

Estudos anatômicos e histológicos sôbre a subfamília *Triatominae* (Heteroptera, *Reduviidae*)*

V parte: Anatomia do testículo e espermiocitogênese do *Triatoma infestans*

Rudolf Barth

Instituto Oswaldo Cruz

(Com 113 figuras e 14 estampas)

1. Introdução
2. Anatomia geral do aparelho reprodutor
3. Microanatomia do testículo
4. Espermiocitogênese
 - a) Espermiogônios
 - b) Espermiócitos
 - c) Prespermídeos
5. Resumo
6. Bibliografia
7. Abreviaturas nas figuras
8. Legendas das figuras

1. INTRODUÇÃO

Estudando a espermiogênese dos *Triatominae*, verificou-se uma ausência completa de trabalhos sôbre os pormenores da estrutura dos órgãos sexuais internos dos machos desta subfamília dos *Reduviidae*, tão importante na medicina humana. Também falta um estudo aprofundado da espermiogênese, bem como um resumo dos nossos conhecimentos atuais sôbre a evolução dos espermios, fato êste já indicado por SCHREIBER e PELLEGRINO (1948). No trabalho dêsses autores, bem como numa outra publicação dos mesmos (1950), são tratados, entre outros assuntos, a heteroplicnose nas células reprodutoras masculinas de vários *Triatominae*. Chegaram à conclusão de que os *Triatoma infestans* e *platensis* possuem três pares de cromosomas nitidamente heteroplicnóticos, bem se diferenciando êstes dos outros autosomas. Por outro

* Recebido para publicação a 1 de Outubro de 1955.

lado, há espécies da mesma subfamília notadas menos acentuadamente quanto a tal característica. O comportamento alocíclico de três autosomas, em *Triatoma infestans* mostra-se de grande vantagem na realização do presente estudo. Além disso, de acordo com a literatura consultada, verifiquei que, quanto aos *Triatominae*, não existe uma descrição satisfatória nem dos órgãos sexuais masculinos internos, em si, nem da anatomia dos mesmos. Comparando os dados da bibliografia com o material em trabalho cheguei à conclusão de que é impossível uma generalização nos resultados, pois, dadas as discrepâncias observadas, de uma espécie não devem ser tiradas conclusões gerais nem para o próprio gênero e, muito menos, para a família, pois isto sempre levará a enganos. Considerando este perigo, resultou a necessidade de estudo mais amplo das estruturas anatômica e histológica destes órgãos, como também, da espermiogênese. Tendo à disposição bastante material de *Triatoma infestans*, escolhi a espécie para elaborar uma base que permitisse a posterior comparação com as outras espécies da subfamília (sempre que apresentassem algum interesse médico), bem como possibilitasse descrição complementar dos mesmos. Antes da apresentação dos resultados do presente trabalho, torna-se necessária uma uniformização da terminologia:

Segundo DEPDOLLA (1928), será usada em seguida, na descrição da espermiogênese, a terminologia adotada por VON LENHOSSEK (1906): em vez de espermatogônios, usaremos espermiogônios; em vez de espermatócitos da primeira ordem, somente espermiócitos; no lugar de espermatócitos da segunda ordem, somente prespermídeos; em vez de espermatídeos, apenas espermiídeos e, substituindo o termo espermatozóides, teremos espermios. Disto resulta, em vez de espermatogênese, espermiogênese; em troca de espermatocitogênese e espermatohistogênese, espermiocitogênese e espermiohistogênese. Na extremidade de cada folículo do testículo, encontra-se uma célula isolada, muitas vezes chamada "célula de Verson", e que já foi descrita, em 1886, por SPICHARDT, razão pela qual deveria ser denominada "célula de Spichardt", fato já mencionado por CHOŁODKOWSKY (1905). Esta célula, segundo GRUENBERG (1903), será chamada aqui de "célula apical". Não se pode falar em epidídimis, pois o *vas deferens*, no ponto da passagem para a periferia do testículo, dirige-se diretamente para trás, descrevendo apenas poucas curvas. Originando-se todos os espermiogônios de cada cisto de um único espermiogônio primário (veja em baixo), os cistos serão denominados de acordo com o número dos espermiogônios; assim, por exemplo, um cito-2^o deverá conter 2 espermiogônios.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados exclusivamente adultos de *Triatoma infestans*, pois a espermiogênese em *Heteroptera* continua também no estágio adulto, não terminando no período larval como, por exemplo, em *Lepidoptera*. As técnicas empregadas são as usuais da histologia e microanatomia. Os líquidos fixadores foram escolhidos com as finalidades das observa-

ções que se tinham em vista: para trabalhos microanatômicos, Bouin-Duboscq-Brasil, Carnoy com sublimado (segundo WEBER: para cada 100 cm³ de álcool absoluto usado na composição, adicionava-se 1 g de sublimado) e Gilson; para observações histológicas Flemming, Champy, Helly e Da Fano. Mostrou-se como era vantajosa uma fixação segundo Flemming, sem ácido acético (0,5 g O₅O₄ dissolvido em 118,7 cm³ de ácido crômico a 1%, em água bidestilada, solução que se mantém bem estável, quando na geladeira e em vidro bem fechado e sem impurezas). Esta fixação é também indicada para os mitocôndrios. De acôrdo com as observações feitas, ficou provado, aparentemente, que os resultados são melhores quando se evita o emprêgo de ácido acético em pesquisas citológicas nas quais se deseja exata manutenção da disposição natural, bem como do tamanho dos constituintes do núcleo e das formações protoplasmáticas, pois, pela embebição intensa, provocada por êste ácido, ocorrem grandes modificações das mesmas. Já se precisa ter semelhante cuidado em preparados por esmagamento ou em esfregaços, pois apresentam grandes modificações mecânicas resultantes das manobras a que são submetidos. Os últimos dois métodos foram usados, neste trabalho, somente em poucos casos, servindo apenas para orientação geral. Também o método simples, com ácido acético-carmim, o preferido na genética, não foi empregado a fim de se evitarem artefatos. Obtivemos preparações satisfatórias nos folículos inteiros do testículo, com o fim de localizar as diferentes zonas germinativas, por fixação segundo CARNOY (sem sublimado, durante 20 minutos) e coloração subsequente por hematoxilina de Delafield (progressiva) ou com *Kernechtrot* (nuclear fast red) ou com galamina. Os melhores resultados para a coloração de cortes deu sempre a hematoxilina férrica, segundo HEIDENHAIN; outras colorações (hematoxilas, *Kernechtrot* e outros corantes sintéticos) serviram apenas para o contrôle.

2. ANATOMIA GERAL DO APARELHO REPRODUTOR

Para a análise da estrutura do testículo de *Triatoma infestans*, temos que nos referir aos resultados obtidos em trabalhos embriológicos. Não existe uma observação particular sôbre a embriogênese dos *Triatominae*, como também ainda não foram tratados embriologicamente os *Reduviidae*. Pode aceitar-se que os fundamentos da evolução embrionária dos *Heteroptera*, especialmente a evolução das células germinativas primitivas e o processo da diferenciação definitiva das gônadas, se verificam em sentido idêntico ao descrito por outras ordens de insetos. Destacam-se neste particular os idênticos autores: HEYMONS (1897, 1899), CHOLODKOWSKY (1888, 1889), BOVERI (1892), WHEELER (1890, 1893), GRABER (1891), TANNREUTHER (1907), HIRSCHLER (1928) (para uma bibliografia mais ampla, especialmente quanto à mais antiga, veja em SCHROEDER, 1928, vol. 1, págs. 819-824). Mesmo levando-se em consideração o perigo que acarretam as falsas conclusões, tiradas pelas generalizações, verificamos pelo exame dos numerosos trabalhos sôbre a evolução das gônadas que alguns resultados sempre se repetem nos di-

versos grupos dos insetos, como se obedecessem a um plano de evolução uniforme e pré-traçado: Antes do fechamento das ectoderma e endoderma, em tórno do vitelino do ovo, o que se faz por um crescimento lateral, no sentido vertical, as células germinativas primitivas, já isoladas do material somático durante os primeiros estádios da clivagem, deslocam-se para a frente e entram em contacto com as listras gonadogêneas. A origem destas últimas é mesodermal. Elas se apresentam sob a forma de delicadas fileiras celulares no splancnopleura, indo ter, aos lados dos cardioblastos, ao mixocélio do embrião. Com o crescimento dos bordos laterais da placa embrional, circundando o vitelino, também as duas listras gonadogêneas vão ser translocadas em direção ao lado dorsal. Enquanto os cardioblastos se reúnem, formando o vaso dorsal, as listras gonadogêneas permanecem separadas pelo mesmo mas se mantêm sempre numa posição absolutamente dorsal. As células germinativas primitivas, mais cedo ou mais tarde, entram na parte ventral da listra gonadogênea, dilatando as células da mesma e formando, finalmente, um conglomerado compacto e isolado, envolvido por uma camada epitelial que se origina das células da própria listra gonadogênea. Citando HIRSCHLER (SCHROEDER, vol. I, pág. 806), cujas asserções claras são aqui transcritas resumidamente, podemos dizer: “em virtude da parte da listra gonadogênea dilatada em forma de clava, temos que a considerar como uma gônada nova, composta de duas formas celulares: as células sexuais, numa posição central, e as do revestimento externo mesodermal que formam o epitélio da glândula sexual” (Tradução). O ponto de entrada das células germinativas primitivas varia nas ordens observadas. HEYMONS, por exemplo, encontrou em *Forficula* as citadas células, penetrando nos somitos do nono ao oitavo segmentos abdominais, formando-se, nesta região, a gônada. Em *Gryllus*, as células acumulam-se no segundo e terceiro segmentos abdominais, em *Periplaneta*, ao contrário, do segundo ao sétimo segmentos. Teremos que verificar como estes fatos se passam embriologicamente em *Triatoma infestans*. A parte dorsal da listra gonadogênea, situada em frente da gônada que se prolonga, atravessando o tórax até o pescoço, forma o fio suspensor desta (“*Endfadenplatte*” segundo HEYMONS) (est. 1 fig. 1, EF). No adulto de *Triatoma*, o fio insere-se com sua extremidade no bordo dorsal da abertura proximal do protórax. A parte dorsal da listra, nos segmentos em que as gônadas se formam, transforma-se, dando origem ao *vas deferens* (respectivamente oviduto) que, como tal, continua nas partes correspondentes naquelas secções do corpo que seguem aos segmentos providos de gônadas, de modo que os canais condutores vão prolongando-se para trás. Estes, cada qual com a sua extremidade, entram mais tarde em contacto com uma invaginação ímpar e ectodermal que — no caso do macho — forma o *ductus ejaculatorius*.

As células germinativas primárias não se acumulam para formar um conglomerado compacto mas, ao contrário, se introduzem em canais formados por invaginações laterais da parede da listra gonadogênea para o interior da mesma. Estes tubos representam os folículos. Em formas primitivas (segundo HEYMONS no embrião de *Lepisma*) os

folículos encontram-se distribuídos nos segmentos. Com a evolução, a distância entre eles diminui “de modo que a distribuição regular dos mesmos, em pares por cada segmento do corpo, torna-se difusa” (HEYMONS, tradução). Nos insetos mais adiantados, não se pode mais observar a seqüência segmentada dos folículos do testículo, nem mesmo no embrião. O número deles, ao que tudo indica, é constante para cada espécie. Em *Triatoma infestans*, em todos os exemplares examinados, foram encontrados 7 folículos. As medidas dos folículos oscilam individualmente e de acôrdo com a idade. Existem também diferenças consideráveis entre os 7 folículos de um só testículo.

Antes de examinar o conteúdo do folículo, necessária se torna uma revisão geral da anatomia do aparelho reprodutor interno, pois encontramos algumas discordâncias nos resultados já publicados quanto aos *Heteroptera*. No corpo fortemente achatado, de *Triatoma infestans*, o testículo localiza-se do segundo ao quinto segmentos, quase nos bordos laterais do abdômen, em baixo do diafragma, dentro do *sinus perivisceralis*. Ele é fixado na sua posição por meio de ramificações das traquéias do segundo ao quinto segmentos. Já durante a dissecação, nota-se a forte ramificação destes troncos traqueiais por sobre a parede da gônada, indicando intensa atividade fisiológica deste órgão. Os ramos traqueiais espalham-se sobre uma membrana (cápsula testicular) que envolve o conjunto dos 7 tubos testiculares bem como o *vas deferens* na porção constituída pelos 7 *vasa efferentia* curtos (est. 2, fig. 2 VE). O *vas deferens* é a prolongação do primeiro *vas efferens* (VE₁) que pertence ao folículo de situação mais proximal, passa em linha reta sobre o lado interno do testículo que fica voltado para o intestino e recebe equidistantemente os outros vasos. Depois da reunião com o VE₇, o *vas deferens* passa através da membrana envoltória do testículo, enquanto que, por sua outra extremidade, os *vasa efferentia* se ligam aos folículos que, entrelaçando-se intensamente, formam alças e circunvoluções irregulares que preenchem todo o interior da gônada. Pode observar-se que cada folículo ocupa um espaço próprio, podendo, entretanto, esta localização variar de um exemplar para outro. O contorno do testículo é irregular, deixando reconhecer porém uma forma aproximadamente elipsóide, cujo eixo maior está situado paralelamente ao eixo principal do corpo (fig. 1). Nesta espécie de *Triatominae* não se observa uma coloração da cápsula testicular como a que foi descrita para muitas espécies de *Heteroptera* (em geral encontrada nas formas fitófagas). Os testículos são sempre claros e opacos, com ligeiro brilho vítreo e de tonalidade esbranquiçada. O mesmo se observa nas espécies próximas: *Triatoma sordida*, *maculata*, *vitticeps*, *Panstrongylus megistus* e *Rhodnius prolixus* e *neglectus* e, provavelmente, poderá ocorrer, em linhas gerais, em tôdas as espécies deste grupo dos *Reduviidae*. O tamanho do testículo sofre grandes oscilações individuais, variando com a idade, o estado de alimentação e a fase de atividade sexual.

Na fase visceral nasce, aproximadamente no meio do testículo, o *vas deferens* (fig. 1 VD). Pouco retorcido na parte inicial, ele torna-se para trás aproximadamente na altura da extremidade do testículo, co-

meça logo a formar alças estreitas e, ainda mais para trás, um novêlo irregular e frouxo. O seu diâmetro inicial é pequeno (est. 2, fig. 2 e est. III, figs. 3, 4, VD) . Logo depois a sua luz aumenta até ao nível do novêlo citado, onde novamente diminui até atingir novamente o diâmetro inicial. Este aumento ou dilatação é a *vesícula seminalis* em que são armazenados os feixes de espermios que saem dos folículos do testículo (est. 1, fig. 1 e est. 3, 5, VS) . Não tem contôrno regular esta expansão, possui numerosas dilatações formadas em consequência do acúmulo accidental do feixes de espermios. O *vas deferens* sai das alças enoveladas e estreitas, situadas no sexto e sétimo segmentos abdominais, formando um tubo fino, e se abre no aparelho copulador constituído de partes do oitavo e nono segmentos (est. 1, fig. 1, CAP). A direção do percurso das alças está indicada por setas na figura 1 (est. 1).

Ao lado dêste sistema, formado pelas porções espermiogênea e condutora, existe ainda um segundo conjunto de órgãos compostos pelas glândulas acessórias e pelo aparelho excretor das mesmas. Segundo as observações histológicas feitas, e que serão publicadas em breve, estas glândulas e o seu aparelho excretor têm uma origem mesodermal e, por isto, serão chamados, segundo ESCHERICH (189), de mesodênias. Encontram-se, em cada lado do corpo, 4 destas glândulas (est. 1, fig. 1, MI-IV), tôdas em forma de vesículas simples (est. 3, fig. 6), o que quer dizer que cada uma delas consta de um epitélio granular unicelular, incluindo uma cavidade grande para onde as células conduzem a sua secreção e que é eliminada por meio de um canal excretor. As glândulas situam-se de modo tal, que tôdas as suas extremidades, nas quais se encontram os canais excretores próprios, se justapõem num só ponto, circundando assim o hilo no qual os 4 canais próprios se reúnem, formando o canal excretor comum (*ductus glandularum*) (est. 3, figs. 7 e 8). Este hilo, em geral, encontra-se na altura do limite entre o quinto e sexto segmentos, um pouco para trás da extremidade distal do testículo (est. 1, fig. 1, HI). Daqui parte uma glândula (fig. 1, M₁) que se dirige para adiante. Ela é comprida, inicialmente larga, afinando-se lenta porém uniformemente, em direção ao ápice. Situa-se do lado visceral do testículo, sempre ventralmente do *vas deferens*, respectivamente da *vesícula seminalis*. A sua extremidade, arqueada em direção ao testículo, acosta-se firmemente ao *vas deferens*, chegando, nesta posição, até ao testículo. Ela é chamada de “glândula anterior”.

Uma outra glândula (fig. 1, M₁) nasce ao lado externo do hilo, dirigindo-se logo para trás. Inicialmente ela é larga, tornando-se, entretanto, após a sua metade, fina e tubiforme. Com esta forma, ela passa para o interior do corpo e penetra no enleamento do *vas deferens*. Ela vai ser denominada “glândula tubiforme”.

A terceira glândula (fig. 1, M₃) origina-se daquele lado do hilo que está voltado para o interior do corpo, dirigindo-se também para trás. É curta, chegando apenas à metade da glândula tubiforme; tem a extremidade simplesmente cônica. É a chamada “glândula interna”.

A quarta glândula (fig. 1, M₄) parte do lado dorsal do hilo. Tem a mesma forma e o tamanho da glândula interna, sendo chamada de "glândula dorsal".

No lado posterior do hilo se forma o canal excretor de tôdas as quatro glândulas (na fig. 1, em prêto), o denominado *ductus glandularis communis*. Ele passa entre as três mesadênias posteriores, dirigindo-se para trás e, depois penetrando entre as circunvoluções do *vas deferens* onde forma um ou dois laços. Ao nível do fim do corpo, êle corre paralelamente ao *vas deferens* e, já no interior do aparelho copulador, se abre no *ductus ejaculatorius*.

Na primeira parte do trabalho apresentado serão analisadas a estrutura mais delicada do testículo e a espermocitogênese, enquanto que a espermocitogênese e a estrutura do aparelho condutor serão tratadas na segunda parte.

3. MICROANATOMIA DO TESTÍCULO

Os 7 folículos do testículo, enleados na formação de um conjunto irregular, são recobertos por duas camadas celulares. Êste envoltório, nunca pigmentado, será denominado "cápsula testicular". Destas duas camadas, intimamente justapostas, a interna representa um verdadeiro epitélio sincicial, com núcleos ovais de distribuição relativamente uniforme (N₁); suas células (est. 1, fig. 9, IH) provàvelmente corespondem às mesodérmicas da lista gonadogênea. GRUENBERG (1903) menciona a mesma formação para o testículo da lagarta de *Pieris brassicae*. Não pode ser divisada aqui nenhuma membrana, como a que é secretada, pela camada interna para o interior da gônada, em certos lepidópteros (*Huellmembran* segundo GRUENBERG em embriões de *Bombyx mori*). A camada externa da cápsula testicular (est. 1, fig. 9, AH) possui uma estrutura completamente diferente: é composta de grande número de traquéias, de variados diâmetros, cuja epiderme confluiu, formando agora uma camada única, na qual se encontram os núcleos hipodérmicos das traquéias irregularmente distribuídos (N₂). Tal camada, ao que tudo indica, é reforçada secundariamente por linfócitos, conclusão a que se chega pela presença dos grandes núcleos ovais e isolados (N₃); esta disposição lembra outras semelhantes, como as observadas nas membranas basais da hipoderme de certos insetos, já citados na literatura e, por nós, descritas numa formação típica na hipoderme dos espinhos peçonhentos de *Automeris incisa* (BARTH, 1954). Em virtude da camada externa, a cápsula testicular adquire grande resistência, protegendo assim o conteúdo das influências mecânicas externas. No ponto onde as extremidades dos folículos atingem a parede do testículo — e estas zonas germinativas sempre se encontram numa posição periférica —, as traquéias são relativamente finas (est. 1, fig. 9), podendo, porém, em outros lugares da cápsula testicular, aumentar consideravelmente o seu diâmetro. A camada externa (isto é, a traqueial) da parede do testículo possui uma espessura alternante: no germinário e nas suas cerca-

nias ela é delgada (na est. 1, fig. 9 ela aparece mais espessa por causa da inclinação do corte); mas, nesta altura, a camada interna é mais forte. Nas outras regiões do testículo, onde os folículos com os cistos mais velhos se encontram numa posição periférica, verifica-se o contrário: a camada traqueal (pseudoeptélio) aumenta em virtude das traquéias mais numerosas e maiores, enquanto que a camada epitelial torna-se rapidamente mais delgada, para, afinal, perto do *vas efferens*, chegar à espessura de uma membrana com apenas vestígios de núcleos degenerados.

Entre as partes mais velhas dos folículos, a cápsula testicular desce mais para o interior da gônada, juntamente com ramos traqueais maiores que, passando pela camada interna, penetram nos espaços entre os folículos e, ramificando-se, atingem tôdas as partes do interior do testículo (est. 1, figs. 9 e est. 4, fig. 10). Deve-se chamar a atenção que elas nunca penetram propriamente nos folículos, justapondo-se apenas ligeiramente às paredes dos mesmos.

O fio terminal, que nasce do polo oral da gônada e sobe até a região cervical, representa a continuação da parede do testículo (fig. 1). Consta de uma série sólida de células mesodérmicas — que se continuam na camada interna epitelial da cápsula testicular — de um manto cilíndrico, do pseudoeptélio traqueal, diminuindo rapidamente em direção à cabeça.

No ponto de saída do *vas deferens* do corpo testicular, encontramos apenas a camada epitelial, ajustando-se diretamente ao epitélio interno do *vas deferens*. Enquanto que, no início dos *vasa efferentia*, ela se torna muito delgada, agora torna-se espessa. A camada traqueal, que antes do ponto de saída do *vas deferens* se apresentava espessa, desaparece completamente ao longo do *vas deferens*. Imediatamente depois da saída do testículo encontram-se, no epitélio externo do *vas deferens*, as primeiras fibras da musculatura circular. Esta, logo depois, aumenta, formando um envoltório muscular.

O espaço entre os folículos está cheio de um líquido transparente que, frente aos fixadores, comporta-se como a hemolinfa; somente após fixação com ácido ósmico com sublimado aparecem alguns glóbulos negros, maiores ou menores (est. 5, fig. 11), que devem ser considerados como de substâncias gordurosas. As mesmas esferas encontram-se também nas células da parede dos folículos e na cápsula testicular, representando substâncias nutritivas. O número e o tamanho das mesmas variam de acôrdo com os estados funcional e alimentar do animal. No líquido testicular, encontram-se alguns amebócitos com núcleos grandes e protoplasma vesicular. Depois de fixação segundo HELLY ou, com líquidos contendo ácido ósmico, observa-se, no interior dos mesmos, numerosos mitocôndrios uniformes com estrutura oval (est. 5, figs. 12, 13 e 14). Após o tratamento segundo DA FANO, uma fixação adequada para a substância de Golgi, com nitratos de cobalto e de prata, aparece nos amebócitos grande número de fios, intensamente negros, que percorrem, em tôdas as direções, muitas vêzes reunidos em feixes, o protoplasma (est. 5, fig. 15). Êstes fios, que são encontrados regularmente, às

vêzes, dão o aspecto de uma rêde; mas não quero decidir se de fato êles representam a substância de Golgi ou se apenas se trata de artefatos de fixação. Os dois fatos, as presenças de mitocôndrios e de esferas gordurosas indicam que entre o conteúdo dos folículos e a hemolinfa existe intensa troca de substâncias, conclusão a que se pode chegar também pela presença das numerosas traquéias entre os folículos.

Em geral, na bibliografia, a parte apical do folículo é considerada como sendo a sua porção inicial. Como já foi mencionado, isto não se verifica no caso da cápsula testicular ser homóloga a certas partes da primitiva listra gonadogênea do embrião e, das células germinativas (células sexuais primitivas), translocarem-se para o interior da listra gonadogênea (veja, por exemplo, os trabalhos embriológicos de Hymons e outros). Considerando isto, podemos verificar, no adulto, que a formação do folículo se iniciou no próprio ponto da sua passagem para o *vas efferens*. O desembocamento no *vas efferens* representa a parte inicial do folículo, enquanto que a extremidade apical deve ser considerada como a sua verdadeira parte terminal. Esta suposição facilita, outrossim, a compreensão da origem da parede folicular que se apresenta sob a forma de epitélio fino, com uma só camada (est. 1, fig. 9, FE). Durante a sua infiltração, as células sexuais primitivas translocaram partes da listra gonadogênea para o interior da mesma, nela penetrando em forma de invaginação ou dilatando as células da listra de modo que a parede definitiva do folículo corresponde ao epitélio da cápsula testicular. Do ponto de vista da histologia, pode observar-se que os dois epitélios, quanto ao protoplasma e aos núcleos, são muito parecidos, mas que o epitélio da cápsula testicular é mais espesso e os seus núcleos são consideravelmente maiores do que os da parede folicular. Esta suposição, aparentemente convincente, precisa ser confirmada por meio de estudos embriológicos.

