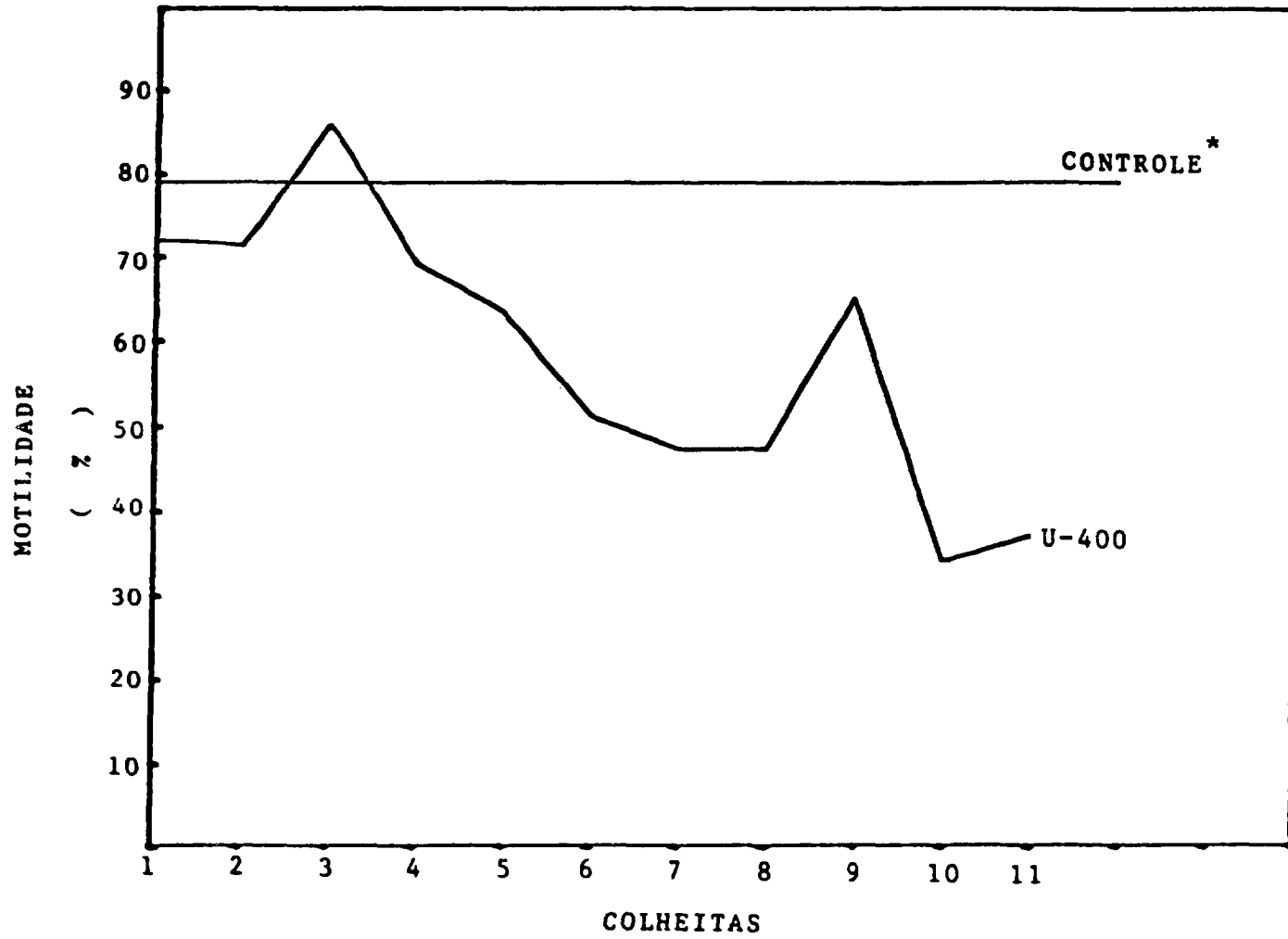


Figura 39 — Cobaías *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 400 rad. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)  
\*média das 5 semanas da fase pré-experimental

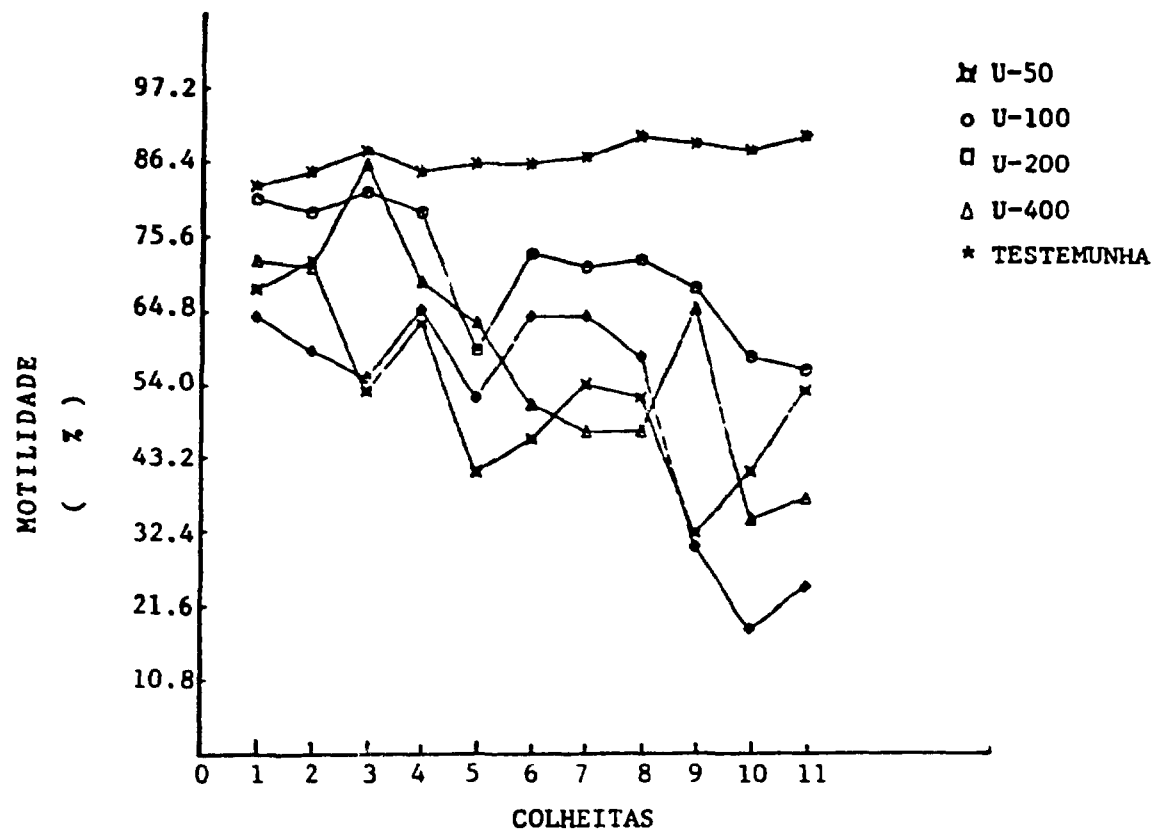


Figura 40 – Cobaías *Cavia porcellus*. Grupos irradiados com diferentes doses únicas. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)

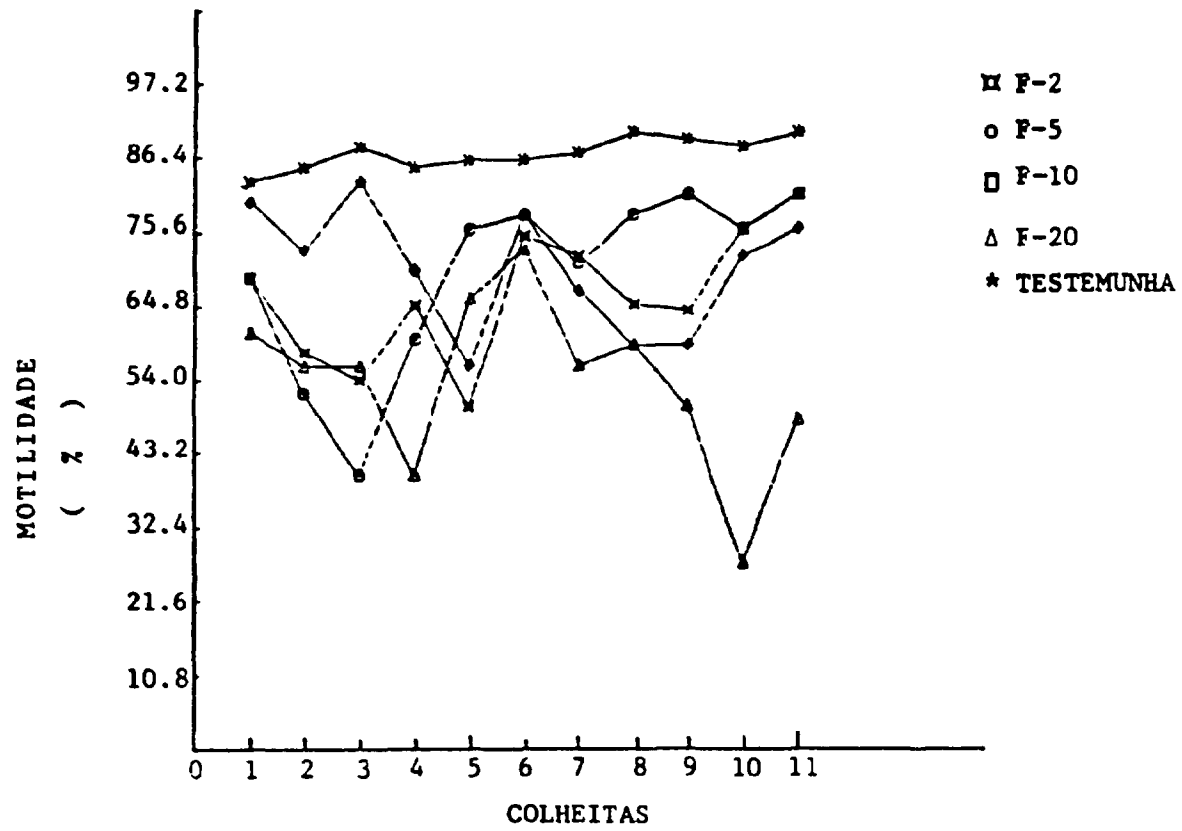


Figura 41 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupos irradiados com diferentes doses fracionadas. Efeitos sobre a motilidade (média por colheita)

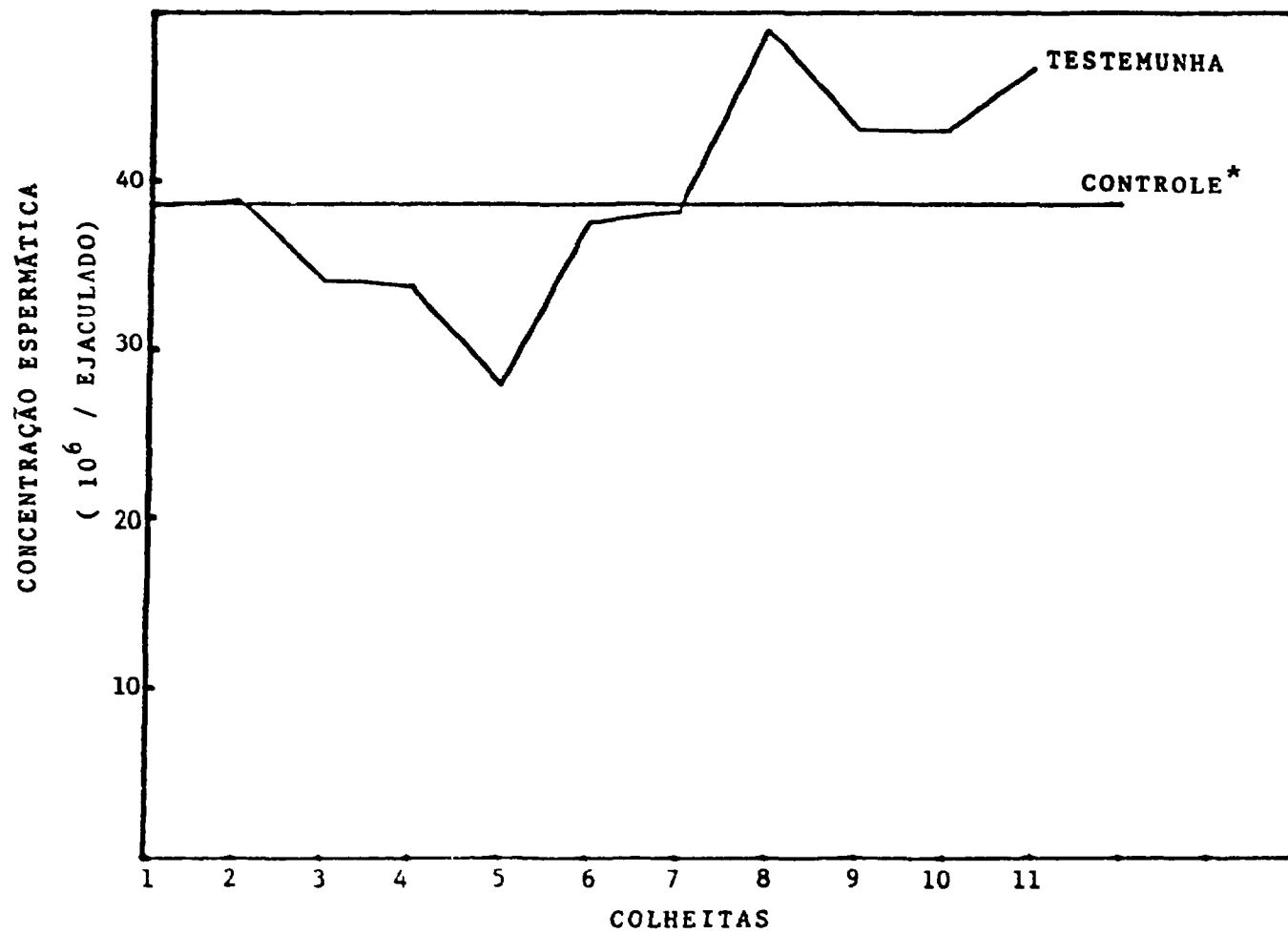


Figura 42 – Cobaias *Cavia porcellus* Grupo testemunha. Concentração espermática (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

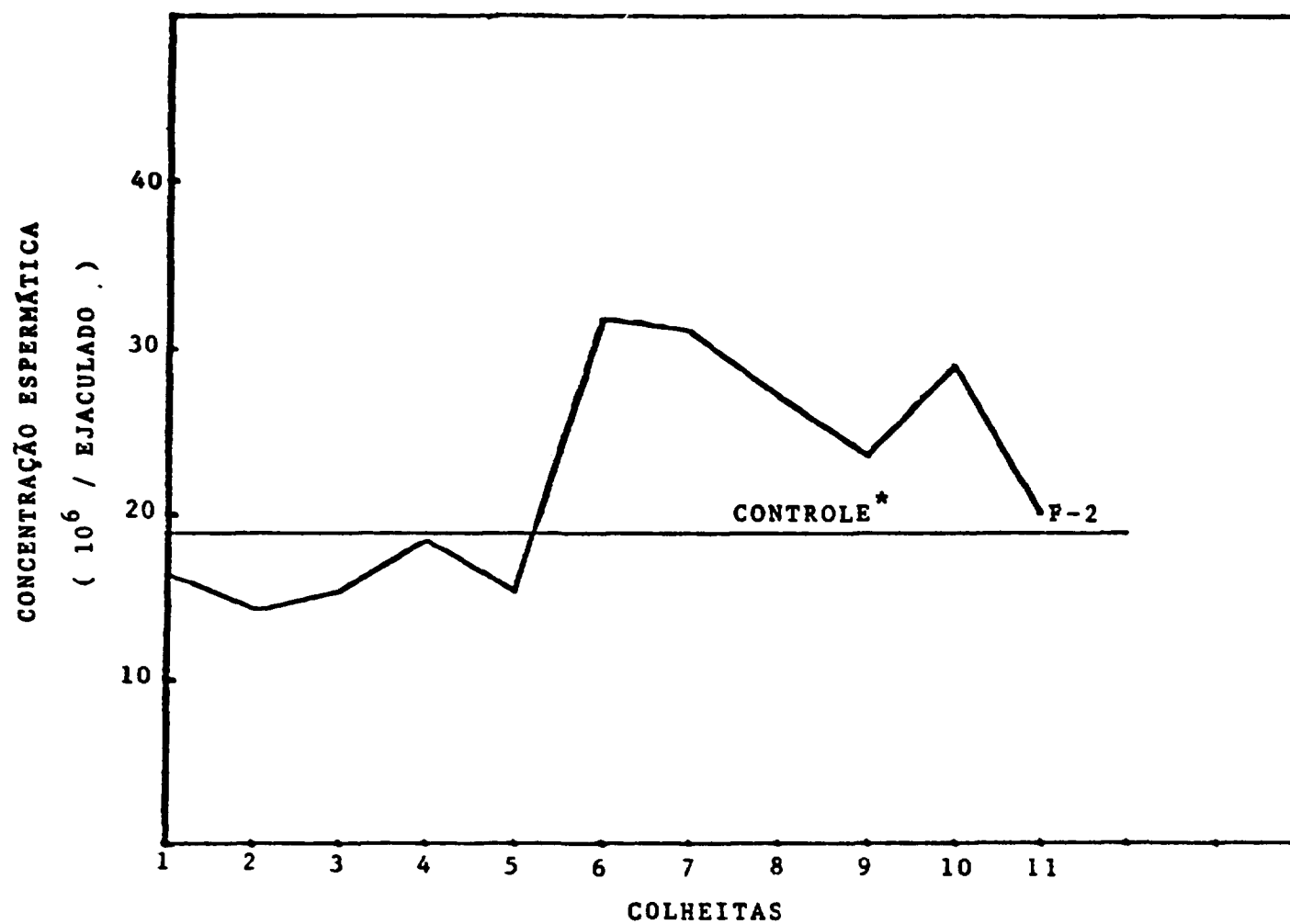


Figura 43 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 2 rad. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita)  
\*média das 5 semanas da fase pré-experimental

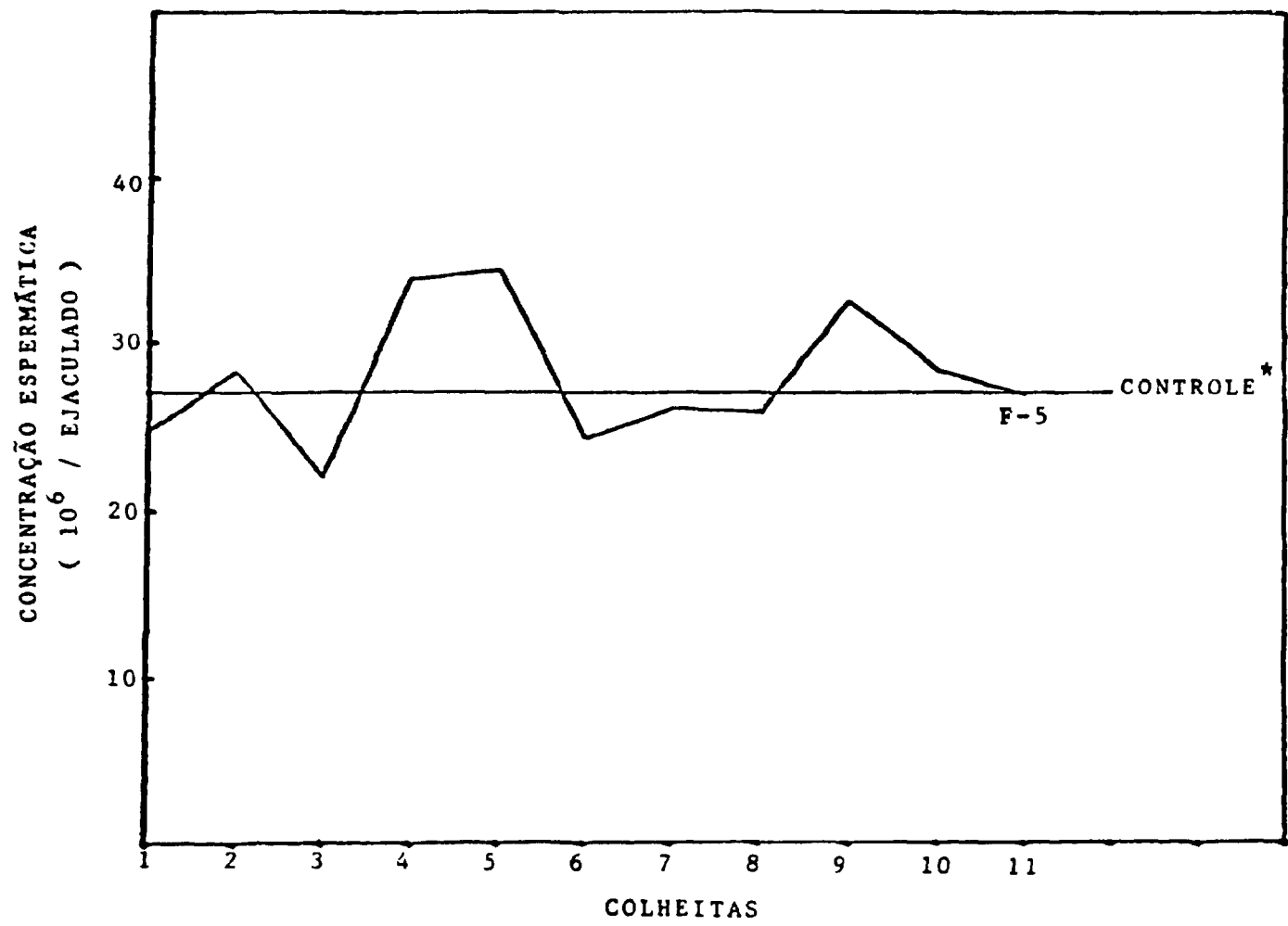


Figura 44 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 5 rad. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita)  
 \* média das 5 semanas da fase pré-experimental

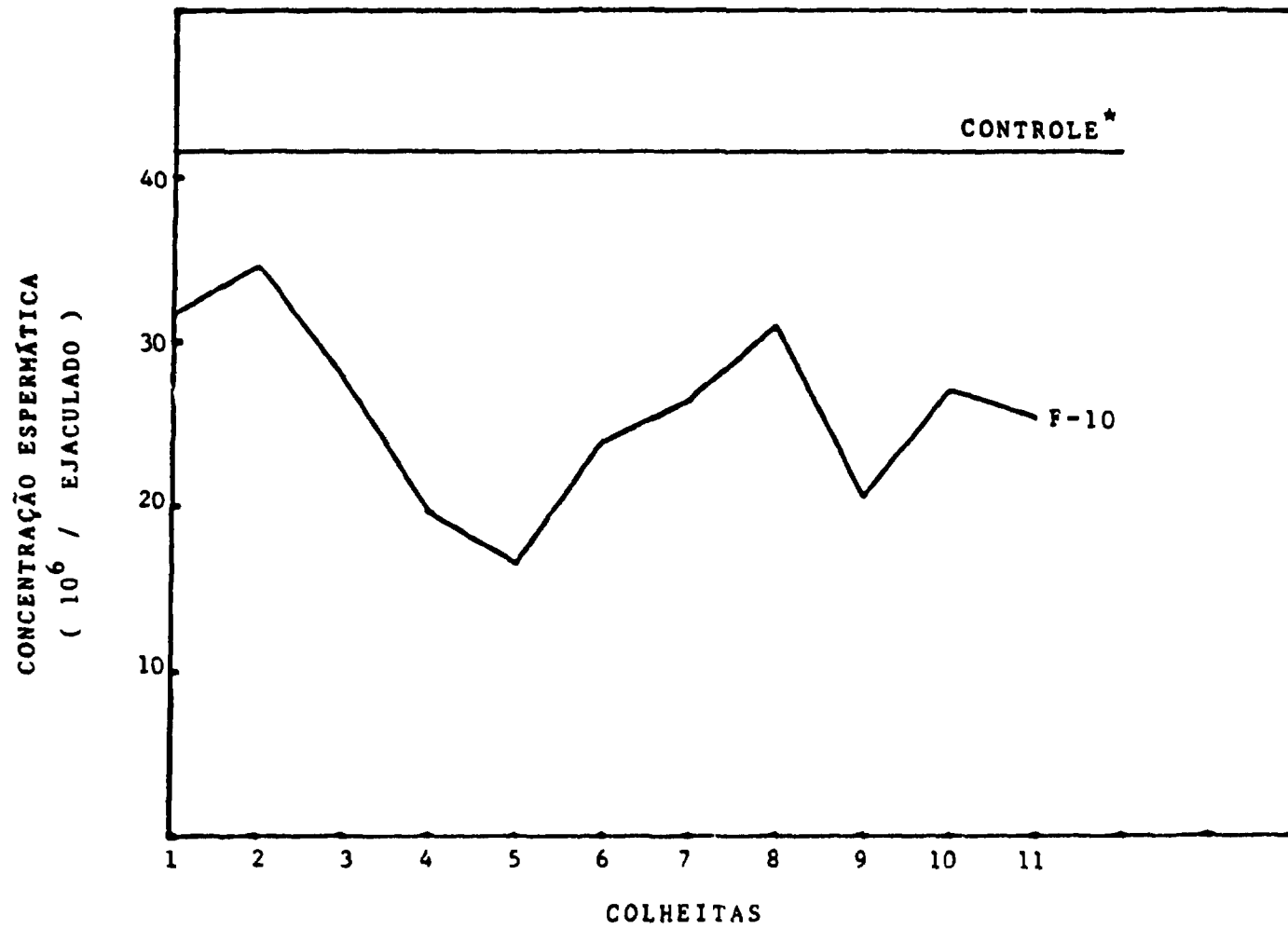


Figura 45 -- Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 10 rad. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita):  
\*média das 5 semanas da fase pré-experimental