Na extremidade apical do folículo, o epitélio, de camada fina (est. 1, fig. 9, FE), encosta-se fortemente ao epitélio da cápsula testicular que, por sua vez, reveste a dilatação terminal do folículo, penetrando então numa porção do interior do testículo, enquanto que a parte traqueal da cápsula também se espessa neste ponto, lançando-se, do mesmo modo, para o interior da gônada. Muitas traquéias atravessam a camada interna da cápsula testicular nesta formação (esquema na est. 5, fig. 16). As traquéias emitem ramos, de um lado, para a parede do folículo e, de outro, para o interior do testículo, atravessando o mesmo completamente, de modo que tôdas as partes internas dêste sejam mais ou menos uniformemente providas de oxigênio. Na dilatação terminal, a parede do folículo (epitélio folicular) apresenta-se uniformemente fina, possuindo núcleos pequenos e ovais localizados equidistantemente. Enquanto que a camada epitelial interna da cápsula testicular forma um sincício, as células do epitélio do folículo, na extremidade do tubo, apresentam-se separadas, uma da outra, por paredes celulares diagonalmente dispostas. Foi possível observar que depois de uma superfixação intensa, o epitélio se rompeu, separando-se em células que possuem limites celulares diagonais (est. 1, fig. 9, est. 5, fig. 16), paredes estas que, por

seu lado, reforçam naturalmente a junção entre as células epiteliais. Estas células, de secção fusiforme e arredondados, quando vistas de cima, encontram-se apenas na dilatação terminal do folículo; em direção à base, isto é, à parte inicial do folículo, o epitélio torna-se sincicial. Ao mesmo tempo, o aspecto geral dêste se modifica: a espessura do sincício oscila de maneira irregular, especialmente perto dos núcleos onde é sempre mais acentuada; também êstes se alongam, tornando-se irregulares (est. 6, fig. 17). As paredes externa e interna do sincício se reforçam, formando uma membrana de modo que, principalmente a interna, poderá ser chamada “membrana própria” (fig. 17).

Junto à parede terminal do tubo folicular, no seu lado interno, encontra-se um grande número de células, mais ou menos ovais, de formas regulares, incluídas em massa protoplasmática homogênea sem fibrilas. Tôdas estão orientadas, com o eixo longitudinal, perpendicularmente à parede do folículo (est. 1, fig. 9 e est. 5, fig. 16). Apresentando-se esta, agora, como uma semiesfera, os núcleos estão dispostos de modo mais ou menos radial. O ponto de encontro de seus raios se faz numa única célula grande, cujo protoplasma possui uma densidade consideravelmente maior e granulações mais numerosas do que o da região vizinha. O número desta é grande e arredondado, formando, em geral, esfera regular, com grande nucléolo, muitas vezes fragmentado em várias partículas. A cromatina forma fino retículo, distribuído igualmente sobre todo o volume nuclear. Com isto, êle dá a impressão de núcleo somático em plena atividade. A área protoplasmática, que circunda o núcleo, emite prolongamentos fibrilares que se estendem tanto em direção à área dos núcleos situados perpendicularmente, citados acima, quanto ao interior do folículo; a uma distância pequena do centro da célula êstes prolongamentos, todavia, tornam-se mais e mais difusos, entrando, sem zona limiar, na massa protoplasmática; entre êles observam-se limites celulares bem nítidos (est. 1, fig. 9). Assim, se caracteriza a “célula apical”.

Êste tipo celular foi descrito em *Lepidoptera* por SPICHARDT em 1886, para a mariposa do bicho da sêda (*Bombyx mori*), considerando-a como *Keimstelle* (ponto germinativo). Na bibliografia mais antiga, encontram-se várias opiniões sobre esta célula (TOYAMA, GRUENBERG, CHOLODKOWSKY, TICHOMIROW). GRUENBERG, denominando-a célula apical, descreve-a como “uma célula nutritiva com funções assimiladora e glandular”, célula que se atrofia num testículo, quando em degeneração (por exemplo em adultos de *Lepidoptera*), causando, ao mesmo tempo, a morte das células germinativas ainda não definitivamente desenvolvidas. CHOLODKOWSKY considerada a mesma como “uma célula nutritiva e fagocitadora”, enquanto que TOYAMA (1894) admite, entre outras, uma função de sustentação; idêntica função foi descrita mais tarde (1902) por DEMOKIDOFF para uma formação especial chamada “lente”, encontrada no testículo de *Tenebrio molitor*. Uma parte dos autores (como VERNON e CHOLODKOWSKY) considera a célula apical como sendo modificação de uma das células germinativas, enquanto que outros (como TOYAMA e TICHOMIROW) acreditam que ela seja uma célula

somática verdadeira. Para decidir a questão, necessitamos ainda de uma observação embriológica, mas que, até hoje, ainda não foi feita com tal finalidade. Outrossim, a histologia poderá esclarecer alguns pontos sobre a função e o valor histológico da referida célula.

Como já foi mencionado acima, justaposto ao fundo de saco do tubo germinativo, encontra-se um conjunto de núcleos uniformes e ovais, em posição radial, no interior de uma massa protoplasmática sincicial e homogênea (est. 1, fig. 9). Este sincício, que também envolve a célula apical, vai introduzindo-se juntamente com esta e com os primeiros grupos de espermiogônios, que se originam até o estágio-2⁴, no interior do tubo, como já foi descrito acima. Do protoplasma desta formação separa-se, nitidamente, o dos espermiogônios a partir das rosetas-2³ (est. 1, fig. 9, 2³-R). A parte restante da massa é bem fibrilosa. Os fios protoplasmáticos orientam-se uniformemente no sentido radial, partindo da parede final do folículo em direção à célula apical. Seguindo a orientação destes filamentos, do conjunto de núcleos ovais, saem alguns ou mesmo grupos de núcleos que se deslocam, inicialmente, em direção à célula apical; depois, numa distância variável, eles passam ao longo da célula apical, lançando-se mais para o interior do tubo. Este modo de translocação não está bem visível em todas as partes da fig. 9, mas se pode confirmar o fato nos cortes vizinhos. Logo no início deste deslocamento, tem lugar uma diferenciação em dois grupos de células: parte dos núcleos começa a crescer e arredondar-se; é o grupo que representa os espermiogônios primários; a parte restante dos núcleos apicais mantém a sua forma e entra no espaço entre os cistos. O crescimento nuclear dos espermiogônios primários realiza-se por osmose, pois a massa cromática permanece, quantitativamente, a mesma; o núcleo agora se apresenta transparente. A cromatina passa por todos os estádios da prófase (veja abaixo) e diferencia-se, finalmente, nos cromosomas; em seguida, realiza-se uma divisão equacional normal do espermiogônio. As duas novas células dividem-se mais uma vez, sem formação de um núcleo de repouso. O resultado são quatro células (est. 1, fig. 9, 2²-R) de aspecto piriforme, que aproximam suas extremidades mais agudas, formando assim uma roseta, neste caso, uma roseta-2² de espermiogônios. Mais uma divisão das quatro células dará, a seguir, a roseta-2³ (est. 1, fig. 9, 2³R) com 8 espermiogônios.

Neste estágio, observa-se uma porção nítida de protoplasma, mais condensado, circundando cada núcleo, fato que também já ocorre, porém menos acentuado, na roseta-2². Em cada caso, (2² e 2³), pode-se observar os limites celulares dos espermiogônios (est. 5, fig. 14). Na parte central das rosetas das duas fases aparecem, súbitamente, massas irregulares de mitocôndrios (est. 5, fig. 19 a, MC), situadas nas extremidades das células piriformes. Tais formações protoplasmáticas já são observadas quando existem ainda dois espermiogônios, como também nos espermiogônios primários no momento, em que eles saem do conjunto dos núcleos apicais; mas nestas fases, os mitocôndrios não se reúnem, pois estão distribuídos sob forma de pequenos corpúsculos no protoplasma, ao redor do núcleo.

Depois que a roseta-2³ tiver deslocado-se ainda mais para o interior do tubo, o protoplasma começa a concentrar parte dos seus filamentos na superfície da mesma, que toma a forma de uma esfera (est. 4, fig. 19 b) que continua envolvida pelos restantes. Quanto mais a roseta é impedida para baixo (a translocação das rosetas é um processo passivo pela formação de outras), tanto mais a concentração protoplasmática progride, verificando-se que, depois de mais uma divisão de tôdas as células, o cito-2⁴ está revestido por uma camada de aspecto idêntico ao do tecido conjuntivo, e justaposto ao cisto vizinho (est. 6, fig. 20). Ao mesmo tempo, pode-se verificar que os núcleos das paredes dos cistos estão entre êles (est. 6, figs. 21, 22 e 23). Êstes últimos, quando participantes das rosetas-2² e 2³, eram uniformes; por ocasião dos cistos-2⁴ e 2⁵, entretanto êles crescem (est. 6, figs. 17, 20, 24, est. 7, fig. 25, est. 4, fig. 26), adaptam a sua forma ao espaço protoplasmático entre os cistos (fig. 20) e, mais tarde, começam a formar profundas reentrâncias (est. 7, fig. 27). Ainda não se pode observar uma parede própria dos cistos, pois, nesta altura, não existem limites visíveis entre as camadas protoplasmáticas de cistos vizinhos; nesta zona dos primeiros cistos espermiogônicos, pode falar-se somente em um sincício que se estende até à extremidade do tubo, incluindo os cistos e os espermiogônios primários, bem como os núcleos não diferenciados do conjunto apical (est. 5, fig. 16). Na massa protoplasmática, entre os cistos mais adiantados, isto é, entre os 2⁶, 2⁷ e 2⁸, já encontramos aspectos diversos, pois surge uma separação entre as paredes dos cistos de maneira que, entre os mesmos, aparece agora um limite duplicado que, muitas vêzes, se separa, deixando espaços livres que se enchem de líquido linfático sem amebócitos. Agora os cistos representam, definitivamente, corpos independentes que são encontrados até na parte basal do folículo. Logo, só se pode falar em cistos verdadeiros a partir dêste momento, pois que na parte apical existem apenas "fendas", com demarcação interna nítida, espalhadas no sincício.

A parede dos cistos-2⁶ a 2⁸ compõe-se de camada mais ou menos fina de protoplasma com poucos núcleos grandes, que correspondem ao segundo grupo dos núcleos que se deslocou do conjunto apical em direção ao interior do folículo. Na fase de crescimento do cisto-2⁸ (veja abaixo), ocasião esta em que o diâmetro da placa equatorial dos espermiogônios chega a triplicar-se (est. 7, fig. 28 e gráfico da fig. 29), a parede dilata-se fortemente, tornando-se muito fina, de modo que os grandes núcleos se localizam, formando saliências enquanto que, normalmente, êles se encontram nos ângulos entre os cistos. Durante o crescimento citado, os núcleos das paredes dos cistos aumentam o seu conteúdo constantemente, formando lóbulos ainda mais acentuados (est. 7, figs. 25 e 27). Os núcleos reproduzidos na figura 27 foram encontrados na parede dos cistos-2⁷ e 2⁸ antes de ter início o período de crescimento. Em fases mais adiantadas, a formação de lóbulos é ainda mais perfeita como se vê pela figura 24, onde está apresentado um núcleo da parede de novo cisto de espermiódeos. Os núcleos alcançaram o seu máximo nas paredes daquelas células onde se está realizando o final da prófase da primeira divisão de maturação (diacinese) (est. 7, fig. 25) Em seguida, o volume do

núcleo diminui rapidamente, enquanto que a formação dos lóbulos ainda mais se acentua. Mais tarde, nas paredes dos cistos, durante a espermiocitogênese, a diminuição dos núcleos progrediu tanto que os mesmos ainda estão representados por apenas formação com menos de 2 μ ou 3 μ de altura.

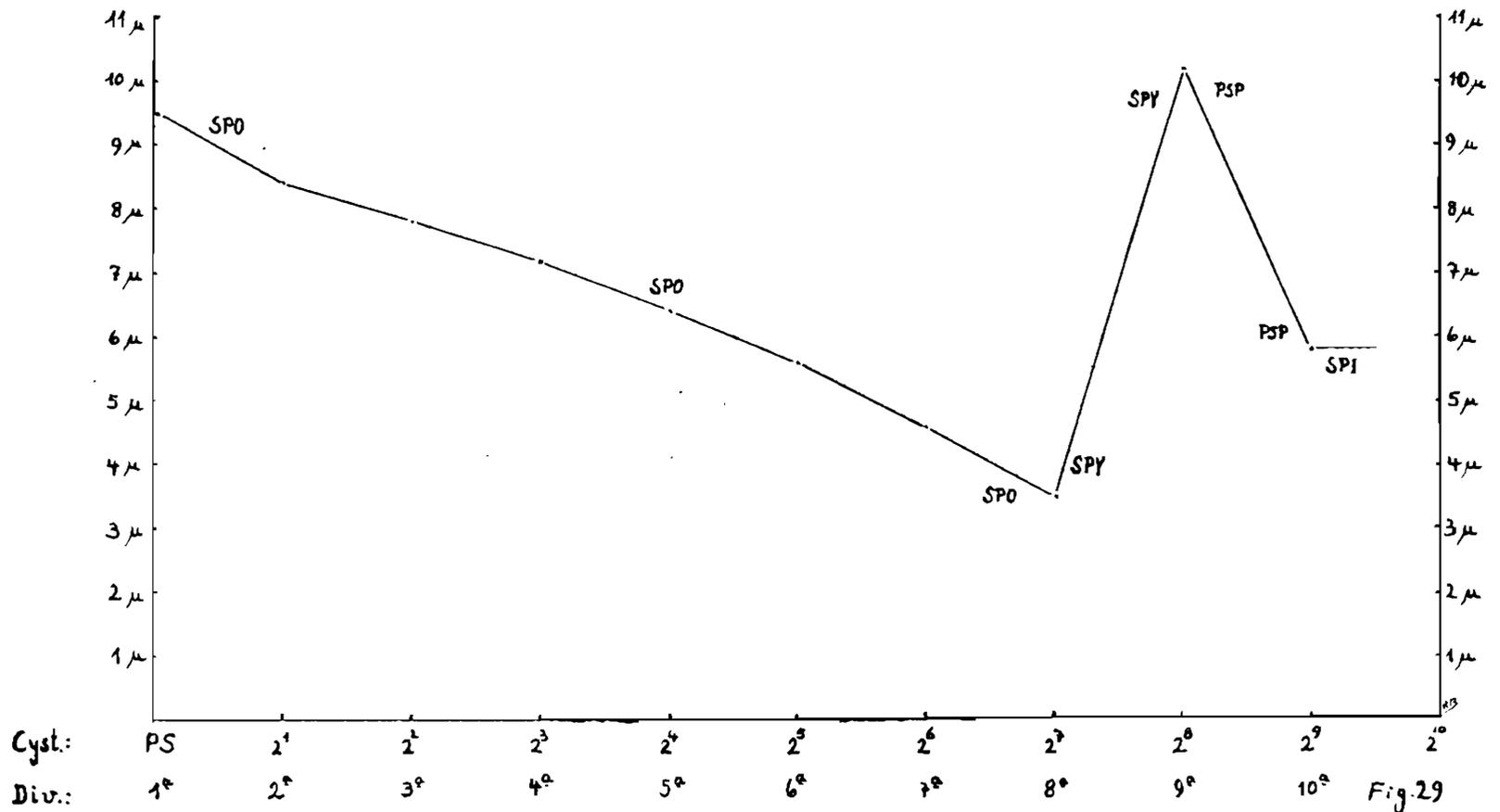


Fig. 29 — Gráfico dos diâmetros das placas equatoriais durante as 10 divisões, a partir do espermiogônio primário até o espermio (tabela 1).

O crescimento intenso do núcleo dos espermiogônios pode ser verificado no quadro seguinte, bem como no gráfico da figura 29:

NÚMERO DE CÉLULAS EM CADA CISTO	FASE	MODIFICAÇÕES	DIÂMETRO
célula única.....	espermiogônio primário	1. ^a divisão de multiplicação.....	9,5
cisto-2 ¹	espermiogônio secundário	2. ^a divisão de multiplicação	8,4
cisto-2 ²	idem	3. ^a divisão de multiplicação	7,8
cisto-2 ³	idem	4. ^a divisão de multiplicação	7,2
cisto-2 ⁴	idem	5. ^a divisão de multiplicação	6,4
cisto-2 ⁵	idem	6. ^a divisão de multiplicação	5,6
cisto-2 ⁶	idem	7. ^a divisão de multiplicação	4,6
cisto-2 ⁷	idem	8. ^a divisão de multiplicação	3,5
cisto-2 ⁸	espermiócito	crescimento e primeira divisão de maturação	10,2
cisto-2 ⁹	prespermídeo	2. ^a divisão de maturação	5,8
cisto-2 ¹⁰	espermídes,espermio	espermihoistogênese	—

Resumindo-se, pode-se, quanto ao desenvolvimento dos cistos, constatar o seguinte: os núcleos do conjunto apical, inclusive a sua massa protoplasmática, representam as células germinativas não diferenciadas, das quais apenas certo grupo se transforma em espermiogônios verdadeiros; êstes se multiplicam por meio de 8 divisões equacionais, formando, cada um, precisamente 256 espermiócitos que, depois da fase do crescimento, sofrem duas divisões de maturação, formando, assim, 1 026 espermiódeos em cada cisto (veja abaixo). Um outro grupo, ou seja, a parte restante dos núcleos do conjunto apical, se transforma nas células das paredes dos cistos que se podem considerar somente como núcleos de tecido conjuntivo secundário — a nosso ver não há necessidade de criação de novo termo para designá-los, e manteremos a denominação “núcleos das paredes dos cistos”. Translocam-se do sincício do protoplasma apical, colocando-se entre os espermiogônios e as rosetas dos mesmos. O protoplasma forma um revestimento sobre as rosetas, constituído por camadas filamentosas, incluindo também os núcleos. Êstes, em seguida, não permanecem em repouso mas transformam-se, durante as divisões das fases da multiplicação e do crescimento dos espermiogônios, em núcleos ativos cuja função deve ser apenas nutritiva, pois o protoplasma das paredes dos cistos não dá nenhum sinal de atividade glandular, observação esta comprovada pela degeneração rápida que tem lugar durante a espermiogênese subsequente, em que os espermiódeos transformam-se em espermios, fenômeno que se passa sem consumo de matéria nutritiva.

A célula apical do germinário distingue-se nitidamente dos dois tipos celulares citados: possui quase sempre um núcleo esférico com nucléolos grandes e cromatina finamente granulada e uniformemente distribuída. A quantidade de líquido nuclear é relativamente grande: o núcleo é mais transparente do que o das células germinativas não diferenciadas, entretanto mais opaco do que o dos espermiogônios. Nota-se uma membrana nuclear, surpreendentemente forte e (est. 1, fig. 9, APZ e est. 4, fig. 10) que ainda mais se acentua em virtude da porção da cromatina que a ela se justapõe. Depois de uma fixação simples (Carnoy, Bouin ou Gilson), o protoplasma do corpo da célula apical propriamente dito, apresenta-se fortemente vacuolizado, quase espumoso; depois de fixação com combinações de O_sO_4 pode observar-se forte acúmulo de finas granulações escuras, circundando o núcleo, formando verdadeira esfera em torno do mesmo. O aspecto que assim se verifica é semelhante ao das acumulações de mitocôndrios que se colocam próximo dos núcleos durante a prófase das divisões de maturação (vide adiante). Pode acreditar-se, que também neste caso, se trate de mitocôndrios que devem ter sido dissolvidos, quando se empregaram outros fixadores sem O_sO_4 . Na parte inicial dos prolongamentos protoplasmáticos radiais, que entram no sincício do germinário e que se realça nitidamente da célula apical, os mitocôndrios estão completamente ausentes (est. 1, fig. 9); o protoplasma então forma filamentos ou fibrilas que continuam pelo sincício.

De acôrdo com a descrição histológica, podemos negar funções glandulares e nutritivas à célula apical, pelo menos quanto a um fornecimento de secreções ou substâncias nutritivas, ao sincício das células germinativas, função que já é impossibilitada pela sua localização topográfica, pois ela está bastante afastada da parede folicular e, com isto, da testicolífa. Por outro lado, não se faz necessário, neste ponto, um transporte intenso de substâncias alimentícias porque aí não se verifica crescimento algum e a quantidade de protoplasma existente, ao que tudo indica, deverá ser suficiente como fornecedor de energia para os processos de divisão e de deslocamento que ainda terão lugar. As baixas perdas de material devem ser compensadas pela regeneração do próprio protoplasma do conjunto apical. Esta se verifica mesmo sem a existência de uma célula nutritiva especial e distante, pois o conjunto apical encosta-se diretamente à parede do folículo e pode ser nutrido através da mesma.

A nosso ver, devemos procurar uma solução para o problema da função da célula apical em sua atividade reguladora: vimos que as células germinativas, ainda não diferenciadas do conjunto apical, começam a deslocar-se, isoladas ou em grupos, em direção à célula apical (est. 1, fig. 9 NN). Imediatamente depois de saírem do conjunto propriamente dito, elas se diferenciam em espermiogônios (primários) ou nos futuros núcleos das paredes dos cistos. Êstes não penetram nos prolongamentos da célula apical (e que representam uma comunicação direta da mesma com o sincício geral), porém passam ao longo dela assim como lateralmente, (o que é bem visível na parte esquerda da figura 9, menos nitidamente na parte direita em virtude de superposição) em direção paralela aos filamentos protoplasmáticos que partem da mesma, indo penetrar no interior do folículo. É possível que êste percurso pré-determinado, que faz com que todos os núcleos passem mais ou menos ao pé da célula apical, dependa de uma corrente protoplasmática condicionada pela mesma célula apical, mas, o aspecto histológico do fenômeno não permite confirmá-lo em nenhum dos casos observados. Por outro lado, também não se torna indispensável admitir esta hipótese, de uma corrente protoplasmática, pois a regulação da saída dos núcleos, ainda completamente homogêneos, e não diferenciados, do conjunto apical, a diferenciação em si, o sentido do deslocamento e a separação controlada dos mesmos em dois grupos, fatos que se verificam durante a formação dos cistos, podem depender também de modificações na tensão do protoplasma que, por sua vez, podem ser de natureza química, produzidas talvez por fermentos ou hormônios. Uma comprovação desta hipótese, pelo emprêgo de hormônios, ficará reservada para outra ocasião. Além disto, ainda de acôrdo com o aspecto histológico, pode-se aceitar também a possibilidade de uma função de sustentação por parte daquela célula sôbre todo o interior do germinário, sustentação que, talvez, seja regulada pelo turgor da própria célula.

As células germinativas sofrem sua transformação, até chegar a espermio maduro, no interior dos cistos e, pela formação continuada de novas rosetas dentro do germinário, vão sendo empurradas, passi-

vamente, mais e mais, para a extremidade basal do folículo. Neste ponto do tubo, os cistos se despreendem e passam a flutuar livremente na testicolinfa (est. 7, fig. 30, lado direito). Na zona transitória, entre folículo e *vas efferens*, tem lugar uma transformação abrupta das paredes dos cistos :os cistos acumulam-se, ajustam-se novamente uns aos outros e as suas paredes deixam observar uma degeneração progressiva do protoplasma e do núcleo, dando, finalmente, no limite da abertura do folículo, um aspecto de rápida necrose (est. 7, fig. 30). A parede do folículo não toma parte nesta necrose ou histólise (est. 7, fig. 31) e se continua, sem interrupção (na fig. 31 justamente êste ponto foi inutilizado pelo corte, passando a formar a parede do *vas efferens*. Na figura 31 pode-se ver, ao lado direito, os cistos dos espermios dirigindo-se para o *vas efferens*. As paredes dos mesmos encontram-se em plena desorganização e nelas o protoplasma se decompõe, formando placas e esferas que são liquefeitas posteriormente; também os núcleos vão ser destruídos. A degeneração dêstes é iniciada por uma aglomeração da cromatina que depois se divide em porções irregulares, maiores ou menores (est. 8, fig. 32). Mais tarde, a membrana nuclear se dissolve e as partículas cromáticas, que ainda continuam diminuindo, encontram-se disseminadas no protoplasma em degeneração e podem ser observadas, até o fim dêste processo, nos restos protoplasmáticos (fig. 30, CRR). Desta maneira, os feixes dos espermios são libertados, e, a seguir, entram no *vas efferens* (figs. 30 e 31, SBB).

Enquanto que as partes das paredes dos cistos, encontrados na região central do folículo, são rápida e completamente destruídas, êste processo torna-se mais lento nas partes mais periféricas de modo que, na parede folicular, se forma um acúmulo de camadas de um tecido necrosado e de aspecto caótico que, na abertura do folículo, se acola ao epitélio do *vas efferens* (fig. 31). Êste é formado por células altas, estreitas, em forma de cilindro (fig. 31, EVE), sempre binucleada. Reveste-se externamente por uma camada de células que são a continuação da parede folicular. Os dois núcleos, pequenos, arredondados ou ligeiramente ovais, estão situados um acima do outro, pois a largura celular corresponde exatamente ao diâmetro dos mesmos; estando êles dispostos, sempre, praticamente, na mesma altura, apresentam-se como duas camadas nucleares contínuas do epitélio. O protoplasma é muito homogêneo e não deixa observar uma estrutura reticular; mas contém numerosas granulações pequenas (fig. 31). Regularmente encontram-se alguns vacúolos maiores, ovais, tanto perto da superfície, como acima ou abaixo dos núcleos. A superfície apical da célula forma um rabdório de altura considerável, que, em virtude do seu tamanho e nitidez, lembra um revestimento de cílios. A demarcação do rabdório, tanto na parte apical quanto na basal, é muito nítida. Os aspectos do núcleo e do protoplasma não deixam entrever qualquer função glandular para o epitélio do *vas efferens*. Ao contrário, tudo leva a supor uma atividade de absorção, haja visto, por um lado, o comprimento extraordinariamente grande que atinge o rabdório, lembrando o da mesma organela no epitélio intestinal de certos insetos aquáticos, (como por

exemplo, nas larvas de *Blepharoceridae*), e por outro, a presença de grandes vacúolos que, na parte basal da célula, têm o mesmo tamanho que na parte apical, indicando pois uma passagem de substâncias através da célula. Sendo assim, constatamos fenômeno oposto ao de uma secreção, função esta, durante a qual os vacúolos vão aumentando em direção ao pólo apical, sendo os mesmos, no pólo basal, algumas vezes, menores ou até ausentes. Semelhante fato também se comprova pela presença de grandes quantidades de substâncias nutritivas, de alta concentração, que, constantemente, entram nesta zona (provenientes da histólise das paredes dos cistos), de modo que haverá um acúmulo deste material nos *vasa efferentia* e no *vas deferens*, onde, porém, não desempenham qualquer função porque, aí, não mais se verifica uma nutrição intensiva dos espermios. Além disto, devemos mencionar que os aspectos histológicos da linfa, nos *vasa efferentia* e no *vas deferens*, muito se diferenciam entre si: a quantidade de substância albuminóide fixável no interior do *vas efferens* é, muitas vezes maior do que a do *vas deferens*. Levando-se em conta estas quatro razões apontadas, é muito provável que o epitélio dos *vasa efferentia* seja o responsável pela reabsorção da maior parte da substância nutritiva proveniente da necrose, e que em conseqüência, novamente vai entrar em circulação na hemolinfa.

Como já foi mencionado na parte que trata da anatomia geral, os *vasa efferentia* são apenas muito curtos em vista do que desembocam, logo em seguida, no *vas deferens* (figs. 2 e 3).

4. ESPERMIOCITOGÊNESE

a) Espermiogônios

Quanto ao aspecto cariológico os núcleos, do conjunto apical, ligeiramente ovais, são idênticos. Possuem todos o mesmo conjunto cromático heteropicnótico, de situação central, e do qual partem (est. 8, fig. 33), em tôdas as direções, fios ramificados que se coram apenas ligeiramente. Logo após a saída do conjunto apical, os futuros núcleos das paredes dos cistos começam a alongar-se no sentido do eixo longitudinal, correspondente à direção do movimento do deslocamento. A distribuição da cromatina mantém a mesma disposição, já descrita acima, porém a massa cromática central se estira em correspondência com a forma alongada do núcleo, no mesmo sentido do eixo longitudinal deste e, as variações que se observaram na intensidade de condensação da cromatina desaparecem, o que se conclui pelo fato do retículo da cromatina tingir-se com a mesma intensidade que a do corpo central (est. 8, figura 34). As demais transformações sofridas por êstes núcleos já foram mencionadas por ocasião da descrição da parede dos cistos (veja acima). Eles mantêm a sua função de núcleos nutritivos dos cistos até na base do folículo, no ponto em que o mesmo se abre no *vas efferens*; eles desaparecem com a necrose geral das paredes dos cistos (fig. 31).

Bem diferente é o desenvolvimento dos núcleos germinativos: depois de sair do conjunto apical, as células se arredondam e se colocam entre

os percursos descritos pelos núcleos das paredes dos cistos, onde permanecem. Esta região está situada mais ou menos afastada da célula apical e pode ser observada mais ou menos profundamente dentro do folículo. Na figura 9, os espermiogônios primários se apresentam perto da parede do folículo ou também, dentro do mesmo, às vezes, ainda mais no seu interior do que algumas das rosetas-2³. As duas formas das células, tanto as germinativas como as das paredes dos cistos, possuem no seu próprio protoplasma, especialmente na parte anterior deste, quanto à direção do deslocamento, numerosas granulações pequenas, também de forma oval, com a mesma afinidade para a hematoxilina como a observada nos mitocôndrios das futuras rosetas. Enquanto que estes mitocôndrios logo desaparecem completamente ao redor dos núcleos das paredes dos cistos, eles continuam presentes nas células germinativas — denominadas, depois da sua diferenciação, espermiogônios primários — e justapõem-se à superfície do núcleo e, penetram, também, em quase todo o protoplasma do espermiogônio. Uma disposição semelhante é encontrada mais tarde também nos espermiócitos. Além disto, os núcleos dos espermiogônios primários realçam-se, já logo no início, dos núcleos das paredes dos cistos pelo seu crescimento que tem lugar, simultaneamente, com o seu arredondamento. Esse crescimento se realiza pela entrada de líquidos, de modo que o núcleo mostra-se mais transparente, aumentando o seu diâmetro até 10 μ . Numa posição mais ou menos central, encontra-se um aglomerado cromático muito mais condensado do que a parte correspondente dos núcleos não diferenciados do conjunto apical (est. 8, fig. 35). Pode-se aceitar que esta massa seja homóloga ao corpo heteropicnótico dos espermiócitos que contêm os cromosomas sexuais e os três macrocromosomas bivalentes A, B e C. Por este motivo, é ele denominado “corpo de 5 valores”, pois os componentes citados comportam-se, durante toda a prófase das divisões de maturação, de maneira heteropicnótica. No caso presente dos espermiogônios, essa massa deverá ser chamada “corpo de 8 valores” (isto porém em termos, pois a sua composição ainda não pôde ser comprovada rigorosamente. Veja abaixo). Ela é constituída pelos três pares de macrocromosomas A, B e C e os dois cromosomas sexuais X e Y. Em todas as direções da mesma, se emitem fios reticulares, carregados com grânulos cromáticos maiores e menores (fig. 35).

O espermiogônio primário, já durante a fase do aumento de volume, inicia a preparação da primeira divisão espermiogonal para entrar na fase-2¹. Observam-se em todos os cistos, no total, sempre, 8 destas divisões equacionais que se seguem rapidamente, de modo que, ao chegar à fase-2⁸, o espermiogônio primário se multiplicou, alcançando o número de 256. Durante estas divisões de multiplicação, eles têm o seu volume reduzido à metade, o mesmo acontecendo à massa protoplasmática de cada célula e também aos núcleos. Porém, pela nutrição, concomitantemente fornecida pelas células das paredes dos cistos, o volume, depois de cada divisão, se refaz até um certo ponto. Não se podem medir as células com um rigor tal que permita aquilatar o grau das diminuições. É mais indicado medir os diâmetros das placas

equatoriais de cada divisão para que se possa ter uma idéia da amplitude das transformações. A tabela 1 e o gráfico da figura 29 dão esclarecimentos relacionados com estes fenômenos. Foram medidas as placas equatoriais de um só folículo e, de cada vez, em metáfase típica. A diminuição prossegue, durante as 8 divisões, de maneira lenta e uniforme. Ao contrário, ela acentua-se muito depois do último crescimento da fase-2^a. A 10.^a divisão segue imediatamente à 9.^a sem que os núcleos entrem num "estado de repouso". Porém, depois de cada divisão espermiogonal, verifica-se sempre nova fase de repouso de modo que o intervalo entre estas é bastante prolongado com o fim de facilitar uma compensação parcial da substância perdida por cada célula-filha.

As modificações que o conteúdo do núcleo dos espermiogônios vai sofrer, antes das divisões equacionais, correspondem, em geral, às mesmas das células somáticas: o corpo de 8 valores permanece com a sua forma inicialmente inalterada. As granulações de cromatina, de tamanho variável e de distribuição irregular, começam a arrumar-se de maneira regular sobre os fios do retículo da linina, aparecendo tôdas, agora, mais ou menos do mesmo tamanho.

Nesta fase pode-se observar que o retículo se compõe de numerosos fios isolados, que se entrelaçam intimamente. Na est. 8, figs. 36 e 37, estas alças foram separadas em diversos planos, para uma focalização exata dos mesmos, ao microscópio, não tendo sido desenhadas as secções das extremidades. Não foi possível determinar exatamente o número dos fios mas, aparentemente, tudo indica que o mesmo corresponda ao número da série diplóide dos cromosomas, devendo levar em consideração que a quantidade foi diminuída em consequência da soldadura dos 8 cromosomas do corpo de 8 valores (duas vezes A, B, e C e ainda X e Y); deverão existir pois 14 fios. Logo em seguida, estes começam a encurtar-se, o que se exprime pela distância menor entre as granulações. Com isto, tem lugar, logicamente, um reforçamento das alças que agora se tornam visíveis. O corpo de 8 valores começa, nesta altura, a desintegrar-se (figuras 38 e 39). Na figura 38, num corte mediano do núcleo, encontra-se no centro do mesmo um emaranhado confuso de fios que, muitas vezes, emitem laços, partindo do centro e novamente a êle retornando (fig. 38, SCH); na figura 39, algumas destas alças são apresentadas, vista de cima (focalização superior do corte do núcleo). Os fios e laços, aumentados na figura 40, coram-se fortemente pela hematoxilina, e sobre os mesmos se distribuem granulações cromáticas maiores ou menores de mesma forma. O encurtamento e a condensação dos fios prosseguem de modo que depois da decomposição do corpo de 8 valores é possível se isolarem os fios óticamente. Ao mesmo tempo, observa-se duplicação longitudinal dos fios, permanecendo os grânulos ainda em contato direto entre si, o que pode ser comprovado pelo exame dos cortes nos quais as alças foram atingidas transversalmente (fig. 41, QFA). Na figura 41, tal estágio de fios duplicados foi desenhado, focalizando-se os planos mais elevados do corte. Nas figuras 42 e 43 é apresentado, esquematicamente, o mesmo fato, obtido pela superposição de diversos planos focados de modo a ficarem bem visíveis os fortes grânulos de

cromatina situados nas extremidades do fio, bem como as finas ligações de linina pouco coráveis, existentes entre as extremidades dos dois fios-irmãos (fig. 42, LB). A condensação e o encurtamento continuam ainda, de modo que, finalmente, os grânulos entram em contacto entre si, em sentido longitudinal, tornando-se os fios de linina invisíveis, formando-se então segmentos cromáticos compactos que se justapõem, sem exceção, à membrana nuclear (figs. 44, 45 e 46), deixando com isto o centro do núcleo completamente vazio. Nesta altura, já é possível certificar o número dos cromosomas: em cada caso se contam 22. Pela condensação progressiva, êles transformam-se em cromosomas da metáfase (fig. 47).

Ao atingir esta forma, os cromosomas começam a afastar-se da parede, concentrando-se no plano equatorial do núcleo; no início ainda irregularmente (est. 9, fig. 48); todos êles orientam-se, mais tarde, colocando os seus eixos longitudinais paralelos entre si e verticalmente ao plano citado. Êste é determinado pela atividade dos centríolos que, súbitamente, se tornam visíveis, surgindo em pontos opostos e formando os fios externos e internos da figura dos fusos. Imediatamente antes destes "fios polares" atingirem a membrana nuclear, esta se dissolve de modo que a placa equatorial, com os 22 cromosomas, encontram-se livremente na célula, ligada afinal, por meio de fusos, aos centríolos (figuras 49 e 50). Os mitocôndrios se mantêm distribuídos uniformemente no interior do protoplasma. Durante a passagem da metáfase para a anáfase, os fusos começam a encurtar-se; os cromosomas dividem-se no seu próprio equador e as duas novas placas afastam-se uma da outra. Entre elas, aparecem agora os fusos centrais e periféricos que, ligando os dois centríolos, não tinham contato com os cromosomas (fig. 51). Quanto mais a distância entre as duas placas aumenta tanto mais os cromosomas aproximam-se (fig. 52). Neste meio tempo, a membrana celular começa a formar um estrangulamento no plano do equador (fig. 52). Ao entrar na telófase (fig. 53), o estrangulamento atinge o "cilindro" formando fios centrais. Nesta altura, correspondendo ao plano do equador da célula, cada fio produz um espessamento, em forma de um pequeno nó (já visível na figura 24). Tôdas estas dilatações entram em contacto entre si, formando uma placa que, porém, ainda não representa as novas membranas celulares, pois estas atingem o feixe de fusos centrais por cima e por baixo dêste plano (fig. 54).

As células centrais agora se afastam uma da outra, enquanto que o feixe dos fios centrais se releva parcialmente das mesmas e forma um estrangulamento na altura da placa de reforçamento onde, afinal, a ligação se rompe. Com isto, as duas células novas tomam um aspecto piriforme (fig. 55). Segundo tudo indica, esta placa de reforçamento serve para fechar o lugar do rompimento das duas células. Os remanescentes do feixe ainda podem ser observados muito tempo depois, nas células, sob a forma de uma condensação que diminui aos poucos, até desaparecer. Depois, quando as células começam a se arredondar e a crescer, época esta em que elas novamente se aproximam, encostando-se uma à outra, ajustando as suas superfícies externas, também

já desapareceu a cicatriz que existia nos pontos onde se deu o rompimento definitivo, por ocasião da divisão celular. Durante a divisão da célula, uma das massas cromáticas-filhas se condensa fortemente, formando um só corpo em cada pólo celular (fig. 53) mas que, logo após, começa a dividir-se, dispersando-se na sua área nuclear, formando fios que depois se dissolvem em grânulos. A área nuclear já é vista com mais nitidez do protoplasma, envolvendo-se por nova membrana. Os mitocôndrios distribuem-se uniformemente, sem deixar entrever uma organização, nas duas células novas.

Depois de curto período de repouso, época esta em que ainda tem lugar alteração no interior do núcleo (reconstituição do corpo de 8 valores, fig. 55), os dois espermiogônios secundários passam novamente por tôdas as alterações de uma divisão equacional, idêntica à que já foi descrita para o espermiogônio primário. Como resultado, encontramos então um grupo de 4 espermiogônios, correspondendo a um cisto-2², em cuja parede externa o sincício apical já inicia a formação da sua parede. Depois de mais outra divisão de multiplicação se forma um cisto-2³, com 8 células que, terminada a telófase, se colocam ao redor de um ponto central, adaptando as suas formas de maneira a que cada célula se torne piriforme. Tôdas as extremidades apicais estão dirigidas para o centro (fig. 19); dêste modo, se forma um corpo esférico, de 8 células, que apresenta, num corte mediano, o aspecto de uma roseta. Nesta fase, os mitocôndrios acumulam-se nos pólos celulares, dispostos no centro da roseta, formando aí um conjunto central que cobre até os limites de cada célula (fig. 19, MC). Depois da divisão, que se verifica nos componentes do estágio-2⁴, a forma da roseta pode ser ainda observada mas, apenas, pouco distintamente. A concentração dos mitocôndrios não mais existe; êles se encontram, como nos espermiogônios primários, espalhados uniformemente, sob forma de pequenos grânulos, por todo o protoplasma. Depois de um total de 8 divisões de multiplicação (figs. 22-23), chegamos ao estágio-2⁸ com 256 espermiogônios que, crescendo, formam os espermiócitos que sofrem modificações características no interior do núcleo (veja adiante).

Devemos citar, neste ponto, algumas observações complementares no que se refere ao aspecto e à formação dos cromosomas, pois, aparentemente, os cromosomas espermiogonais se formam de modo diverso, em princípio, daqueles surgidos das duas divisões de maturação. Depois do aparecimento da fenda longitudinal nos cromosomas (figs. 41-43), as distâncias entre os grânulos sôbre os fios de linina, que aliás podem ser individualizados muito bem ao microscópio, começam a diminuir até que as partes cromáticas se fundem sôbre os fios, dando, assim, o aspecto das figuras 47 *a-c*, onde 1 e 1' correspondem às duas metades dos cromosomas, representando a zona clara mediana o plano da fenda. Pela diminuição que se verifica em seguida, no sentido do eixo longitudinal (fig. 47, *d-g*) a massa de cromatina vai condensar-se mais, até formar dois corpos (fig. 47 *a*) que estão ligados entre si, por uma zona clara que é atravessada por fios de linina. Êstes devem estar em cor-

respondência com as ligaduras transversais entre os grânulos homólogos (figs. 41-43). Na figura 56, encontra-se um esquema deste processo.

Durante a 8.^a divisão espermiogonial, houve uma diminuição do diâmetro da placa equatorial da metáfase do espermiogônio da fase-2⁷, com 128 células (com 9,5 μ no espermiogônio primário) para apenas 3,5 μ (tab. 1 e fig. 29). Depois desta divisão, que vai dar origem ao estágio-2⁸ com 256 espermiócitos em cada cisto, não se verifica, por enquanto, mais nenhuma outra, pois a célula e o próprio núcleo entram na prolongada fase do crescimento, durante a qual o diâmetro do núcleo se duplicará. Este fato é apresentado na figura 28. Durante esta época, o conteúdo do núcleo sofre as alterações características que vão preparar os cromosomas para a 9.^a divisão que se verificará mais tarde.

b) *Espermiócitos*

Depois da 8.^a divisão espermiogonial, o núcleo não entra numa fase de descanso mas prepara a primeira divisão de maturação. Os *Triatominae* como quase todos os *Heteroptera*, não constituem um material muito apropriado para o estudo dos fenômenos da maturação, pois, por um lado, os núcleos são relativamente pequenos e os cromosomas mais ou menos uniformes, e, por outro, a série de observações é interrompida, justamente no ponto mais interessante e mais decisivo, em consequência de uma condensação completa da massa cromática, formando o chamado "emaranhado sináptico". Em *Triatoma infestans*, as coisas já se mostram de modo um pouco mais favorável, pois três dos pares dos cromosomas (A, B e C) sobressaem-se nitidamente dos demais, pelo seu comportamento heteropicnótico; entretanto, eles também entram na formação do emaranhado sináptico.

A seqüência das fases preparatórias para a 9.^a e 10.^a divisões, divisões estas pelas quais a guarnição diplóide, com 22 cromosomas, é reduzida para o número haplóide de 11, fenômenos êsses que, em traços gerais, correspondem aos fatos descritos por WILSON (1912) para *Onco-peltus fasciatus* (*Lygaeidae*). O autor divide o intervalo que ocorre entre a 8.^a e a 9.^a divisões, em 10 fases distintas, que podem ser resumidas em 4 grupos. Em seguida, damos um resumo da concepção de WILSON sobre o fenômeno, pois, em relação às fases preparatórias dos espermiócitos, para as duas divisões de maturação, podemos seguir o esquema traçado pelo mesmo:

1. Fase pressináptica apenas com ligeiro crescimento celular depois da 8.^a telófase:

a) retículo grosseiro de cromatina sem individualização dos cromosomas

b) formação de corpos cromáticos compactos, em número diplóide, compostos nitidamente de grânulos

c) cada corpo cromático desenrola-se, dando um fio leptotênico

d) os fios do leptóteno se alongam, formando os fios do espirema, e se entrelaçam.

2. Fase de contração:

e) emaranhado denso de cromatina (emaranhado sináptico); estágio durante o qual tem lugar uma nucleinação e conjugação (síndese) dos autosomas (pseudo-redução) (correspondendo aos diplóteno e paquíteno — estágio de buquê dos *Orthoptera*).

f) dissolução do emaranhado, individualizando-se o número haplóide dos fios cromáticos (fios bivalentes do paquíteno); início do crescimento intensivo.

3. Fase dos cromosomas difusos:

g) transformação dos autosomas de número haplóide, dando origem a séries de grânulos, maiores ou menores, dispostos sobre os fios de litina; continuação de crescimento celular.

4. Prófase da primeira divisão de maturação (meiose):

h) o plastosoma desaparece, nova nucleinação, condensação dos autosomas, fim do crescimento celular acentuado

i) formação de tétrades

k) condensação das tétrades e formação dos cromosomas bivalentes.

5. Metáfase da primeira divisão de maturação.

Neste resumo citado, não foram mencionados os heterocromosomas, pois em *Triatoma infestans* eles não têm correspondência no esquema descrito por WILSON para *Oncopeltus fasciatus*. Em seguida, descreveremos as observações feitas em *Triatoma infestans*, seguindo as 10 etapas da fase preparatória que precedem as divisões de maturação acima citada.

Estádio a:

A cromatina do novo espermiócito, resultado da 8.^a divisão dos espermiogônios, não se distribui dentro do núcleo recentemente formado, o que dá o aspecto de um núcleo em repouso mas, ao contrário, passa sem modificação para o estágio a: a maior parte da cromatina separa-se da massa cromática central (fig. 55) formando grânulos menores ou maiores que se distribuem sobre os fios de linina, ligeiramente coráveis e que, do mesmo modo, se dispõem uniformemente por todo o núcleo (figs. 57 e 58). A parte restante da massa cromática representa um corpo compacto e que se mantém durante todo o estágio do retículo grosseiro (fig. 58). Não está ainda bem esclarecido se este corpo heteropicnótico corresponde ao corpo de 8 valores do espermiogônio, pois nunca pôde ser observada num cisto-2⁸ a formação do mesmo, como aliás, foi dito em relação às divisões antecedentes (por exemplo no cisto-2⁵ na figura 55).

Estádio b:

As fileiras de granulações do retículo grosseiro começam a concentrar-se agora em certos pontos dos fios de linina, formando corpos cromáticos compactos cuja constituição por partículas pequenas continua

bem visível, os seus contornos são irregulares e a sua coloração sempre aparece um pouco acinzentada, indicando, com isto, que os corpos são formados por conglomerados. Ao se verificar êste período dos corpos cromáticos compactos, tem início o estágio *b*. A massa heteropicnótica desaparece, restando em seu lugar, apenas, dois pequenos corpos ovais, com contornos nítidos e coloração bem escura. Trata-se, aparentemente, dos dois heterocromosomas heteropicnóticos que sempre ficam isolados e não possuem ligaduras de linina, nem entre si, nem com o retículo onde se encontram os corpos cromáticos restantes (figs. 50 e 60). Ao fim dêste estágio, os corpos cromáticos aumentam, tornando-se mais frouxos e menos coráveis, enquanto que os dois heterocromosomas permanecem com as formas e a afinidade aos corantes constantes.

Estádio *c*:

Cada corpo cromático compacto desenrola-se, dando um fio fino, ligeiramente encurvado, com granulações pequenas (figs. 61 e 62). Esta passagem só pode ser observada com dificuldade no nosso material, de qualquer modo não tão nitidamente como foi apresentado por WILSON nas suas figuras. Entretanto, torna-se relativamente fácil verificar que o número dos corpos cromáticos é de 20, correspondendo assim ao número dos fios dêste estágio. Os fios, que podem ser chamados de leptotênicos, mantêm ligações entre si por meio de filamentos de linina, os quais não possuem partículas de cromatina. Não se pode dizer que se trate de um fio contínuo e resultante da junção de todos os cromosomas; a presença dos fios de linina, em geral, pode ser observada durante tôda a espermiogênese e indica a permanência do retículo de linina. Os dois heterocromosomas encontram-se ainda com a mesma forma que no estágio anterior, situados do lado de fora dos fios que estão ligeiramente emaranhados (fig. 62, X e Y).

Estádio *d*:

Durante um curto período (neste estágio raras vêzes existem mais do que 1 ou 2 cistos em cada folículo), os fios tornam-se muito finos e delicados, mais ainda do que os representados na figura 61. O estágio corresponde ao espirema. Não foi possível esclarecer, histologicamente, se êstes fios finos são o resultado de um alongamento ou de uma denucleinação temporária. Mas, logo depois, ao fim dêste estágio, os fios se espessam fortemente, encurtando-se e concentrando-se mais e mais no centro do núcleo (figs. 63 e 64). Êles possuem, ainda bem visíveis, as ligaduras de linina que os comunicam entre si. Também constituem, sem dúvida alguma, os fios univalentes que, sofrendo uma concentração crescente, já nos indicam o início do estágio seguinte. Os heterocromosomas se mantêm inalterados.

Estádio *e*:

No estágio "e", os fios se contraem ainda mais, emaranhando-se muito entre si (fig. 65). As ligaduras de linina podem ser observadas entre os laços do "novêlo" ainda frouxo (fig. 65, LB). Na segunda parte des-

ta fase, todo o conjunto se contrai fortemente. Os heterocromosomas saem do mesmo e se colocam lateralmente na zona periférica clara, sem cromatina (fig. 66, HZ). Agora não mais se conseguem observar as ligaduras de linina; na parte central concentrada, podem ser vistas estruturas, apenas pouco nítidas, que se distinguem uma das outras pela sua afinidade diferente aos corantes. Nunca se puderam observar formações especiais no interior no novêlo sináptico contraído de modo que ficamos completamente sem informações quanto aos fenômenos que ocorrem durante tal estágio. Procuramos destruir o emaranhado central por meio de esmagamento mas, mesmo assim, o resultado foi sempre negativo, pois o material se partia em fragmentos indefiníveis. O novêlo permanece presente durante muito tempo pois é encontrado em cada folículo, em numerosos cistos vizinhos, sempre com o seu aspecto inalterado.

Estádio f:

As coisas á se tornaram menos complexas depois do desenrolamento do novêlo sináptico, e que ocorre neste estágio. Agora aparecem novamente fios, com afinidade intensa para a hematoxilina, formados por filamentos nitidamente duplicados (est. 9, fig. 67, est. 10, figs. 68-70), com grânulos de cromatina maiores ou menores, distribuídos uniformemente sôbre os mesmos. Quanto às partículas maiores pode certificar-se que as que se justapõem sôbre os pares de fios são sempre do mesmo tamanho, estando unidas entre si por ligaduras finas de linina e possuindo os tais fios laterais que se vão comunicar com as granulações de outros fios (fig. 70). A formação dos fios duplos, sem dúvida, é um dos resultados da fase de contração onde ocorre a síndese (conjugação) dos cromosomas homólogos. Sendo o novêlo do estágio "e" muito denso, não podemos bservar o processo da síndese, de modo que nada pode ser dito sôbre o modo pelo qual ocorre. Mas, pelo aspecto histológico dos fios duplos do estágio "f" podemos concluir, de maneira indireta, que se verifica uma parassíndese (conjugação paralela), pois a formação da fenda longitudinal secundária sômente ocorre muito mais tarde no início da diacinese (veja abaixo). O fio duplo citado pode ser composto simplesmente por dois cromosomas paralelos; com isto, o espaço entre os componentes forma a fenda longitudinal primária (fenda da síndese). Contam-se neste estágio sempre 7 fios. Eles originam-se com ligeira emissão de alças, de um corpo compacto de cromatina, colocado sempre perifêricamente (figs. 67 e 69, 5-W). Como será provado mais tarde, êste se origina da fusão dos três grandes autosomas A, B e C e dos dois heterocromosomas, daí encontrarmos sômente 7 fios de autosomas no paquíteno.