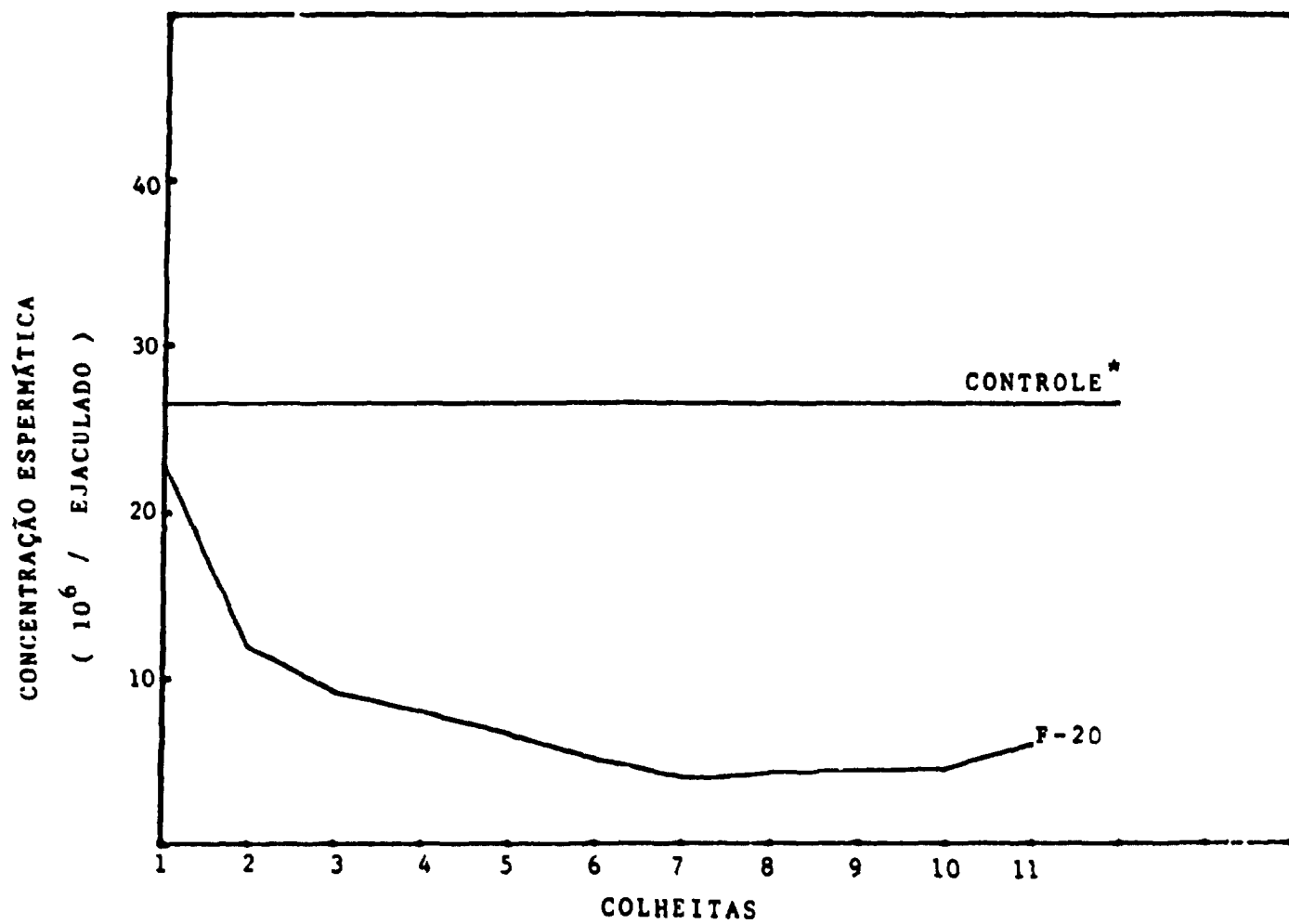


Figura 46 - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 20 rad. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita) \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

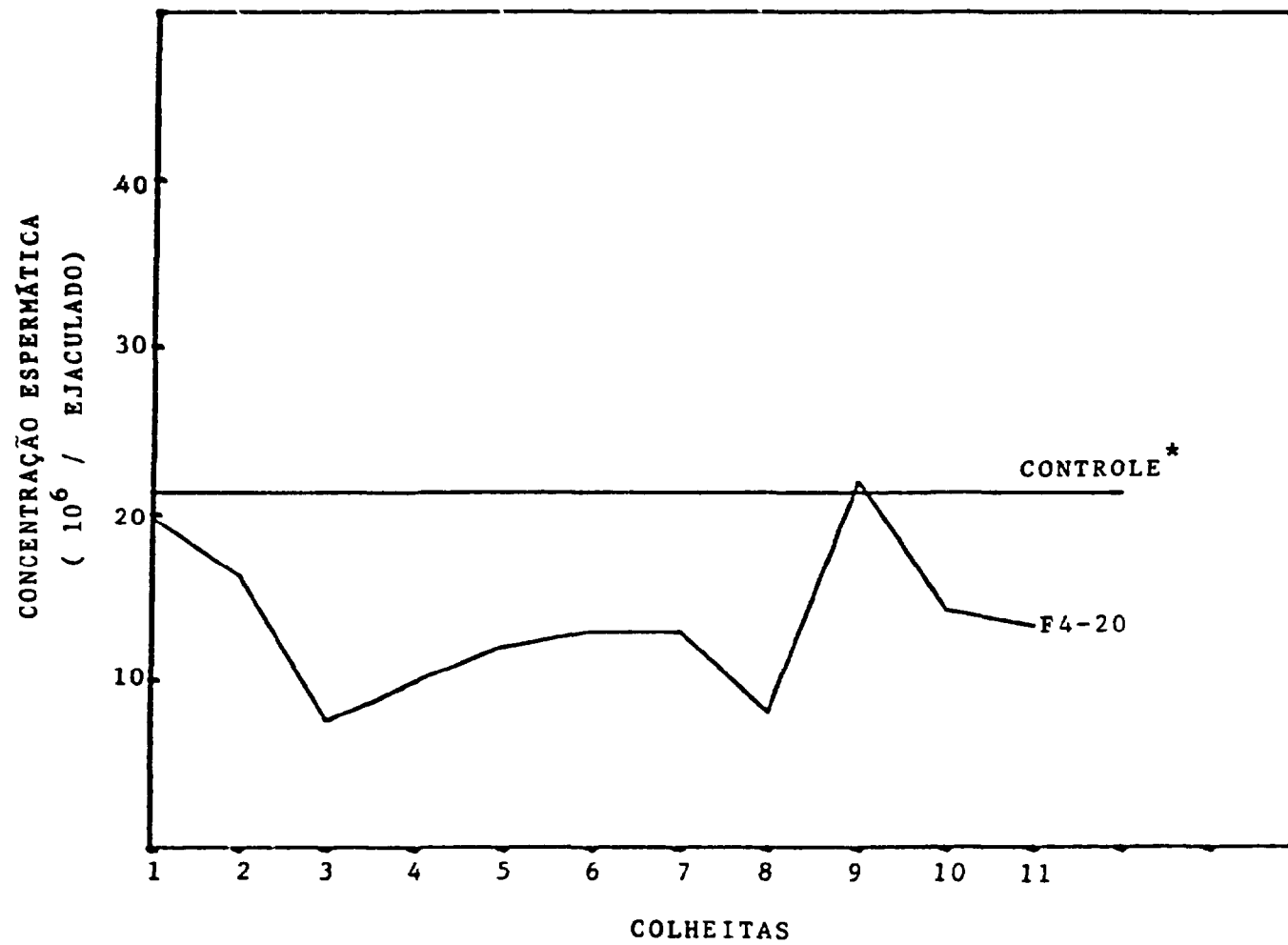


Figura 47 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com doses fracionadas de 20 rad com intervalos de 21 dias. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita)

\* média das 5 semanas da fase pré-experimental

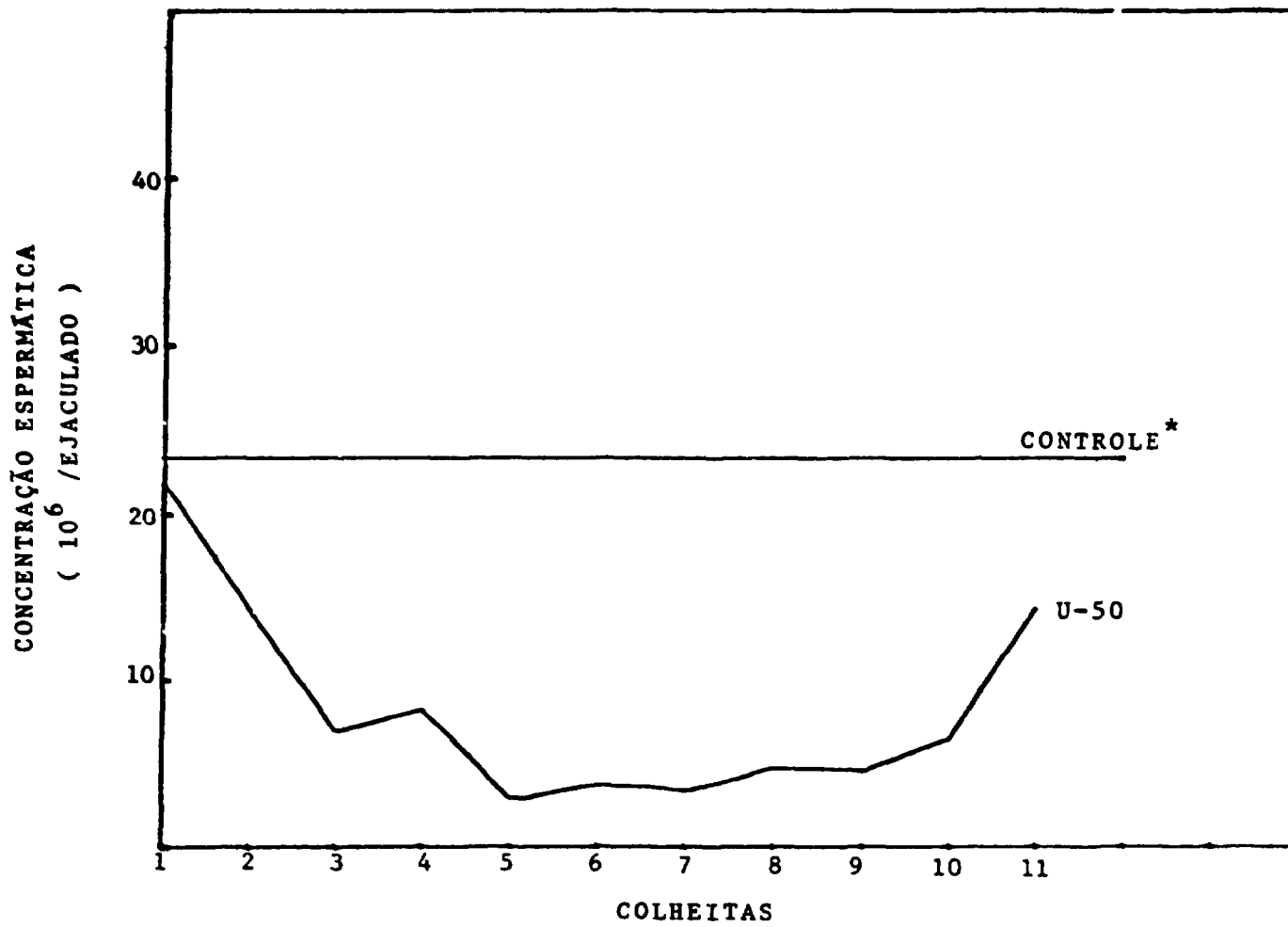


Figura 48 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 50 rad. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita)  
 \* média das 5 semanas da fase pré-experimental

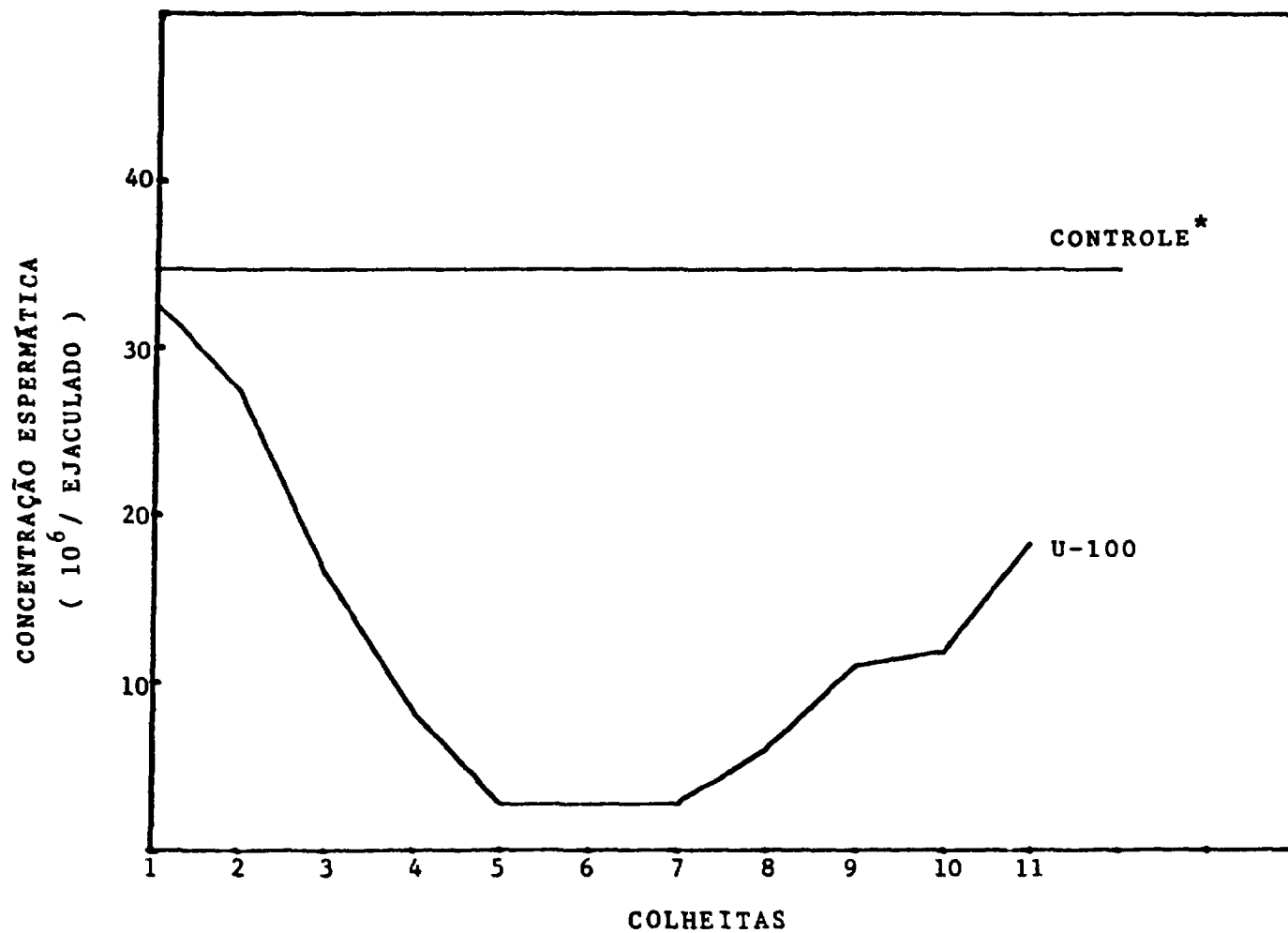


Figura 49 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 100 rad. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita)  
 \* média das 5 semanas da fase pré-experimental

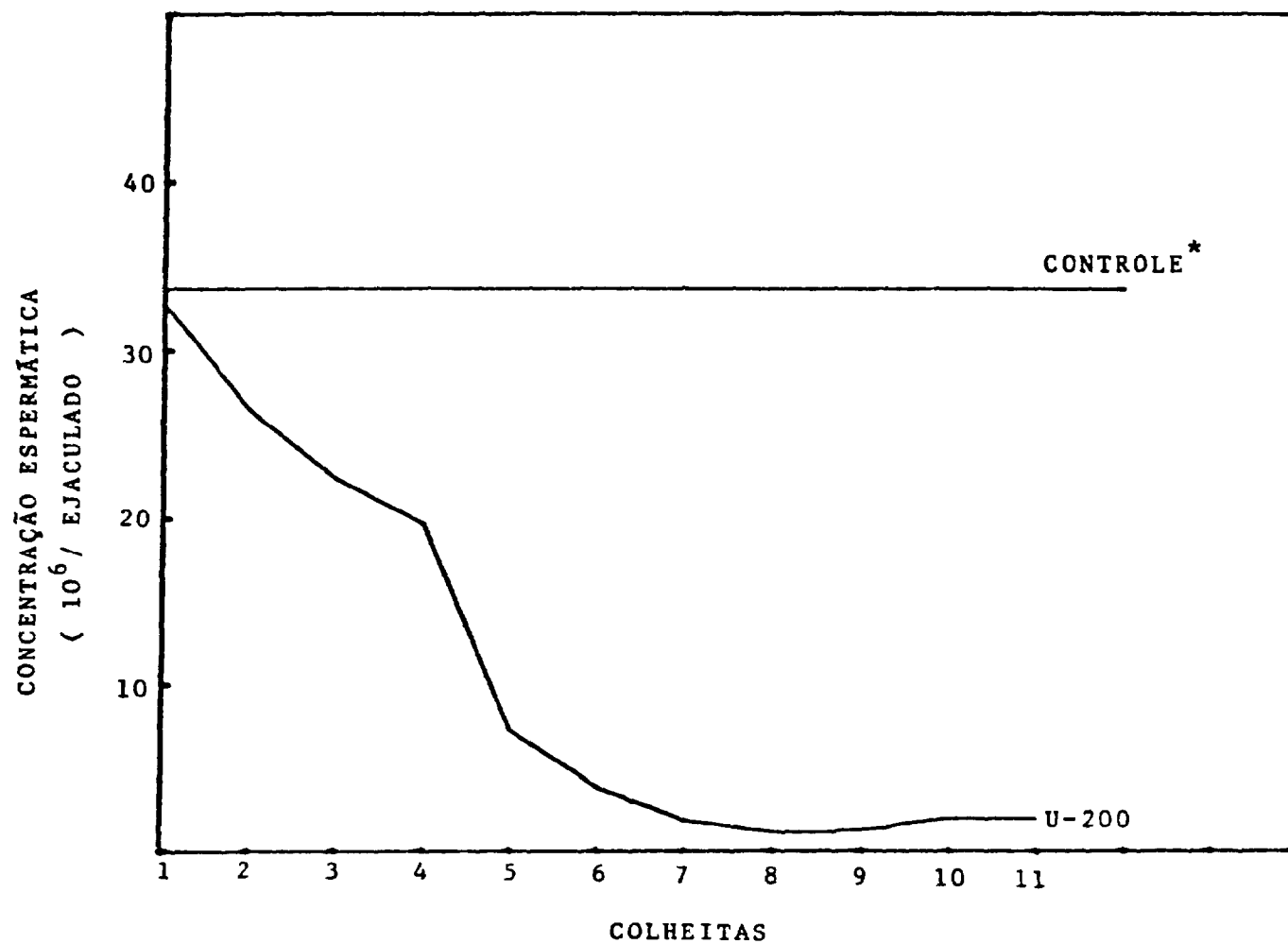


Figura 50 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 200 rad. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita)  
 \*média das 5 semanas da fase pré-experimental

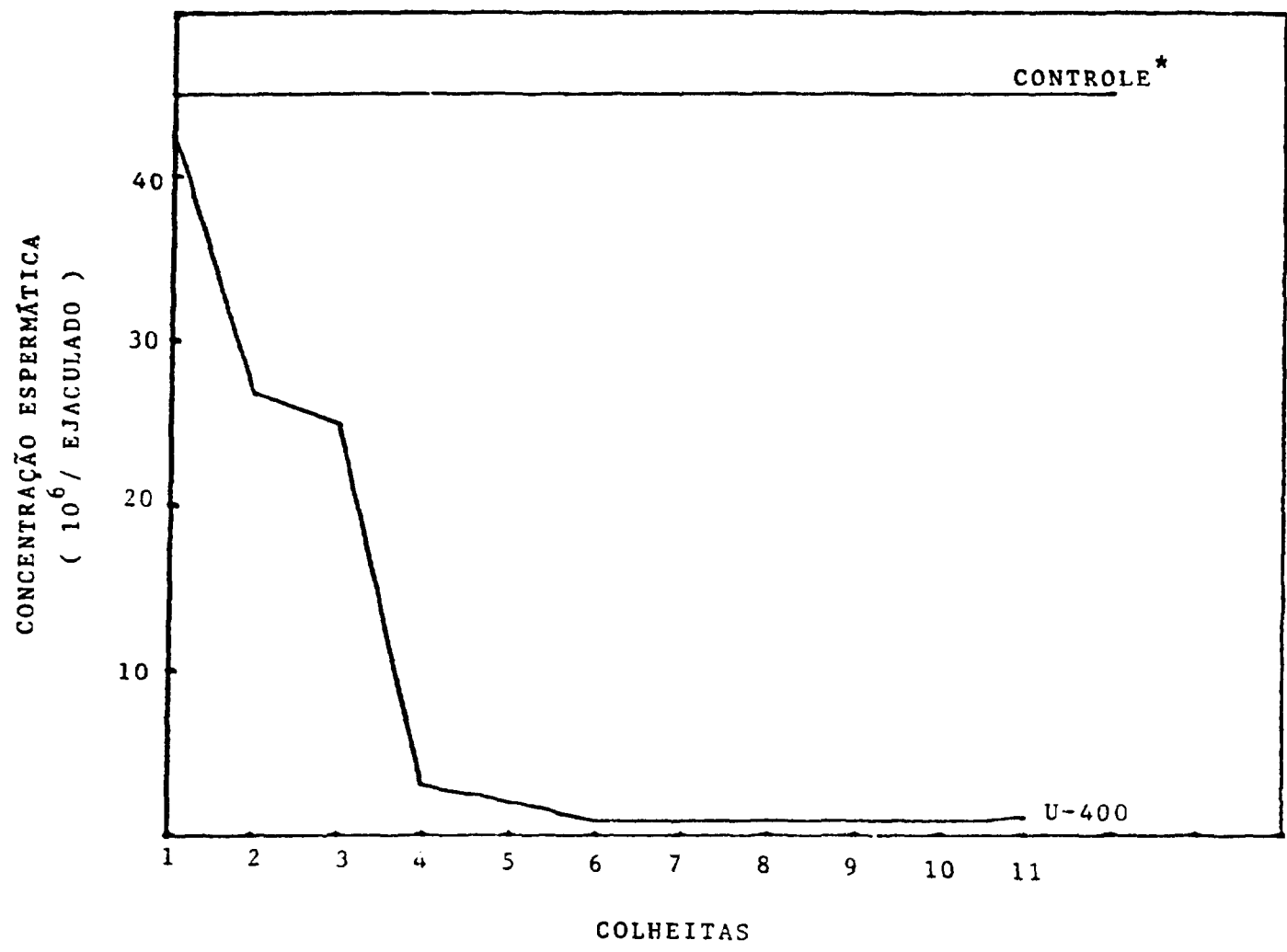


Figura 51 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo irradiado com dose única de 400 rad. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita)  
 \* média das 5 semanas da fase pré-experimental

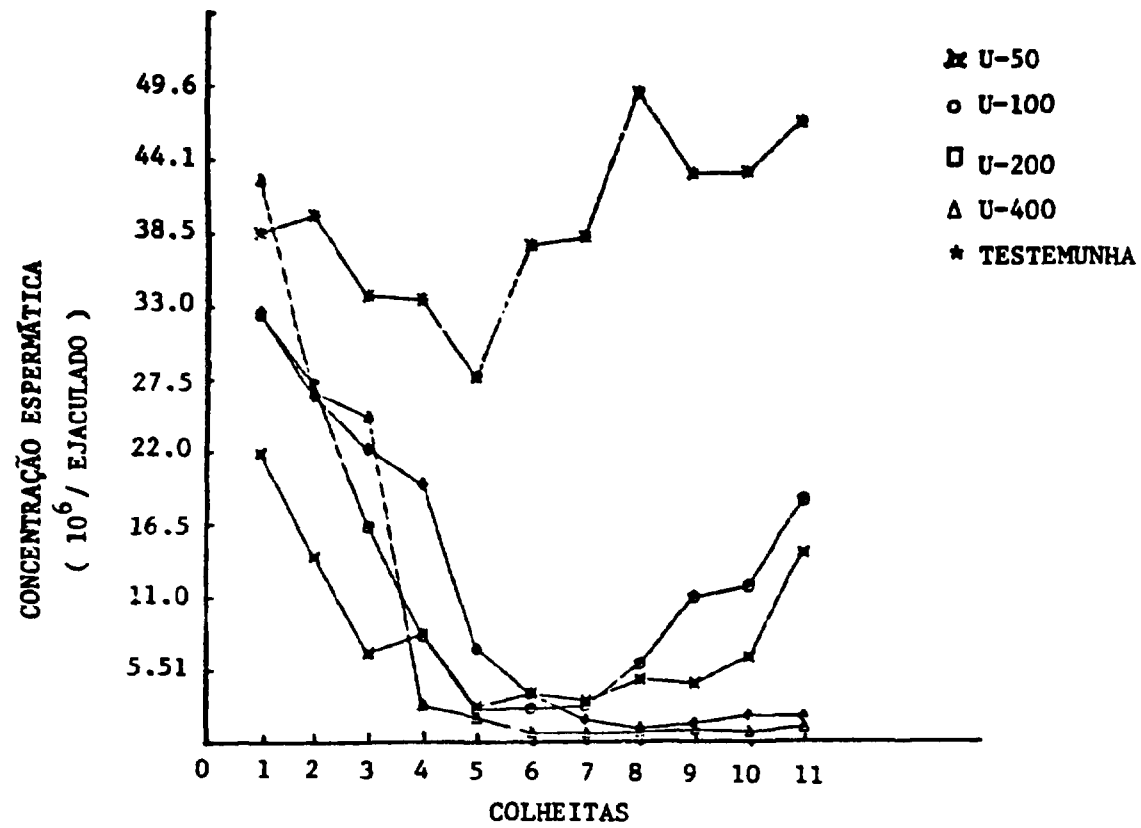


Figura 52 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupos irradiados com diferentes doses únicas. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita)

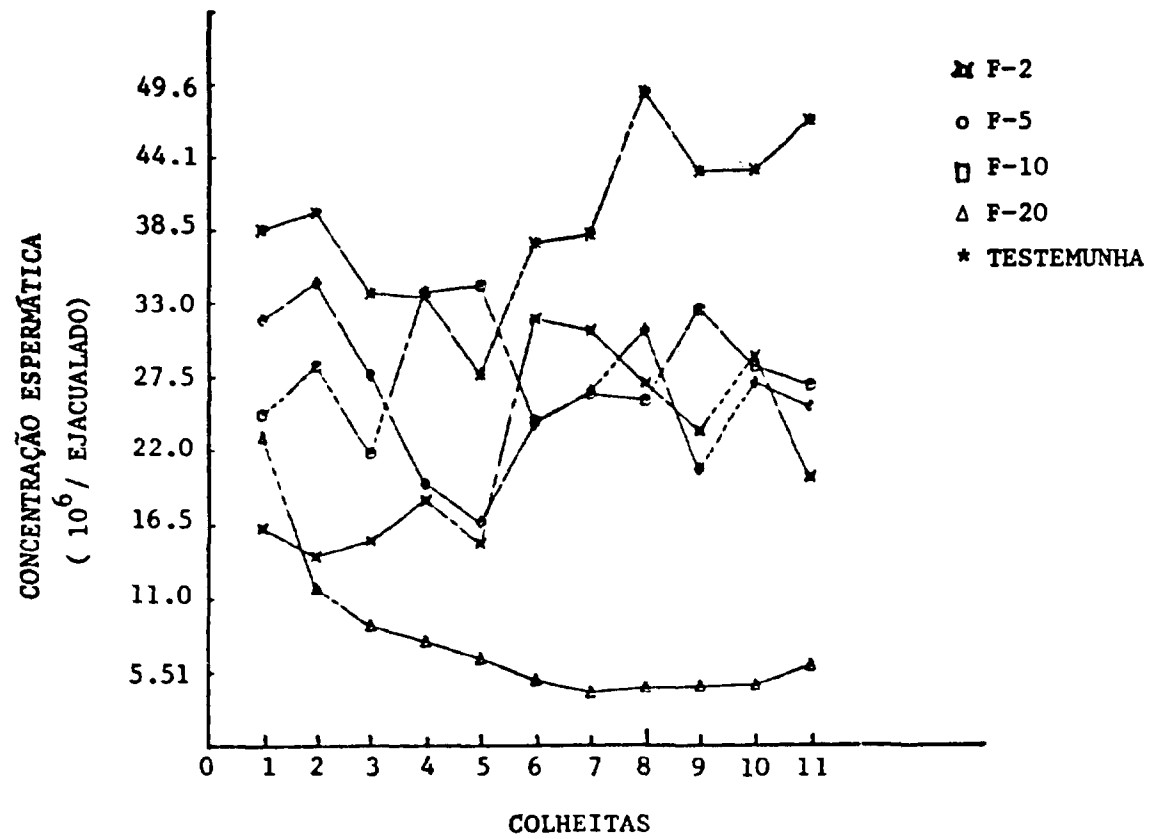


Figura 53 — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupos irradiados com diferentes doses fracionadas. Efeitos sobre a concentração espermática (média por colheita)



**Tabela XII**

Cobaias *Cavia porcellus* Grupo Testemunha . Distribuição por Colheita Mostrando as Anormalidades Espermáticas Primárias e Secundárias . São Paulo, 1978

		AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA																		
		PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMS)										SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)								
COLHEITAS		NORMAIS	ESTREITOS	ESTREITOS NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES PEQUENOS	REDONDOS LARGOS	CABEÇAS ANORMAIS LIVRES	ABAXIAIS	SUBDESENVOLVIDOS	TOTAL	NORMAIS	GOTAS PROXIMAIS	GOTAS DISTAIS	CABEÇAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ÂNGULO RETO	Caudas ENROLADAS NA PONTA E AO REDOR DA CABEÇA	TOTAL
			FASE PRÉ-EXPERIMENTAL	963	1	0	2	22	0	12	0	37	952	2	0	2	9	2	21	12
	1ª	948	2	6	2	25	0	17	0	52	971	2	0	3	13	0	7	4	29	
	2ª	955	5	4	0	21	0	15	0	45	939	5	0	10	13	2	19	12	61	
	3ª	965	4	0	0	18	0	13	0	35	949	0	1	5	10	4	20	11	51	
	4ª	955	0	0	3	30	0	12	0	45	937	7	0	3	11	0	35	7	63	
	5ª	948	2	0	0	31	0	19	0	52	936	5	0	3	8	7	32	9	64	
	6ª	944	5	0	2	35	0	14	0	56	940	5	0	4	16	0	21	14	60	
	7ª	954	1	0	0	31	0	14	0	46	943	0	0	0	10	0	30	17	57	
	8ª	939	2	0	2	28	0	29	0	61	935	4	0	0	17	4	36	4	65	
	9ª	943	2	0	2	34	0	19	0	57	948	4	0	0	12	0	29	7	52	
	10ª	960	1	2	0	24	0	13	0	40	956	0	0	4	5	0	26	9	44	
	11ª	952	10	2	0	28	0	8	0	48	968	0	0	0	7	0	16	9	32	

OBS.: Os dados desta Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 animais sorteados dentre os 8 animais pesquisados.

Exame de 200 células espermáticas por animal, em cada método.

Tabela XIII

Cobaias *Cavia porcellus* . Grupo F-2 . Irradiação Semanal com Dose Fracionada de 2 Rad . Distribuição por Colheita Mostrando as Anormalidades Espermáticas Primárias e Secundárias . São Paulo, 1978

		AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA																	
		PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMS)									SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)								
		NORMAIS	ESTREITOS	ESTREITOS NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES PEQUENOS REDONDOS LARGOS	CABEÇAS ANORMAIS LIVRES	ABAXIAIS	SUBDESENVOLVIDOS	TOTAL	NORMAIS	GOTAS PROXIMAIS	GOTAS DISTAIS	CABEÇAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ÂNGULO RETO	CAUDAS ENROLADAS NA PONTA E AO REDOR DA CABEÇA	TOTAL
COLHEITAS	FASE PRÉ- EXPERIMENTAL	966	1	0	0	24	0	9	0	34	958	0	0	0	10	0	23	9	42
	1 <sup>a</sup>	967	0	0	0	27	0	6	0	33	936	0	0	8	28	6	22	0	64
	2 <sup>a</sup>	787	10	22	9	104	2	55	11	213	905	5	4	6	36	6	29	9	95
	3 <sup>a</sup>	738	2	0	0	43	0	17	0	62	719	0	0	1	31	26	15	8	81
	4 <sup>a</sup>	669	13	0	3	74	0	41	0	131	673	0	0	3	64	14	32	14	127
	5 <sup>a</sup>	682	3	0	2	64	8	41	0	118	720	7	0	0	21	0	44	8	80
	6 <sup>a</sup>	702	0	0	0	62	0	36	0	98	728	2	0	0	24	8	32	6	72
	7 <sup>a</sup>	738	0	0	0	44	0	16	2	62	732	0	0	5	39	6	10	8	68
	8 <sup>a</sup>	740	1	0	0	40	0	19	0	60	760	0	0	0	18	8	11	3	40
	9 <sup>a</sup>	745	3	0	1	41	0	10	0	55	752	2	0	0	22	2	19	3	48
	10 <sup>a</sup>	744	2	0	1	28	5	20	0	56	756	0	0	5	11	0	19	7	42
	11 <sup>a</sup>	734	4	2	0	28	0	32	0	66	738	0	0	2	14	0	30	16	62

OBS.: Os dados desta Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 animais . Exame de 200 células espermáticas por animal, em cada método.

\* Dados referentes a 4 animais.

Tabela XIV

Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F-5. Irradiação Semanal com Dose Fracionada de 5 Rad. Distribuição por Colheita Mostrando as Anormalidades Espermáticas Primárias e Secundárias. São Paulo, 1978

		AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA																	
		PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMS)									SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)								
		NORMAIS	ESTREITOS	ESTREITOS NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES PEQUENOS REDONDOS LARGOS	CABEÇAS ANORMAIS LIVRES	ABAXIAIS	SUBDESENVOLVIDOS	TOTAL	NORMAIS	GOTAS PROXIMAIS	GOTAS DISTAIS	CABEÇAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ÂNGULO RETO	CAUDAS ENROLADAS NA PONTA E AO REDOR DA CABEÇA	TOTAL
COLHEITAS	FASE PRÉ- EXPERIMENTAL	965	1	0	0	21	0	13	0	35	961	2	0	0	10	0	21	6	39
	1ª	937	0	4	2	24	0	33	0	63	960	10	0	2	7	2	19	0	40
	2ª	851	15	5	15	57	0	41	16	149	917	1	0	13	35	1	23	10	83
	3ª	893	3	0	15	51	3	35	0	107	885	2	0	4	60	37	4	8	115
	4ª	816	12	2	0	124	0	46	0	184	864	5	0	9	48	2	54	18	136
	5ª	905	4	0	1	34	12	44	0	95	885	5	0	0	10	2	92	6	115
	6ª	930	0	0	0	25	10	35	0	70	886	16	0	0	31	0	60	7	114
	7ª	937	8	0	2	39	2	12	0	63	856	1	0	0	64	3	50	26	144
	8ª	950	2	0	0	28	0	20	0	50	918	0	0	0	27	0	37	18	82
	9ª	938	2	0	1	39	1	19	0	62	924	0	2	0	27	0	33	14	76
	10ª	958	1	0	0	27	0	14	0	42	936	0	0	0	10	0	30	24	64
	11ª	963	0	0	0	30	0	7	0	37	926	0	0	0	15	0	33	26	74

OBS.: Os dados desta Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 animais. Exame de 200 células espermáticas por animal em cada método.

Tabela XV

Cobaias *Cavia porcellus* . Grupo F-10 . Irradiação Semanal com Dose Fracionada de 10 Rad . Distribuição por Colheita Mostrando as Anormalidades Espermáticas Primárias e Secundárias . São Paulo, 1978

		AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA																	
		PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMS)									SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)								
		NORMAIS	ESTREITOS	ESTREITOS NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES PEQUENOS REDONDOS LARGOS	CABEÇAS ANORMAIS LIVRES	ABAXIAIS	SUBDESENVOLVIDOS	TOTAL	NORMAIS	GOTAS PROXIMAIS	GOTAS DISTAIS	CABEÇAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ÂNGULO RETO	CAUDAS ENROLADAS NA PONTA E AO REDOR DA CABEÇA	TOTAL
COLHEITAS	FASE PRÉ-EXPERIMENTAL	967	2	0	0	20	0	11	0	33	958	1	0	0	13	1	18	9	42
	1 <sup>a</sup>	878	0	10	10	60	0	42	0	122	955	3	0	0	31	4	5	2	45
	2 <sup>a</sup>	886	10	4	6	70	0	16	8	114	884	2	2	31	36	12	23	10	116
	3 <sup>a</sup>	911	0	1	4	47	16	21	0	89	834	4	2	6	57	8	39	50	163
	4 <sup>a</sup>	880	8	8	0	76	0	28	0	120	863	10	0	0	16	0	103	8	137
	5 <sup>a</sup>	876	3	0	0	69	20	32	0	124	877	7	0	0	26	0	68	22	123
	6 <sup>a</sup>	918	8	0	0	40	3	29	2	82	875	8	0	0	39	2	61	15	125
	7 <sup>a</sup>	668	33	0	0	240	0	59	0	332	948	0	0	0	28	0	15	9	52
	8 <sup>a</sup>	915	7	0	0	50	0	28	0	85	921	0	0	0	30	5	24	20	79
	9 <sup>a</sup>	956	8	0	0	28	0	8	0	44	934	0	0	0	18	0	19	29	66
	10 <sup>a</sup>	961	1	0	0	20	8	10	0	39	933	1	0	0	20	2	21	23	67
	11 <sup>a</sup>	972	5	0	0	15	0	8	0	28	933	1	0	0	18	2	29	17	67

OBS.: Os dados desta Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 animais . Exame de 200 células espermáticas por animal, em cada método.

Tabela XVI

Cobaias *Cavia porcellus* . Grupo F-20 . Irradiação Semanal com Dose Fracionada de 20 Rad. Distribuição por Colheita Mostrando as Anormalidades Espermáticas Primárias e Secundárias . São Paulo, 1978

		AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA																	
		PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMS)									SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)								
		NORMAIS	ESTREITOS	ESTREITOS NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES PEQUENOS REDONDOS LARGOS	CABECAS ANORMAIS LIVRES	ABAXIAIS	SUBDESENVOLVIDOS	TOTAL	NORMAIS	GOTAS PROXIMAIS	GOTAS DISTAIS	CABECAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ÂNGULO RETO	CAUDAS ENROLADAS NA PONTA E AO REDOR DA CABEÇA	TOTAL
COLHEITAS	FASE PRÉ-EXPERIMENTAL	971	0	0	0	21	0	8	0	29	964	1	0	0	16	1	16	2	36
	1ª	828	11	7	0	120	4	26	4	172	954	0	0	0	22	3	18	3	46
	2ª	778	14	2	2	174	2	26	2	222	851	3	2	27	88	6	20	3	149
	3ª	866	3	2	2	89	6	32	0	134	893	0	0	0	40	11	32	24	107
	4ª	936	9	3	0	32	0	20	0	64	886	2	0	0	25	1	70	16	114
	5ª	952	7	0	0	22	0	19	0	48	828	9	0	0	26	0	112	25	172
	6ª	841	6	0	0	113	0	40	0	159	871	9	0	0	19	2	72	27	129
	7ª	896	5	5	0	61	0	33	0	104	935	0	0	0	23	0	31	11	65
	8ª	935	5	0	0	51	0	9	0	65	938	0	0	0	23	4	25	10	62
	9ª	918	3	0	0	61	0	15	3	82	890	5	0	7	48	0	33	17	110
	10ª	954	1	0	0	30	0	15	0	46	931	0	0	2	19	0	28	20	69
	11ª	953	0	0	0	37	0	10	0	47	927	1	0	0	28	0	30	14	73

OBS.: Os dados desta Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 animais . Exame de 200 células espermáticas por animal, em cada método

Tabela XVII

Cobaias *Cavia porcellus* . Grupo F4-20 . Irradiação com Doses Fracionadas de 20 Rad  
com Intervalos de 21 Dias . Distribuição por Colheita Mostrando as Anormalidades  
Espermáticas Primárias e Secundárias . São Paulo, 1978

		AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA																		
		PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMS)									SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)									
		NORMAIS	ESTREITOS	ESTREITOS NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES PEQUENOS REDONDOS LARGOS	CABEÇAS ANORMAIS LIVRES	ABAXIAIS	SUBDESENVOLVIDOS	TOTAL	NORMAIS	GOTAS PROXIMAIS	GOTAS DISTAIS	CABEÇAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ÂNGULO RETO	CAUDAS ENROLADAS NA PONTA E AO REDOR DA CABEÇA	TOTAL	
COLHEITAS	FASE PRÉ- EXPERIMENTAL	964	2	0	0	22	0	12	0	36	967	0	0	0	14	0	17	2	33	
	1ª	823	18	24	6	74	4	38	13	177	975	0	0	0	19	0	2	4	26	
	2ª	876	18	7	2	48	0	49	0	124	830	25	8	2	7	9	98	21	170	
	3ª	870	8	4	4	94	0	20	0	130	850	6	0	0	8	0	120	16	160	
	4ª	934	4	0	0	42	0	20	0	66	919	0	0	0	23	0	50	8	81	
	5ª	885	2	0	0	78	12	23	0	115	871	2	0	6	31	6	58	26	129	
	6ª	890	2	3	0	51	0	54	0	110	883	4	0	0	21	3	79	10	117	
	7ª	911	4	0	0	62	0	23	0	89	920	0	0	11	15	0	40	14	80	
	8ª	870	1	2	0	86	0	41	0	130	860	10	0	0	8	0	112	10	140	
	9ª	923	5	0	0	52	0	20	0	77	943	2	0	0	0	0	53	2	67	
	10ª	869	1	8	0	101	0	21	0	131	945	0	0	0	21	1	23	10	55	
	11ª	875	5	0	0	97	0	23	0	125	934	0	0	0	20	3	38	7	66	

OBS.: Os dados desta Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 animais . Exame de 200 células espermáticas por animal, em cada método.

Tabela XVIII

Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo U-50. Irradiação com Dose Única de 50 Rad.  
 Distribuição por Colheita Mostrando as Anormalidades Espermiáticas  
 Primárias e Secundárias. São Paulo, 1978

FASE PRE-EXPERIMENTAL	AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA																	
	PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMS)					SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)												
	NORMAIS	ESTREITOS	ESTREITOS NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES PEQUENOS REDONDOS LARGOS	CABEÇAS ANORMAIS LIVRES	ABAXIAIS	SUBDESENVOLVIDOS	TOTAL	NORMAIS	GOTAS PROXIMAIS	GOTAS DISTAIS	CABEÇAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ÂNGULO RETO	CAUDAS ENROLADAS NA PONTA E AO REDOR DA CABEÇA	TOTAL
1ª	812	16	12	0	102	0	14	0	43	952	4	0	0	0	0	24	11	48
2ª	825	4	0	2	106	0	63	0	175	844	22	2	0	2	6	114	10	156
3ª	825	3	4	4	108	8	46	2	175	794	25	0	0	3	2	128	48	206
4ª	851	2	0	0	91	17	35	0	149	802	11	0	0	23	0	146	18	198
5ª	785	2	0	0	171	11	31	0	215	835	0	1	0	28	4	22	10	55
6ª	849	3	0	0	120	1	27	0	151	928	0	0	0	8	0	50	14	72
7ª	771	9	1	4	129	0	30	56	229	872	2	0	0	59	1	48	18	128
8ª	772	9	2	5	185	6	47	0	228	924	3	0	0	10	5	51	7	76
9ª	907	4	1	0	53	0	35	0	93	925	2	0	0	8	4	53	8	75
10ª	909	3	4	0	54	0	30	0	91	933	0	0	0	17	0	33	17	57
11ª	896	1	2	0	71	0	30	0	104	931	0	0	3	21	0	34	11	69

OBS - Os dados desta Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 injúrias. Exame de 200 células espermiáticas por animal, em cada método.

Tabela XIX

Cobaias *Cavia porcellus* . Grupo U-100 . Irradiação com Dose Única de 100 Rad.  
Distribuição por Colheita Mostrando as Anormalidades Espermáticas  
Primárias e Secundárias . São Paulo, 1978

AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA																			
PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMSON)										SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)									
COLHEITAS	FASE PRÉ- EXPERIMENTAL	NORMAIS	ESTREITOS	ESTREITOS NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES PEQUENOS REDONDOS LARGOS	CABEÇAS ANORMAIS LIVRES	ABAXIAIS	SUBDESENVOLVIDOS	TOTAL	NORMAIS	GOTAS PROXIMAIS	GOTAS DISTAIS	CABEÇAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ÂNGULO RETO	CAUDAS ENROLADAS NA PONTA E AO REDOR DA CABEÇA	TOTAL
		1ª	968	4	0	0	19	0	9	0	32	951	2	0	0	15	1	21	10
2ª	816	4	12	4	134	0	18	12	184	925	0	0	3	33	4	35	0	75	
3ª	739	5	7	0	220	3	25	1	261	856	4	4	0	11	11	94	20	144	
4ª	854	11	4	0	108	2	21	0	146	798	12	0	0	18	8	129	35	202	
5ª	860	3	0	0	77	36	24	0	140	802	8	0	0	27	4	126	33	198	
6ª	813	8	0	0	138	6	35	0	187	854	4	0	21	55	16	37	13	146	
7ª	766	30	0	0	149	0	46	9	234	886	3	3	0	43	0	54	11	114	
8ª	816	6	0	0	131	0	47	0	184	893	11	0	0	5	0	82	9	107	
9ª	808	7	0	2	137	0	46	0	192	915	13	0	0	3	0	61	8	85	
10ª	913	6	5	2	53	0	21	0	87	920	3	0	0	3	0	67	7	80	
11ª	853	5	0	0	115	0	17	0	137	937	6	0	1	9	7	29	11	63	
	877	3	3	2	94	0	21	0	123	907	1	0	3	25	0	41	23	93	

OBS. : Os dados desta Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 animais . Exame de 200 células espermáticas por animal, em cada método.



Tabela XX

Cobaias *Cavia porcellus* . Grupo U-200 . Irradiação com Dose Única de 200 Rad.  
Distribuição por Colheita Mostrando as Anormalidades Espermáticas  
Primárias e Secundárias . São Paulo, 1978

AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA																			
PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMS)										SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)									
COLHEITAS	FASE PRÉ- EXPERIMENTAL	NORMAIS	ESTREITOS	ESTREITOS NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES PEQUENOS REDONDOS LARGOS	CABEÇAS ANORMAIS LIVRES	ABA XIAIS	SUBDESENVOLVIDOS	TOTAL	NORMAIS	GOTAS PROXIMAIS	GOTAS DISTAIS	CABEÇAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ÂNGULO RETO	CAUDAS ENROLADAS NA PONTA E AO REDOR DA CABEÇA	TOTAL
				972	1	1	0	20	0	6	0	28	958	5	0	0	14	3	16
	1ª	857	16	12	2	60	28	20	5	143	916	0	1	6	40	4	21	12	84
	2ª	876	12	0	0	78	0	34	0	124	906	4	0	0	1	6	62	21	94
	3ª	904	5	9	0	55	0	27	0	96	818	6	0	0	2	6	140	28	182
	4ª	840	11	0	2	70	19	58	0	160	854	10	0	2	26	2	100	6	146
	5ª	669	1	0	0	304	1	25	0	331	807	5	0	3	58	16	84	27	193
	6ª	796	1	7	4	137	0	53	2	204	856	1	0	5	66	17	50	5	144
	7ª	797	3	1	0	154	0	45	0	203	898	6	0	0	9	3	68	16	102
	8ª	810	3	0	0	135	0	52	0	190	898	18	0	0	15	9	56	4	102
	9ª	856	3	2	8	119	0	12	0	144	886	10	0	0	7	3	85	9	114
	10ª	901	5	0	0	76	0	18	0	99	874	4	3	12	33	9	51	14	126
	11ª	884	4	2	0	91	0	19	0	116	872	0	0	0	50	27	35	16	128

OBS.: Os dados da Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 animais . Exame de 200 células espermáticas por animal, em cada método.