Estádio g:

Enquanto o corpo cromático compacto mantém inalterada a sua forma mais ou menos variável (fig. 71 b), os fios duplos se alongam no início dêste estágio. Os grânulos, de posição oposta, aos pares, aproximam-se entre si (fig. 71 a ec), começando a tornar-se menos nítidos, o mesmo ocorrendo com o fio de linina. O conjunto dá a impressão de

que os fios de cromatina sofreram uma embebição mas, aparentemente, todos os fios se mantêm individualizados em toda sua extensão (figs. 71 e 73). Neste estágio, a célula e especialmente o núcleo sofrem um crescimento rápido e intenso (compare as figuras 72, 73 e 74). É interessante analisar este estágio dos cromosomas difusos do ponto de vista da histologia geral. Sabemos que os processos de regeneração e crescimento do corpo protoplasmático de uma célula são regulados por substâncias partidas do núcleo. Em células glandulares, a regeneração do protoplasma, depois da fase secretorial, começa ao mesmo tempo ou, imediatamente depois, que se verificou uma expulsão de substâncias líquidas do núcleo. No nosso caso, ou seja no estágio *d*, também ocorrem modificações importantes no interior do protoplasma, provocadas por condições inerentes da própria célula, pois, em cistos vizinhos, banhados pela mesma testicolinfa, estes processos não se verificam do mesmo modo e simultaneamente em todos eles. A fonte que controla o crescimento do protoplasma só pode ser o próprio núcleo. É de se supor que um núcleo com aspecto de "repouso" — considerando-se a disposição da sua cromatina — está mais apto para orientar estas modificações do que um outro, com os cromosomas mais ou menos delimitados, o que indica que os ácidos nucléicos, em sua maior parte, estão fixados ou inativados nos mesmos. Sabemos também que o núcleo, quando em repouso, não está absolutamente inativo, mas sim, ao contrário, que ele se está preparando para poder eliminar as citadas substâncias líquidas (provavelmente ácidos nucléicos ou seus derivados). Desta maneira, pode interpretar-se o estágio dos cromosomas difusos como uma fase ativa, intercalada na prófase, e que tem a cromatina grandemente denucleinada.

Estádio h:

Ao se terminar o crescimento, o núcleo inicia novamente a fase preparatória da primeira divisão de maturação. Neste estágio (diacinese), os grânulos difusos de cromatina primeiro se concentram, formando numerosos conglomerados uniformemente dispersos no protoplasma (fig. 72) e que depois se reúnem na formação de 7 corpos irregulares, menores ou maiores (figs. 73 e 74). O corpo compacto de cromatina originado pela fusão dos três macrocromosomas A, B e C e dos dois cromosomas sexuais X e Y por ora ainda mantém a sua forma. A reunião das granações de cromatina, para a formação dos 7 corpos, tem lugar, provavelmente, ao longo dos fios de linina, pois no início deste estágio (figs. 72 e 73) observa-se que os mesmos ainda estão ligando aos grânulos, aparentemente espalhados, desordenadamente, no núcleo.

Estádio i:

Os 7 corpos, ainda irregulares, dos outosomas, começam agora a sua transformação definitiva em cromosomas propriamente ditos (tétrades) da primeira divisão de maturação. O corpo compacto de cromatina ainda se mantém inalterado e, só mais tarde, inicia lentamente a fragmentação em seus constituintes primitivos (figs. 75 *a-d*).

A formação das tétrades definitivas, e que dão origem aos 7 cromosomas isolados e não heteropicnóticos, é um processo contínuo, iniciando-se êste com a sínese e tornando êste estágio "i", a diacinese propriamente dita, mais evidente. No estágio "h", a massa cromática de cada cromosoma, que até então era difusa e uniformemente distribuída sob a forma de granulações finas sobre os fios de linina, foi concentrada (fig. 74). Agora a condensação continua; histologicamente não é possível provar se se trata de uma nucleinação ou de um processo de desidratação. Seria um problema interessante de pesquisa microquímica verificar se a quantidade de ácidos nucléicos aumenta durante esta concentração ou se permanece a mesma. A condensação não se realiza uniformemente sobre todo o corpo cromático, porém faz-se mais intensamente nos bordos, enquanto que, no centro, inicialmente, aparece uma zona mais clara (fig. 76) que se torna mais e mais transparente até o desaparecimento de toda a substância, dando como resultado a formação de um corpo anular (figs. 77 e 78); saindo dos lados dêste, existem fios de linina dispostos radialmente (fig. 77, no centro). A largura do anel não é regular, apresentando alargamentos simétricos em forma de asas. Êle é pouco visível logo depois de se formar (fig. 76), tornando-se mais nítido posteriormente (figs. 77 e 78). Estas expansões encontram-se sempre dispostas regularmente, sendo os pares da mesma forma. Os segmentos homólogos situam-se sobre linhas paralelas ao eixo de simetria das tétrades (fig. 78, de a B) que, provavelmente, correspondem à fenda da sínese (no caso da parasínese) (veja acima). A identificação do citado eixo de simetria com a fenda da sínese só pode ser aceita sob restrições, pois durante o estágio dos cromosomas difusos, os fios conjugados (depois da fase de contração) não aparecem mais sob a forma de fios duplos. Esta restrição é válida para toda a formação das tétrades, bem como, para a questão das pré o post-redução. No estágio das tátrades anulares, aparece mais uma fenda longitudinal, em posição vertical à primeira. Dada a sua posição, ela é visível somente em tétrades vistas rigorosamente do lado (fig. 79, na fig. 77 um pouco esquematizado). Êste fato conduz, em linhas gerais, a aceitar a existência da parasínese, constituindo entretanto apenas uma prova indireta. A fenda longitudinal secundária só pode ser observada por pouco tempo (durante a fase mediana da diacinese, antes do começo da fragmentação do corpo compacto de cromatina (fig. 77). Pouco depois, com o primeiro sinal da desintegração do corpo citado, as metades de cada cromosoma aproximam-se tanto que a fenda desaparece (fig. 78). Ao mesmo tempo, o diâmetro do anel da tétrade diminui, ficando dêsse modo aumentados os seus grânulos. O anel, em geral, compõe-se de 4 grânulos duplos (figs. 80 e 81 a) ligados entre si por partes de cromatina mais fina.

Estádio k:

Durante o último estágio, os grânulos duplos reúnem-se, formando 4 partículas grandes (figs. 80 b e 81 b). Em seguida, verifica-se um encurtamento em direção do eixo da simetria, aliás da fenda da síntese, e os grânulos de cada par se alongam (figs. 80 c e 81 c e d) e juntam-se

intimamente um ao outro. O encurtamento prossegue ainda mais, até resultar a forma das figuras 80 e, da qual se pode concluir que apenas um encurtamento do eixo de simetria é suficiente para provocar uma convexidade dupla do centro dos cromatídeos, chegando assim o cromosoma á sua forma definitiva. Durante êstes processos, que começam com a contração da massa cromática, no início da diacinese, os cromosomas situam-se de encontro à parede do núcleo.

Na mesma posição encontra-se o corpo compacto de cromatina; apenas êle penetra, em virtude do seu tamanho, profundamente no interior do núcleo. Êle é formado durante a fase do novêlo sináptico e permanece durante todo o diplóteno e paquíteno, com contornos nítidos e mesma forma (figuras 67, 69 e 71). Durante o estágio dos cromosomas difusos, a sua delimitação torna-se imprecisa (fig. 72). No início da diacinese, êle permanece compacto, mas novamente, com contornos nítidos. Na segunda metade da diacinese, com 7 autosomas isolados, já no estágio de anéis (fig. 77), êle começa a partir-se, formando três fragmentos (fig. 76). Estas partes, ainda ligadas entre si (est. 11, fig. 83), deixam observar os mesmos aspectos encontrados nos 7 autosomas: a parte central de cada fragmento torna-se mais clara, até a formação de três anéis, composto cada um por 4 grânulos duplos unidos entre si por ligaduras de linina, inicialmente largas (fig. 83) que, mais tarde, vão diminuir. Êste processo, observado em vários cistos, é representado na figura 75 a-k. As ligaduras continuam a diminuir, até restar somente um fio de linina fino, igual ao que foi encontrado em estádios antecedentes, porém sob uma forma menos nítida (fig. 75 g-i). Os três fragmentos, que como agora ficou provado, correspondem aos três grandes autosomas restantes, sofrem a transformação em cromosomas definitivos da metáfase, mais rapidamente que os outros 7, de modo que, no momento da formação da placa equatorial, todos os dez autosomas entram, simultaneamente, no mesmo estágio evolutivo. Durante o deslocamento para a composição da citada placa, não foi observada uma heterocínise dos três grandes autosomas.

Os dois heterocromosomas deixam observar um comportamento bem característico, fato que já foi mencionado por SCHREIBER e PELLEGRINO: no momento do início da fragmentação do corpo cromático compacto, encontram-se, por ocasião da existência das ligaduras de linina ainda largas, dois corpos de cromatina, um maior e o outro menor (figs. 75 i e l, 83 e 75 k e h onde, em virtude da superposição, o fato não se mostra muito nítido) incluídos nas ligaduras intercaladas, porém, fora dos três anéis. Êstes dois corpos, durante o encurtamento das ligaduras, saem finalmente do fio de linina (fig. 75 l), penetrando, logo em seguida, sob a forma de heterocromosomas, no centro da placa equatorial. Ambos, em geral chamados X e Y, não deixam observar a transformação em tétrades, pois formam, a seguir, cada um, um corpo redondo em que não pode ser observada a fenda longitudinal. Sendo os mesmos mais tarde divididos em segmentos iguais na anáfase da divisão seguinte, teremos que considerá-los como díades que se origina-

ram, de cada vez, de duas metades iguais, separadas pela fenda secundária.

Com a formação dos 12 cromosomas, a prófase está terminada. A composição da placa equatorial, que agora se verifica, efetua-se muito depressa, pois, nos cortes, os estádios de transição, raras vezes são encontrados. Os cromosomas definitivos, com seu material constitutivo fortemente condensado, colocam-se na parede nuclear, também o fazendo os três macro e os dois heterocromosomas.

Pouco antes do fim da condensação dos cromosomas, aparecem os dois centríolos, em pontos opostos, formações estas até então mal visíveis. Quase ao mesmo tempo, a membrana nuclear se dissolve, simultaneamente, e os cromosomas são ligados aos filamentos polares dos centríolos que também aparecem, súbitamente, na mesma ocasião. Na figura 94 é apresentado um destes conjuntos de fusos, visto de cima. Concomitantemente todos os cromosomas dispõem-se num plano perpendicular ao eixo dos fusos. Todos estes fatos ocorrem tão rapidamente que não é possível observar a seqüência dos processos. Este conjunto de orientação e deslocamentos, provavelmente se efetua de maneira repentina. Depois dos cromosomas se colocarem no equador, formando a placa equatorial, os processos, aparentemente, se retardam: no início, os cromosomas se dispõem desordenadamente (fig. 84); mas, lentamente, eles começam a seguir uma orientação típica para as divisões de maturação: os autosomas formam um anel no plano do equador, incluindo-se os dois heterocromosomas no centro do mesmo (figs. 85-87). Estes dois encontram-se, apenas excepcionalmente, no mesmo plano dos outros, colocando-se, de ordinário, o menor, Y, abaixo do maior, X, visto de cima, e em geral, um pouco deslocado para o lado, mas, muitas vezes, até mesmo verticalmente abaixo de X, de modo que, neste caso, são visíveis apenas 11 cromosomas na placa equatorial. A seqüência dos 10 autosomas no anel é variável de célula para célula.

Vistos de lado, os autosomas apresentam-se sob a forma de curtos bastões, com extremidades arredondadas (est. 11, figs. 88, 89; est. 12, fig. 90), enquanto que vistos de cima, têm os seus contornos mais ou menos ovais. No seu equador, encontra-se uma zona clara que — feitas as restrições acima apontadas — corresponde à fenda da síndese. Esta fenda não pode ser demonstrada nos heterocromosomas (figs. 84 e 91). Procedendo-se a uma diferenciação intensa aparece, vista lateralmente, uma outra fenda perpendicular à zona mediana, correspondendo ao espaço, caracterizado na figura 82, formado pelo afastamento das partes centrais dos dois cromosomas durante a formação das tétrades. Vista de cima, também somente depois de forte diferenciação, pode observar-se uma outra zona clara, no centro dos cromosomas, especialmente naqueles que acabam justamente de entrar na placa equatorial (fig. 84). Esta zona devia corresponder à fenda secundária, ou seja à fenda equacional, apresentada para as tétrades nas figuras 77 e 79.

Depois de uma diferenciação mais fraca, os cromosomas da placa da metáfase se apresentam ligados entre si por fios de linina que têm pouca afinidade para a hematoxilina, o que também já foi dito, por oca-

sião da metáfase dos espermiogônios. Vistos de lado, os cromosomas podem ser classificados, quanto ao tamanho, em grupos (fig. 90): 3 grandes autosomas (A, B e C), 2 autosomas médios (D e E), 5 pequenos autosomas (F—K) e 2 heterocromosomas (X e Y).

As duas extremidades dos autosomas, por ocasião da placa equatorial, estão ligadas cada uma aos centros dos pólos das figuras dos fusos por meio de dois fios (figs. 88, 89 e 92) que se fixam no meio do cromosoma, sugerindo-se que a zona mediana dos autosomas corresponda à fenda da síndese. Não foi possível provar — mas tudo indica — que os fios se fixam cada um, em uma das metades das tétrades, que se originam em virtude da fenda secundária. Os heterocromosomas possuem, em cada extremidade, um só fuso. Ao entrar na anáfase, os dois heterocromosomas dividem-se no sentido transversal (figs. 88 e 89). Não pode ser observada uma linha de divisão preexistente. Depois de pouco tempo, também as tétrades se dividem na zona mediana (fig. 92), e afastam-se, indo para os pólos dos fusos. As duas metades de cada cromosoma ainda permanecem ligadas, entre si, por um fio. De acôrdo com o que se verifica na anáfase, tem-se a impressão de que a separação se efetuou com uma certa violência, pois, ao longo dos fios do conjunto dos fusos, ficam aderidas porções de cromatina como se a tétrade tivesse sido partida bruscamente (fig. 92). Estas, mais tarde, se dirigem lentamente para o corpo das novas díades e, ao terminar a anáfase, novamente se reúnem ao mesmo. Em seguida, ocorre o arredondamento das díades e, simultaneamente, a formação do novo corpo cromático compacto, em cada núcleo-filho (fig. 93 *a*). Agora, também, o corpo celular começa a estrangular-se no plano da antiga placa equatorial e as novas células separam-se, como já foi descrito para os espermiogônios. Com isto termina a telófase. As metades dos fusos contraem-se, formando um corpo denso, mais ou menos redondo, dentro da célula e, simultaneamente, surge nova membrana nuclear.

Sendo os dois autosomas conjugados, agora separados pela divisão, ao longo da fenda da síndese, a primeira divisão de maturação é reducional — feita sempre a restrição mencionada acima. Bem diferente é o comportamento dos heterocromosomas que não se conjugaram e foram divididos, de acôrdo com a linha que corresponde à fenda secundária dos autosomas; logo, a divisão destes últimos é equacional.

c) *Prespermídeos*

Depois da primeira telófase, o corpo compacto de cromatina, formado por todos os cromosomas (fig. 95 *a*), divide-se em fragmentos cromáticos de contornos pouco nítidos, acham-se em posição periférica e em número haplóide. Os restos dos fusos ainda continuam a encurtar-se. O centríolo divide-se e as duas metades descrevem cada uma um ângulo de 90°, em sentidos contrários, até ocuparem os dois pólos opostos do núcleo; isto leva à suposição de que êles se afastam um do outro em virtude das suas cargas elétricas (fig. 95 e 96). Ao mesmo tempo, o núcleo se torna e descreve um ângulo de 90°, colocando-se numa posi-

ção excêntrica no interior da célula. Ainda é completamente inexplicável se esta torção é um processo cinético do próprio núcleo, ou, se talvez, é uma consequência do encurtamento do resto dos fusos.

Enquanto que o último continua a encurtar-se, formando, finalmente, uma condensação do protoplasma, sem delimitações nítidas e, em forma de esfera, que, lentamente vai desaparecer, a cromatina se condensa novamente e formam-se imediatamente os cromosomas da segunda divisão de maturação. Eles apresentam, quando vistos lateralmente, o mesmo aspecto que os da primeira divisão, somente que, agora, as medidas diminuem consideravelmente (fig. 97). A zona mediana e a fenda vertical se encontram com as mesmas formas que as dos cromosomas da primeira placa equatorial. Desta maneira, muitas vezes, torna-se difícil a diferenciação entre as duas divisões, o que porém é facilitado se observamos a placa de cima: enquanto que os autosomas da placa da primeira divisão apresentam os contornos bem ovais, com uma zona clara no eixo maior — particularmente bem visível nos grandes A, B e C — os da segunda placa equatorial são precisamente arredondados, nunca possuindo esta zona clara (est. 12, fig. 97, est. 13, fig. 99). Com isto, vistos nesta posição, eles dão o mesmo aspecto que os heterocromosomas da primeira divisão. Depois de uma diferenciação ligeira, se observam, olhando de cima, bem como do lado, fios de linina entre todos os cromosomas, característica também encontrada na primeira placa equatorial. Examinando-se o conjunto de cima, os fusos, projetados sobre o plano da placa equatorial, podem fazer crer que se trate dos fios de linina. Temos o mesmo aspecto como na primeira divisão, só que todas as medidas são menores. X e Y encontram-se um acima do outro (fig. 100), circundados pelo anel dos 10 autosomas. Também aí, como na primeira divisão, ocorrem irregularidades na formação da placa equatorial de maneira que um ou dois dos autosomas entram no anel (fig. 98 a). X e Y em geral estão situados acima e abaixo do plano equatorial (figura 100). Todos os autosomas estão ligados às zonas que circundam os centríolos por um só fuso que se estende para os dois pólos; os heterocromosomas, ao contrário, estão fixados cada um a apenas um dos pólos por um só fio (fig. 100).

Ao início da anáfase, os autosomas se dividem em sua zona mediana e as metades translocam-se rapidamente aos pólos. X e Y não se dividem; emigram, mais lentamente, cada um para o seu pólo (figs. 101 e 102). Esta heterocinese dos heterocromosomas foi observada somente na segunda e, nunca na primeira divisão de maturação. Neste estágio, em geral próximo do plano da placa equatorial, encontra-se pequeno corpo esférico, de limites bem acentuados (figs. 101 e 102), já observado em fases antecedentes mas que então, tinha uma afinidade menor para a hematoxilina do que na fase agora descrita. A sua função é completamente obscura. Na telófase, todos os cromosomas juntam-se, formando um corpo de cromatina, denso (fig. 103), e a divisão da célula realiza-se, como foi descrito acima para os espermiogônios. O número dos cromosomas importa agora em 11 (10 autosomas e 1 heterocromosoma).

Os espermídeos, assim formados (figs. 105 e 106), reconstroem, durante a fragmentação do conglomerado de cromatina, a sua membrana nuclear (figs. 107 e 108). Estas porções de cromatina, que assim se formam, mais ou menos uniformes, encontram-se sempre em mesmo número que os cromosomas haplóides, montando a 11; enquanto que os 10 autosomas apresentam contornos mais e mais difusos, apenas o heterocromosoma, agora único, permanece bem limitado e, na sua forma original. Com isto, terminam as divisões de maturação e o espermídeo entra na fase de espermiohistogênese para formar, finalmente, o espermio definitivo.

Durante as prófases das duas divisões de maturação, o aparelho de Golgi, em forma de retículo grosseiro, coloca-se sobre uma superfície esférica que circunda o núcleo, à pequena distância (est. 14, figs. 109 e 110). O melhor método para tornar visível o citado aparelho foi a fixação por O_8O_4 (0.5% em ácido crômico a 1%) com 10 cm³ de sublimado (soluto saturado aquoso) para cada 100 cm³ do ácido. Uma coloração subsequente pela hemoxilina férrica não altera em nada a tonalidade já escura do aparelho de Golgi, enquanto que os mitocôndrios se tornam negros e cobrem, em grande parte, o citado aparelho. No início da metáfase, o aparelho concentra-se no plano da placa equatorial (fig. 111, GA). Aí tem lugar uma divisão cujo mecanismo não pôde ser observado, entretanto, durante a anáfase, por ocasião dos cromosomas aglomerados, aparece, de cada vez, uma concentração da substância do aparelho de Golgi, em quantidades aproximadamente iguais, de cada lado da célula (fig. 112, GA). Os mesmos fenômenos também na telófase (fig. 113, GA).

Durante a diacinese, os mitocôndrios, distribuídos em pequenas partículas sobre o protoplasma durante os processos preparativos que precedem a prófase, concentram-se no interior e no exterior da esfera do aparelho de Golgi (fig. 109, parte esquerda, MI). Na metáfase, eles colocam-se sobre a superfície da figura dos fusos, acumulando-se, entretanto, mais ou menos intensamente, nos pólos (fig. 111, MI). Essa concentração nestes pontos vai aumentando durante a anáfase e telófase (figs. 112 e 113) mas, aparentemente, a divisão da massa dos mitocôndrios não se efetua com a mesma precisão como acontece com os cromosomas (fig. 103).

A segunda parte deste trabalho (sobre a espermiohistogênese) tratará da distribuição exata dos vários estádios evolutivos em relação ao comprimento total do folículo.

A formação dos cromosomas da metáfase dos prespermatídeos merecerá um estudo mais acurado. Já vimos que os autosomas, durante a primeira divisão de maturação, foram divididos ao longo da fenda da síndese (fig. 92). As díades, formadas pelo fendilhamento longitudinal de cada cromosoma, encaminham-se cada um para o seu centríolo. Denominando as metades da grande tétrade A de 2a e 2b, encontraremos, na telófase, perto de um dos centríolos, a díade 2a e do outro, a 2b. Cada díade, correspondendo ao esquema apresentado na figura 82 — sob a restrição já estabelecida na parasíndese — compõe-se de

dois cromatídeos, curvados em forma de ferradura, bem ajustados entre si; cada um está ligado com o seu centríolo por um fuso. A ligação entre eles se interrompe no momento da formação da nova membrana nuclear, depois da primeira telófase. As díades definitivas podem nascer das díades da primeira telófase (chamada díades paralelas), por dois processos: repetimos que a díade da metáfase se compõe de dois cromatídeos em forma de ferradura, ligados entre si pelas duas extremidades, dirigindo-se um dos arcos para cima e outro para baixo. Para chegar a esta forma, temos que admitir uma torção, no plano horizontal, de 90° para cada lado, como primeira possibilidade de formação das díades definitivas. Com isto, tôdas as extremidades dos cromatídeos perdem a ligação entre si. Pela segunda hipótese, chegamos à forma definitiva por meio de um movimento giratório de 90° para cada cromatídeo, tomando para eixo de rotação a linha que liga tôdas as extremidades dos cromatídeos. Assim as extremidades permanecem unidas. Esta segunda possibilidade parece a mais provável em virtude de alguns aspectos dos núcleos da intérfase, que podem indicar o movimento giratório, mas estas observações não foram feitas em número suficiente de vêzes para provar esta suposição. Considerando a eletricidade estática dos cromatídeos como a fonte da energia para o aludido processo cinético, êste segundo caminho ainda se torna mais provável: cada um dos 4 cromatídeos possui a mesma quantidade de eletricidade estática. Na tétrade, encontram-se duas unidades elétricas, em equilíbrio, de cada lado. Depois da divisão, ao longo da fenda da síndese, observamos, em cada díade de cada vez, 2 cromatídeos da mesma carga e em posição paralela. Correspondendo às unidades elétricas equivalentes, que se repelem, nasce um movimento giratório em tórno do eixo que passa através das extremidades dos cromatídeos. Estas considerações teóricas ainda não foram definitivamente comprovadas por observações em número suficiente.

5. RESUMO

Neste trabalho, faz-se o estudo das estruturas anatômica e histológica do testículo de *Triatoma infestans*. Da espermiogênese, descrevem-se apenas as fases que medeiam entre a formação dos espermiogônios e a dos espermídeos (espermiocitogênese). A espermiogênese bem como as anatomias do *vas deferens* e das glândulas anexas serão tratados na segunda parte dêste trabalho, já em preparo.

O testículo de *Triatoma infestans* possui 7 folículos dos quais cada um se abre num *vas efferens* próprio, curto, desembocando êstes num único *vas deferens* geral. Na zona de transição entre *vas efferens* e *vas deferens*, encontra-se sempre um conjunto de massas tissulares que se estão necrosando em virtude da decomposição das paredes dos cistos. Em conseqüência, os feixes de espermios são libertados e passam através do *vas efferens* para o *vas deferens*. As substâncias líquidas que então se formam, resultado da necrose, são reabsorvidas pelo epitélio do

vas efferens, entrando novamente em circulação na hemolinfa; o epitélio possui um rabdório muito longo.

A parte superior do conteúdo de cada folículo dispõe-se ao redor de grande célula apical cuja função principal deve ser a de uma atividade reguladora que está relacionada com a diferenciação das células do conjunto germinativo em espermiogônios primários e em núcleos das paredes dos cistos.

Nos espermiogônios, são verificadas 8 divisões de multiplicação, o que vai dar a formação de 256 espermiócitos, número êsse que depois das duas divisões de maturação, que se seguem, originará 1 024 espermiódeos. Em seguida, são descritos os fenômenos que ocorrem durante a prófase e as duas divisões de maturação. Temos que admitir a existência de uma parasíndese. Pela formação das tétrades, pode-se concluir que a primeira divisão é reducional e a segunda equacional, existindo, pois, uma pré-redução.

Triatoma infestans possui 22 cromosomas no espermiogônio, dos quais 2 são heterocromosomas, sendo X, o maior e Y, o menor, pois, por observações comparadas de oogônios, verificou-se que o grande está ausente, enquanto o pequeno existe em número duplo.

Os autosomas da guarnição equatorial, reduzidos pela primeira e segunda divisões de maturação, podem ser distribuídos, quanto ao seu tamanho, em três grupos: 3 grandes (A, B e C), 2 médios (D e E e 5 pequenos (F, G, H, I e K). A, B e C, bem como os heterocromosomas, são heteropicnóticos, formando, tanto nos espermiogônios como nos espermiócitos, depois da sinapsis, um corpo de 8 valores, respectivamente de 5 valores, corpos êsses que permanecem fortemente condensados, mesmo quando os outros cromosomas se individualizam ou quando formam os cromosomas difusos. O estágio dos cromosomas é analisado e considerado como uma fase ativa durante o tempo do crescimento intensivo dos espermiócitos.