Tabela XXI

Cobaias *Cavia porcellus* . Grupo U-400 . Irradiação com Dose Única de 400 Rad.  
Distribuição por Colheita Mostrando as Anormalidades Espermáticas  
Primárias e Secundárias . São Paulo, 1978

132

		AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA																		
		PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMS)									SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)									
		NORMAIS	ESTREITOS	ESTREITOS NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES PEQUENOS REDONDOS LARGOS	CABEÇAS ANORMAIS LIVRES	ABAXIAIS	SUBDESENVOLVIDOS	TOTAL	NORMAIS	GOTAS PROXIMAS	GOTAS DISTAIS	CABEÇAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ÂNGULO RETO	CAUDAS ENROLADAS NA PONTA E AO REDOR DA CABEÇA	TOTAL	
COLHEITAS	FASE PRÉ- EXPERIMENTAL	965	1	0	0	23	0	11	0	35	951	5	0	0	14	0	26	4	49	
	1ª	879	8	0	0	39	14	60	0	121	896	0	2	46	49	0	5	2	104	
	2ª	815	3	0	2	94	8	77	1	185	895	19	2	0	5	8	47	24	105	
	3ª	878	7	4	0	83	2	26	0	122	873	10	0	9	36	0	43	29	127	
	4ª	792	24	1	0	82	45	56	0	208	848	10	0	0	41	0	84	17	152	
	5ª	821	4	0	0	115	4	56	0	179	869	0	0	0	65	2	48	16	131	
	6ª	743	7	6	0	168	3	69	4	257	767	2	0	0	141	20	48	22	233	
	7ª	773	7	1	0	158	0	61	0	227	899	6	0	0	21	4	57	13	101	
	8ª	815	7	0	0	130	0	48	0	185	880	8	0	0	11	4	88	9	120	
	9ª	851	5	2	0	121	0	21	0	149	913	4	0	0	5	2	70	6	87	
	10ª	875	4	0	0	75	8	38	0	125	917	2	0	0	17	3	44	17	83	
	11ª	860	10	2	2	95	0	31	0	140	929	2	0	3	16	2	32	16	71	

OBS.: Os dados desta Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 animais . Exame de 200 células espermáticas por animal, em cada método.

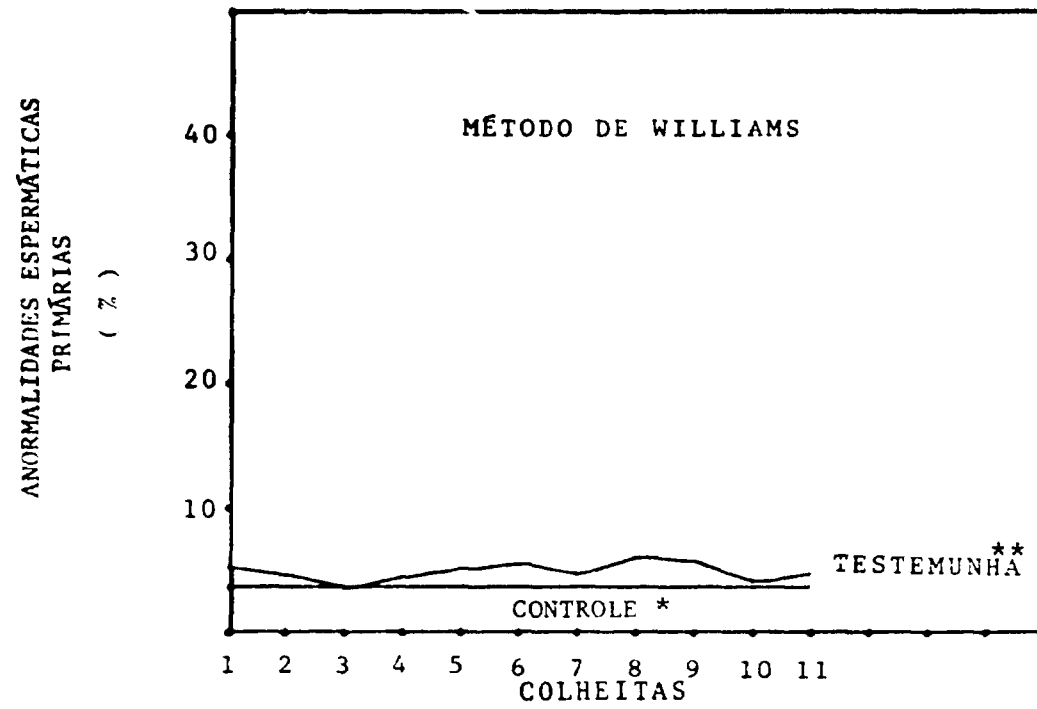


Figura 54 — Cobaías *Cavia porcellus*. Grupo testemunha. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas primárias de 5 animais, por colheita

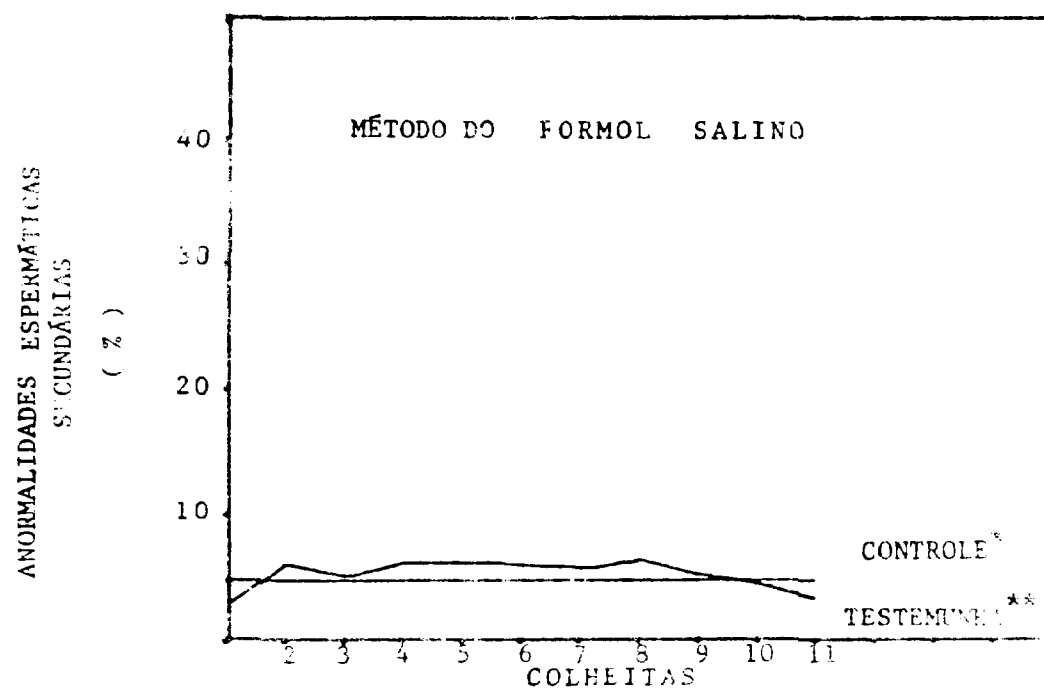


Figura 54A — Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo testemunha. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas secundárias de 5 animais, por colheita

\* Soma das frações das 5 semanas da fase pré-experimental

\*\* Soma das frações de 5 animais escolhidos aleatoriamente para fins de normalização dos dados

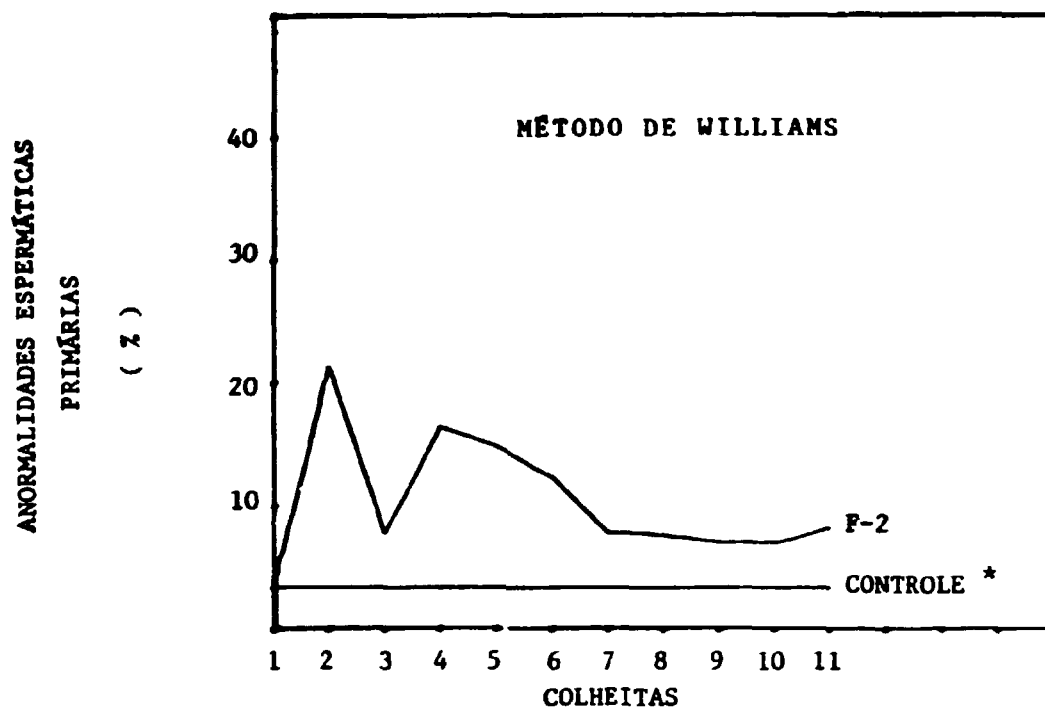


Figura 55 – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F-2. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas primárias de 5 animais, por colheita

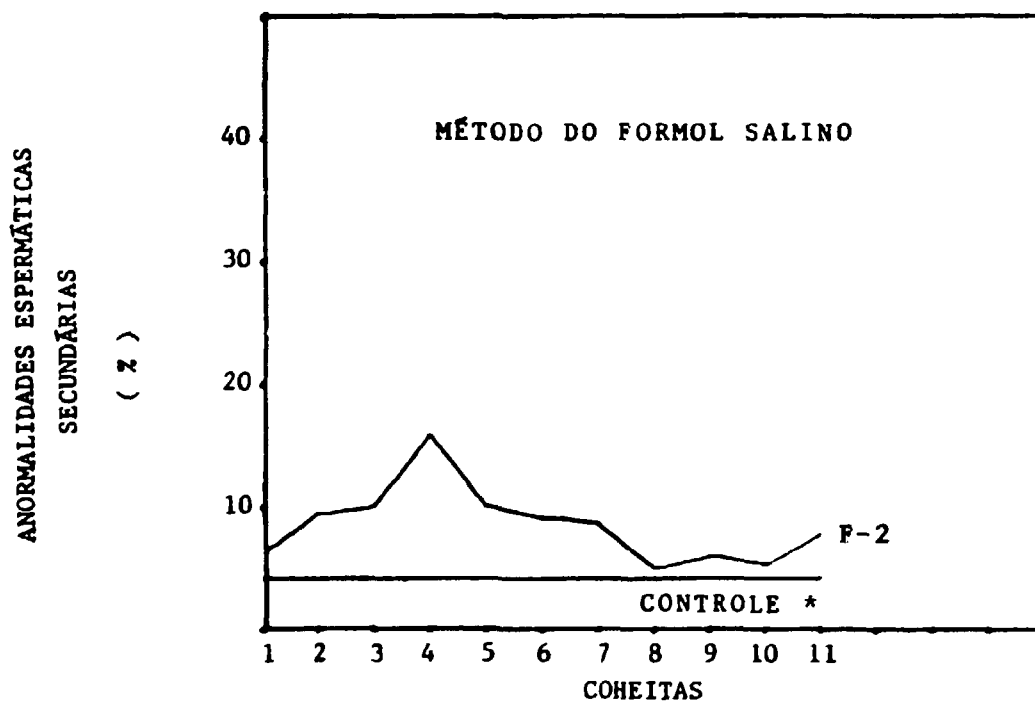


Figura 55A – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F-2. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas secundárias de 5 animais, por colheita

\* Soma das frações das 5 semanas da fase pré-experimental

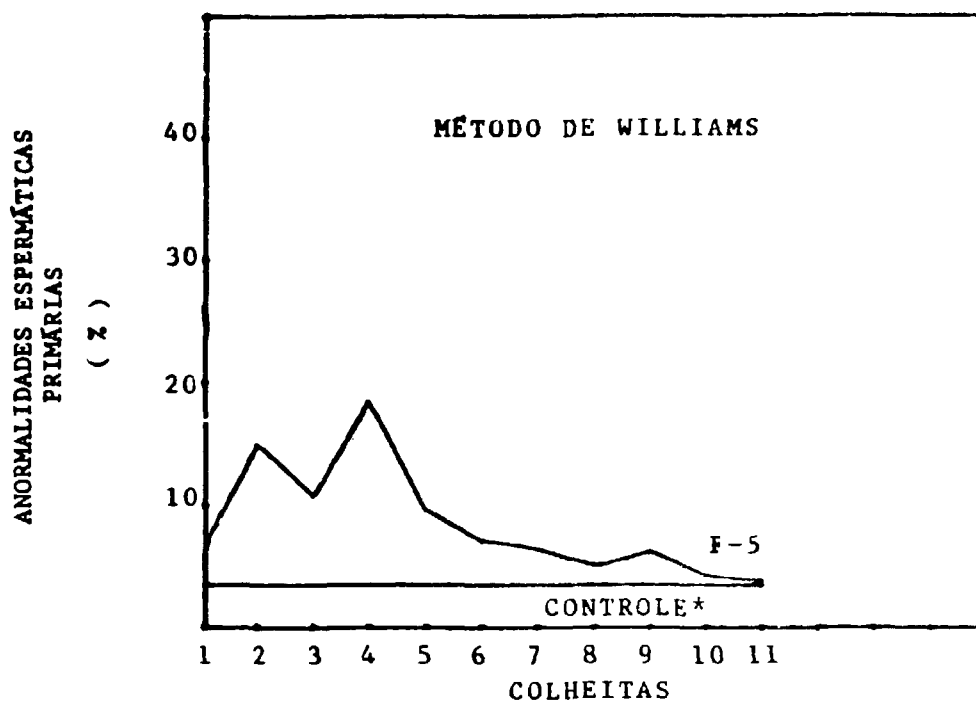


Figura 56 – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F-5. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas primárias de 5 animais, por colheita.

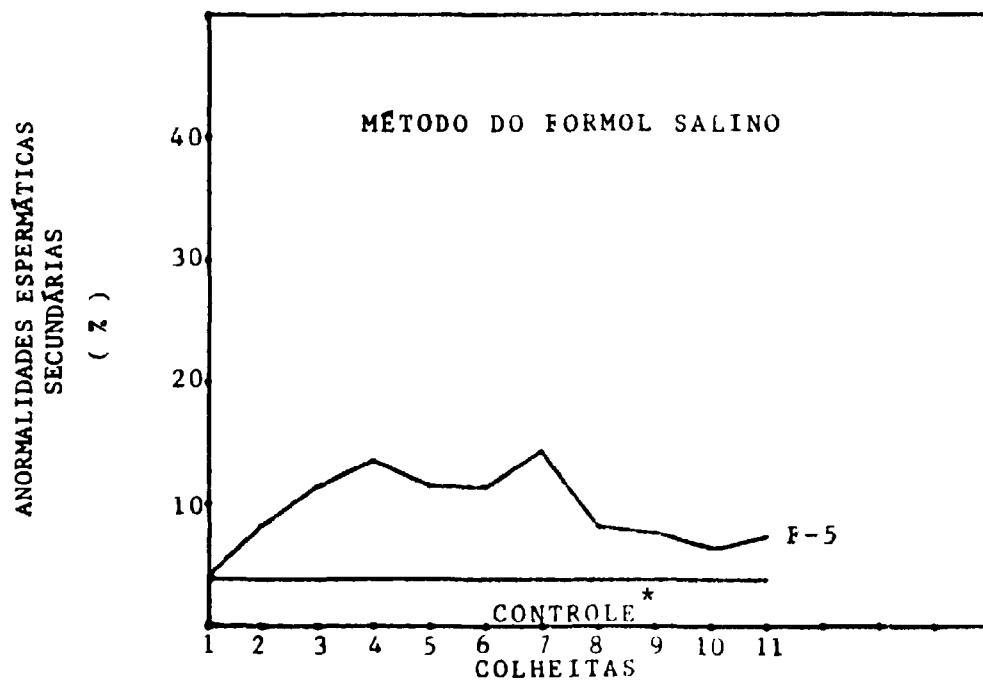


Figura 56A – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F-5. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas secundárias de 5 animais, por colheita

\* Soma das frações das 5 semanas da fase pré-experimental

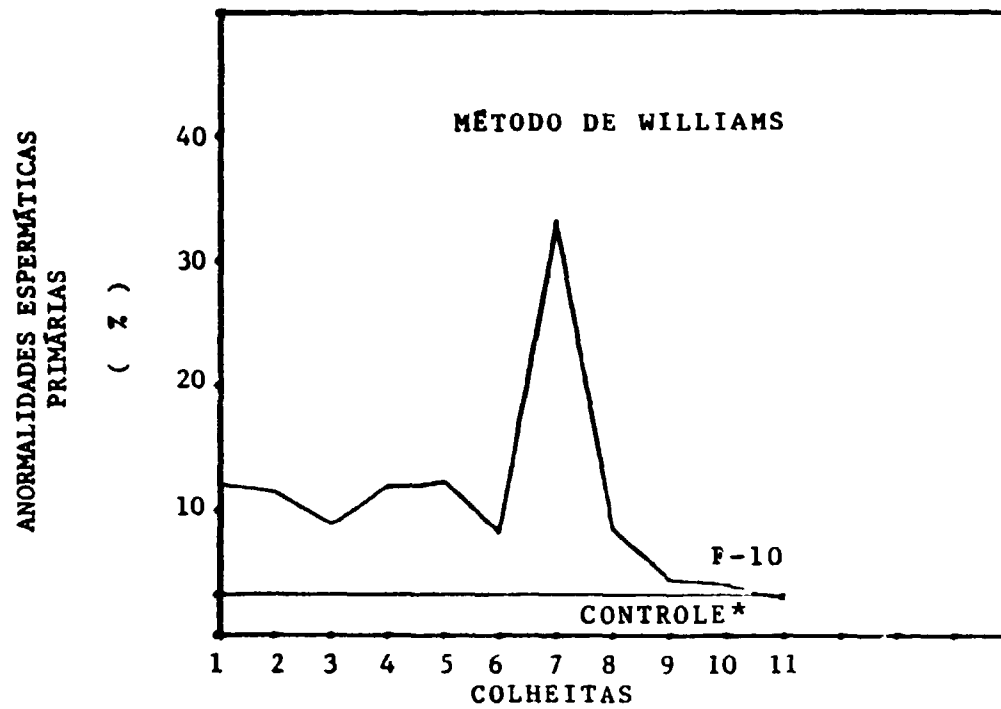


Figura 57 – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F-10. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas primárias de 5 animais, por colheita

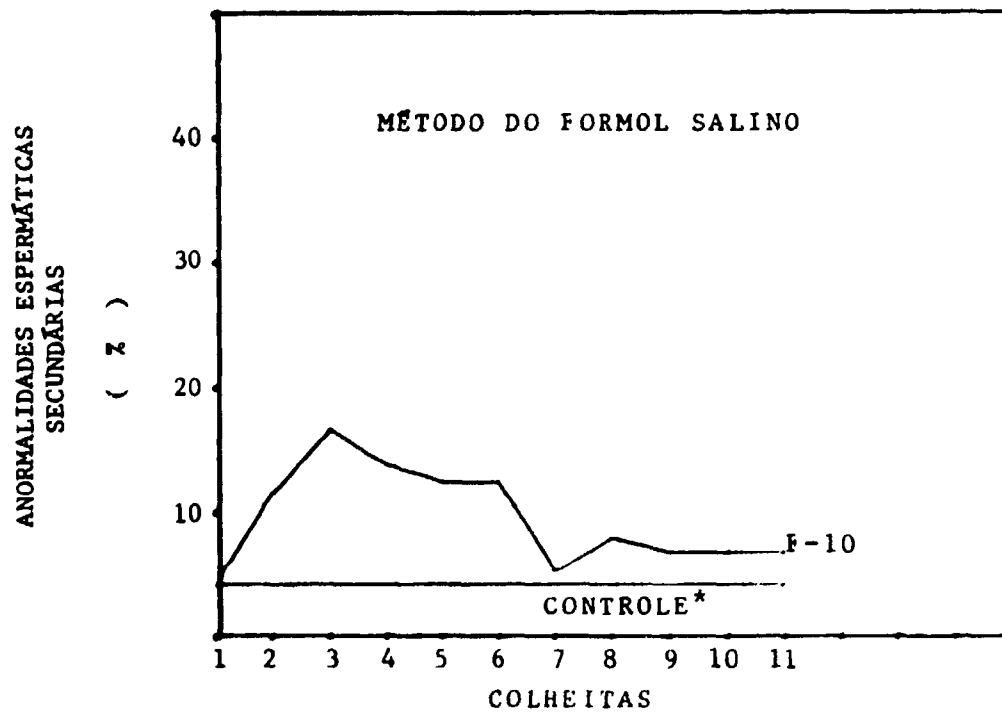


Figura 57A – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F 10. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas secundárias de 5 animais, por colheita  
\* Soma das frações das 5 semanas da fase pré-experimental

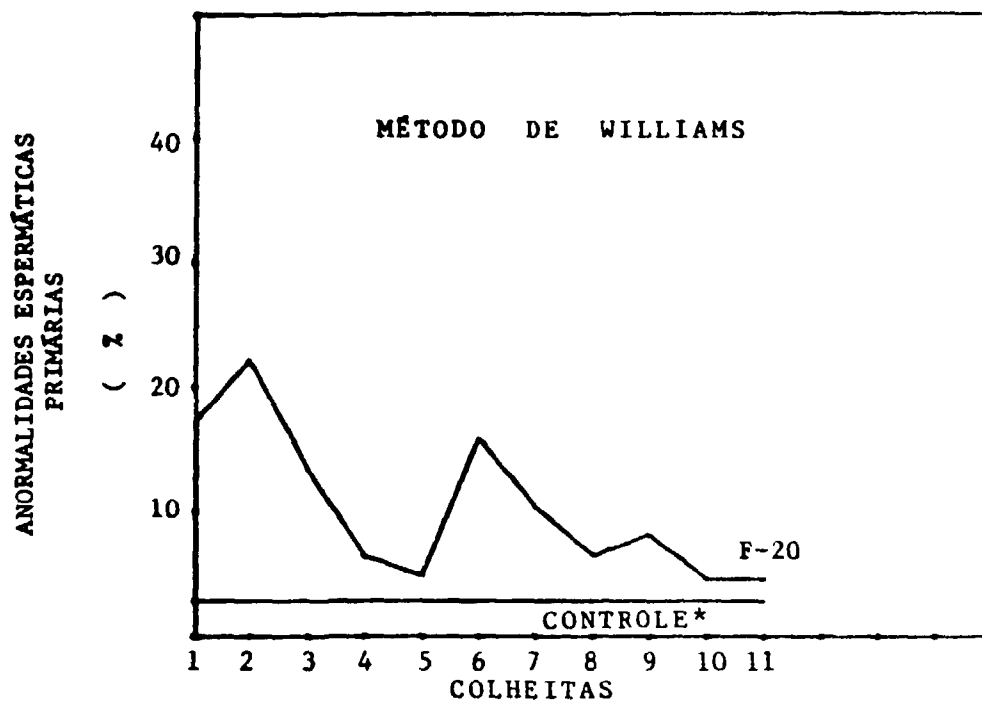


Figura 58 – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F-20. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas primárias de 5 animais, por colheita

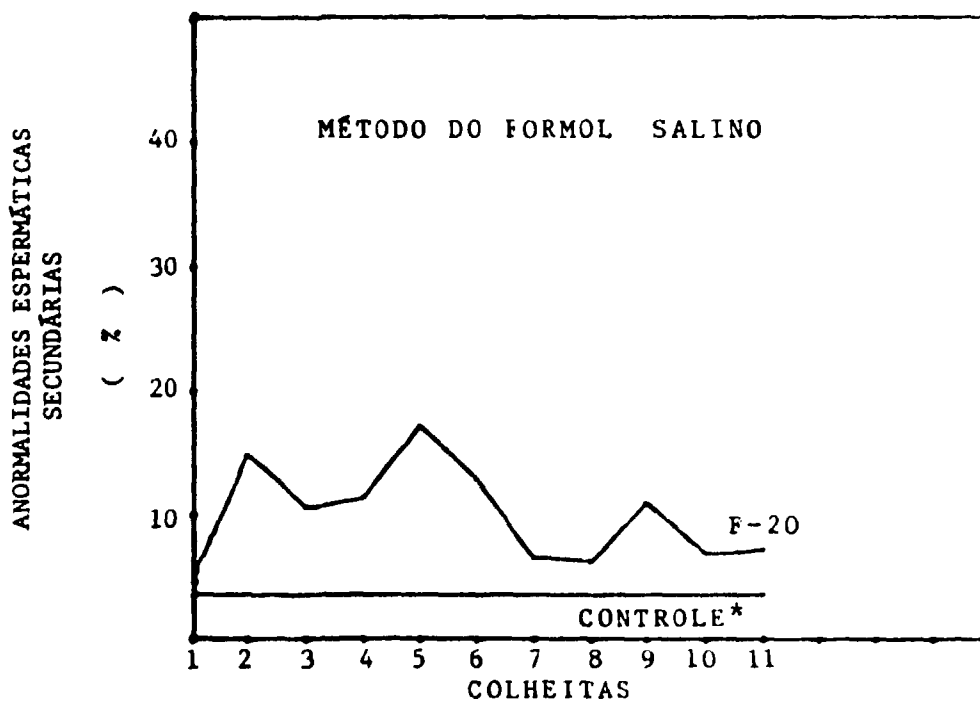


Figura 58A – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F-20. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas secundárias de 5 animais, por colheita

\* Soma das frações das 5 semanas da fase pré experimental



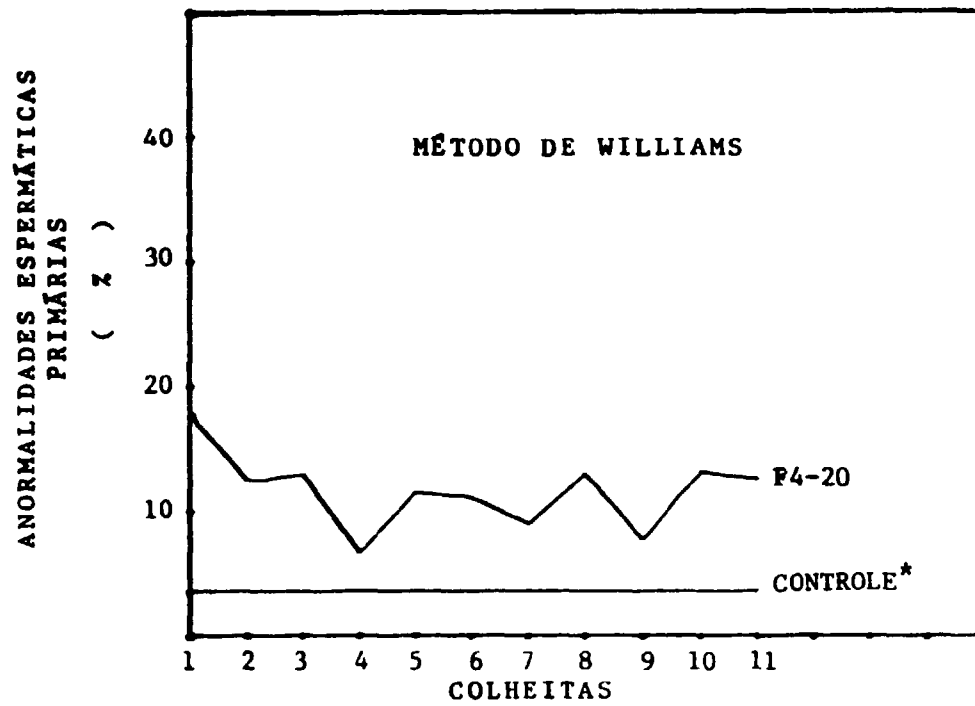


Figura 59 - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F4-20. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas primárias de 5 animais, por colheita

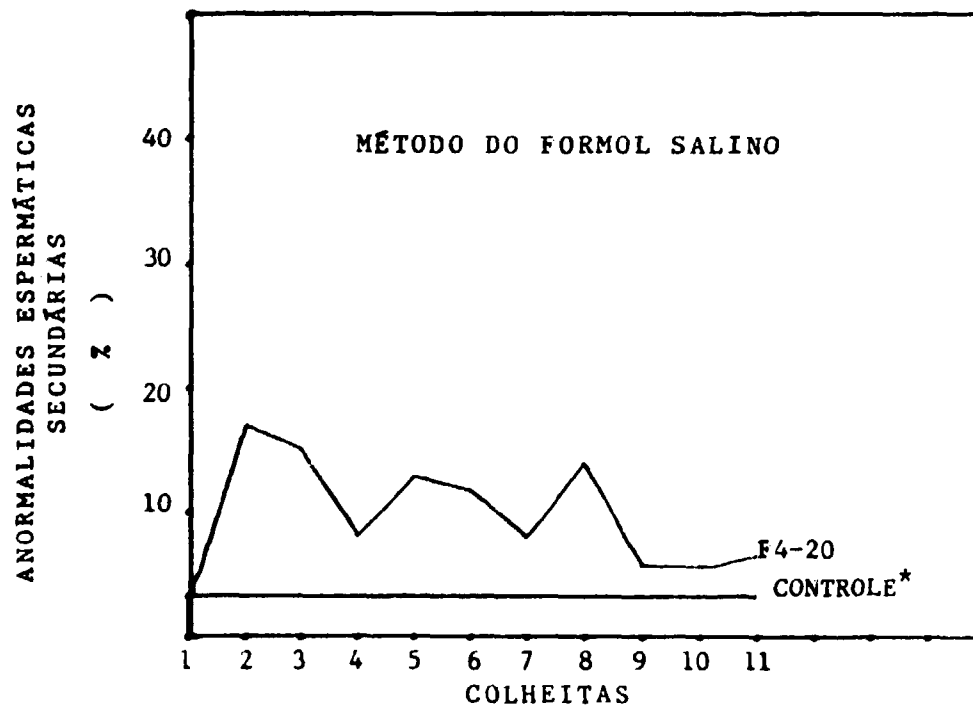


Figura 59A - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo F4-20. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas secundárias de 5 animais, por colheita

\* Soma das frações das 5 semanas da fase pré-experimental

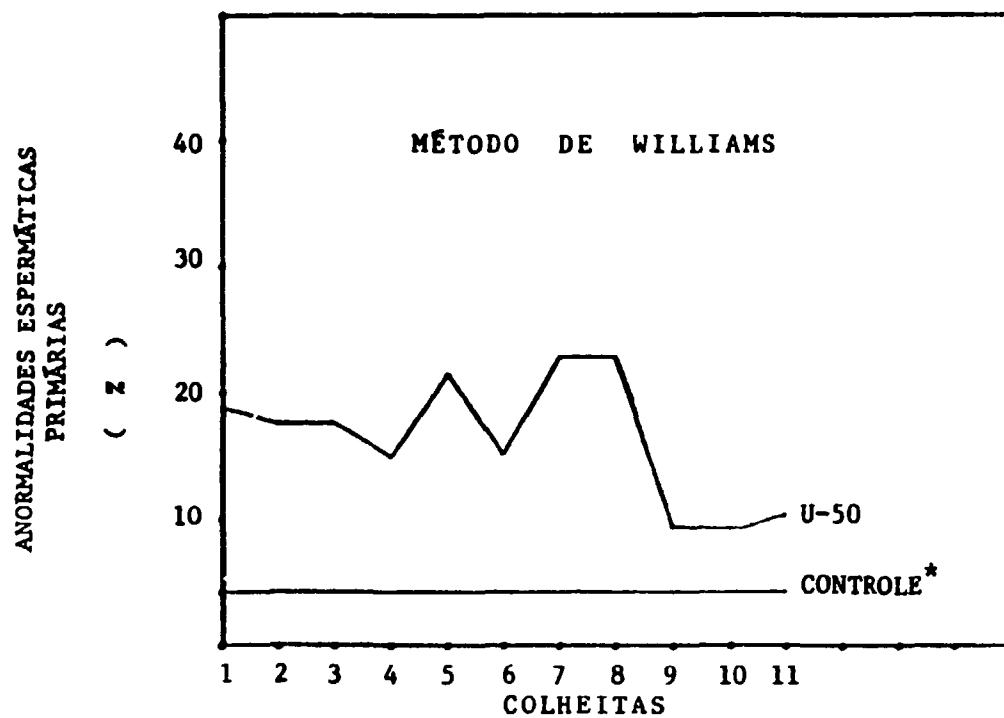


Figura 60 – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo U-50. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas primárias de 5 animais, por colheita.

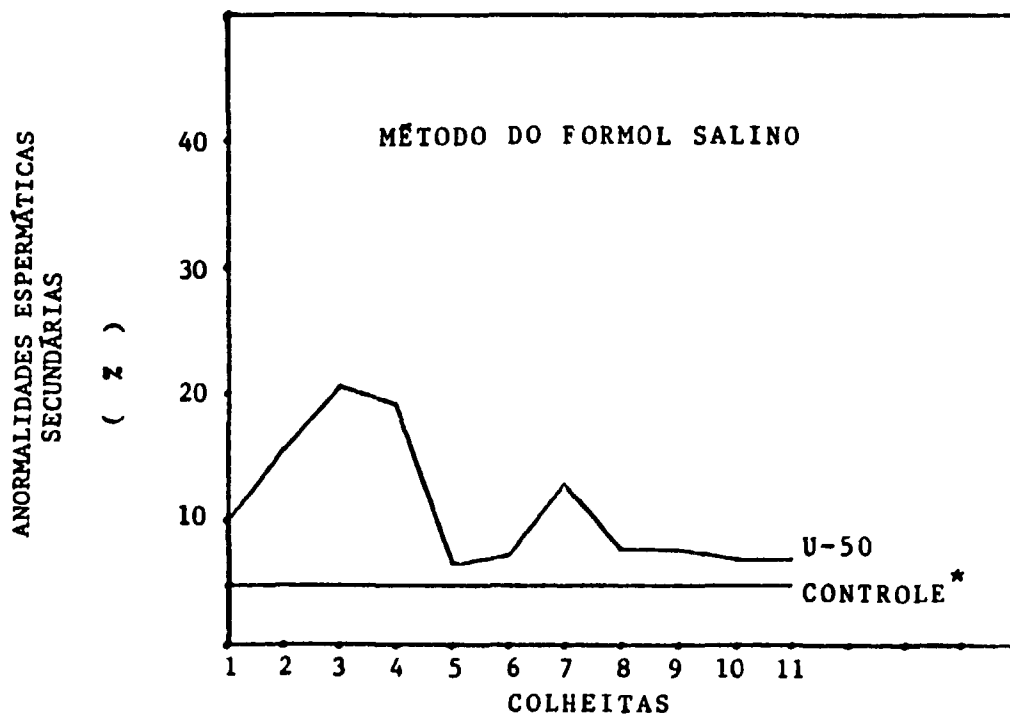


Figura 60A – Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo U-60. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas secundárias de 5 animais, por colheita

\* Soma das frações das 5 semanas da fase pré-experimental

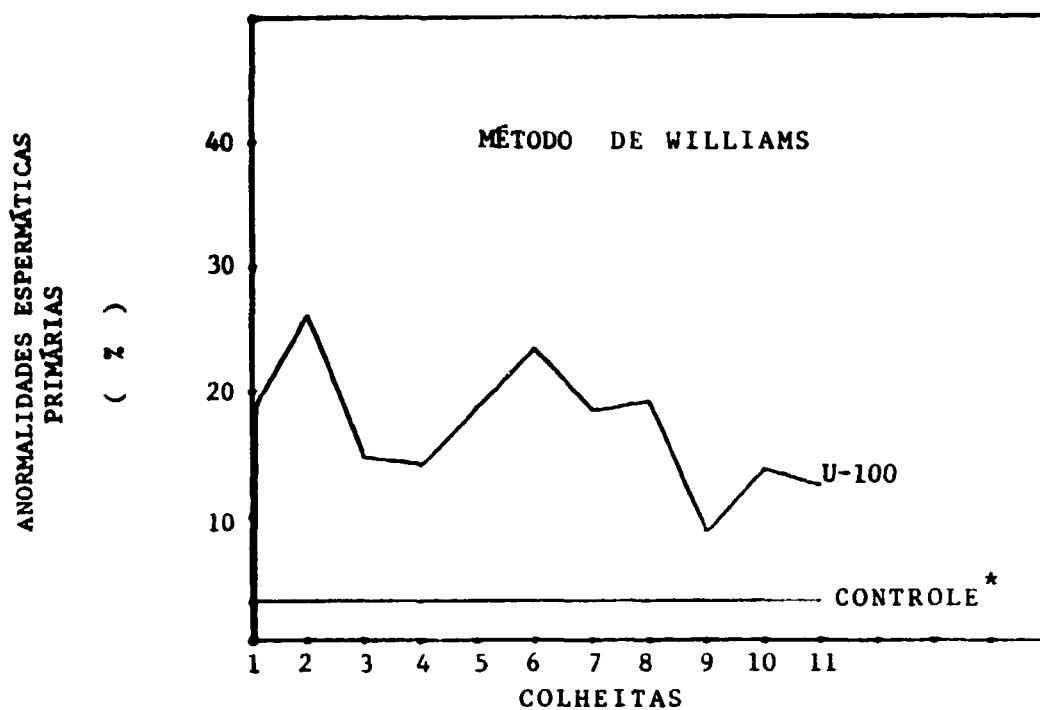


Figura 61 – Cobaías *Cavia porcellus*. Grupo U-100. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas primárias de 5 animais, por colheita

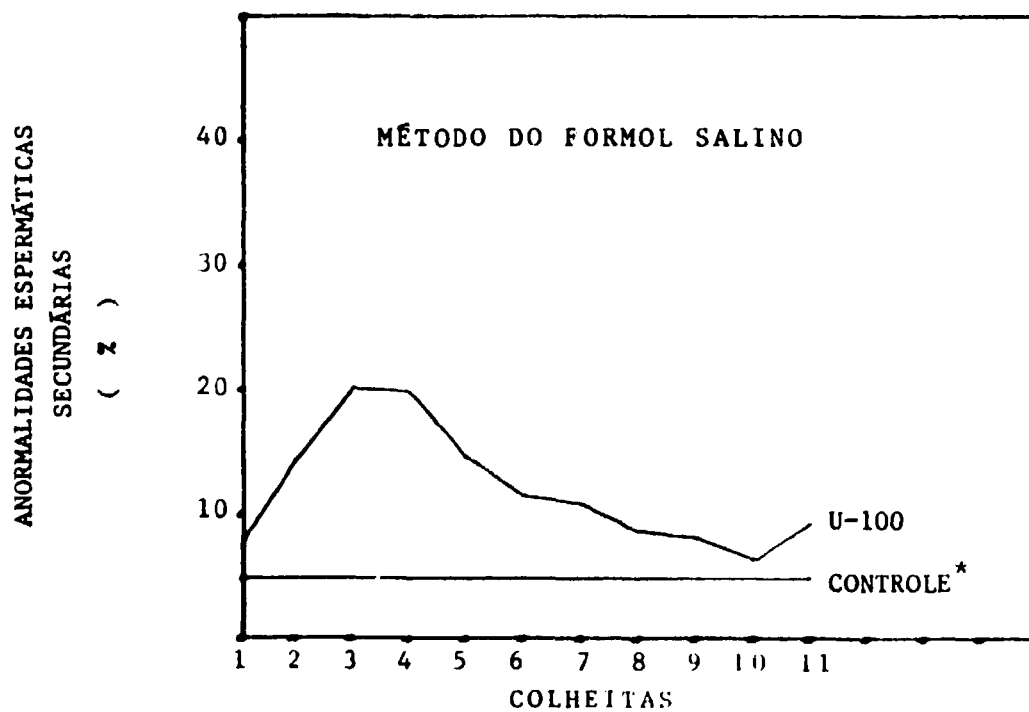


Figura 61A – Cobaías *Cavia porcellus*. Grupo U-100. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas secundárias de 5 animais, por colheita

\* Soma das frações das 5 semanas da fase pré-experimental

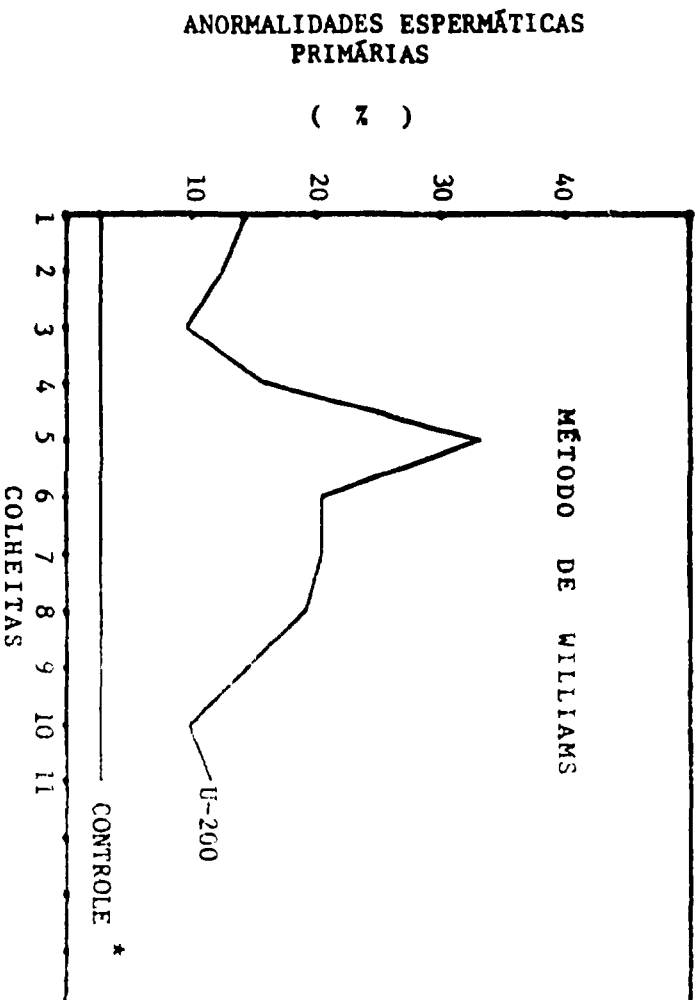


Figura 62 - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo U-200. Soma das frações referentes as anormalidades espermiáticas primárias de 5 animais, por colheita

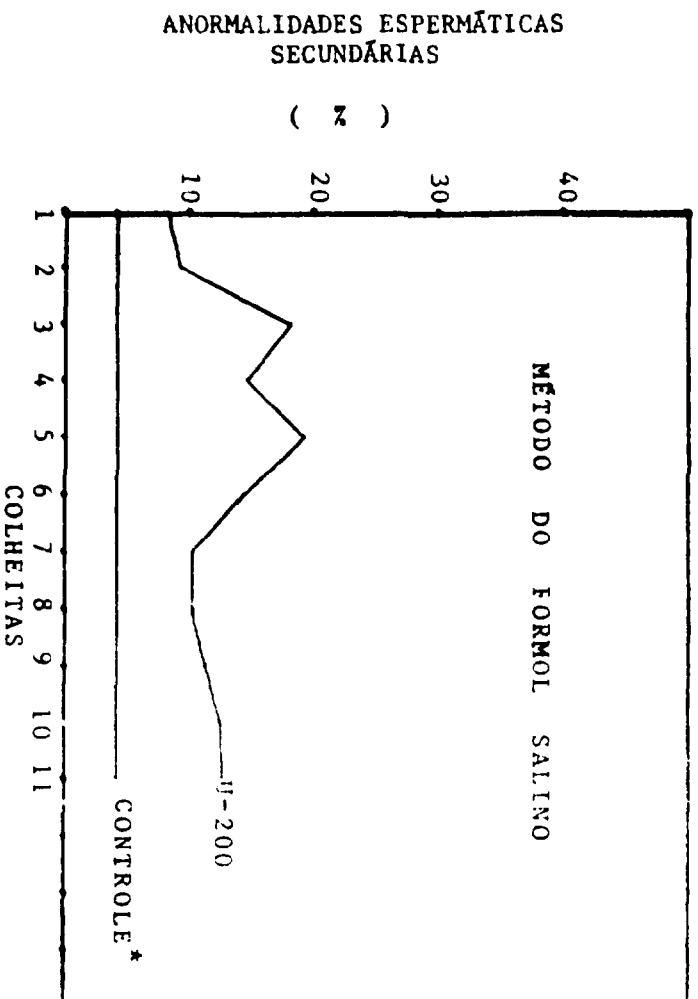


Figura 62A

Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo U-200. Soma das frações referentes as anormalidades espermiáticas secundárias de 5 animais, por colheita.

\* Soma das frações das 5 semanas da fase pré experimental

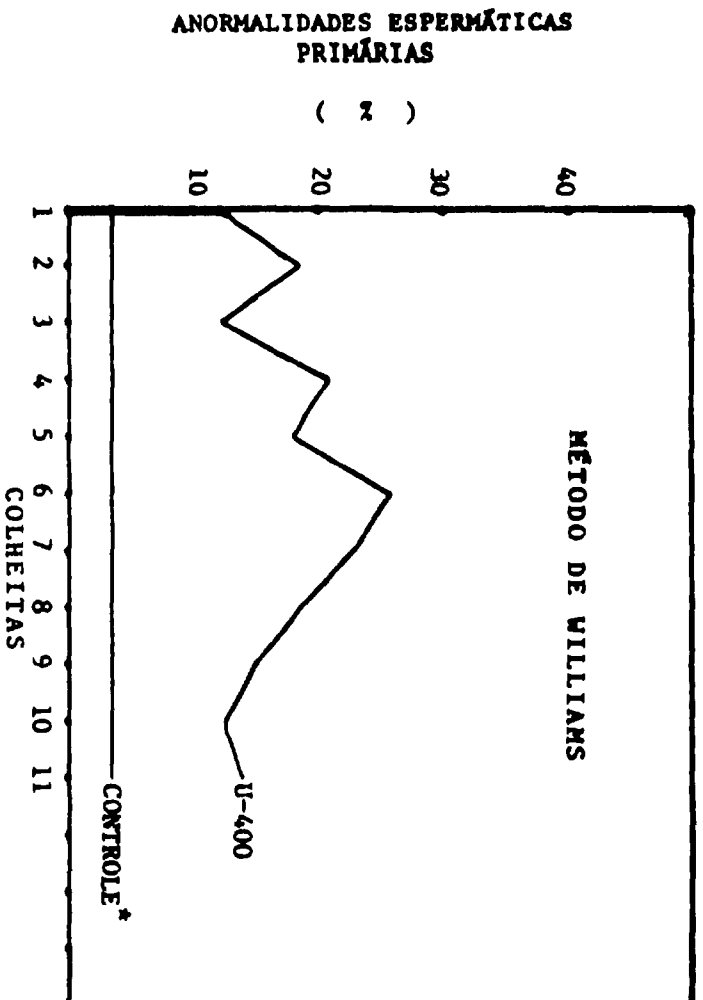


Figura 63 - Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo U-400. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas primárias de 5 animais, por colheita

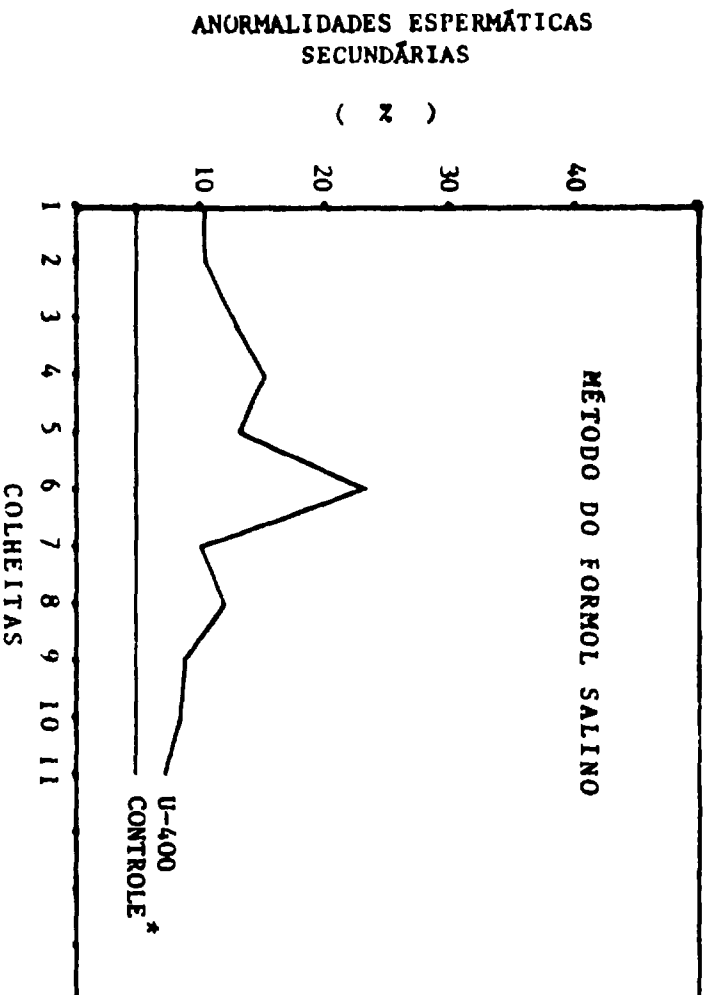


Figura 63A

Cobaias *Cavia porcellus*. Grupo U-400. Soma das frações referentes as anormalidades espermáticas secundárias de 5 animais, por colheita