6. BIBLIOGRAFIA

- BARTH, R., 1954, Mem. do Instituto Oswaldo Cruz, Vol. 52
 BOVERI, TH., 1892, Sitz. ber. d. Gesellschaft f. Morphologie und Physiologie in Muenchen, Vol. 8
 CHOLODKOWSKI, N., 1888, Zoolog. Anz., Jhrg. 11
 CHOLODKOWSKI, N., 1889, Zeitschr. wiss. Zoolog., Vol. 48
 CHOLODKOWSKI, N., 1905, Zeitschr. wiss. Zoolog., Vol. 82
 DEGENER, P., 1928, in: Schroeders Handbuch der Entomologie, Jena, 1928, Vol. 1
 DEMOKIDOFF, K., 1902, Zoolog. Anz., Vol. 25
 DEPDOLLA, PH., 1928, in: Schroeders Handbuch der Entomologie, Jena, 1928, Vol. 1
 ESCHERICH, K., 1894, Zeitschr. wiss. Zoolog., Vol. 57
 GRABER, V., 1891, Zoolog. Anz., Jhrg. 14
 GRUENBERG, K., 1903, Zeitschr. wiss. Zoolog., Vol. 74
 HAECKER, V., 1907, Ergebn. und Fortschr. der Zoolog., Vol. 1
 HEYMONS, R., 1897, Zeitschr. wiss. Zoolog., Vol. 62
 HEYMONS, R., 1899, Nova Act. Acad. Leopold. Carol., Vol. 74
 HIRSCHLER, J., 1928, in: Schroeders Handbuch der Entomologie, Jena, 1928, Vol. 1

- SCHREIBER, G. et PELLEGRINO, J., 1948, Eighth Intern. Congr. Genetics, Stockholm (extractum)
- SCHREIBER, G. et PELLEGRINO, J., 1950, *Scientia Genetica*, Vol. 3
- SPICHARDT, N., 1886, *Verhandl. des naturhist. Vereins des Rheinlandes*, Jhrg. 43
- TANNREUTHER, G.W., 1907, *Zool. Jb. Anat.*, Vol. 24
- TICHOMIROW, A., 1898, *Zoolog. Anz.*, Jhrg. 21
- TOYAMA, N., 1894, *Bull. Coll. Agriculture Univ. Tokyo*, Vol. 2
- WHEELER, W.M., 1890, *Journ. Morphol.*, Vol. 3
- WHEELER, W.M., 1893, *Journ. Morphol.*, Vol. 8
- WILSON, E.B., 1912, *Journ. of exper. Zoolog.*, Vol. 13

7. ABREVIATURAS NAS FIGURAS

A	primeiro macrosoma
AH	cápsula externa do testículo
AL	autosomas com fenda longitudinal
APZ	célula apical
B	segundo macrosoma
C	terceiro macrosoma
CAP	aparelho copulador
CRR	restos de cromatina
Cyst	cistos
D	cromosoma de porte mediano
DG	<i>ductus glandularum</i>
Div.	divisões
E	cromosoma de porte mediano
EF	fio terminal
EVD	epitélio do <i>vas deferens</i>
EVE	epitélio do <i>vas deferens</i>
F	pequeno cromosoma
FE	epitélio do folículo
FO	folículo
FT	esferas de substâncias gordurosas
G	cromosoma pequeno
GA	aparelho de Golgi
H	cromosoma pequeno
h	focalização de um plano elevado
HI	hilo
HL	hemolinfa
HZ	zona transparente marginal
I	cromosoma pequeno
IH	cápsula interna do testículo
K	cromosoma pequeno
KL	conjunto germinativo apical
LB	ligaduras de linina
M ₁₋₄	primeira a quarta glândulas acessórias
m	focalização de um plano de situação mediana
MC	mitocôndrios
MP	membrana própria

MT	membrana do testículo
N ₁	núcleo do epitélio do testículo
N ₂	núcleo do pseudo-epitélio traqueal
N ₃	núcleo do epitélio do folículo
NH	núcleo dos amebócitos
NK	região de necrose
NL	líquido nuclear
NN	grupos dos futuros núcleos das paredes dos cistos
NNK	núcleos das paredes dos cistos
PAS	protoplasma do sincício apical
PS	espermogônio primário
PSA	espermogônio primário durante a anáfase
PSP	prespermídeo
QFA	fio de cromatina em corte transversal
RH	rabdório
RMU	músculo anular
SBB	feixe de espermios
SCH	alça de cromatina
SPE	espermios
SPI	espermídeos
SPO	espermogônios
SPY	espermíocitos
t	focalização de um plano inferior
TE	testículo
TR	traquéias
VA	vacúolos
VD	<i>vas deferens</i>
VE	<i>vas efferens</i>
VS	<i>vesicula seminalis</i>
X	heterocromosoma grande
Y	heterocromosoma pequeno
ZW	parede dos cistos
ZWK	núcleos das paredes dos cistos
ZY	cistos
ZYI	cisto isolado
ZYR	acumulação dos restos das paredes dos cistos, em necrose lenta
1 e 1'	metades de cromosomas
1 — 7	primeiro a sétimo folículos
2 ² —R	roseta-2 ²
2 ³ —R	roseta-2 ³
2 ⁷ —ZY	cisto- ⁷
5—W	corpo de cinco valores
8—W	corpo de oito valores
IIa—VIIa	segundo a sétimo segmentos abdominais

(Nas legendas das figuras, são mencionadas as fixações empregadas; quando não há menção especial isto significa que foi utilizada na coloração apenas hematoxilina férrica, segundo HEIDENHAIN.)

LEGENDAS DAS FIGURAS

ESTAMPA 1

Figura 1 — Lado direito da aparelho reprodutor masculino, em posição normal, visto do lado ventral. As setas indicam o transcurso das alças do *vas deferens*. Em negro: *ductus glandularum*. O *ductus ejaculatorius*, curto, encontra-se no interior do aparelho copulatório (CAP). 10:1.

Figura 9 — Corte longitudinal da parte apical de um folículo. À direita, as paredes do testículo e do folículo foram dilacerados pela navalha e, por isto, as duas paredes da cápsula testicular, se apresentam bem dilatadas. Helly. 3 000:1.

ESTAMPA 2

Figura 2 — Série de cortes esquemáticos da região da formação do *vas deferens*. Linha pontilhada: parede interna dos folículos; linha tracejada: epitélio dos *vasa efferentia*; linha contínua: epitélio do *vas deferens*. Em a) o *vas efferens* do primeiro folículo já originou o *vas deferens* (1); (2) e (3) representam os *vasa efferentia* dos folículos correspondentes, enquanto que os quarto a sétimo folículos permanecem inalterados. De b) a g) um folículo depois do outro vai desembocando no *vas deferens* até a formação definitiva destes em i). Gilson.

ESTAMPA 3

Figura 3 — O corte que corresponde ao esquema da figura 2 c). Indicação de todos os elementos como foi feito na figura 2. Nos folículos 5, 6 e 7 encontram-se feixes de espermios maduros, no *vas deferens*, (1 e 2) espermios. Gilson.

Figura 4 — Corte que corresponde ao esquema da figura 2 h). Gilson.

Figura 5 — Corte transversal da *vesicula seminalis*, cheia de massa de espermios. Gilson.

Figura 6 — Corte transversal das quatro mesadênias (MI — MIV), um pouco acima do hilo, que se formará em X; também está visível a *vesicula seminalis*. Gilson.

Figura 7 — Corte transversal do *ductus glandularum*, um pouco abaixo do hilo. Gilson.

Figura 8 — Corte transversal do *ductus glandularum*, abaixo da reunião dos quatro canais. Gilson.

ESTAMPA 4

Figura 10 — Corte longitudinal como na figura 9. No meio, a célula apical circundada de rosetas com mitocôndrios centrais (acima da célula apical); à esquerda, conjunto das células germinativas, externamente à cápsula testicular. Helly.

Figura 18 — Parte de um corte longitudinal de um folículo com cistos em várias fases do desenvolvimento. Helly. 1 850:1.

Figura 19b — Fotografia de um cisto-2^a em posição normal (corte); no centro, os mitocôndrios. Gilson.

Figura 26 — Partes de um corte longitudinal de um folículo, com cistos de espermiogônios e núcleos redondos da parede dos cistos. Helly.

ESTAMPA 5

Figura 11 — Espaço sanguíneo entre dois cistos, contendo esferas de substâncias gordurosas. Ácido ósmico com sublimado. 1 500:1.

Figuras 12-14 — Amebócitos do espaço sanguíneo, com mitocôndrios, entre os folículos de espermios. Helly. 3 000:1.

Figura 15: — Amebócitos do espaço sanguíneo, com mitocôndrios, entre folículos de espermiogônios. Da Fano. 1 850:1. Os fios, provavelmente, são partes do aparelho de Golgi.

Figura 16 — Esquema da parte final do folículo com parede da cápsula testicular e traquéias.

ESTAMPA 6

Figura 17 — Paredes do folículo e do cisto (cisto de espermios quase maduros). Helly. 1 400:1.

Figura 19a — Roseta-2³, na altura da célula apical, com acumulação central de mitocôndrios. Núcleos na fase de fios duplos, antes da divisão 2³-2⁴. A parede do cisto não foi desenhada. Gilson. 2 200:1.

Figura 20 — Cistos de espermiogônios de um folículo na fase-2⁷. Helly-Delafield.

Figura 21 — Cisto-2³, em metáfase (focalização alta), com a sua parede. Helly. 1 150:1.

Figura 22 — Cisto-2³, em análise, com a sua parede. Helly. 1 150:1.

Figura 23 — Cisto-2⁵, em metáfase, com a sua parede (sem núcleo). Helly. 1 150:1.

Figura 24 — Parede de um cisto de espermióides com núcleo lobado. Helly-Delafield. 1 850:1.

ESTAMPA 7

Figura 25 — Parede de um cisto de espermiócitos, em diacinese, com núcleo lobado. Helly-Delafield. 1 850:1.

Figura 27 — Núcleos da parede dos cistos-2⁷ e 2⁸. a) e b) vistos de cima. c) corte transversal. Helly-Delafield. 1 200:1.

Figura 28 — Crescimento de uma célula do leptóteno (pontilhado: a célula; em negro: o seu núcleo) até à célula da diacinese (contorno maior); o núcleo em tracejado). Flemming. 3 000:1.

Figura 30 — Zona de transição entre o folículo e *vas efferens*. Helly.

Figura 31 — Zona de transição entre o epitélio do folículo e o do *vas efferens*, com a necrose das paredes dos cistos (em dilaceração produzida pela navalha. Helly.

ESTAMPA 8

Figura 32 — Núcleo necrótico da parede do cisto da zona de transição entre folículo e *vas efferens*. Gilson. 3 000:1.

Figura 33 — Núcleo, não diferenciado, do conjunto apical da extremidade do folículo. Gilson. 3 000:1.

Figura 34 — Transformação de um núcleo primitivo da parede dos cistos em núcleo definitivo. Flemming. 3 000:1.

Figura 35 — Núcleo de um espermiogônio primário em repouso (focalização média). Helly. 3 000:1.

Figura 36 — Início de leptóteno de um cisto-2³ (focalização alta). Helly. 3 000:1.

Figura 37 — A mesma célula da figura 36 mas, em focalização média. Helly. 3 000:1.

Figura 38 — Fim do leptóteno de um espermiogônio primário; fragmentação do corpo de oito valores (focalização alta). Gilson. 3 000:1.

Figura 39 — A mesma célula da figura 38, mas, em focalização média. Gilson. 3 000:1.

Figura 40 — Fios e anéis do fim do leptóteno de um cisto-2^o. Helly. 4 400:1.

Figura 41 — Diplóteno de um espermiogônio primário (corte equatorial). Gilson. 3 000:1.

Figuras 42 e 43 — Fios do diplóteno, pouco esquematizados, de um cisto-2^o (focalização alta). Helly. 3 000:1.

Figura 44 — Espermiogônio primário no paquíteno (focalização baixa). As letras indicam as partes correspondentes nas figuras 45 e 46. Helly. 3 000:1.

Figura 45 — A mesma célula como a da figura 44, mas, em focalização média. As letras indicam as partes correspondentes nas figuras 44 e 46. Helly. 3 000:1.

Figura 46 — A mesma célula como a da figura 44, mas em focalização alta. As letras indicam as partes correspondentes nas figuras 44 e 45. Helly. 3 000:1.

Figura 47 — Cromosomas, em condensação, da prófase, de um espermiogônio primário. Gilson. 3 000:1.

ESTAMPA 9

Figura 48 — 22 cromosomas dirigindo-se para a placa equatorial. Em preto: cromosomas em posição alta; pontilhado: em posição média; em branco: posição baixa. Flemming. 3 000:1.

Figura 49 — Placa equatorial de uma roseta-2^o, um pouco inclinada, de modo que os cromosomas são vistos um pouco de lado. Flemming. 3 000:1.

Figura 50 — Placa equatorial de um espermiogônio primário. Helly. 3 000:1.

Figura 51 — Início da anáfase de um cisto-2^o. Helly. 3 000:1.

Figura 52 — Fim da anáfase de um cisto-2^o. Helly. 3 000:1.

Figura 53 — Início da telófase de um cisto-2^o. Helly. 3 000:1.

Figura 54 — Fim da telófase de um cisto-2^o. Helly. 3 000:1.

Figura 55 — Formação de novas células piriformes no fim da telófase de um cisto-2^o. Helly. 3 000:1.

Figura 56 — Esquema da formação dos cromosomas no espermiogônio.

Figura 57 — Espermiócito. Estádio a. Retículo grosseiro. Focalização alta. Helly. 3 000:1.

Figura 58 — Espermiócito. Estádio a. Retículo grosseiro. Focalização média. Helly. 3 000:1.

Figura 59 — Espermiócito. Estádio b. Corpos cromáticos compactos. Focalização alta. Helly. 3 000:1.

Figura 60 — Espermiócito. Estádio b. Corpos cromáticos compactos. Focalização baixa. Helly. 3 000:1.

Figura 61 — Espermiócito. Estádio c. Início do leptóteno. Focalização alta. Flemming. 3 000:1.

Figura 62 — Espermiócito. Estádio c. Início do leptóteno. Focalização média. Flemming. 3 000:1.

Figuras 63 e 64 — Espermiócito. Estádio d. Fim do leptóteno. Flemming. 3 000:1.

Figura 65 — Espermiócito. Estádio e. Início da *sinapsis*. Flemming. 3 000:1.

Figura 66 — Espermiócito. Novêlo sináptico. Flemming. 3 000:1.

Figura 67 — Espermiócito. Estádio f. Fios duplos. Focalização média. Flemming. 3 000:1.

ESTAMPA 10

Figuras 68 e 69 — Espermiócito. Estádio f. Fios duplos. Focalização baixa. Flemming. 3 000:1.

Figura 70 — Detalhe da figura 69.

Figura 71 — Espermiócito. Fim do estágio f. a) fio isolado. 4 400:1; b) núcleo inteiro com o corpo de 5 valores, ocasionalmente bipartido. 3 000:1; c) outras formas do corpo de 5 valores. 3 000:1. Flemming.

Figura 72 — Espermiócito. Estádio dos cromosomas difusos. Flemming. 3 000:1.

Figura 73 — Espermiócitos. Fim do estágio dos cromosomas difusos. Gilson. 3 000:1.

Figura 74 — Espermiócito. Forma de transição para a diacinese. Gilson. 3 000:1.

Figura 75 — Espermiócito. Corpo de 5 valores e formação das grandes tétrades e dos heterocromosomas. Bouin II — Toluidin. 3 300:1.

Figura 76: — Espermiócito. Diacinese. Gilson. 3 000:1.

Figura 77 — Espermiócito. Diacinese. Início da fragmentação do corpo de 5 valores. Flemming. 3 000:1.

Figura 78 — Como na figura 77, mas com fixação segundo Helly.

Figura 79 — Espermiócito. Tétrades vistas lateralmente. Gilson. 3 000:1.

Figura 80 — Espermiócito. Formação das grandes tétrades. Helly. 4 400:1.

Figura 81 — spermiócito. Formação das pequenas tétrades. Helly. 4 400:1.

ESTAMPA 11

Figura 82 — Espermiócito. Esquema de formação das tétrades.

Figura 83 — Espermiócito. Diacinese. Fragmentação do corpo de 5 valores. Gilson. 3 000:1.

Figura 84 — Espermiócito. a) Início da anáfase; b) depois de uma diferenciação intensa. Bouin II. 3 000:1.

Figuras 85 a 87 — Espermiócito. Metáfase. Placa equatorial. Flemming, sem ácido acético. 3 000:1.

Figura 88 — Espermiócito. Início da anáfase. Duas grandes tétrades (B e C) e os heterocromosomas X e Y, estes em divisão. Helly. 4 400:1.

Figura 89 — Espermiócito. Duas pequenas tétrades e heterocromosoma X, este bipartido. Helly. 4 400:1.

ESTAMPA 12

Figura 90 — Espermiócito. Seqüência dos cromosomas haplóides. Helly. 3 300:1.

Figura 91 — Espermiócito. Alguns dos autosomas da placa equatorial, depois de uma diferenciação intensa. Helly. 3 000:1.

Figura 92 — Espermiócito. Anáfase. Início da divisão de 4 autosomas e um heterocromosoma. Gilson. 4 400:1.

Figura 93 — Espermiócito. a) telófase e divisão da célula, formando dois perspermídeos; b) e c) duas placas de cromatina, vista de cima. Helly. 2 200:1.

Figura 94 — Espermiócito. Metáfase. Polo do fuso visto de cima. Flemming sem ácido acético. 3 000:1.

Figura 95 — Prespermídeo. Estádio de torção, visto do lado. Gilson. 3 000:1.

Figura 96 — Prespermídeo. Estádio de torção, visto de cima. Gilson. 3 000:1.

Figura 97 — Prespermídeo. 6 díades da metáfase. Helly. 3 000:1.

Figura 98 — Placas equatoriais: a) da primeira; b) da segunda divisão de maturação. Helly. 3 000:1.

ESTAMPA 13

Figura 99 — Como a figura 98.

Figura 100 — Prespermídeo. Metáfase. Díades, grande e pequena, e os dois heterocromosomas. Bouin II. 4 400:1.

Figura 101 — Prespermídeo. Anáfase. Bouin II. 4 400:1.

Figura 102 — Prespermídeo. a) anáfase; b) uma placa de cromatina, em anáfase, vista de cima. Bouin II. 4 400:1.

Figura 103 — Prespermídeo. a) telófase e divisão da célula em dois espermídeos; b) e c) duas placas de cromatina, em telófase. Gilson. 3 000:1.

Figuras 104 a 106 — Espermídeo. Estádio inicial. Helly. 3 000:1.

Figuras 107 e 108 — Espermídeo. Estádio mais adiantado. Gilson. 4 400:1.

ESTAMPA 14

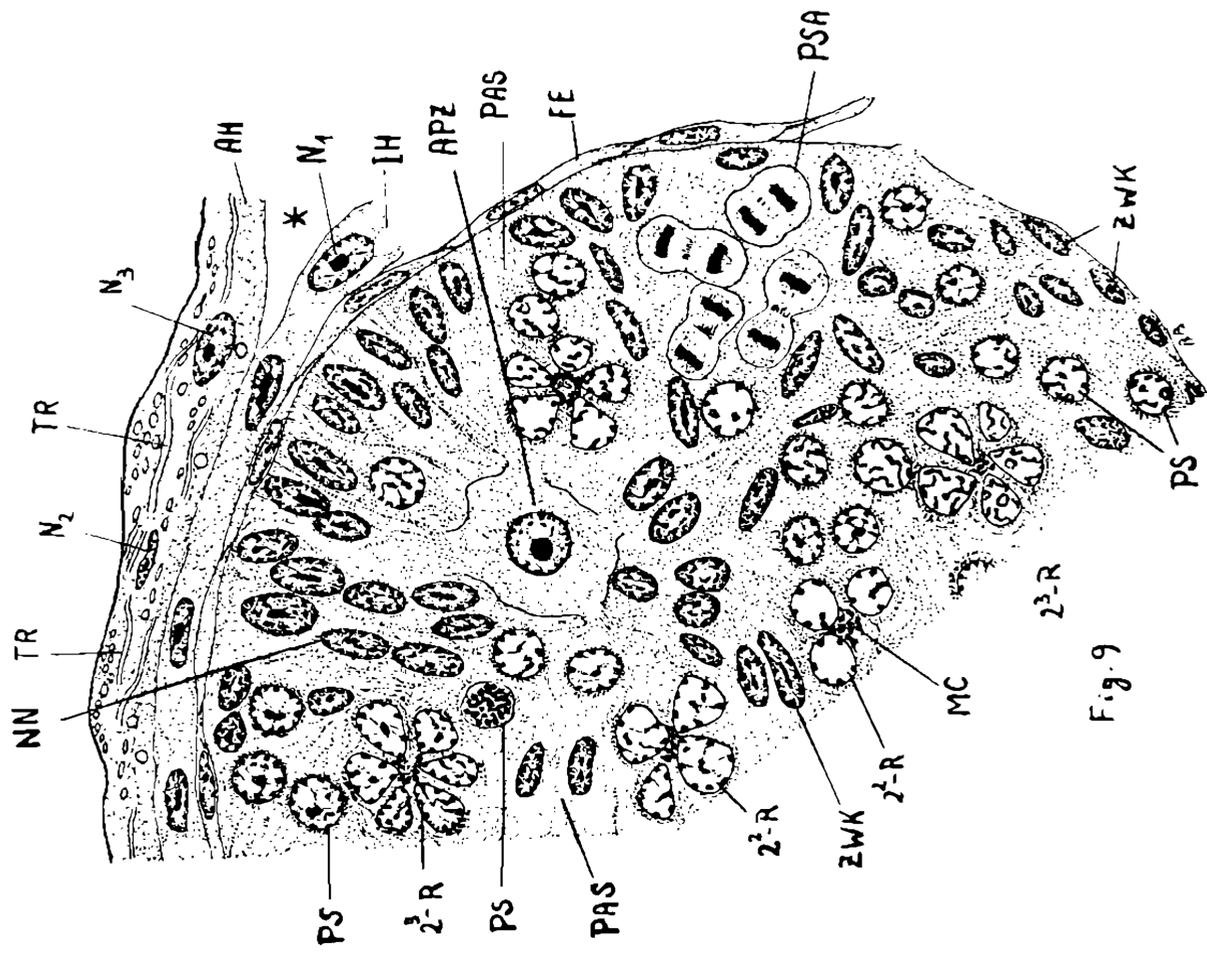
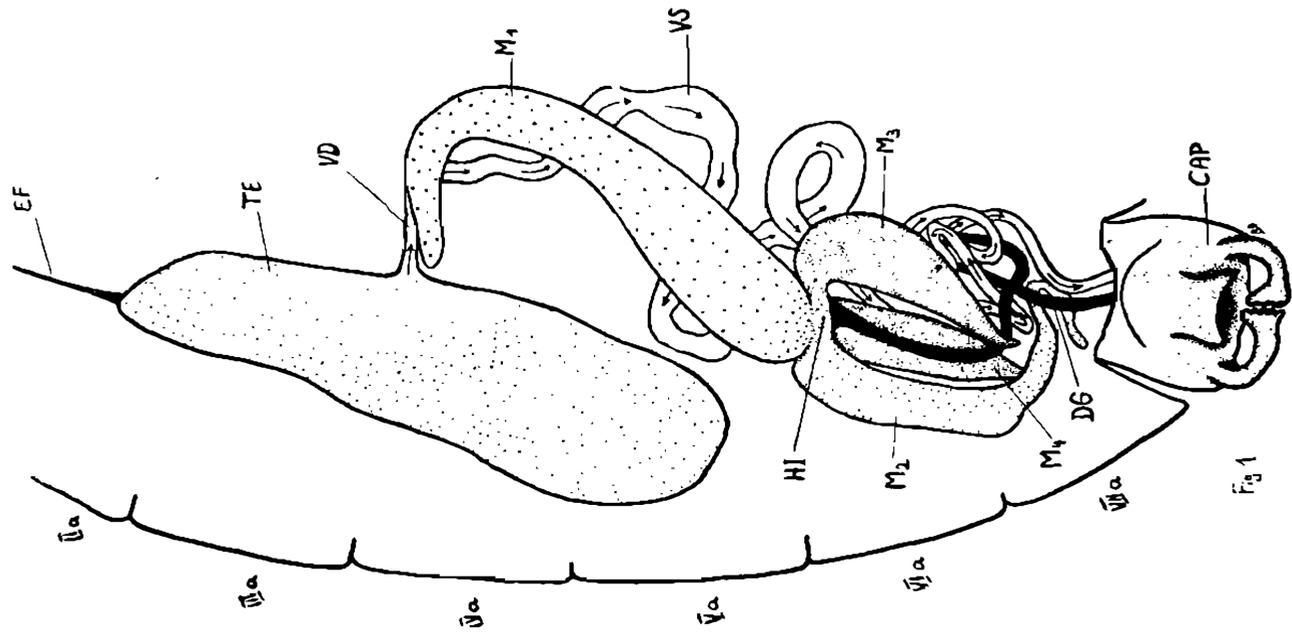
Figura 109 — Espermíócito. Aparelho de Golgi e mitocôndrios. Na metade à direita, os mitocôndrios e o protoplasma não foram desenhados. Flemming sem ácido acético. 2 200:1.

Figura 110 — Espermíócito. Reticulo do aparelho de Golgi que se encontrava sobre a superfície do núcleo (na fig. 109). Flemming sem ácido acético. 2 200:1.

Figura 111 — Espermíócito. Aspecto lateral da metáfase, aparelho de Golgi e mitocôndrios presentes. Flemming sem ácido acético. 2 200:1.

Figura 112 — Espermíócito. Anáfase; aparelho de Golgi e mitocôndrios. Flemming sem ácido acético. 2 200:1.

Figura 113 — Espermíócito. Telófase; aparelho de Golgi e mitocôndrios. Flemming sem ácido acético. 2 200:1.