\* Soma das frações das 5 semanas da fase pré-experimental



**Figura 64** — Espermatozoides normais. Empilhamento. Contraste de fase. 5400x



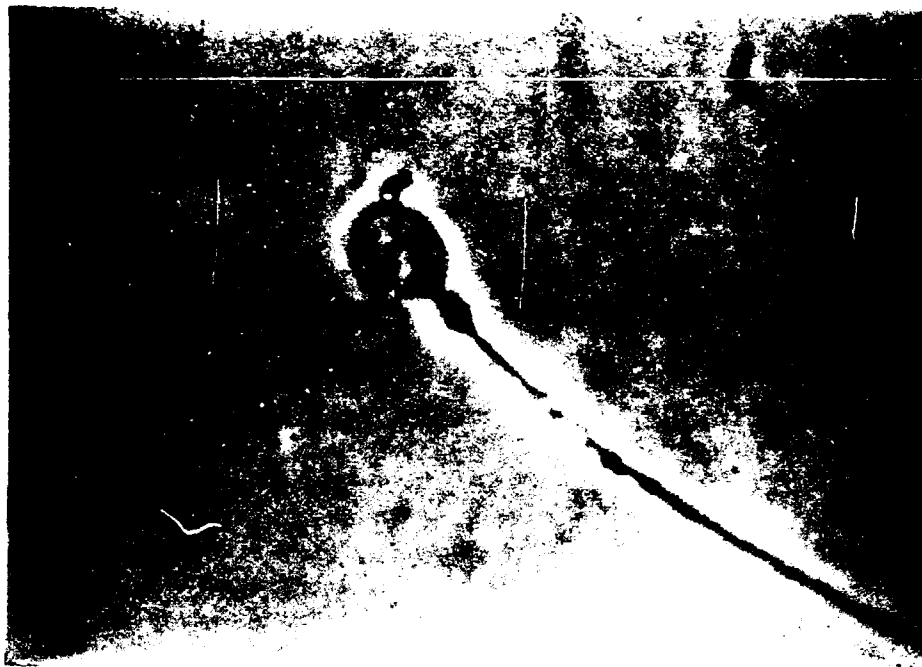
**Figura 65** — Cauda curva em ângulo reto. Contraste de fase. 5400x



Figura 66 -- Cauda enrolada na ponta. Contraste de fase. 6912x



Figura 67 -- Cauda enrolada ao redor da cabeça e destacamento parcial do acrosoma. Contraste de fase. 5400x



**Figura 68** Degeneração de peça intermediária. Presença de gota citoplasmática. Ausência de acrosoma. Contraste de fase 6912x



**Figura 69** Cabeça de espermatozóide em degeneração. Contraste de fase. 6912x





**Figura 70** – Cabeças normais livres. Coloração de Williams. 6912x



**Figura 71** - Abaxial. Coloração de Williams. 17010x



**Figura 72** — Edema de peça intermediária. Coloração de Williams. 6912x



**Figura 73** — Pequeno e normal. Coloração de Williams. 6912x



**Figura 74** – Estreito. Pequeno. Ausência de acrosoma e normais. Coloração de Williams. 6912x



**Figura 75** – Piriforme e normal. Coloração de Williams. 6912x

## DISCUSSÃO

Para a obtenção de sêmen das várias espécies de pequenos animais – camundongos, ratos e cobaias – comumente utilizados em experimentos de laboratório, não há possibilidade do uso do método de vagina artificial para colheita do material. Devido a esse fato, o método preconizado é o da eletroejaculação que pode ser aplicado em intervalos regulares, com alta eficiência e repetição, sem provocar danos físicos ao animal. A literatura mostra um número regular de trabalhos com a utilização do método em ratos e camundongos, contudo os parâmetros relatados – número de estímulos elétricos, corrente, tensão, frequência elétrica, tipo de onda e de corrente (AC, DC) – são muito variáveis.

Em cobaias, o número de referências sobre a utilização do processo é relativamente pequeno, ocorrendo também grande diversificação quanto aos parâmetros utilizados e resultados obtidos. Devido a esse fato e baseados em dados fornecidos por SUMAR e Col.<sup>(83)</sup>, (1968) construímos um equipamento que liberava corrente contínua (DC), onda quadrada, tensão variável de 0 a 9,5 volts e amperagem fixa em 5 mA. O eletrodo utilizado era retal bipolar único, introduzido a 3 cm de profundidade. Contudo, após vários testes, os resultados mostraram ereção continuada e pequenas emissões de urina, de acordo com o relatado pelos autores, porém estes afirmavam ainda que após o fato, uma série de 10 estímulos com intervalos de 10 segundos era suficiente para obter o ejaculado, o que não foi atingido em nossos experimentos. Mesmo a introdução de modificações no eletrodo, variações de sua profundidade no reto e mudanças na duração do tempo de estímulo, não surtiram o efeito desejado.

Assim sendo, as informações fornecidas por DALZIEL & PHILLIPS<sup>(17)</sup> (1948); SCOTT & DZIUK<sup>(75)</sup> (1959); FREUND<sup>(25)</sup> (1958) e FREUND<sup>(28)</sup> (1969) foram levadas em conta. Devido os dados serem diversificados, efetuamos os testes por meio de um gerador de funções, acoplado a um osciloscópio e os resultados positivos foram anotados. Observamos que a corrente alternada com onda quadrada era a que produzia resultados mais consistentes, mas não com a frequência de 60 Hz, preconizada por SCOTT & DZIUK<sup>(75)</sup>. Verificamos ainda que a aplicação da frequência de 1000 Hz, relatada nos trabalhos de DALZIEL & PHILLIPS<sup>(17)</sup>, produzia ejaculações mais frequentes e evitava desconforto aos animais, enquanto que o uso de 60 Hz, provocava-lhes movimentos bruscos. A utilização do eletrodo com polos separados aplicados nas regiões ano-lombar (DALZIEL & PHILLIPS<sup>(17)</sup>; FREUND<sup>(28)</sup> (1969) associada à corrente alternada, onda quadrada, frequência de 1000 Hz e estímulos com duração de 4 segundos e intervalos de descanso de 10 segundos, propiciaram a obtenção de um número apreciável de ejaculações, contudo não muito regulares, pois o número de estímulos variou grandemente, prejudicando o objetivo de obter repetições.

O equipamento descrito por FREUND<sup>(25)</sup> (1958), utilizava 24 volts rms, eletrodos ano-lombar e os mesmos parâmetros que já havíamos testado: corrente alternada, onda quadrada e frequência de 1000 Hz. Assim sendo, novos ajustes foram introduzidos, resultando em maior número de ejaculações, embora ainda não se atingisse a eficiência desejada. Um novo dado fornecido por FREUND<sup>(28)</sup> (1969), referente a aplicação do eletrodo lombar na posição L2-L3, melhorou as condições conquanto permanecesse inconstância na obtenção do sêmen e o número de estímulos máximos não podia ser padronizado. Partimos então para o princípio, de que é a corrente e não a tensão que determina a intensidade de um estímulo elétrico. Assim, executamos várias medidas nas cobaias, a fim de obter os valores da resistência interna oferecida ao estímulo elétrico. Por meio de observação no osciloscópio foi obtido um valor médio de 1000 Ohms com variação de 700 a 1200. Associamos então uma carga ativa à saída do aparelho e fixamos a intensidade da corrente em 28 mA, por meio de ajuste interno da fonte F1 para 32 volts. Com o aparelho funcionando com estes parâmetros, as colheitas passaram a ser frequentes, mas o número de estímulos continuava muito variável e na tentativa de padronizá-los, ocorria que alguns animais não haviam ejaculado ao atingirem o número máximo e a maior parte do material colhido era sob a forma totalmente coagulada.

A importância de se encontrar uma forma de padronização dos estímulos, prende-se ao fato de que, na cobaia, o volume médio de sêmen ejaculado durante a cobertura é incerto, já que não se conhece a utilização de vagina artificial para dar idéia em situações mais próximas ao processo

fisiológico. Assim, considerando que o ejaculado é emitido sob forma de coágulo e que existe a possibilidade de se ultrapassar o nível do volume normal, tornou-se imperiosa a descoberta de um padrão referente ao número de estímulos máximos para cada tentativa de colheita.

O objetivo era obter ejaculações ativas em um número máximo pré-fixado de estímulos por colheita e não em número regular, consecutivo conforme relatado por FREUND<sup>(28)</sup> (1969). Assim, uma nova técnica foi introduzida combinando o estímulo elétrico com a manipulação do pênis, preconizada por SCOTT & DZIUK<sup>(75)</sup>. A partir de então, o processo passou a ter repetição e colheitas consecutivas foram obtidas. Os animais passaram a ejacular ativamente sob forma não coagulada, propiciando a possibilidade de comparação desta ejaculação como sendo próxima à fisiológica. O número de estímulos para alguns animais continuou variável, contudo, com até 5 estímulos no máximo o material era colhido, por vezes passivamente. Este fato repetiu-se freqüentemente nos mesmos animais, em colheitas efetuadas semanalmente, denotando características individuais, não obstante as ejaculações ocorrerem em grande número, após a aplicação de no máximo 2 estímulos, possibilitando assim a fixação de um padrão.

Os dados relacionados nas Tabelas I a XI e Figuras 18 a 29 mostram que os volumes ejaculados pouco diferem de semana para semana, no mesmo animal e dentro de um mesmo grupo. A obtenção de volumes pequenos ou grandes da fase pré-experimental foi mantida durante todo o experimento, e o número de estímulos necessários foi característico para cada animal. Conforme pode ser observado nas Tabelas I a X e Figuras 18 a 29, o volume de sêmen ejaculado não sofreu alterações em nenhum dos tratamentos utilizados, mantendo praticamente as mesmas variações da fase pré-experimental e dos animais testemunhas, concordando com os valores de 0,5 ml (0,1 – 1,2) citado por FREUND<sup>(25)</sup> (1958), 0,3 a 0,6 ml (LAURENCE & CARPUK<sup>(44)</sup>, 1963) e 0,5 a 1,5 ml (FREUND<sup>(28)</sup> 1969), embora, em colheitas ocasionais, tivéssemos obtido volumes variando de 2 a 3 ml. Neste aspecto, também não verificamos ligeiras quedas de volume ejaculado após períodos semanais de colheita, que segundo FREUND & BORRELLI<sup>(30)</sup> (1964), parecem ser característicos à cobaia.

Observando-se a Tabela XI, vemos que com um estímulo e subsequente manipulação do pênis foram obtidas 203 colheitas, isto é, 34,35%, dentre as 591 efetuadas e que após 2 estímulos conseguiram-se 182 (30,80%) amostras. Assim, 385 (65,15%) amostras foram obtidas com somente 2 estímulos. Não houve caso em que não se tivesse conseguido o material espermático. Ainda na Tabela XI, podemos verificar que a característica física do ejaculado foi predominantemente sob a forma gelatinosa em 501 (84,77%) das amostras dentre as 591 colhidas. Devido ao fato do material espermático ser emitido geralmente sob a forma coagulada ou em parte coagulada, segundo SCOTT & DZIUK<sup>(75)</sup> e FREUND<sup>(28)</sup> (1969), as formas gelatinosas obtidas mostram que quando o animal ejacula ativamente não há tempo suficiente para que a vesiculase promova a coagulação do sêmen antes de ser expelido. A importância da obtenção do ejaculado sob essa forma deve-se ao fato de que a amostra ao ser colhida na solução tampão adicionada de alfa-quimotripsina, permite à enzima agir sobre os sítios da proteína ainda não ocupados pela vesiculase, propiciando liquefação mais eficiente.

O nosso aparelho não possui amplificador conforme descrito por FREUND<sup>(28)</sup> (1969), mas um sistema oscilador. O processo de manipulação após o estímulo, por ser eficiente na maior parte das colheitas, evita a utilização de sistemas mecânicos ou eletroeletrônicos mais complexos para a regularização do tempo de descanso, podendo isso ser feito através de um cronômetro.

É evidente que os dados sobre os níveis que controlam a ereção e a ejaculação não podem ser usados para uma localização precisa dos centros espinais na cobaia. Quando estímulos externos são aplicados, a parte do sistema nervoso que efetivamente os recebe é incerta, visto que os nervos eferentes que emergem da espinha ou os centros da corda espinal podem ser estimulados.

Os sistemas de contenção para colheita de sêmen, preconizados para outras espécies, não se mostraram adequados à cobaia. Para tanto foi construído um dispositivo de contenção, baseado em dados fornecidos pela literatura, que após algumas modificações mostrou-se altamente eficiente.

Os eletrodos retais bipolares únicos, relatados por SUMAR e Col.<sup>(83)</sup> e SCOTT & DZIUK<sup>(75)</sup>, não mostraram eficiência para a obtenção de ejaculações, provavelmente porque o centro da ejaculação

ou os nervos emergentes da corda espinal não foram atingidos pelos estímulos elétricos. A ereção obtida é explicada devido a localização de seu centro encontrar-se ao nível das vértebras sacras, enquanto que o centro da ejaculação situado mais acima, provavelmente não seja atingido por um único eletrodo por via retal.

A eficiência enzimática da alfa-quimotripsina preconizada por FREUND<sup>(25)</sup> (1958), foi observada quando o material espermático era emitido sob a forma gelatinosa. Mesmo assim, dentro do período preconizado de uma hora, não houve liquefação completa do material, observando-se em algumas amostras, espermatozoides presos em malhas. Nos casos em que o material foi emitido sob a forma de coágulo, sua ação era parcial, observando-se restos de coágulo no fundo do cilindro coletor ao término de uma hora.

Experimentos prévios foram executados para a observação da ação da alfa-quimotripsina em quantidades de até 5 mg por ml, durante uma hora. A enzima colhida desses tubos e levada a promover ação hidrolítica sobre um substrato mais simples, caseína, através do método de KUNITS<sup>(40)</sup> (1947), mostrou-se ativa, tendo o mesmo ocorrido quando experimentos prévios foram executados com quantidades de 1 mg por ml

Segundo FREUND<sup>(25)</sup> (1958) e SUMAR e Col.<sup>(83)</sup>, eletroejaculações bissemanais ou mesmo semanais mostraram um aumento progressivo de amostras liquefeitas. Este fato, contudo, não foi observado durante nosso experimento. As amostras liquefeitas apresentadas na Tabela XI e detalhadas nas Tabelas I a X, foram obtidas de animais que desde a primeira ejaculação da fase pré-experimental, mostravam emissões líquidas, como por exemplo a cobaia F-2-1; em outros casos, alguns animais apresentaram ejaculações liquefeitas combinadas com porções gelatinosas ou coaguladas totalmente e esporadicamente, numa determinada colheita, ejacularam amostras liquefeitas, sem continuidade nas colheitas seguintes.

O dispositivo de contenção das cobaias utilizado para as irradiações, mostrou-se eficiente. Contudo, notamos que manutenções muito prolongadas, cerca de 2 horas, provocam certa intranquilidade nos animais pela posição forçada. O processo não se mostrou injuriante, nem ocorreram perdas de animais por asfixia.

O Sistema de irradiação com plataforma móvel, permite a obtenção de taxas de dose pré-estipuladas.

Os discos de chumbo com o objetivo duplo de blindagem e colimação do feixe radioativo para radiação testicular, foi altamente eficiente, propiciando a irradiação de 5 animais ao mesmo tempo. Esse fato foi comprovado pelos dosímetros presos aos testículos dos animais, mostrando que a exposição estabelecida para cada grupo foi atingida. As medidas efetuadas com o simulador "phantom", comprovaram também a eficiência do sistema de blindagem e colimação, pois enquanto o órgão alvo, testículo, recebeu dose de 7 R/min., as regiões ocupadas pela cabeça do animal mostraram dose de cerca de 60 mR, derivadas do espalhamento. As porções ocupadas pelo tórax e abdome também se mantiveram próximas dessa medida (Figura 11), do que podemos inferir que na exposição de 400 R as regiões ocupadas pela cabeça (níveis I-5, 7 e 9; H-5, 7, 8 e 9), tórax e abdome (níveis E-5, 6, 8 e 10; F-5, 7 e 9; G-5, 7 e 9) receberam cerca de 3,5 R. As regiões mais próximas da área testicular irradiada (nível D) receberam aproximadamente 12 R.

O aspecto característico de espermatozoides acumulados, com as cabeças empilhadas verticalmente (Figura 64), descrito e estudado por LEBLOND & CLERMONT<sup>(46)</sup> (1952), FREUND<sup>(25)</sup> (1958), FAWCETT & HOLLENBERG<sup>(24)</sup> (1963), MARTAN & SHEPHERD<sup>(51)</sup> (1973) e SHEPHERD e Col.<sup>(79)</sup> (1974) foi comprovado no presente experimento, sendo comumente encontrado nos ejaculados dos animais na fase pré-experimental e nos testemunhas durante todo o experimento. Notou-se entretanto, que após as irradiações com doses únicas, ocorreu um total desaparecimento, observado principalmente durante as 7 semanas iniciais, com reaparecimento ocasional no grupo irradiado com 50 R. Nos grupos com doses fracionadas, essas formações foram parcialmente observadas em algumas amostras, sendo mais freqüentes os empilhamentos com 2 ou 3 espermatozoides.

A idade e peso dos animais utilizados satisfizeram as exigências do trabalho, de acordo com os conceitos emitidos por FREUND<sup>(27)</sup> (1962), RIGAUDIÈRE<sup>(66)</sup> (1973) e RIGAUDIÈRE e Col.<sup>(67)</sup> (1976). A procedência das cobaias também foi satisfatória quanto à uniformidade, propiciando a realização de todas as provas propostas e evitando a obtenção de resultados conflitantes, conforme assinalou FREUND<sup>(28)</sup> (1969), trabalhando com animais fornecidos por dois diferentes centros de cruzamentos.

Em qualquer experimento envolvendo radiação testicular deve-se lembrar que estas gônadas contêm células germinativas em vários estágios de maturação, os quais não são igualmente radiosensíveis (HELLER<sup>(37)</sup>, 1948; SHAPIRO e Col.<sup>(77)</sup>, 1961; ROOSEN-RUGE<sup>(69)</sup>, 1962; PLATNIKOVA e Col.<sup>(63)</sup>, 1962; LEONARD<sup>(47)</sup>, 1970; LYON<sup>(49)</sup>, 1970; MILLS<sup>(54)</sup>, 1974). No entanto, ESTON<sup>(22)</sup> (1974), trabalhando com coelhos, encontrou indicações de que mesmo os espermatozoides maduros e as fases anteriores de espermatídias e espermatócitos, que são considerados radiorresistentes, na realidade, são lesados a ponto de perderem a motilidade, mesmo com doses de 50 rad. Em nosso experimento dados similares foram observados, porquanto, ainda que não perdendo totalmente a motilidade, esta foi sensivelmente diminuída em todos os esquemas de irradiação utilizados (Tabelas I a X e Figuras 30 a 41), atingindo apenas 18,0% na décima semana para os animais tratados com dose única de 200 rad (Tabela IX e Figura 38). Trabalhando com irradiações X testiculares com 300 R em cobaias, FREUND & BORRELLI<sup>(31)</sup> (1965), em um primeiro experimento partindo de 70,0% fase de pré-irradiação obtiveram 64,0% na décima-primeira semana. Contudo em um segundo experimento, estes mesmos autores atingiram somente 15,0% de motilidade em lotes de 28 animais, cuja média da fase pré-experimental era de 39,0%. Em nosso trabalho, partindo de 66,0%, respectivamente, nos grupos de 200 e 400 R, os valores obtidos foram de 24,0 a 37,0% na décima-primeira semana.

Ainda quanto ao aspecto motilidade do sêmen, verificamos que existe concordância quanto à sua perda gradual após as irradiações, porém os resultados por nós apresentados são superiores nos períodos de pré-irradiação (controle) e mesmo nos animais testemunhas (média de 82,0% com variação de 66,0 a 90,0%) do que 51%, apontado por FREUND<sup>(25)</sup> (1958), 38 a 45% (FREUND & BORRELLI<sup>(30)</sup>, 1964), 32 a 45% e 55 a 70% (FREUND & BORRELLI<sup>(31)</sup>, 1965) e 66% (FREUND<sup>(28)</sup>, 1969).

Em todos os tratamentos experimentais a que foram submetidas as cobaias, houve efeitos deletérios das radiações sobre a concentração espermática (Tabelas I a X Figuras 42 a 53). Todavia, os declínios mais marcantes foram observados com as doses fracionadas de 10 e 20 rad, com as fracionadas de 20 rad com intervalos de 21 dias e as doses únicas de 50, 100, 200 e 400 rad, sugerindo que o grau de depressão foi diretamente proporcional à dose aplicada. Verificou-se ainda que as baixas concentrações espermáticas ocorreram entre a 5ª e 9ª semana, havendo relativa recuperação nas doses fracionadas e únicas de 50 e 100 rad, porém persistindo nas doses mais elevadas. Estes fatos estão de acordo com os estudos efetuados em suínos (PACE e Col.<sup>(62)</sup>, 1959; WILLHAM & COX<sup>(89)</sup>, 1961 e COX & WILLHAM<sup>(15)</sup>, 1961) em touros (MURPHREE & PARISH<sup>(56)</sup>, 1956; GILLETTE e Col.<sup>(32)</sup>, 1964), em cães (CASARETT & HURSH<sup>(8)</sup>, 1956; CASARETT<sup>(7)</sup>, 1964; TOLLE e Col.<sup>(85)</sup>, 1972), em ratos e camundongos (HELLER<sup>(37)</sup>, 1948; OAKBERG & DiMINNO<sup>(61)</sup>, 1960; LAWSON e Col.<sup>(45)</sup>, 1967; RUGH & SKAREDOFF<sup>(73)</sup>, 1971; SEARLE & BEECHEY<sup>(76)</sup>, 1974; BRUCE e Col.<sup>(6)</sup>, 1974), no homem (ROWLEY e Col.<sup>(70)</sup>, 1974; POPESCU & LANCRANJAM<sup>(64)</sup>, 1975) e em cobaias (HELLER<sup>(37)</sup>, 1948; ESCHENBRENNER & MILLER<sup>(21)</sup>, 1954; SHAPIRO e Col.<sup>(77)</sup>, 1961; PLATNIKOVA e Col.<sup>(63)</sup>, 1962; FREUND & BORRELLI<sup>(31)</sup>, 1964; LYON<sup>(49)</sup>, 1970) e reforçam o conceito de que as irradiações afetam as espermatogônias, sendo que as espermatídias e os espermatócitos presentes nos túbulos seminíferos por ocasião do tratamento radioativo completam seu desenvolvimento e são ejaculados em concentração normal, a qual conseqüentemente vai diminuindo de modo gradativo. FREUND & BORRELLI<sup>(31)</sup> (1965), através de irradiação X testicular com 300 R, em grupos de cobaias cujas concentrações pré-experimentais eram de 6,381 e 11,510 x 10<sup>6</sup>/ejaculado, provocaram queda acentuada na décima-primeira semana ao nível de 0,170 e 0,105 x 10<sup>6</sup>/ejaculado, respectivamente. Nossos grupos de 200 e 400 R, com radiação gama mostraram valores concordantes, uma vez que partindo de 33,649 e 44,977 x 10<sup>6</sup>/ejaculado atingiram respectivamente, apenas 1,899 e 1,114 x 10<sup>6</sup>/ejaculado na décima-primeira colheita semanal (Tabelas IX e X, Figuras 50 e 51).

As concentrações espermáticas obtidas na fase pré-experimental (Controle) nos grupos irradiados e testemunhas (fase pré-experimental e experimental) observadas nas Tabelas I a X, variaram em média de 18,809 (Grupo F-2) a  $48,906 \times 10^6$ /ejaculado (Grupo testemunha – 8ª colheita). Esta variação será mais acentuada se compararmos o comportamento individual dos animais nos vários grupos, onde observamos concentrações de 3,398 (F4-20-5) a 73,333 (C-1-1 – 2ª colheita).

A variação que observamos, embora mais acentuada, concorda com FREUND<sup>(28)</sup> (1969), que aponta média de 13,376, com variação de 2,875 a 35,003.

As concentrações espermáticas obtidas neste experimento foram inferiores às fornecidas por SCOTT & DZIUK<sup>(75)</sup> (1959) e superiores às de FREUND & BORRELLI<sup>(30)</sup> (1964); FREUND & BORRELLI<sup>(31)</sup> (1965) e FREUND<sup>(28)</sup> (1969).

As concentrações espermáticas por  $\text{mm}^3$  situam-se dentro da faixa citada por MANN (5.000 a 17.000 com média de 10.000 espermatozoides), contudo, as médias encontradas nos vários grupos foram inferiores à citada.

Pelo método utilizado para a avaliação da concentração dos espermatozoides por ejaculado total, não foi observada diferença entre as concentrações espermáticas das amostras liquefeitas e àquelas em que a enzima teve ação parcial (6,09% das amostras, Tabela XI, critério II).

De acordo com FREUND<sup>(28)</sup> (1969) a porcentagem de espermatozoides morfológicamente normais em cobaias varia de 92 a 98%. Conforme pode ser observado nas Tabelas XII a XXI e Figuras 54 a 63A, tanto nos animais testemunhas em todo o experimento como durante a fase pré-experimental (Controle) dos grupos irradiados, os valores encontrados situam-se nesta faixa, tendo-se obtido uma variação de 93,5 a 97,2%. A formação de espermatozoides normais envolve uma série de fatores que dependem do perfeito sincronismo fisiológico, morfológico e bioquímico. As razões do aparecimento de porcentagens permissíveis de espermatozoides anormais nas ejaculações de reprodutores com fertilidade comprovada ainda encontram-se obscuras. Talvez elas resultem do nível natural de equívocos que ocorre no processo de diferenciação das células (CLELAND<sup>(9)</sup>, 1951; ROOSEN-RUNGE<sup>(69)</sup>, 1962) e a irradiação, assim como outros fatores adversos, aumenta a frequência, o que já foi bem estabelecido por OAKBERG & DIMINNO<sup>(61)</sup>, 1960; OAKBERG & CLARK<sup>(60)</sup>, 1964; LEONARD<sup>(47)</sup>, 1970; BRUCE e Col.<sup>(6)</sup>, 1974 e MILLS<sup>(54)</sup> (1974) em camundongos e ratos, por BARNABE<sup>(3)</sup> (1974) em coelhos, por CASARETT & HURSH<sup>(8)</sup>, 1956; CASARETT<sup>(7)</sup>, 1964 e TOLLE e Col.<sup>(85)</sup>, 1972 em cães, por GILLETTE e Col.<sup>(32)</sup> (1964) em touros e por MACLEOD e Col.<sup>(50)</sup>, (1964), ROWLEY e Col.<sup>(70)</sup> (1974) e POPESCU & LANCRANJAN<sup>(64)</sup> (1975) no homem.

Os animais expostos às doses únicas e fracionadas com  $^{60}\text{Co}$  apresentaram um aumento na porcentagem de células anormais até cerca da sétima semana após as irradiações. Por esta época, a porcentagem de anormalidades espermáticas variou de 7,5% a 24,5%, comparadas a 5,1% nos animais testemunhas. Estas anormalidades consistiam principalmente de espermatozoides estreitos, gigantes, pequenos, redondos e largos, abaxiais, cabeças normais livres, presença de gotas citoplasmáticas proximais, defeitos do acrosoma e da peça intermediária e caudas curvas simples ou em ângulo reto, além de caudas curvas enroladas na ponta e ao redor da cabeça. A partir da oitava semana, iniciou-se um processo de recuperação, com o retorno aproximado aos níveis normais dos controles na décima-primeira semana, com exceção do grupo tratado com dose fracionada de 2 rad. Este período fornece um lapso de tempo do tratamento à recuperação de aproximadamente 49 dias, sugerindo ser esta a duração da espermatogênese nesses animais, o que concorda com FREUND & BORRELLI<sup>(30)</sup> (1964) e CLERMONT<sup>(11)</sup> (1972), diferindo porém de LEBLOND & CLERMONT<sup>(46)</sup> (1952), CLERMONT<sup>(10)</sup> (1960) e NOLLER e Col.<sup>(58)</sup> (1977) que indicam períodos menores.

A fase de aspermia indicada por CASARETT<sup>(7)</sup> (1964), MILLS<sup>(54)</sup> (1974) e LUSHBAUGH & CASARETT<sup>(48)</sup> (1976), citando dados de SPEISER (1973) não foi observada nas cobaias em nenhum dos tratamentos instituídos, provavelmente devido a utilização de doses relativamente baixas para atingirem esse estágio.



Uma vez que não foram encontradas na literatura, citações pertinentes à frequência de anormalidades espermáticas em cobaias irradiadas, baseamo-nos na classificação proposta por BLOM<sup>(5)</sup> (1950), reunindo nas Tabelas XII a XXI e Figuras 54 a 63A, as porcentagens médias das anormalidades primárias e secundárias.

No tocante às anormalidades primárias, isto é, aquelas formas cuja ocorrência se supõe seja devida a transtornos no epitélio germinativo dos túbulos seminíferos e considerando ainda a radiorresistência dos espermatozóides e das espermátidas, não seria de se esperar que, já na segunda semana, as porcentagens de defeito aumentassem. A nosso ver, este fato ocorreu devido ao epitélio do epidídimo, que absorve substâncias inativas, incluindo espermatozóides defeituosos, uma vez lesado, perdeu em parte esta capacidade, resultando na emissão de maior número de anormalidades espermáticas. BRUCE e Col.<sup>(6)</sup> (1974), colhendo sêmen diretamente da cauda do epidídimo de camundongos expostos a 300 rad verificaram nível máximo de 30% de anormalidades em 5 a 7 semanas e OAKBERG & DiMINNO<sup>(61)</sup> (1960) irradiando apenas o terço posterior de camundongos com a mesma dosagem assinalaram um aumento de 5,4% a partir da 4ª semana, atingindo o máximo de 31% na 7ª semana. MACLEOD e Col.<sup>(50)</sup> (1964) registraram, no homem, 56% de formas defeituosas um mês após exposição a doses variáveis de irradiação, encontrando um máximo de 63,4%, depois de 14 meses do acidente. Em nosso experimento, a porcentagem máxima alcançada foi de 33,1% na 5ª semana (Grupo de dose única com 200 rad) e valores variando de 4,8% a 33,1%, desde a 2ª à 7ª semana, nos diferentes tratamentos. Verifica-se, portanto, embora em épocas diferentes, sempre houve emissão de espermatozóides morfológicamente normais juntamente com formas defeituosas.

Relativamente às formas de cabeças espermáticas estreitas, verificamos que estas contribuíram desde 0,41% a 0,80% nos animais irradiados, enquanto que atingiram 0,31% nos testemunhas. MACLEOD e Col.<sup>(50)</sup> (1974) assinalaram a presença de espermatozóides estreitos em sêmen humano, com variação de 2 a 7,3%, em períodos de 1 a 41 meses após a exposição acidental dos indivíduos à irradiação. Segundo BRUCE e Col.<sup>(6)</sup> (1974), talvez esse defeito seja conseqüência de um complemento cromossômico anormal.

Quanto aos espermatozóides gigantes, pequenos, redondos e largos, a incidência foi de 4,34% a 12,33% nos tratados contra 2,77% nos testemunhas. MACLEOD e Col.<sup>(50)</sup> (1964), no homem, registraram 46,5% de formas gigantes a partir de 21 dias até 4 meses, enquanto que OAKBERG & DiMINNO<sup>(61)</sup> (1960) notaram 31% em camundongos após 7 semanas de irradiação e BARNABE<sup>(3)</sup> (1975), trabalhando com coelhos, verificou um valor máximo de 15,1%, 7 dias após a irradiação com 200 rad.

Embora FAWCETT<sup>(23)</sup> (1965) e NICANDER & BANE<sup>(57)</sup> (1966) descrevam a inserção abaxial da superfície articular convexa da base da cauda à concavidade caudal do núcleo, como sendo característica morfológica normal na cobaia, pudemos verificar que os tratamentos radioativos instituídos apresentaram variação de 2,23% a 4,93% contra 1,57% nos animais testemunhas.

Com base ainda na classificação de BLOM<sup>(5)</sup> (1950) reunimos nas Tabelas XII a XXI e Figuras 54A a 63A as anormalidades secundárias, ou seja, aquelas formas que ocorrem depois dos espermatozóides terem abandonado o epitélio germinativo, durante sua passagem através dos dutos mesonéfricos ou quando já armazenados no epidídimo.

Segundo LAGERLÖF<sup>(42)</sup> (1934) a presença de gotas citoplasmáticas proximais em bovinos, mesmo em pequenas porcentagens, sugere distúrbios do processo de maturação do espermatozóide. Considerando as observações de FAWCETT<sup>(23)</sup> (1965) de que, na cobaia, a gota é encontrada usualmente a meio caminho da peça intermediária, preocupamo-nos em anotar apenas aquelas que ocupavam posição caracteristicamente proximal. Assim, verificou-se que os animais irradiados apresentaram 0,17% a 0,59% dessas anormalidades em contraposição a 0,29% do grupo testemunha, indicando certas disfunções epididimárias, o que também foi assinalado, em porcentagens maiores, por BARNABE<sup>(3)</sup> (1975) trabalhando com coelhos.

Para muitos autores, a presença de cabeças normais destacadas da peça intermediária seria conseqüência do manuseio inadequado na confecção de esfregaços. Todavia, quando pesquisadas em montagens à base de formol salino (DOTT & FOSTER<sup>(18)</sup>, 1975; DOTT e Col.<sup>(19)</sup>, 1976), esta anomalia pode estar associada à primeira manifestação de processos de degeneração testicular, admitindo-se, porém, a presença de 2 a 3% como limite dentro da normalidade. Podemos verificar, contudo, que tanto nos grupos tratados (0,03 a 0,53%), como no testemunha (0,29%), as porcentagens não ultrapassaram este limite, embora em coelhos submetidos à irradiações com 600 rad, BARNABE<sup>(3)</sup> (1975) tenha assinalado 40,0% na 4ª semana, caindo posteriormente para 8,2% no fim do experimento.

Os acrosomas dos espermatozoides de cobaia são bastante desenvolvidos, contribuindo para determinar a forma total da cabeça e estendendo-se para além das margens anterior e lateral do núcleo. Os tratamentos radioativos provocaram 1,57 a 3,70% de defeitos no acrosoma, ao passo que no grupo testemunha esse número não ultrapassou 1,11%, sabendo-se, contudo, que em outras espécies, apenas acima de 5,0% há indicação de sub-fertilidade nos animais.

Os defeitos concernentes à peça intermediária geralmente constituem-se de alterações na disposição das mitocôndrias, resultantes de espermiogênese imperfeita e, às vezes, relacionadas com imaturidade sexual. Em nosso caso, os efeitos da radiação foram pouco evidentes, porquanto os grupos tratados revelaram 0,20 a 0,93%, tendo sido observado apenas 0,15% nos testemunhas. Já no caso de coelhos, o valor máximo encontrado por BARNABE<sup>(3)</sup> (1975) foi de 5,8% em animais submetidos a 50 rad.

Para facilidade de exposição, as disposições anormais das caudas espermáticas foram englobadas, incluindo-se as simples curvaturas, caudas em ângulo reto e caudas enroladas na ponta ou ao redor da cabeça. Estas anomalias parecem ser atribuídas às condições não fisiológicas durante a ejaculação, provocando movimentos retrógrados ou em círculo dos espermatozoides. No entanto, o aumento de caudas anormais pode ser conseqüência de disfunções epididimárias que ocasionam alterações na disposição normal das fibrilas. Nas condições do presente experimento, a segunda opção parece mais plausível pois enquanto que o lote testemunha acusou 1,70%, os animais tratados revelaram 1,88 a 4,21% de defeitos caudais. Em coelhos, BARNABE<sup>(3)</sup> (1975) cita porcentagem de até 42,5%, quando os animais foram expostos a 600 rad. OAKBERG & DIMINNO<sup>(61)</sup> (1960), submetendo camundongos a 300 rad, evidenciaram também a ocorrência de caudas muito enroladas, sem contudo fazer qualquer alusão quanto à sua freqüência.

De um modo geral, podemos comentar que os efeitos dos tratamentos com <sup>60</sup>Co sobre a qualidade do sêmen de cobaias assemelham-se ao apresentado nos processos de degeneração testicular, em bovinos (RAO<sup>(65)</sup>, 1971) e em coelhos (BARNABE<sup>(3)</sup> 1975), nos quais as porcentagens máximas são verificadas no início da degeneração e no início da regeneração. Cumpre assinalar, porém, que apesar da similitude observada, os valores encontrados para cobaia, sempre foram sensivelmente inferiores aos apresentados na literatura, o que provavelmente, indica uma maior resistência dessa espécie às radiações ionizantes.

Comentários relativos à presença de espermatozoides estreitos na base, piriformes, subdesenvolvidos, cabeças anormais livres e gotas citoplasmáticas distais deixaram de ser feitos por sua inconstância e mínima freqüência.

Relativamente à comparação entre doses únicas e fracionadas, foram assinaladas diferenças marcantes entre os grupos irradiados com 100 a 200 rad e os de 10 a 20 rad semanais, com respeito aos aspectos da concentração, motilidade, e anormalidades espermáticas, não obstante os resultados gerais observados na orientação do presente experimento, tanto com as doses fracionadas quanto com as únicas concordam com os resultados apontados por SHERIDAN<sup>(80)</sup> (1971), RUDNICKI & TROJCZUK<sup>(72)</sup> (1974) e RUDNICKI & KOCHMANSKA-TWARDOWSKA<sup>(71)</sup> (1975), porém contrária o trabalho de TIMBERLAKE<sup>(84)</sup> (1973), embora este autor tenha utilizado irradiações fracionadas de 6, 10, 20 e 40 R/dia e única de 1200 R, tendo concluído que esta última foi 10 vezes mais eficiente do que 6 e 10 e menos do que 20 e 40 R.

Quanto ao efeito das irradiações testiculares, com corpo protegido, nossos dados mostram que elas promovem danos severos, contrariando as afirmações de SHAVER<sup>(78)</sup> (1953) e a favor dos trabalhos de KOHN<sup>(39)</sup> (1955), FREUND<sup>(29)</sup> (1961), FREUND & BORRELLI<sup>(31)</sup> (1965).

Embora o  $DL_{50(30)}$  para cobaias seja de 400 rad, segundo ROCHA<sup>(68)</sup> (1976) citando CASARETT (1968), em nosso caso, irradiações testiculares com a mesma dose, não provocaram morte em nenhum dos animais.

## CONCLUSÕES

Dentro da metodologia utilizada no presente trabalho, visando aperfeiçoamento de aparelho eletroejaculador para cobaias e efeitos de irradiação testicular com variadas doses fracionadas e únicas de  $^{60}\text{Co}$ , foi nos permitido concluir o seguinte:

- 1) O eletroejaculador e o método de colheita, aperfeiçoados em nosso laboratório, mostraram elevada eficiência na obtenção de 591 amostras de sêmen, sem ocorrência de qualquer insucesso.
- 2) Das 591 amostras colhidas, 203 foram obtidas com apenas 1 estímulo elétrico, sendo que 182 necessitaram 2 estímulos, obtendo-se desta forma um percentual de 65,15.
- 3) O uso de limite máximo pré-fixado, 5 estímulos, foi necessário para a obtenção de somente 10,99% das amostras.
- 4) O processo de disposição dos eletrodos nas regiões ano-lombar, mostrou-se adequado e altamente eficiente em comparação ao eletrodo retal bipolar único.
- 5) A obtenção de ejaculados sob a forma gelatinosa emitidos ativamente pelo animal atingiu 501 ou seja 84,77%, enquanto que os totalmente coagulados representaram 6,09% (36 amostras).
- 6) Não foi observada crescente obtenção de amostras liquefeitas, quando de colheitas efetuadas semanalmente.
- 7) O emprego da alfa-quimotripsina para liquefação do coágulo foi satisfatória quando as amostras foram obtidas sob a forma gelatinosa, atuando parcialmente sobre as formas totalmente coaguladas.
- 8) Os discos de chumbo com objetivo duplo de blindagem e colimação do feixe radioativo para radiação testicular foi altamente eficiente, propiciando a irradiação de 5 cobaias ao mesmo tempo.
- 9) A utilização de um simulador "phantom" serviu para evidenciar a eficiência do sistema de blindagem e colimação na distribuição e avaliação das doses de irradiação.
- 10) O volume de sêmen ejaculado não sofreu alteração em nenhum dos tratamentos utilizados.
- 11) A motilidade espermática foi em linhas gerais, sensível e gradativamente diminuída em todos os esquemas de irradiação aplicados.

- 12) O grau e a duração da depressão na concentração espermática após as irradiações foram diretamente proporcionais às doses aplicadas.
- 13) A porcentagem de anormalidades espermáticas aumentou gradativamente até cerca da sétima semana após as irradiações, iniciando-se processo de recuperação a partir da oitava semana, excetuando-se unicamente o grupo tratado com dose fracionada de 2 rad.
- 14) Do período de tratamento ao início da recuperação dos animais sugere um ciclo espermato gênico de cerca de 49 dias em cobaias.
- 15) Os tratamentos radioativos aplicados não foram suficientes para o estabelecimento de azoospermia nas cobaias irradiadas.
- 16) Em todos os tratamentos verificou-se, embora em épocas diferentes, emissão de espermatozóides morfológicamente normais juntamente com formas defeituosas.
- 17) As anormalidades primárias, de acordo com os maiores valores observados foram, pela ordem, as seguintes:
  - a) Espermatozóides gigantes, pequenos, redondos e largos – 12,33%.
  - b) Espermatozóides com inserção abaxial do núcleo à peça intermediária – 4,93%.
  - c) Espermatozóides estreitos – 0,80%.
- 18) As anormalidades secundárias, de acordo com a maior incidência foram, pela ordem, as seguintes:
  - a) Caudas defeituosas – 4,21%.
  - b) Defeitos do acrosoma – 3,70%.
  - c) Defeitos de peça intermediária – 0,93%.
  - d) Gotas citoplasmáticas proximais – 0,59%.
  - e) Cabeças normais livres – 0,53%.
- 19) As anormalidades espermáticas, de modo geral, revelaram valores sensivelmente inferiores aos encontrados na literatura, sugerindo maior resistência das cobaias às radiações ionizantes.
- 20) Os resultados gerais evidenciaram diferenças marcantes a favor das doses únicas de 100 e 200 rad nos aspectos de concentração, motilidade e anormalidades espermáticas, comparadas às fracionadas de 10 e 20 rad semanais, o mesmo não ocorrendo quanto ao volume ejaculado.

**APÊNDICE**

**INFORMAÇÕES EXTRAS**

Tabela I

Cobaias *Cavia porcellus* . Grupo Testemunha e Grupos Irradiados  
com Doses Únicas e Fracionadas . Média por Colheita.

## VOLUME EJACULADO

		GRUPOS									
		TESTEMUNHA	F-2	F-5	F-10	F-20	F4-20	U-50	U-100	U-200	U-400
COLHEITAS	PRÉ-IRRADIAÇÃO	1,10	0,91	0,86	1,35	1,37	1,27	0,82	0,84	1,28	0,98
	1ª	1,58	0,72	0,94	0,88	0,70	1,32	0,98	1,12	1,50	1,02
	2ª	1,32	0,60	0,90	1,32	0,66	1,16	0,66	0,66	1,40	0,62
	3ª	0,82	0,25	0,48	1,02	0,68	0,96	0,54	0,76	1,40	1,12
	4ª	0,98	0,35	0,56	1,14	0,98	1,10	0,84	0,64	1,00	1,16
	5ª	0,86	0,37	1,26	0,86	1,40	0,92	0,50	0,50	0,68	0,90
	6ª	0,76	1,07	0,80	1,42	0,68	1,08	0,58	0,50	1,02	0,70
	7ª	0,96	1,00	0,56	1,32	1,46	0,96	0,78	0,86	1,22	0,94
	8ª	1,02	0,75	0,86	1,20	0,96	0,88	1,00	0,78	1,02	1,06
	9ª	1,04	0,92	0,72	0,88	1,26	1,52	1,08	1,10	1,20	0,94
	10ª	1,60	1,17	0,94	1,14	0,78	1,20	0,84	0,86	0,94	1,08
11ª	1,38	1,45	0,88	1,30	1,06	1,30	0,84	1,02	1,20	1,22	

**Tabela II**

*Cobaias Cavia porcellus* . Grupo Testemunha e Grupos Irradiados  
com Doses Únicas e Fracionadas, Média por Colheita.

**MOTILIDADE (%)**

		Grupos									
		TESTEMUNHA	F-2	F-5	F-10	F-20	F4-20	U-50	U-100	U-200	U-400
COLHEITAS	PRÉ-IRRADIAÇÃO	85,80	74,00	77,40	79,20	69,40	78,00	75,60	80,60	66,00	78,60
	1ª	83,00	69,00	69,00	80,00	61,00	69,00	68,00	81,00	64,00	72,00
	2ª	85,00	58,00	52,00	73,00	36,00	72,00	72,00	79,00	59,00	71,00
	3ª	88,00	53,75	40,00	83,00	56,00	69,00	53,00	82,00	55,00	86,00
	4ª	85,00	65,00	60,00	70,00	40,00	70,00	63,00	79,00	65,00	69,00
	5ª	86,00	50,00	76,00	56,00	66,00	57,00	41,00	59,00	52,00	63,00
	6ª	86,00	75,00	78,00	78,00	73,00	73,00	46,00	73,00	64,00	51,00
	7ª	87,00	72,50	71,00	67,00	56,00	62,00	54,00	71,00	64,00	47,00
	8ª	90,00	65,00	78,00	59,00	59,00	74,00	52,00	72,00	58,00	47,00
	9ª	89,00	63,75	81,00	59,00	50,00	76,00	39,00	68,00	30,00	65,00
	10ª	88,00	76,25	76,00	72,00	27,00	67,00	41,00	58,00	18,00	34,00
11ª	90,00	81,25	81,00	76,00	48,00	62,00	53,00	56,00	24,00	37,00	

Tabela III

Cobaias *Cavia porcellus* . Grupo Testemunha e Grupos Irradiados  
com Doses Únicas e Fracionadas . Média por Colheita.