Figs. 1 e 9

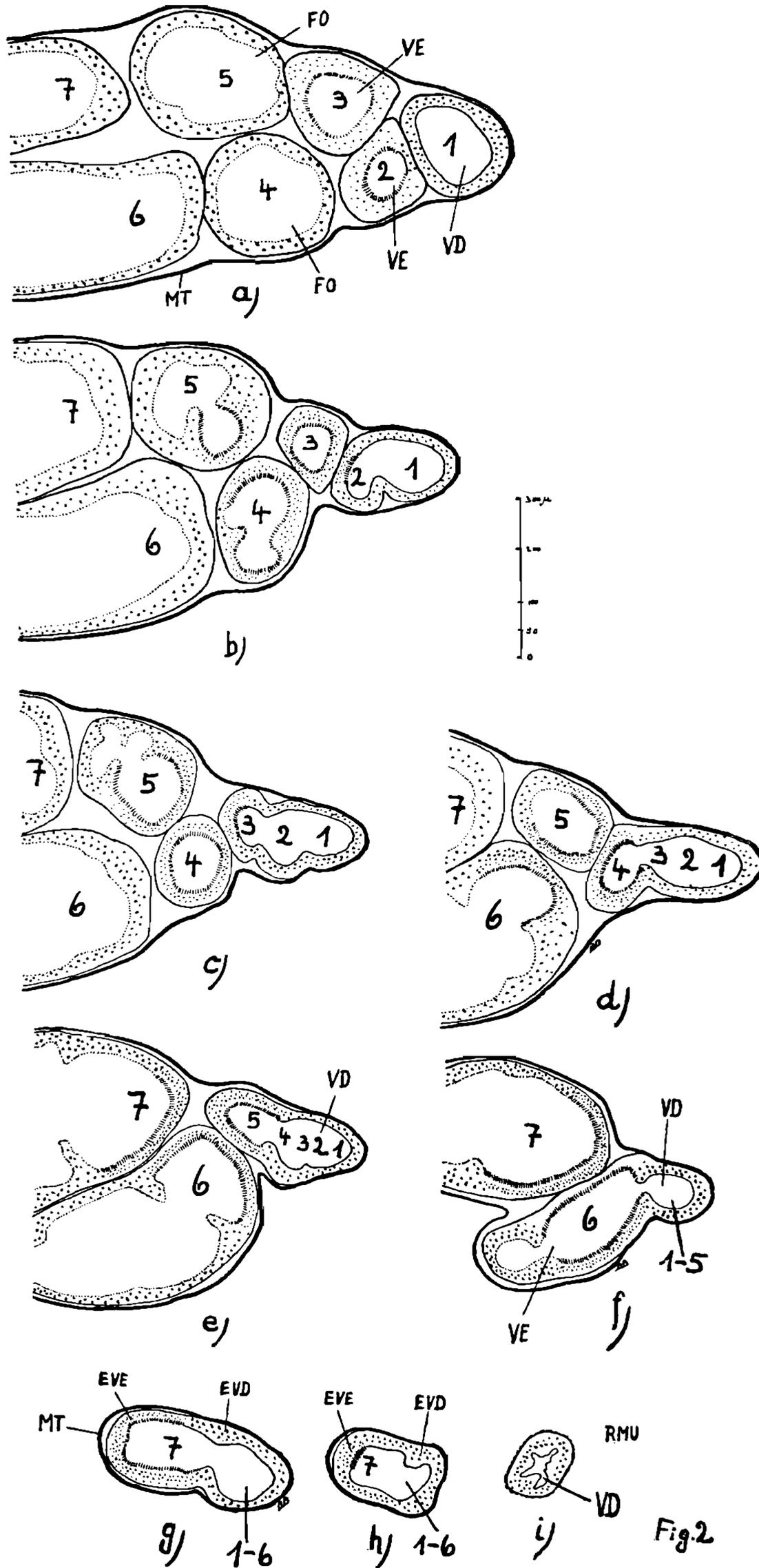
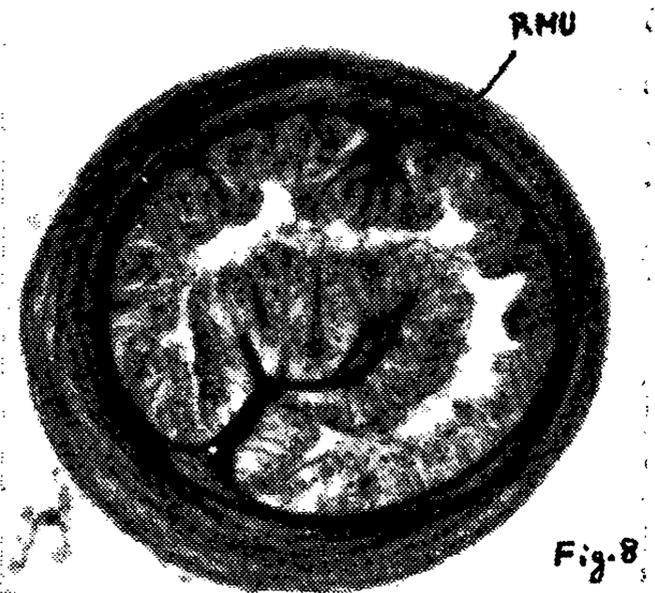
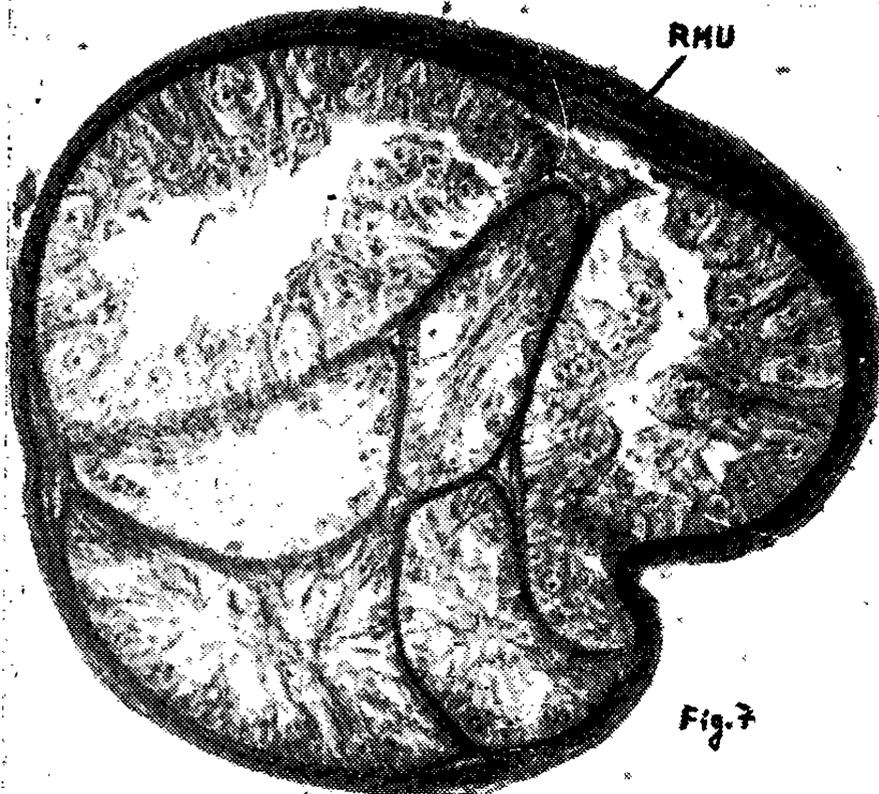
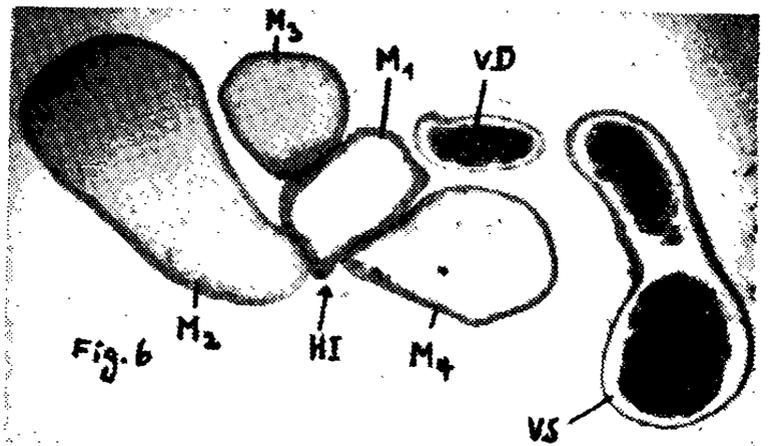
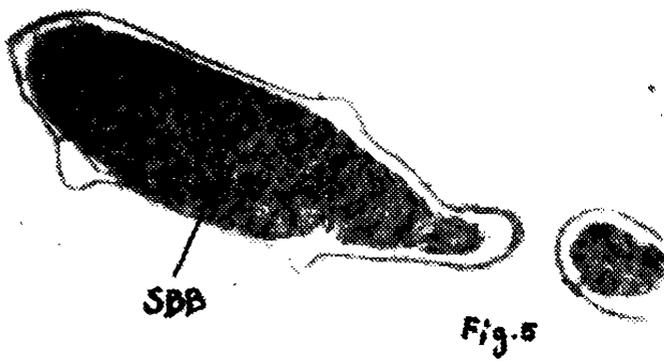
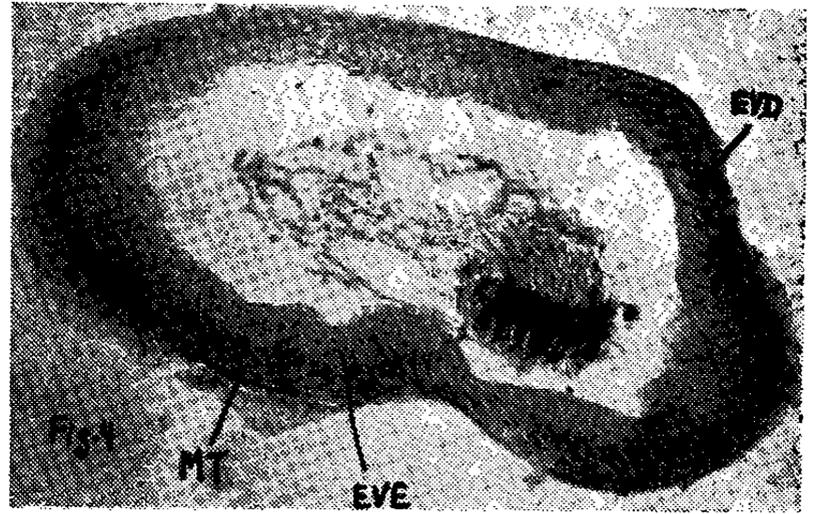
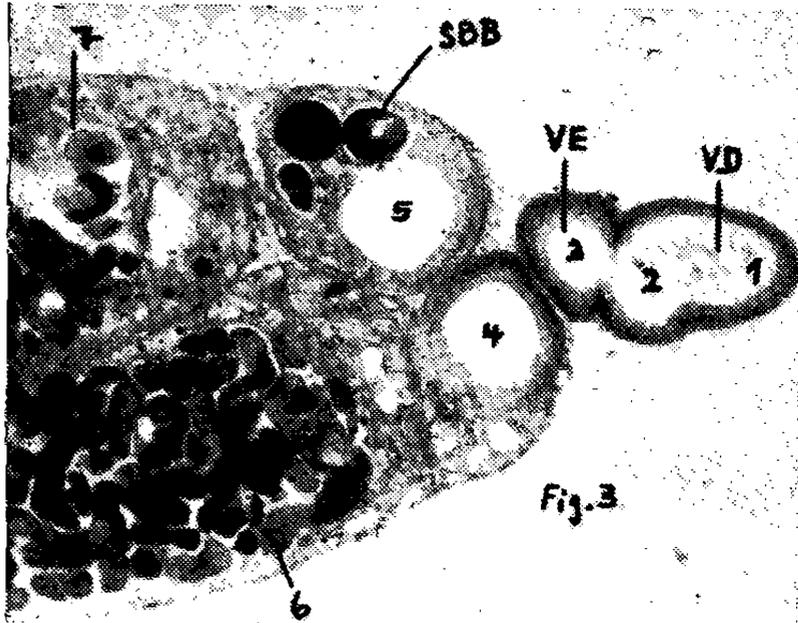


Fig. 2 a-i



Figs. 3-8

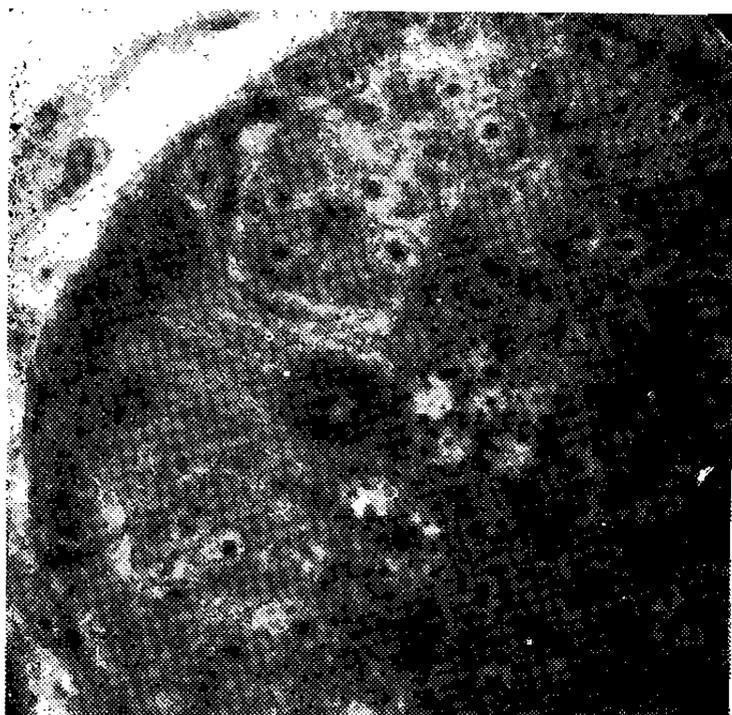


Fig. 10



Fig. 18

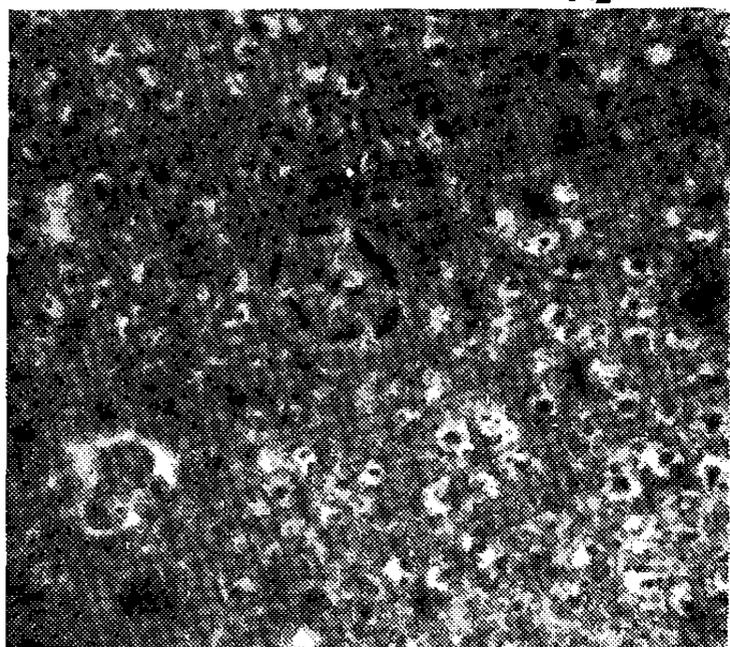


Fig. 19b

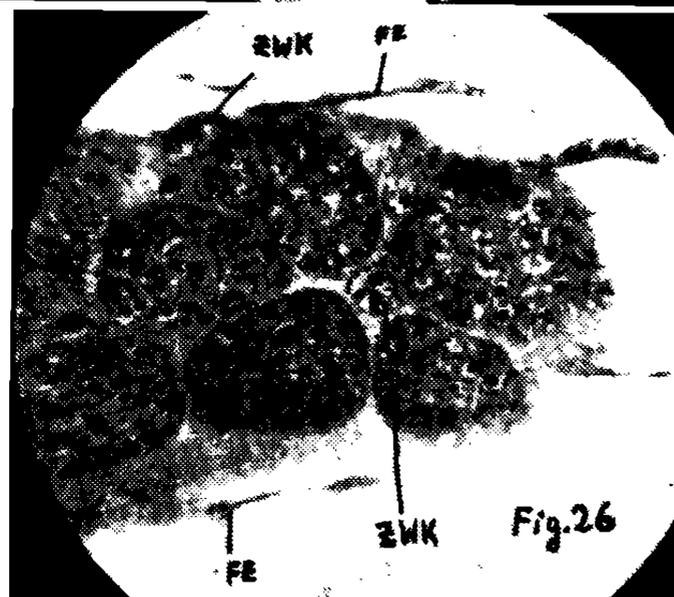
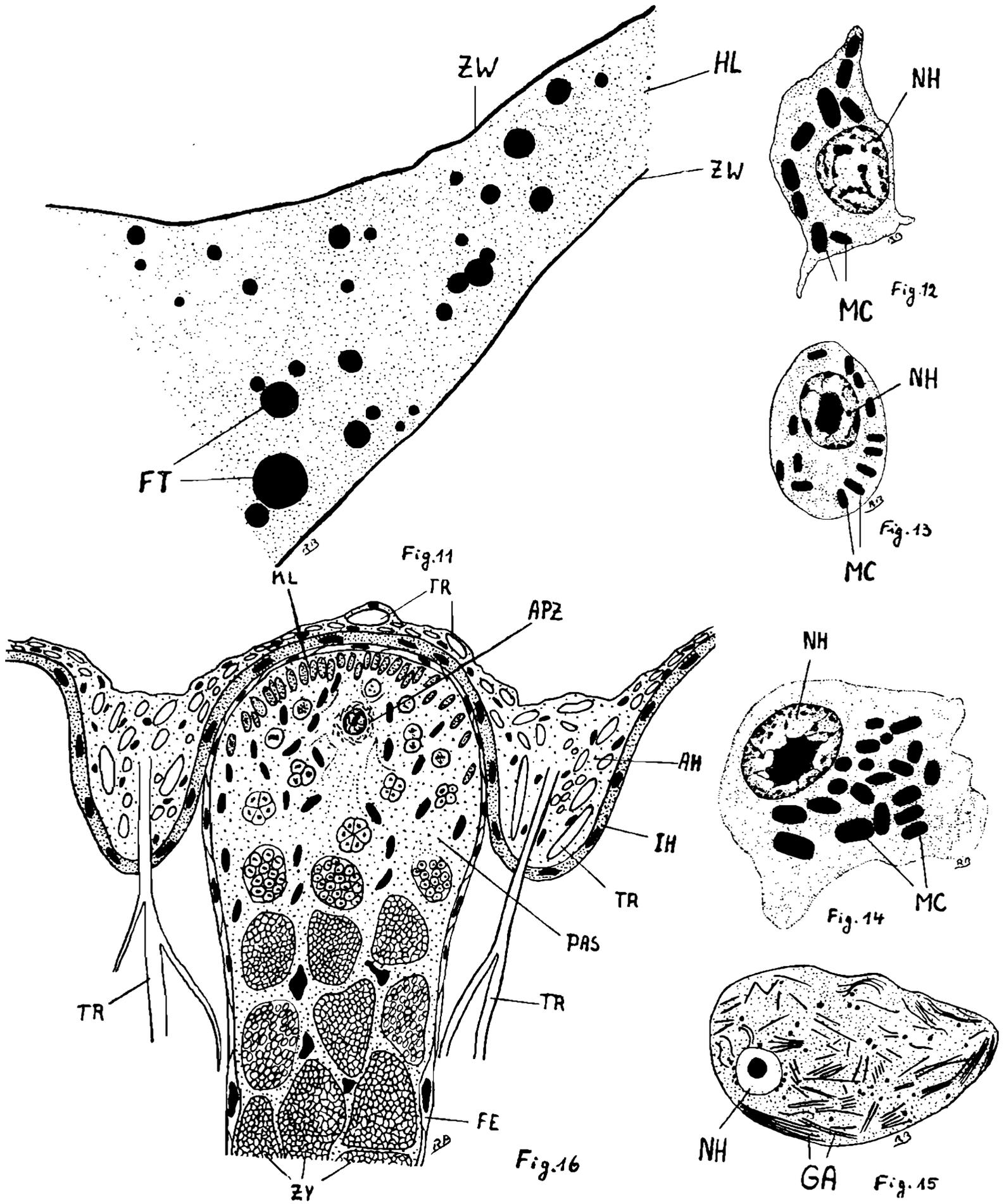
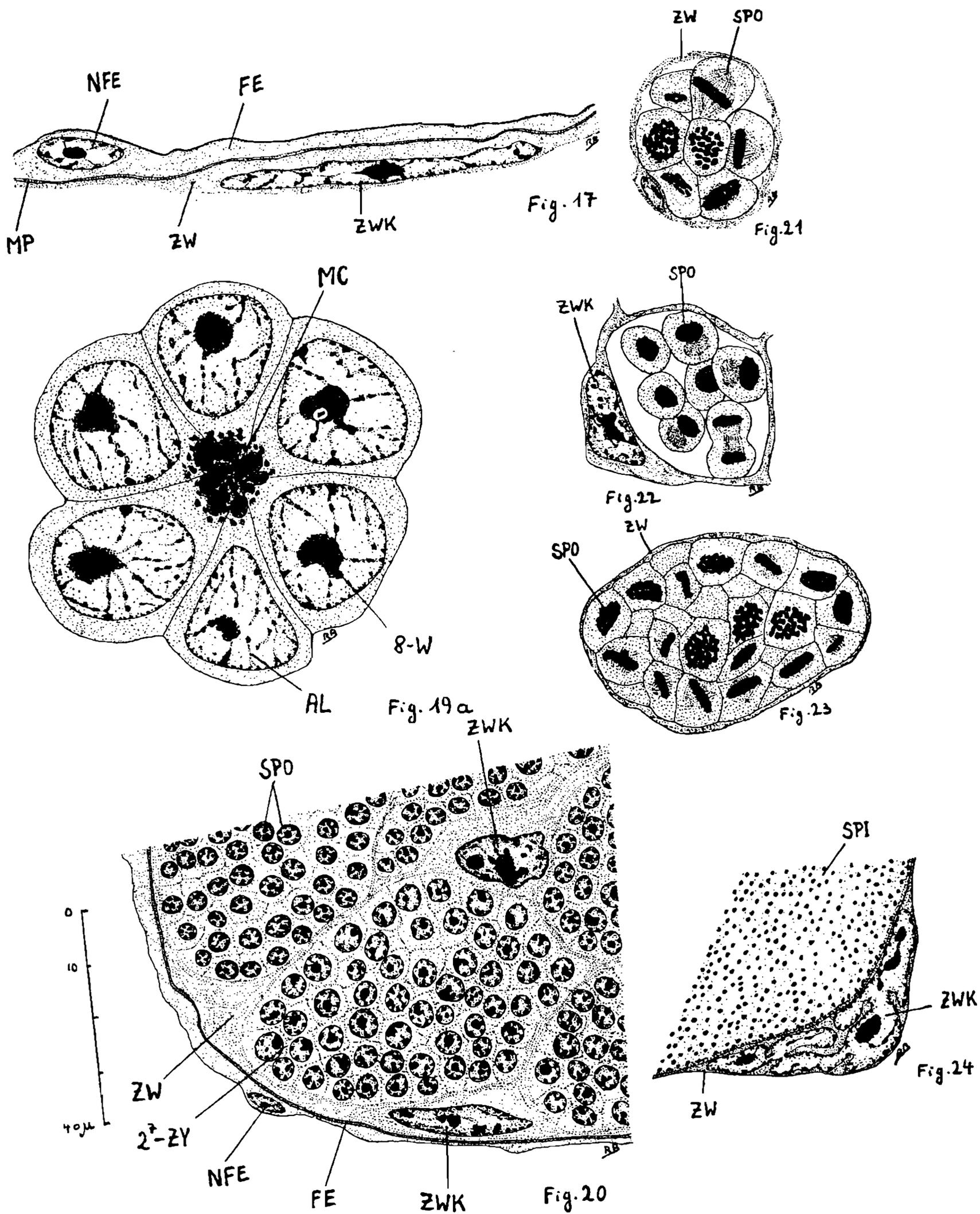


Fig. 26

Figs. 10, 18, 19 b e 26



Figs. 11-16



Figs. 17, 19 a, 20-24

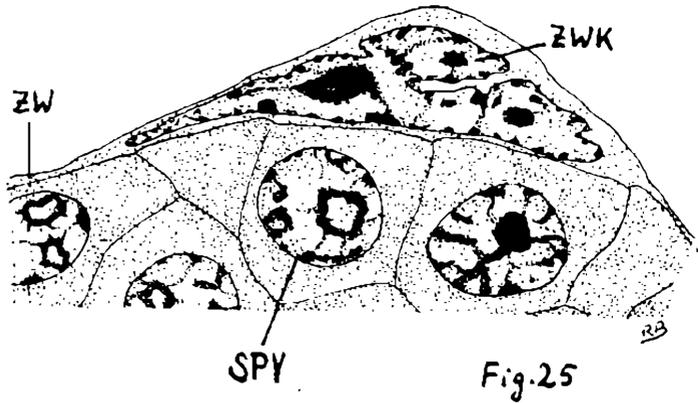


Fig. 25



Fig. 27

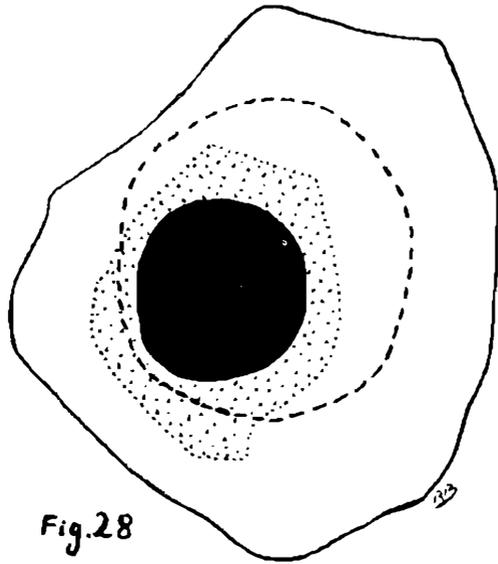


Fig. 28

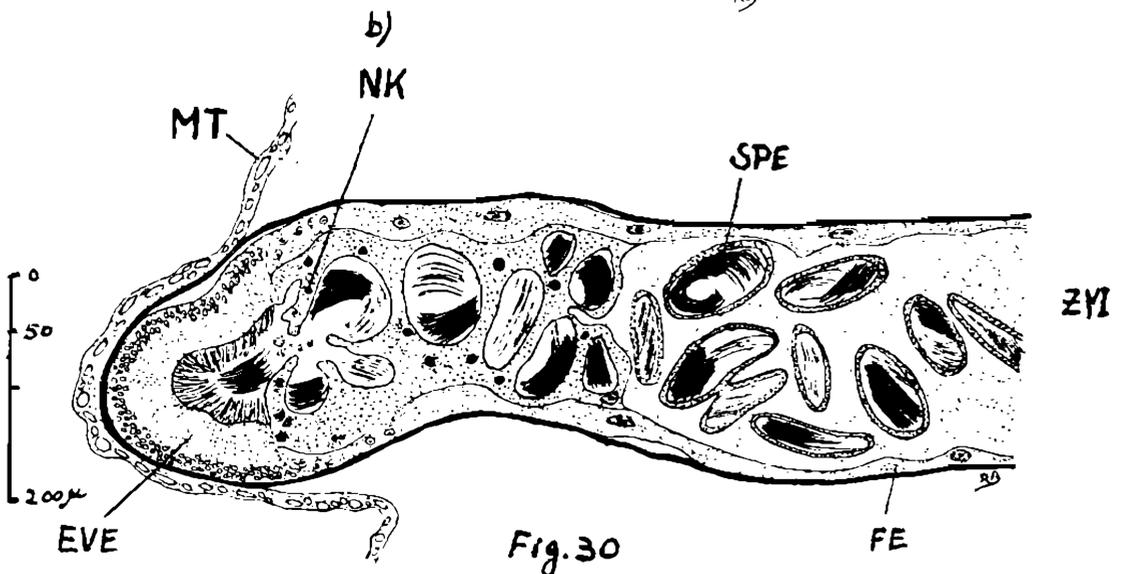


Fig. 30

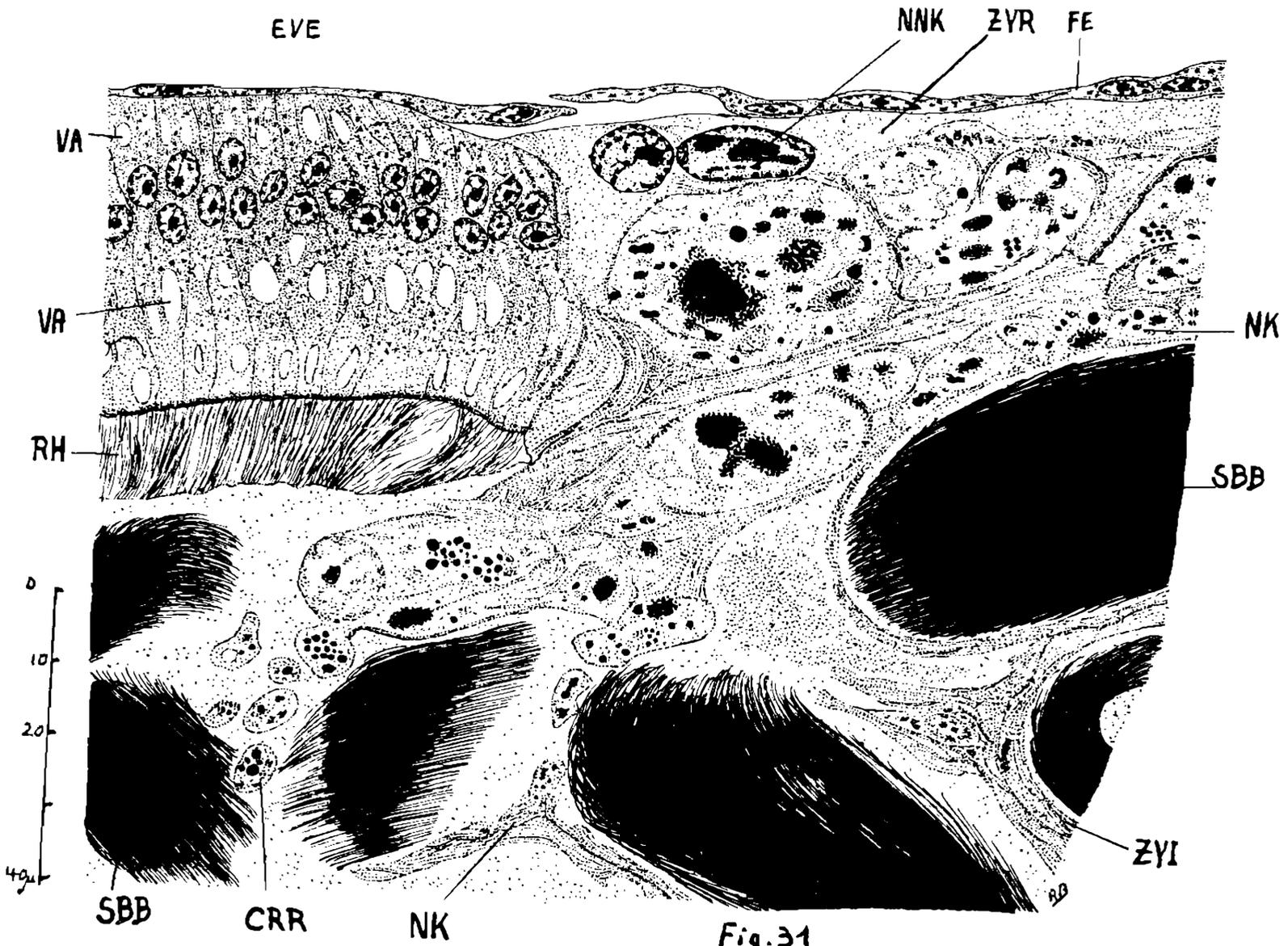


Fig. 31

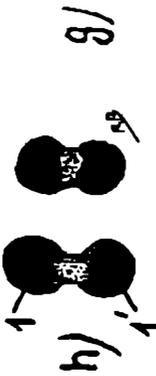
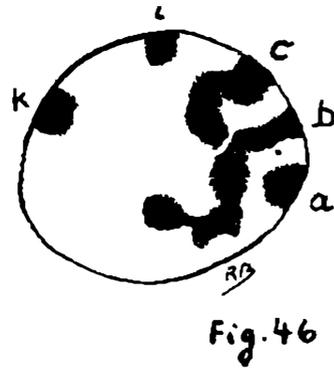
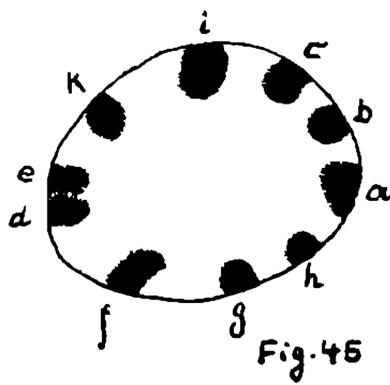
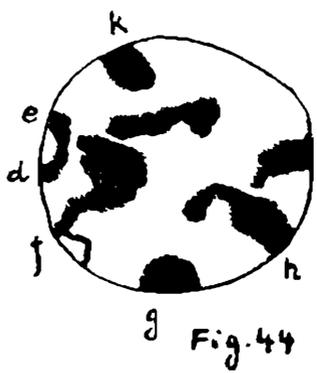
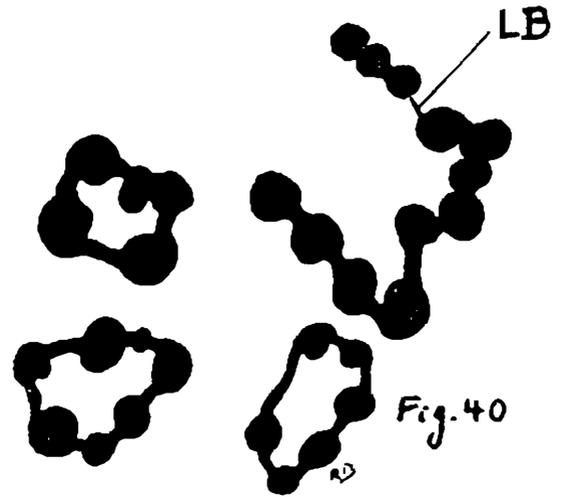
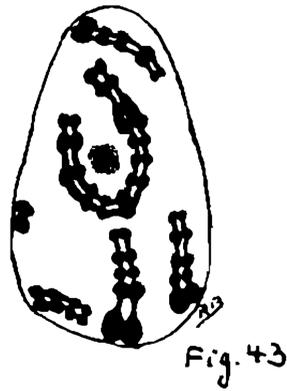
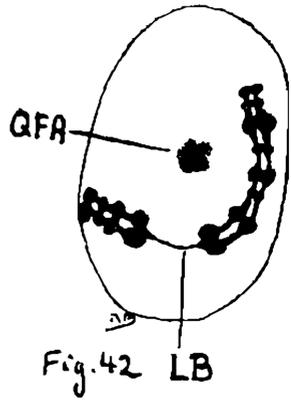
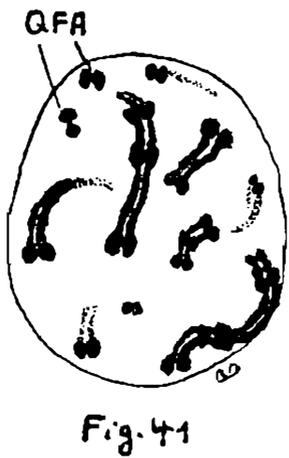
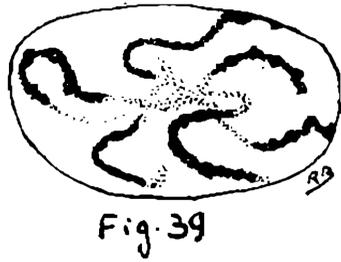
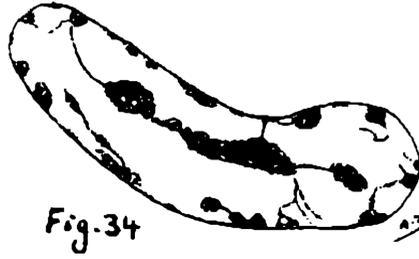
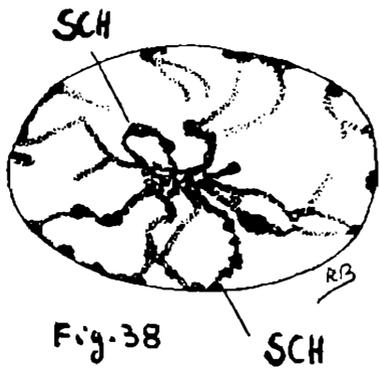
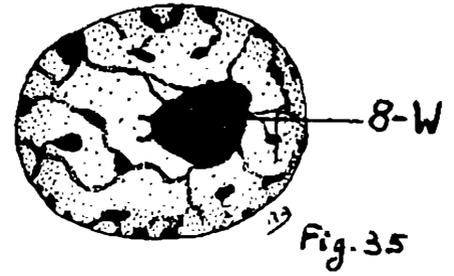
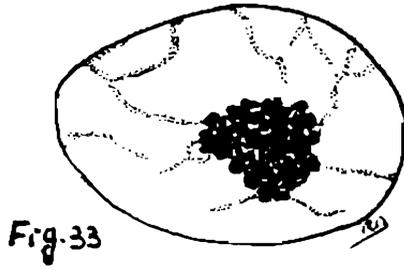
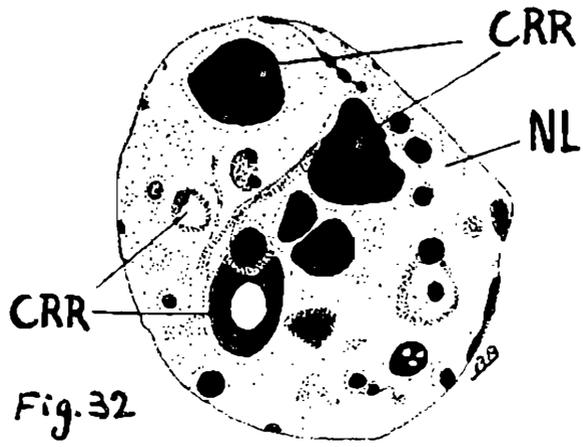


Fig. 47

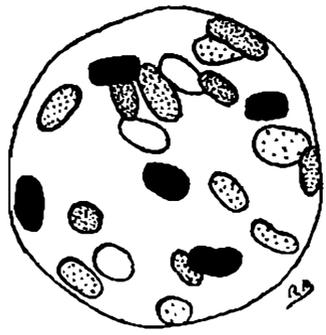


Fig. 48

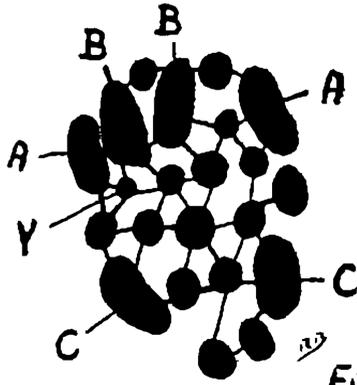


Fig. 49

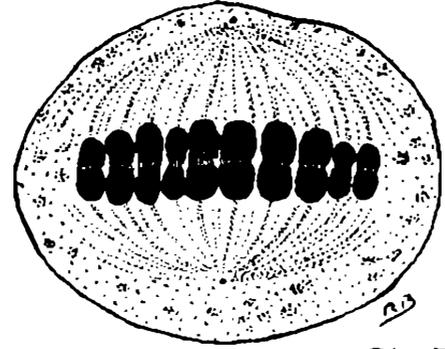


Fig. 50

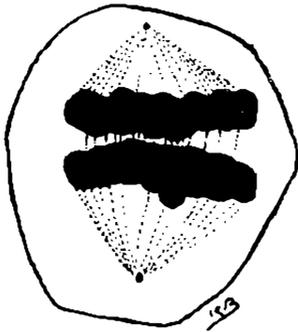


Fig. 51



Fig. 52

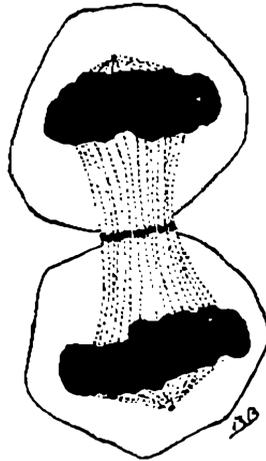


Fig. 53

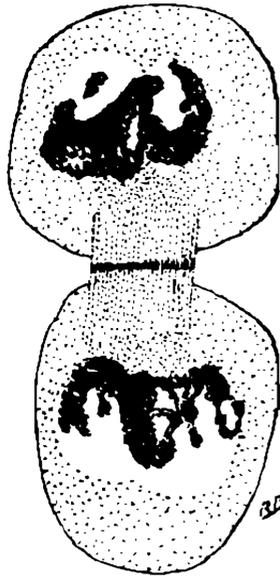
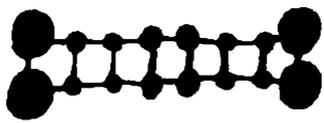


Fig. 54



Fig. 55



a)



b)



c)



d)

Fig. 56

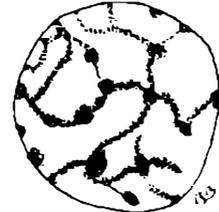


Fig. 57



Fig. 58

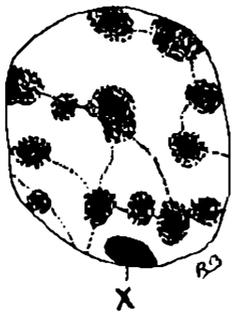


Fig. 59

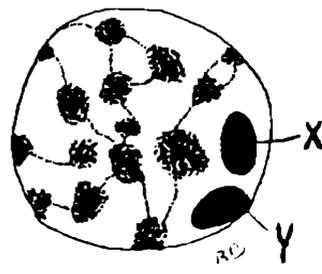


Fig. 60

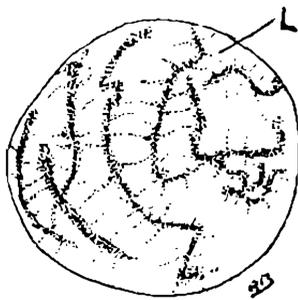


Fig. 61

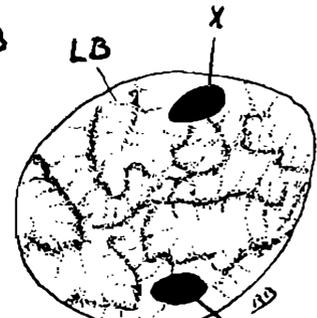


Fig. 62

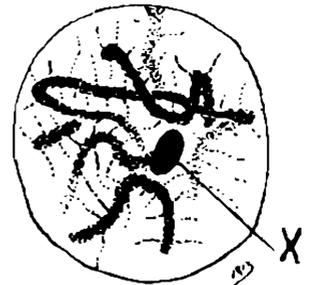


Fig. 63

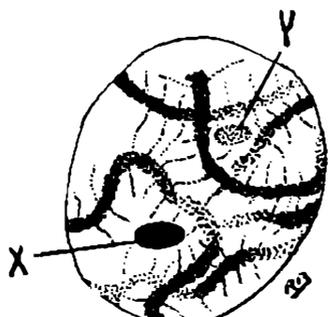


Fig. 64

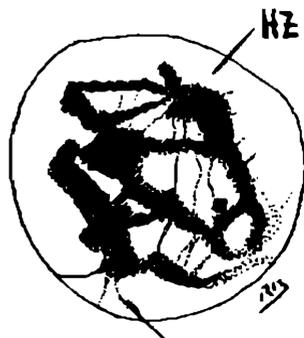


Fig. 65

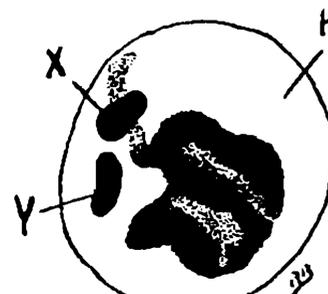


Fig. 66

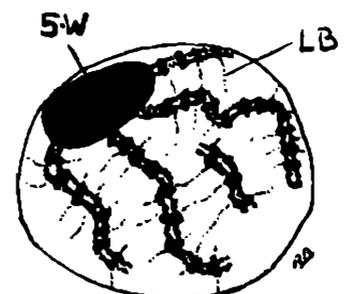
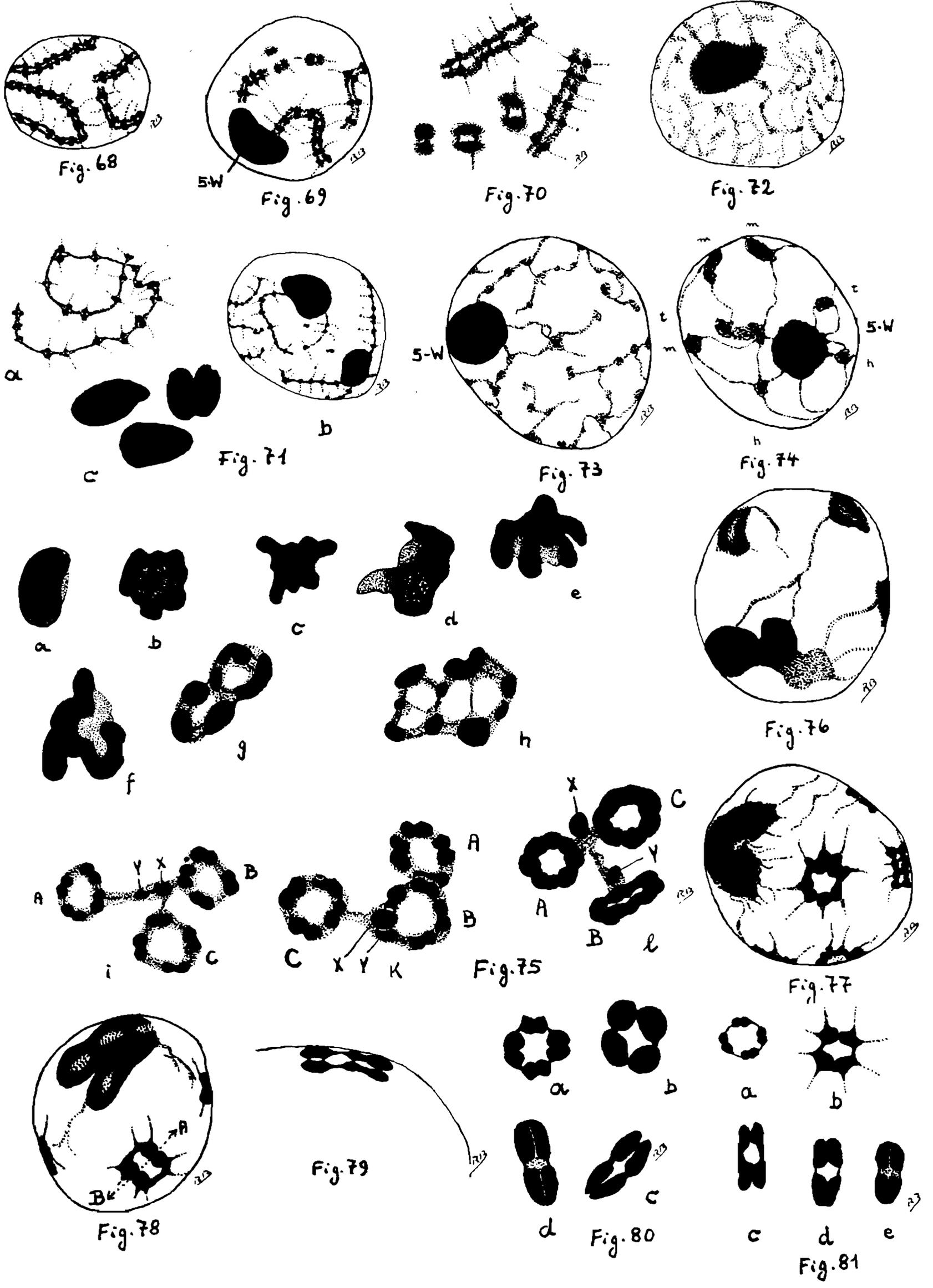