## CONCENTRAÇÃO ESPERMÁTICA

		Grupos									
		TESTEMUNHA	F-2	F-5	F-10	F-20	F4-20	U-50	U-100	U-200	U-400
COLHEITAS	PRÉ-IRRADIAÇÃO	38,624	18,809	27,030	41,570	26,510	21,308	23,358	34,665	33,649	44,977
	1 <sup>a</sup>	38,554	16,334	24,676	31,660	23,064	19,763	21,856	32,532	32,716	42,633
	2 <sup>a</sup>	38,908	14,111	28,289	34,598	11,791	16,118	14,116	27,238	26,286	26,619
	3 <sup>a</sup>	33,846	15,284	21,840	27,628	9,033	7,471	6,819	16,303	22,163	24,670
	4 <sup>a</sup>	33,496	18,332	33,940	19,528	7,813	9,874	8,210	8,144	19,516	2,925
	5 <sup>a</sup>	27,731	15,139	34,433	16,465	6,484	12,018	2,763	2,633	7,115	1,907
	6 <sup>a</sup>	37,618	31,818	24,163	23,952	4,897	12,859	3,675	2,616	3,697	0,712
	7 <sup>a</sup>	38,233	30,890	26,159	26,421	3,859	12,820	3,220	2,790	1,746	0,676
	8 <sup>a</sup>	48,906	26,980	25,742	30,960	4,304	7,956	4,713	5,949	1,033	0,725
	9 <sup>a</sup>	42,884	23,405	32,505	20,461	4,403	21,939	4,436	10,983	1,351	0,913
	10 <sup>a</sup>	42,964	28,938	28,238	26,971	4,455	14,025	6,411	11,734	1,998	0,725
	11 <sup>a</sup>	46,669	19,944	26,767	25,257	5,951	13,070	14,268	18,261	1,899	1,114



Tabella IV

Cobaias Camu poriflorus - Grupo Testemunha x Grupos Irradiados com Doses Únicas e Fracionadas - Distribuição  
Mostrando as Anormalidades Espermáticas Primárias e Secundárias - São Paulo, 1978

	AMOSTRAGEM ESPERMÁTICA										SECUNDÁRIAS (MÉTODO DO FORMOL SALINO)																																						
	PRIMÁRIAS (MÉTODO DE WILLIAMS)					SUBSENSIBILIZADOS					GOTAS NORMAIS					GOTAS PROXIMAS					GOTAS DISTAIS					CABECAS NORMAIS LIVRES					DEFEITOS DO ACROSSOMA					DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA					CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ANGULO RETO					CAUDAS ENDOPLASMICA DA CABECA			
	NORMAIS	ESTREITOS	NA BASE	PIRIFORMES	GRANDES	PEQUENOS	LARGOS	CABECAS ANORMAIS LIVRES	ABAXIAIS	TOTAL	%	NORMAIS	PROXIMAS	GOTAS DISTAIS	CABECAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ANGULO RETO	CAUDAS ENDOPLASMICA DA CABECA	TOTAL	%	NORMAIS	PROXIMAS	GOTAS DISTAIS	CABECAS NORMAIS LIVRES	DEFEITOS DO ACROSSOMA	DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA	CAUDAS CURVAS SIMPLES OU EM ANGULO RETO	CAUDAS ENDOPLASMICA DA CABECA	TOTAL	%																		
TESTEMUNHA	10432	34	14	11	208	0	173	0	837	10432	32	1	32	122	17	271	183	878																															
%	95.12	0.31	0.13	0.10	2.77	0	1.57	0	4.88	94.75	0.29	0.01	0.29	1.11	0.15	2.46	1.70	5.25																															
F-2	89.63	0.41	0.26	0.17	6.04	0.16	3.19	0.14	954	91.53	0.17	0.04	0.33	3.35	0.83	2.86	1.88	8.47																															
	8248	38	24	18	555	19	293	13	984	10.37	1.6	4	30	308	78	283	82	778																															
F-5	91.82	0.43	0.10	0.33	4.34	0.25	2.78	0.15	922	90.52	0.36	0.02	0.25	3.04	0.43	3.85	2.68	9.48																															
	10078	47	11	38	478	28	306	18	922	8.38	9957	40	2	28	334	67	426	187	1043																														
F-10	89.28	0.75	0.21	0.18	6.51	0.43	2.55	0.09	1178	90.52	0.33	0.04	0.34	2.90	0.32	3.70	2.78	1.85																															
	9821	83	23	20	715	47	281	10	1178	10.72	9957	38	4	37	318	36	407	205	1043																														
F-20	89.61	0.58	0.17	0.04	7.18	0.11	2.23	0.08	1143	90.04	0.26	0.02	0.33	3.27	0.25	4.28	2.92	1.55																															
	9857	84	18	4	780	12	348	9	1143	10.39	9904	29	2	36	381	27	471	170	1086																														
F-4-20	88.42	0.62	0.44	0.11	7.13	0.15	3.01	0.12	1274	11.58	9930	48	8	18	173	22	671	188	1070																														
	8726	68	48	12	785	18	332	13	1274	11.58	9930	48	8	18	173	22	671	188	1070																														
U-50	83.65	0.51	0.24	0.14	10.82	0.46	3.38	0.80	1788	89.00	0.59	0.03	0.03	2.07	0.22	6.58	4.08	1.86																															
	8202	84	28	15	1190	61	372	88	1788	16.35	8730	66	3	3	222	24	723	170	1210																														
U-100	82.95	0.80	0.28	0.08	12.33	0.43	2.92	0.20	1878	88.12	0.59	0.06	0.25	2.11	0.45	6.87	4.21	1.55																															
	8128	88	31	10	1354	47	321	22	1878	17.05	8483	68	7	28	232	50	784	170	1207																														
U-200	83.55	0.59	0.30	0.15	11.62	0.44	3.30	0.06	1810	18.45	8485	64	4	28	307	102	782	188	1418																														
	8190	64	33	18	1278	48	383	7	1810	18.45	8485	64	4	28	307	102	782	188	1418																														
U-400	82.75	0.78	0.15	0.04	10.84	0.76	4.83	0.05	1888	17.25	8486	83	4	88	407	46	846	171	1314																														
	8102	88	18	4	1180	84	543	5	1888	17.25	8486	83	4	88	407	46	846	171	1314																														
TOTAL	84387	964	231	133	8308	348	2886	183	17843	84833	427	38	387	2483	428	8043	1411	10277																															
%	86.78	0.61	0.24	0.14	8.54	0.36	3.14	0.19	13.22	88.43	0.44	0.04	0.27	2.74	0.44	6.18	3.32	0.87																															

OBS. Os dados desta Tabela correspondem a soma das frações colhidas em 5 animais durante 11 semanas. É soma de 200 células espermáticas por animal em cada material. Dado referente a 4 animais durante 9 semanas.

## ABSTRACT

An investigation was made on improvements in restraint systems and in the technique of electroejaculation in guinea pigs, with emphasis given to safety, effectiveness and repetition. Arrangements for simultaneous testicular irradiation with  $^{60}\text{Co}$  in 5 animals and a phantom to test dose levels in the target region and scattering were also made. Effects of single and fractionated exposures on sperm volume, motility, concentration and percentage of abnormalities were studied. A collimated point-shaped  $^{60}\text{Co}$ -machine calibrated to 7 R/min was used as radiation source.

Groups of five 12 months aged male guinea pigs were exposed to either single testicular irradiation of 50, 100, 200 and 400 R or fractionated weekly testicular irradiation of 2, 5, 10 and 20 R, during 10 weeks. A last group was exposed to 4 fractionated testicular irradiations of 20 R at time intervals of 21 days and a group of 8 animals was used as control.

Semen samples evaluations were made during 5 weeks before irradiation and in the subsequent 11 weeks. Sperm morphology was examined by counting 200 cells in each of 591 smears, stained by William's method and in 591 formol saline preparations under phase contrast microscopy. These 236, 400 data are presented individually in various tables and figures. Mean percentages of semen normal spermatozoons and spermatoc abnormalities are shown in figures and photomicrographs.

The results in general showed marked differences on concentration, sperm motility and sperm abnormalities, but not on volume, in favour of 100 and 200 R single doses levels, as compared to fractionated 10 and 20 R.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

1. ALBERS-SCHÖENBERG, H. E. Über eine bisher unbekannte Wirkung der Röntgenstrahlen auf den Organismus. *Münch. Med. Wochenschr.*, 50:1859, 1903 apud BLOOM, W. *Histopathology of irradiation from external and internal sources*. 5 ed. New York, McGraw-Hill, 1948, p.550-7.
2. BAPAT, V. N.; GORDON, A. M. P. L.; SANTOS, E. N.; GOMES, L.; CAMPOS, L. L.; PRADO, L.; FERREIRA, M. M.; MORATO, S. P. Development of a solid state dosimeter based on polycrystalline pellets of  $\text{CaSO}_4:\text{Dy}$  and KCl. In: V Interamerican Conference on Materials Technology, November 6-10, 1978. São Paulo, Brasil, p.27.
3. BARNABE, V. H. *Irradiação de coelhos -- *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758). Efeitos sobre a morfologia espermática*. São Paulo, 1975. (Tese de doutoramento – Universidade de São Paulo – Instituto de Biociências).
4. BATELLI, F. Une méthode pour obtenir l'émission complète du liquid des visicules séminales chez le cobaye. *C. R. Soc. de Physique et d'Hist. Nat. de Genève*, 39:73-4, 1922.
5. BLOM, E. Interpretation of spermatoc cytology in bulls. *Fertil. Steril.*, 1(3):223-38, 1950.
6. BRUCE, W. R.; FURRER, R.; WYROBEK, A. J. Abnormalities in the shape of murine sperm after acute testicular X-irradiation. *Mutat. Res.*, 23:381-6, 1974.
7. CASARETT, G. W. Long-term effects of irradiation on sperm production of dogs. In: CARLSON, W. D. & GASSNER, F. X., editores. *Effects of ionizing radiation on the reproductive system: proceedings of a international symposium held at Colorado State University, Fort Collins, Colorado*. New York, N. Y. Pergamon, 1964. p.137-46.
8. CASARETT, G. W. & HURSH, J. B. Effects of daily low doses of X-rays on spermatogenesis in dogs. *Radiat. Res.*, 5:473, 1956.

(\*) As referências bibliográficas relativas a documentos localizados pelo IPEN foram revistas e enquadradas na NB-66 da ABNT.

9. CLELAND, K. W. The spermatogenic cycle of the guinea pig. *Aust. J. Sci. Res. B.*, 4(3):344-69, 1951.
10. CLERMONT, Y. Cycle of the seminiferous epithelium of the guinea pig. *Fertil. Steril.*, 11(6):563-73, 1960.
11. CLERMONT, Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol. Rev.*, 52(1):198-236, 1972.
12. CLERMONT, Y. & LEBLOND, C. P. Renewal of spermatogonia in the rat. *Am. J. Anat.*, 93:475-502, 1953.
13. CLERMONT, Y. & PEREY, B. Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubule in immature rats. *Am. J. Anat.*, 100:241-69, 1957.
14. COOPER, G. & SCHILLER, A. L. *Anatomy of guinea pig*. Cambridge, Mass., Harvard University, 1975.
15. COX, D. F. & WILLHAM, R. L. Influences on the patterns of sperm production in swine following X-irradiation. *J. Exptl. Zool.*, 146:5-10, 1961.
16. CURTIS, G. M. The morphology of the mammalian seminiferous tubule. *Am. J. Anat.*, 24:339-94, 1918 apud LEBLOND, C. P. & CLERMONT, Y. Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the "Periodic Acid-Fuchsin Sulfurous Acid" Technique. *Am. J. Anat.*, 90(2):167-215, 1952.
17. DALZIEL, C. F. & PHILLIPS, C. L. Electric ejaculation. Determination of optimum electric shock to produce ejaculation in chinchillas and guinea pigs. *Am. J. Vet. Res.*, 9(31):225-32, 1948.
18. DOTT, H. M. & FOSTER, G. C. Preservation of differential staining of spermatozoa by formol citrate. *J. Reprod. Fert.*, 45:57-60, 1975.
19. DOTT, H. M.; MOOR, R. M.; POLGE, C. Artificial insemination with spermatozoa in formaldehyde. *J. Reprod. Fert.*, 46:277, 1976.
20. DURFEE, T.; LERNER, M. W.; KAPLAN, N. The artificial production of seminal ejaculation. *Anat. Rec.*, 76:65-8, 1940.
21. ESCHENBRENNER, A. B. & MILLER, E. Effects of long-continued total body gamma irradiation on mice, guinea-pigs, and rabbits. V. Pathological observations. In: ZIRKLE, R. E., editor. *Biological effects of external X and gamma-radiation*, V.1. New York, N. Y., McGraw-Hill, 1954. p.169-225.
22. ESTON, T. E. *Estudo comparativo dos efeitos da irradiação de corpo total sobre o esperma, o sangue circulante e a medula óssea de coelhos*. São Paulo, 1974. (Tese de Livre Docência – Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina).
23. FAWCETT, D. The anatomy of the mammalian spermatozoon with particular reference to the guinea pig. *Z. Zellforsch.*, 67:279-96, 1965.
24. FAWCETT, D. W. & HOLLENBERG, R. D. Changes in the acrosome of guinea pig spermatozoa during passage through the epididymis. *Z. Zellforsch.*, 60:276-92, 1963.
25. FREUND, M. Collection and liquefaction of guinea pig semen. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 98:538-40, 1958.

26. FREUND, M. Initiation and development of semen production in the guinea pig. *Fertil. Steril.*, 13(2):190-201, 1962.
27. FREUND, M. Interrelationships among the characteristics of the human semen and factors effecting semen-specimen quality. *J. Reprod. Fert.*, 4:143, 1962.
28. FREUND, M. Interrelationships among the characteristics of guinea-pig semen collected by electro-ejaculation. *J. Reprod. Fert.*, 19:393-403, 1969.
29. FREUND, M. & BORRELLI, F. J. Effect of X-irradiation of the whole body, of body with testis shielded and of the testis with body shielded, on semen production in the guinea pig. *J. Reprod. Fert.*, 2:515-17, 1961.
30. FREUND, M. & BORRELLI, F. J. The effects of X-irradiation on male fertility in the guinea pig. Effect of 75, 150 and 300 roentgens of whole-body X-irradiation on semen production. *Radiat. Res.*, 22:404-13, 1964.
31. FREUND, M. & BORRELLI, F. J. The effects of X-irradiation on male fertility in the guinea pig. Semen production after X-irradiation of the testis, of the body, or of the head. *Radiat. Res.*, 24:67-80, 1965.
32. GILLETTE, E. L.; HOPWOOD, M. L.; CARLSON, W. D.; GASSNER, F. X. The effect of testicular X-irradiation on bull semen. In: CARLSON, W. D.; GASSNER, F. X., editores. *Effects of ionizing radiation on the reproductive system: proceedings of an international symposium held at Colorado State University, Fort Collins, Colorado*. New York, N. Y., Pergamon, 1964. p.267-77.
33. GOMORI, G. Preparation of buffers for use in enzyme studies. In: COLOWICK, S. P. & KAPLAN, N. O., editores. *Methods in enzymology*, V.2. New York, N. Y., Academic, 1955. p.143.
34. GOTTERER, G. S.; GINSBURG, D.; SCHEELMAN, T.; BANKS, J.; WILLIAMS-ASHMAN, H. G. Enzymatic coagulation of semen. *Nature (London)*, 176:1209-11, 1955.
35. GUNN, R. M. C. Fertility in sheep, artificial production of seminal ejaculation and the characters of the spermatozoa contained therein. *Council for Scientific and Indust. Res. (Australia)*, Bull. 94, 1936. Apud DALZIEL C. F. & PHILLIPS, C. L. Electric ejaculation. Determination of optimum electric shock to produce ejaculation in chinchillas and guinea pigs. *Am. J. Vet. Res.*, 9(31) 225-32, 1948.
36. HARASYMOWYCZ, J.; BALL, L.; SEIDEL, JR., G. E. Evaluation of bovine spermatozoal morphologic features after staining or fixation. *Am. J. Vet. Res.*, 37(9):1053-7, 1976.
37. HELLER, M. The testis. In: BLOOM, W. *Histopathology of irradiation from external and internal sources*. 5ed. New York, N. Y., McGraw-Hill, 1948. p.522-57.
38. JANNINI, P. *Interpretação clínica do hemograma*. 4.ed. São Paulo, Universidade de Campinas, 1961, p.50.
39. KOHN, H. J. On the direct and indirect effects of X-rays on the testis of the rat. *Radiat. Res.*, 3:153-6, 1955.
40. KUNITZ, M. Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General Properties. *J. Gen. Physiol.*, 30(4):291-310, 1947.
41. LACASSAGNE, A & GRICOUROFF, G. *Actions des radiations sur les tissus*. Paris, Masson, 1941. Apud BLOOM, W. *Histopathology of irradiation from external and internal sources*. 5ed New York, N. Y., McGraw Hill, 1948. p.550-7.

42. LAGERLÖF, N. Morphologische Untersuchungen über Veränderungen in Spermabild und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilität. *Acta path. microbiol. Scandinav., Suppl.*, 19, 1934.
43. LANE-PETTER, W. & PORTER, G. Guinea-pigs. In: LANE-PETTER, W., editor *Animals for research. Principles of breeding and management*. London, Academic, 1963, p.313.
44. LAURENCE, K. A. & CARPUK, O. The counting and sizing of guinea pig spermatozoa. *Fertil Steril.*, 14(4):451-5, 1963.
45. LAWSON, R. L.; KRISE, G. M.; BROWN, S. O. Effects of single, continuous, and fractionated gamma irradiation on semen quality in albino rats. *Radiat. Res.*, 31:273-86, 1967.
46. LEBLOND, C. P. & CLERMONT, Y. Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the "periodic acid fuchsin sulfurous acid" technique. *Amer. J. Anat.*, 90(2):167-215, 1952.
47. LEONARD, A. Effects des radiations sur les gonades. In: ESTON, T. E. & ESTON, V. R., editores *Efeitos biológicos das radiações. Seminário Internacional*. São Paulo, Centro de Medicina Nuclear, 1970. p.37-109.
48. LUSHBAUGH, C. C. & CASARETT, G. W. The effects of gonadal irradiation in clinical radiation therapy: a review. *Cancer*, 37:1111-20, 1976.
49. LYON, M. F. X-ray-induced dominant lethal mutations in male guinea pigs, hamsters and rabbits. *Mutat. Res.*, 10:133-40, 1970.
50. MACLEOD, J.; HOTCHKISS, R. S.; SITTERSON, B. W. Recovery of male fertility after sterilization by nuclear radiation. *J. Amer. Med. Ass.*, 187:637-41, 1964.
51. MARTAN, J. & SHEPHERD, B. A. Spermatozoa in rouleaux in the female guinea pig genital tract. *Anat. Rec.*, 175:625-30, 1973.
52. MIES, F. A. *Reprodução dos animais e inseminação artificial, V.1*. 3.ed. Porto Alegre, Sulina, 1975. p.114.
53. MIES, F. A. *Reprodução dos animais e inseminação artificial, V.2*. 3.ed. Porto Alegre, Sulina, 1975. p.431.
54. MILLS, E. E. D. Gonadal irradiation. *S. Afr. Med. J.*, 48:543-5, 1974.
55. MOORE, C. R. & GALLAGHER, T. F. Seminal vesicle and prostate function as a testis-hormone indicator: the electric ejaculation test. *Am. J. Anat.*, 45:39-69, 1930.
56. MURPHREE, R. L. & PARISH, N. R. Effects of whole body radiation on semen characteristics in bulls. *J. Anim. Sci.*, 15:1300, 1956.
57. NICANDER, L. & BANE, A. Fine structure of the sperm head in some mammals, with particular reference to the acrosome and the subacrosomal substance. *Z. Zellforsch.*, 72:496-515, 1966.
58. NOLLER, D. W.; HOWARDS, S. S.; FLICKINGER, C. J. Duration of the seminiferous epithelial cycle in the mature guinea pig: influence of unilateral orchiectomy. *Fertil. Steril.*, 26(9):998-1002, 1977.
59. OAKBERG, E. F. Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium. *Am. J. Anat.*, 99:507-16, 1956.

60. OAKBERG, E. F. & CLARK, E. Species comparisons of radiation response of the gonads. In: CARLSON, W. D. & GASSNER, F. X., editores. *Effects of ionizing radiation on the reproductive system: proceedings of an international symposium held at Colorado State University, Fort Collins, Colorado*. New York, N. Y., Pergamon, 1964. p.11-24.
61. OAKBERG, E. F. & DiMINNO, R. L. X-ray sensitivity of primary spermatocytes of the mouse. *Int. J. Rad. Biol.*, 2(2):196-209, 1960.
62. PACE, H. B.; MURPHREE, R. L.; HUPP, E. W. Effects of total body irradiation on semen production of boars. *J. Anim. Sci.*, 18:1554, 1959.
63. PLATNIKOVA, E. D.; STRASHNENKO, S. I.; SHAPIRO, N. I. The genetic radiation sensitivity of guinea-pigs. *Radiobiologiya*, 2:481-4, 1962.
64. POPESCU, H. I. & LANCRANJAN, I. Spermatogenesis alterations during protracted irradiation in man. *Health Phys.*, 28:567-73, 1975.
65. RAO, A. R. *Changes in the morphology of sperm during their passage through the genital tract in bulls with normal and impaired spermatogenesis.*, Stockholm, 1971, (Thesis – Royal Veterinary College Stockholm).
66. RIGAUDIÈRE, N. Evolution des sécrétions androgènes chez le cobaye mâle adulte du 3<sup>e</sup> au 24<sup>e</sup> mois de la vie. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 167(6):968-72, 1973.
67. RIGAUDIÈRE, N.; PELARDY, G.; ROBERT, A.; DELOST, P. Changes in the concentrations of testosterone and androstenedione in the plasma and testis of the guinea pig from birth to death. *J. Reprod. Fert.*, 48:291-300, 1976.
68. ROCHA, A. F. G. *Medicina Nuclear*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1976. p.87.
69. ROOSEN-RUNGE, E. C. The process of spermatogenesis in mammals. *Biol. Rev.*, 37:343-77. 1962.
70. ROWLEY, M. J.; LEACH, D. L.; WARNER, G. A.; HELLER, C. G. Effect of graded doses of ionizing radiation on the human testis. *Radiat. Res.*, 59:665-78, 1974.
71. RUDNICKI, T. & KOCHMANSKA-TWARDOWSKA, A. Biological ionizing radiation effects on gonads. Part 5: Early and late effects in seminiferous epithelium in mice after fractionated irradiation with 100 rads. *Nucleonika*, 20(5):491-8, 1975 apud *INIS – Atomindex*, 9(11):376108, 1978.
72. RUDNICKI, T. & TROJCZUK, D. Biological ionizing radiation effects on gonads. Part 3: Spermatogenesis in mice after fractionated irradiation with 200 and 400 rad of X-ray. *Nucleonika*, 19(10):933-9, 1974 apud *INIS – Atomindex*, 8(10):306214, 1977.
73. RUGH, R. & SKAREDOFF, L. The immediate and delayed effects of 1000 R X-rays on the rodent testis. *Fertil Steril.*, 22(2):73-82, 1971.
74. SAYLES, E. D. Postnatal development of reproductive system in male guinea pigs and its relation to testis hormone secretion. *Physiol. Zool.*, 12:256, 1939.
75. SCOTT, J. V. & DZIUK, P. J. Evaluation of the electroejaculation technique and the spermatozoa thus obtained from rats, mice and guinea pigs. *Anat. Rec.*, 133(4):655-64, 1959.
76. SEARLE, A. G. & BEECHEY, C. V. Sperm count, egg-fertilization and dominant lethality after X-irradiation of mice. *Mutat. Res.*, 22:63-72, 1974.

77. SHAPIRO, N. I.; PLATNIKOVA, E. D.; STRASHNENKO, S. I. SUSLIKOV, V. I. Relative genetic radiosensitivity of various species of mammals. *Radiobiologiya*, 1:93, 1961.
78. SHAVER, S. L. X-irradiation injury and repair in the germinal epithelium of male rats. *Am. J. Anat.*, 92:391-432, 1953.
79. SHEPHERD, B. A.; MARTAN, J.; MURPHY, R. In vitro studies of guinea pig spermatozoa in rouleaux. *Biol. Reprod.*, 11:470-4, 1974.
80. SHERIDAN, W. The effects of the time interval in fractionated X-ray treatment of mouse spermatogonia. *Mutat. Res.*, 13:163-9, 1971.
81. SPEYER, J. F. Semen coagulase, a new enzyme. *Fedn. Proc. Fedn. Am. Socs. exp. Biol.*, 18:150, 1959.
82. 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. *Biol. Bull.*, 37:222-45, 1919 apud MARTAN, J. & SHEPHERD, B. A. The role of the copulatory plug in reproduction of the guinea pig. *J. Exp. Zool.*, 196:79-84, 1976.
83. SUMAR, J.; NOVOA, C.; FRANCO, E. Contribución al conocimiento de la vida reproductiva de los roedores peruano. *Boletín del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA), (Lima, Peru)*, 3:255-9, 1968. (Boletim Extraordinário).
84. TIMBERLAKE, N. G. *Recovery of spermatogonia in rat testis after depletion by single and fractioned X-ray exposures*. New York, N. Y., Rochester Univ., Dept. of Radiation Biology and Biophysics, 1973. (Thesis), (UR-3055-7) apud *Nucl. Sci. Abstracts*, 28:15736, 1973.
85. TOLLE, D. V.; LADOVE, R. F.; NORRIS, W. P. *Response of the beagle dog to protracted exposure to <sup>60</sup>Co gamma-rays at 5 to 35 R/day. IV. Effects on spermatogenesis*. Argonne, Ill., Argonne National Lab., 1972. p. 199-200. (ANL-7970).
86. WALKER, G. A. A special function discovered in a glandular structure hitherto supposed to form a part of the prostate gland in rats and guinea-pigs. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 21:182, 1910 apud HART, R. G. & GREENSTEIN, J. S. A newly discovered role for cowper's gland secretion in rodent semen coagulation. *J. Reprod. Fert.*, 17:87-94, 1968.
87. WARREN, S. Effects of radiation on normal tissues. *Arch Path.*, 34-35, 1942/3 apud BLOOM, W. *Histopathology of irradiation from external and internal sources*. 5.ed. New York, N. Y., McGraw-Hill, 1948. p.550-7.
88. WARREN, S. L. The physiological effects of radium upon organ and body systems. In: DUGGAR, B. M. *Biological effects of radiation. V.1*. New York, N. Y., McGraw-Hill, 1936. p.473 apud BLOOM, W. *Histopathology of irradiation from external and internal sources*. 5.ed. New York, N. Y., McGraw-Hill, 1948. p.550-7.
89. WILLHAM, R. L. & COX, D. F. Sperm production in swine after exposure to X-irradiation. *Radiat. Res.*, 14:223-9, 1961.
90. WILLIAMS, W. W. Technique of collecting semen for laboratory examination with a review of several diseased bulls. *Cornell. Vet.*, 10:87-94, 1920.



**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
Caixa Postal, 11 049 – Pinheiros  
CEP 05508  
01000 – São Paulo – SP

Telefone: 211-6011  
Endereço Telegráfico – IPENUCLEAR  
Telex – (011) 23592 - IPEN - BR