Fig. 67



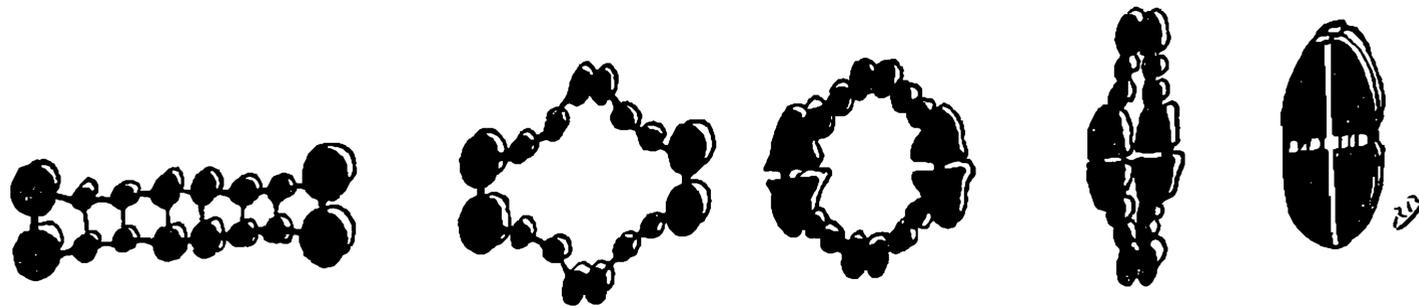


Fig. 82

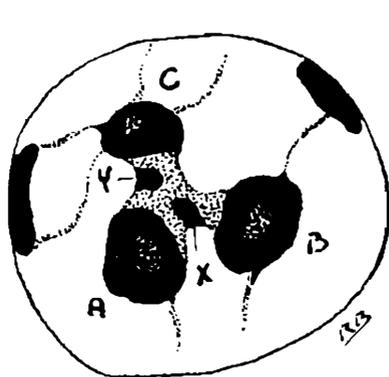


Fig. 83



Fig. 84 a

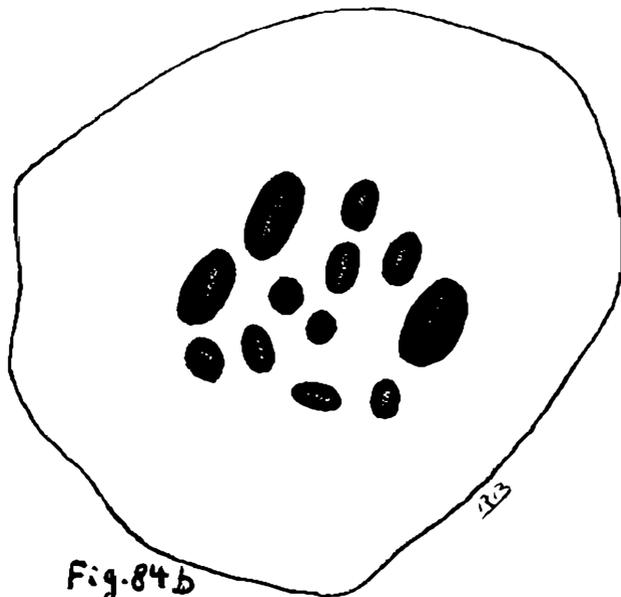


Fig. 84 b



Fig. 85

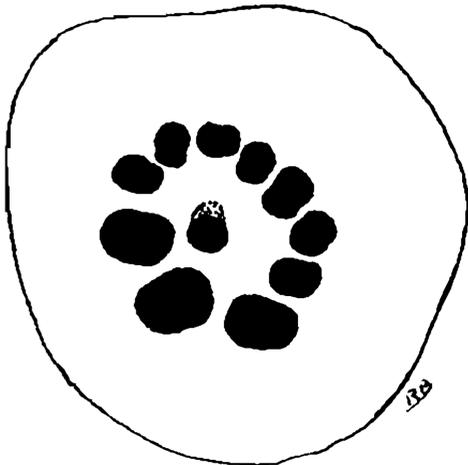


Fig. 86



Fig. 87

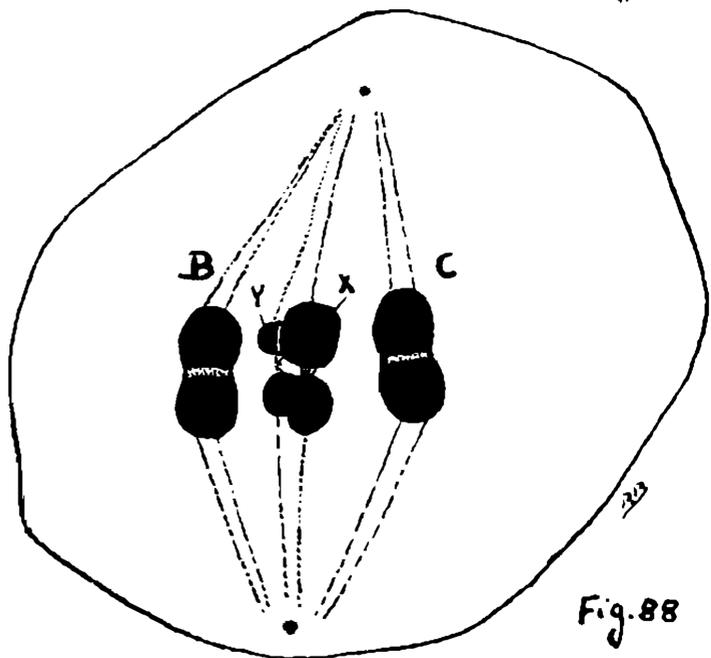


Fig. 88

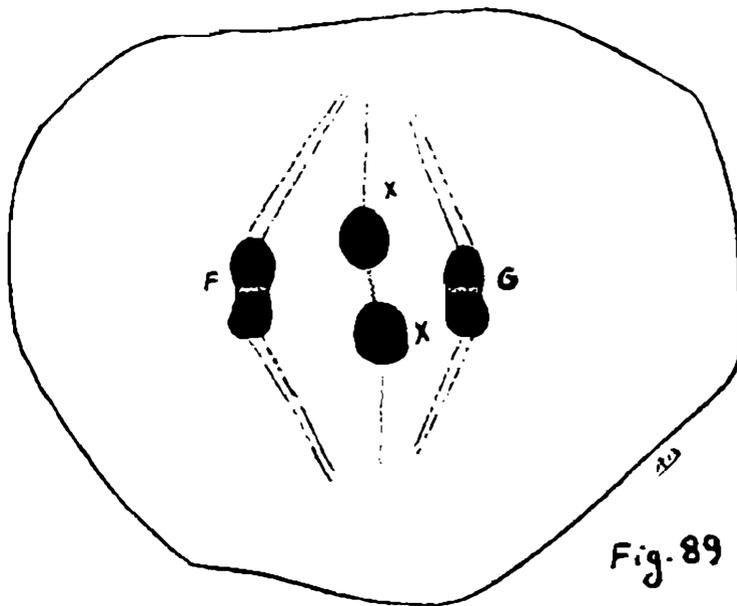


Fig. 89

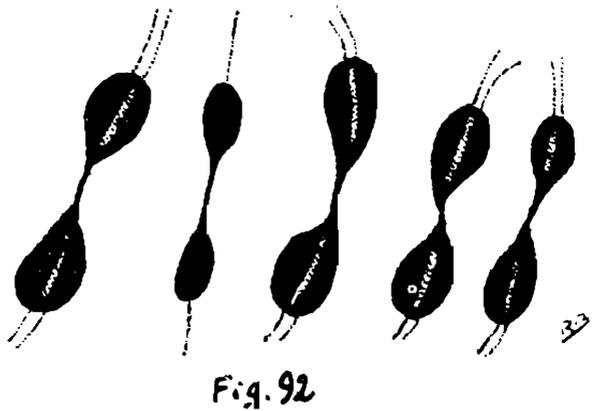
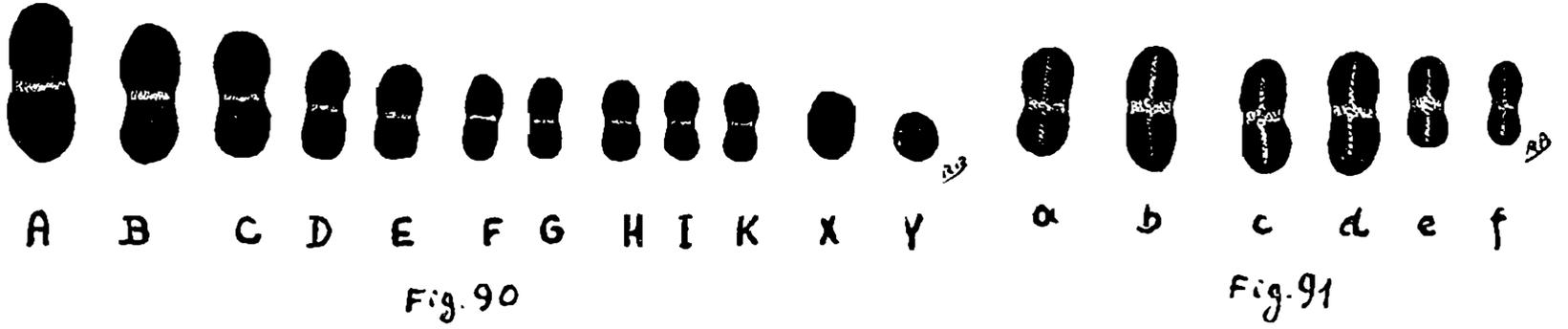
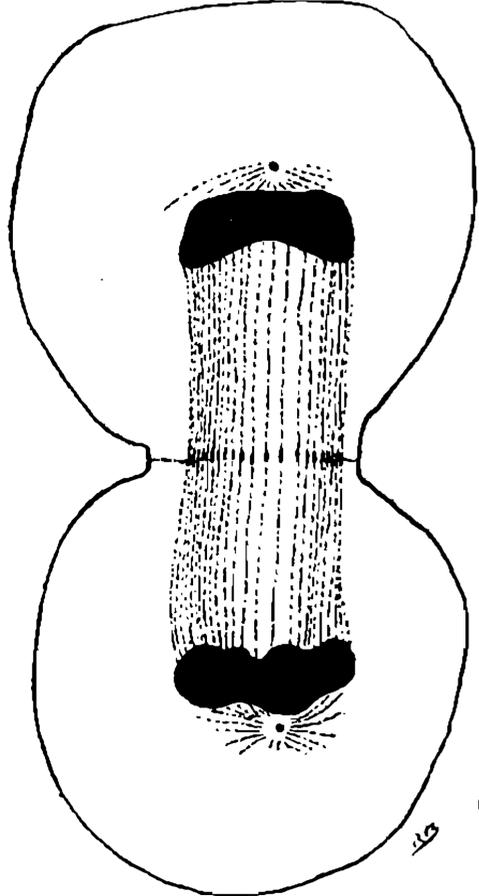


Fig. 92



a



Fig. 93

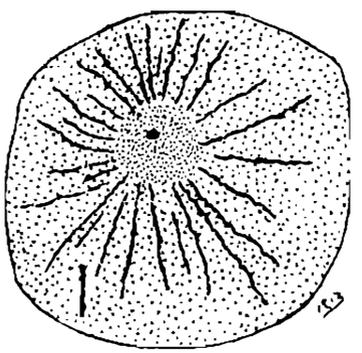


Fig. 94

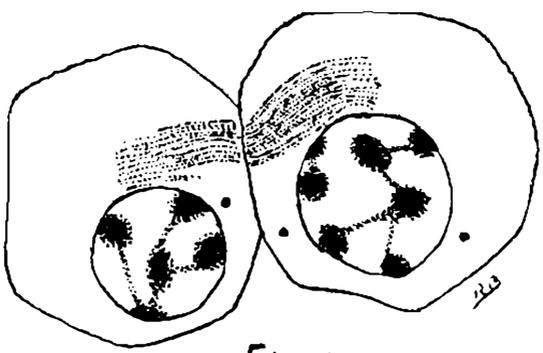


Fig. 95

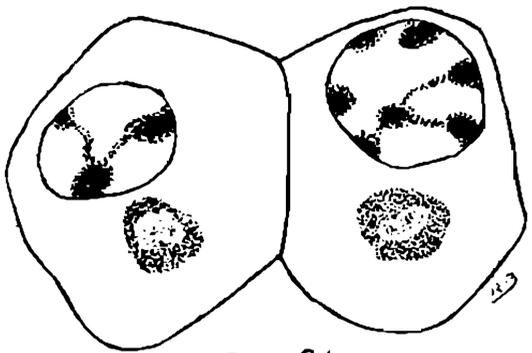
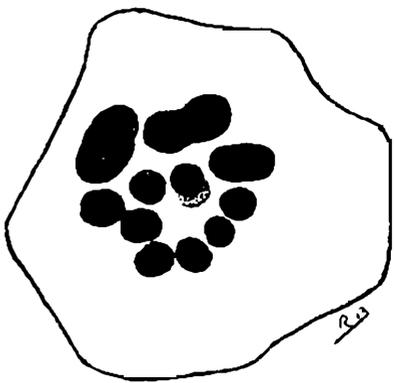


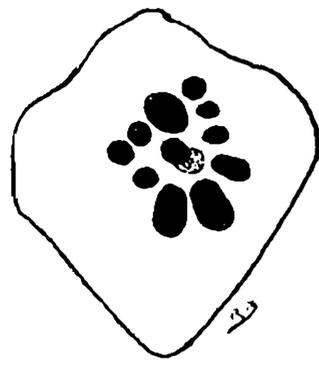
Fig. 96



Fig. 97

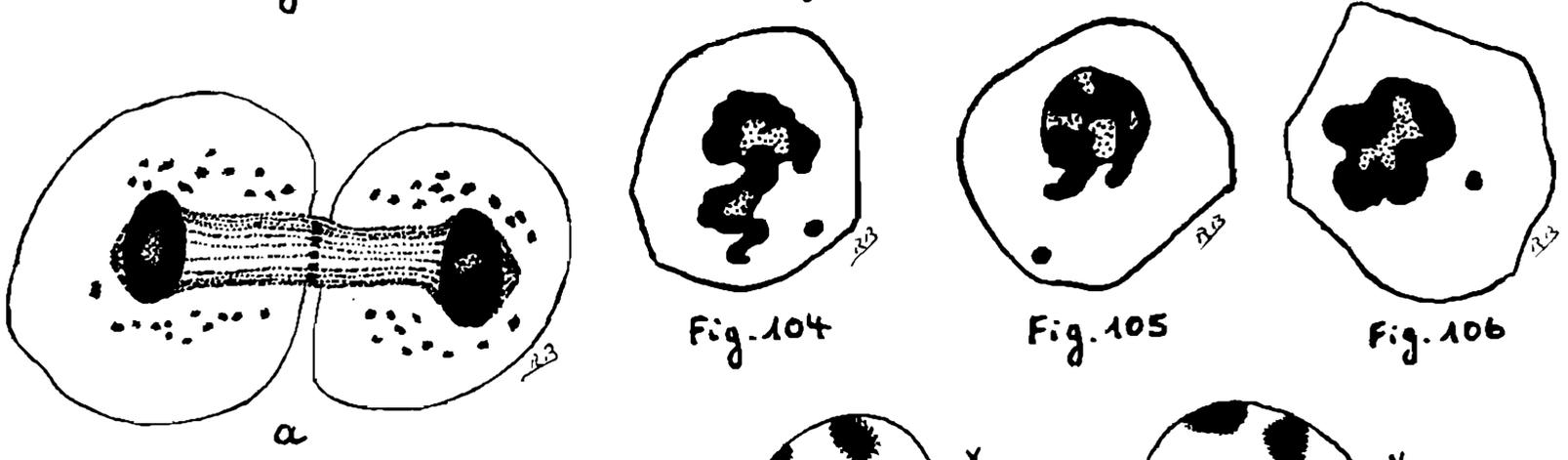
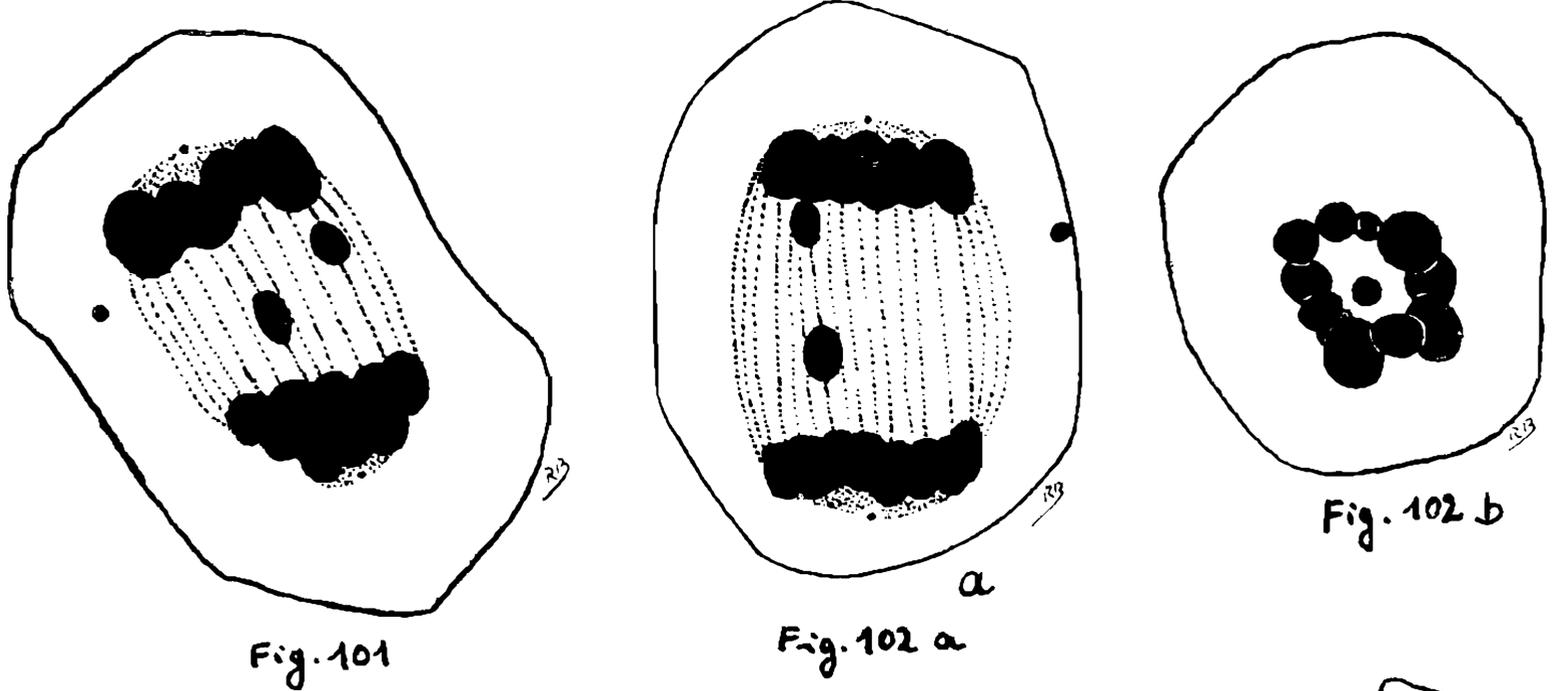
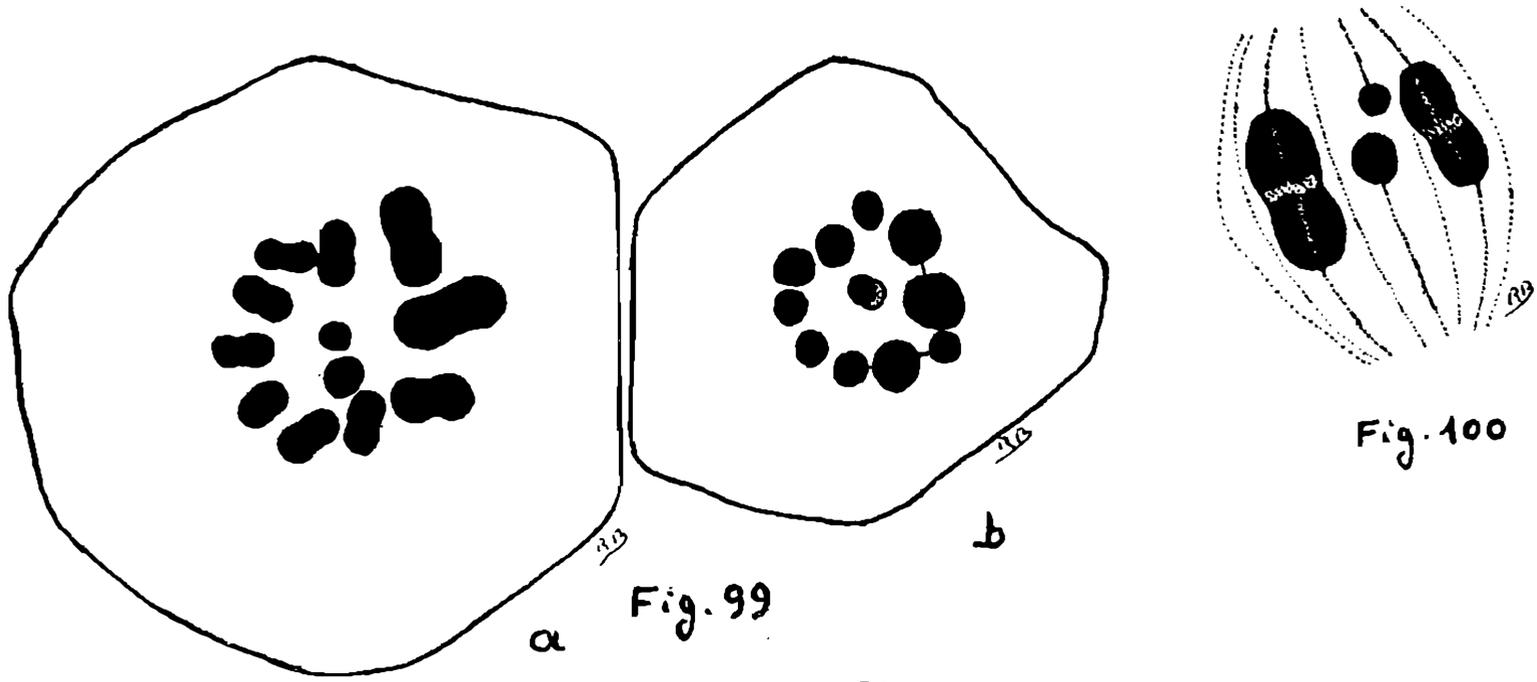


a

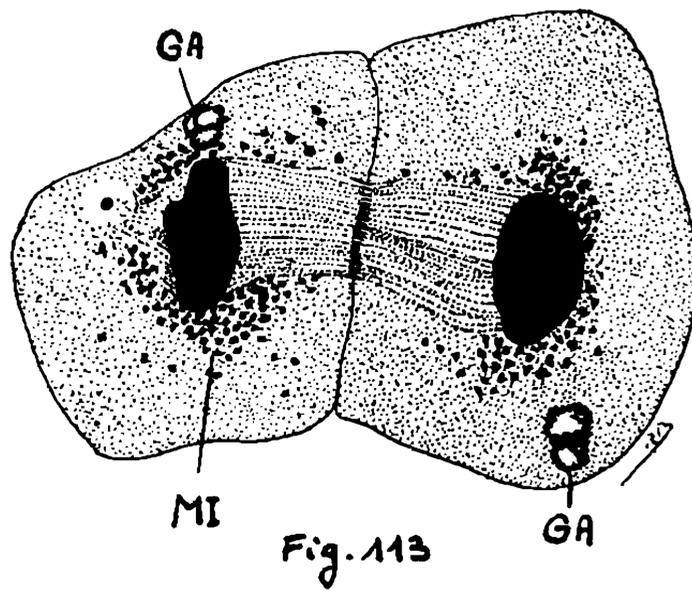
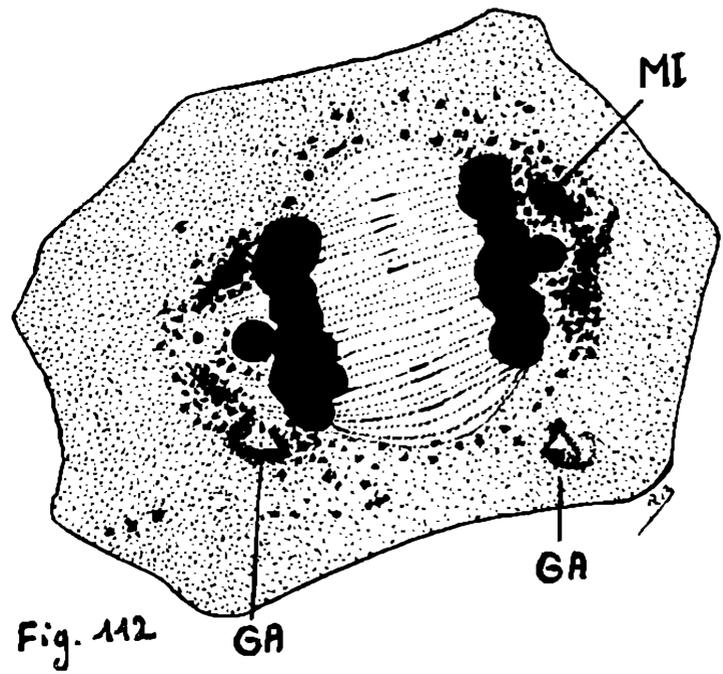
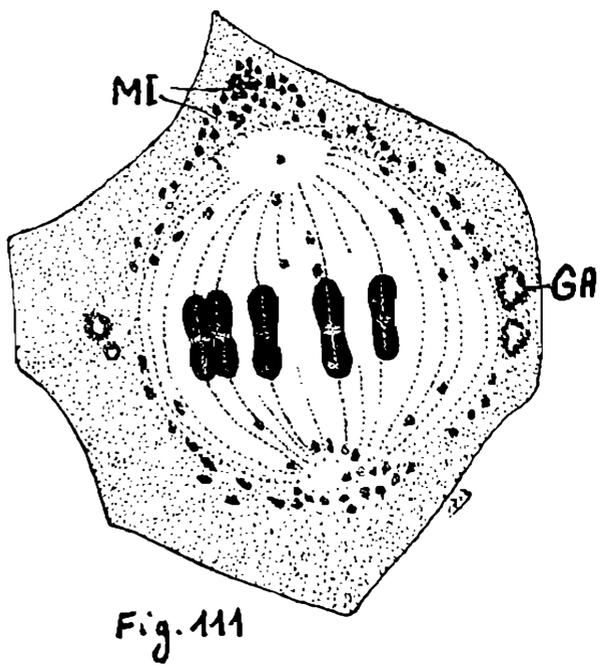
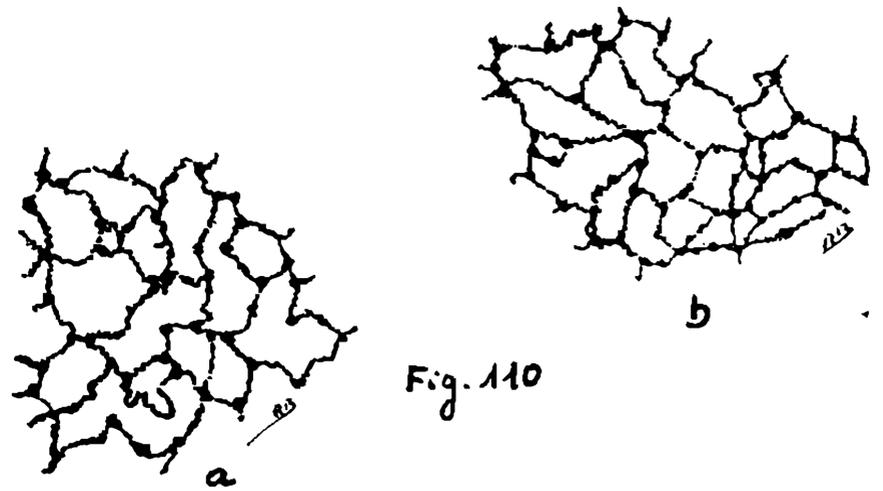
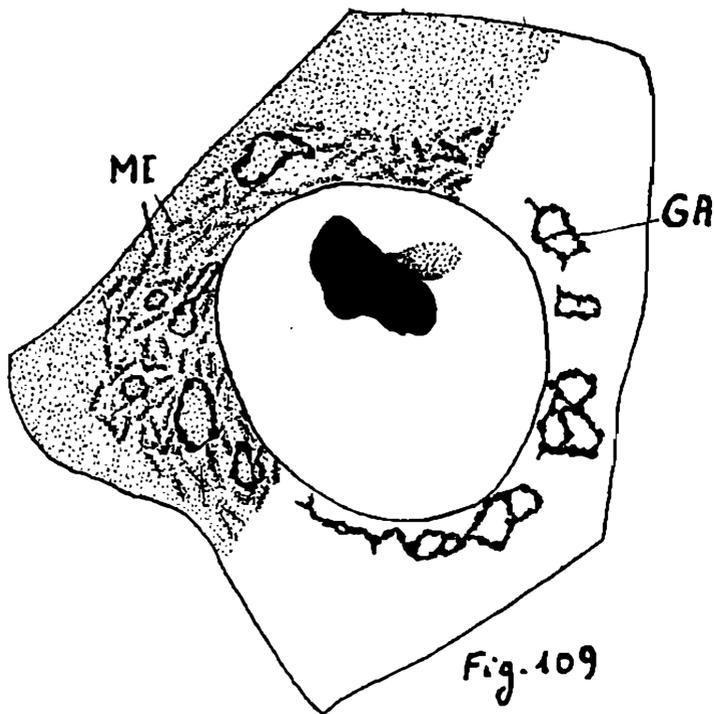


b

Fig. 98



Figs. 99-108



Figs. 109-113