

Papéis Avulsos de Zoologia

PAPÉIS AVULSOS ZOOL., S. PAULO, 31 (4): 49-77

30.IX.1977

COMPORTAMENTO NUCLEAR EM GLÂNDULAS SALIVARES DE *MELIPONA QUADRIFASCIATA ANTHIDIOIDES* LEP. DURANTE O DESENVOLVIMENTO LARVAL¹

REGINA LÚCIA MORELLI SILVA DE MORAES²

RESUMO

Estudos cariométricos e citofotométricos do conteúdo de DNA nuclear nas células das glândulas de seda de Melipona quadrifasciata anthidioides Lep. permitiram evidenciar padrões diferentes de comportamento nuclear, durante todo o desenvolvimento larval, nas regiões estudadas. Tais diferenças foram notadas tanto entre núcleos de uma mesma região como de região para região em um mesmo estágio, permitindo distinguir cinco regiões diferentes ao longo das glândulas. Ainda, à medida que se avança na vida larval, a mesma região mostrou variações quanto ao conteúdo de DNA e volume médio, determinados nos núcleos de suas células.

ABSTRACT

Caryometric and cytophotometric studies of DNA content in nuclei of larval salivary gland cells of Melipona quadrifasciata anthidioides Lep. allowed the demonstration of different patterns of nuclei behaviour, during larval development, in the different glandular zones studied.

These differences were observed among nuclei of the same region as well as among nuclei of different regions of the same developmental stage. The differences from region to region allowed to distinguish five different regions along the gland. During the larval development the same region showed changes in average DNA contents and nuclear volumes from stage to stage.

(1) Trabalho financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Proc. 71/452). Extraído da Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Zoologia do Instituto de Biociências (U.S.P.).

(2) Departamento de Morfologia Animal, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Rio Claro, — 13.500 — Rio Claro, S.P., Brasil.

INTRODUÇÃO

Estudos da poliploidização somática têm sido efetuados em vários tecidos animais e vegetais, podendo estar esse processo relacionado à diferenciação embrionária, funcional ou a aspectos evolutivos (Mello et al., 1970; Nováková et al., 1970; Beçak & Goissis, 1971; Evans & Vant'Hof, 1975).

No caso dos vegetais superiores o fenômeno de poliploidização está relacionado a processos de diferenciação embrionária, não constituindo, todavia, um passo obrigatório (Evans & Vant'Hof, 1975). Nos vertebrados, o aparecimento de núcleos poliploides parece restrito às células glandulares, enquanto nos insetos, de acordo com Lipp (1953), cada tecido pode apresentar um grau de ploidia específico, não se restringindo a poliploidização aos tecidos glandulares.

As glândulas salivares dos insetos têm por função a produção de enzimas digestivos e a secreção da seda utilizada na formação do casulo, notando-se nessas glândulas uma atividade crescente que vai do 1.º estágio até o fim da vida larval e que culmina com a eliminação do produto secretado, precedendo a pupação. Assim, as células glandulares sofrem alterações morfológicas que dizem respeito tanto ao aspecto do citoplasma como à atividade nuclear (Berenides & Holt, 1965; Jacob & Jurand, 1965; Kloetzel & Laufer, 1968, 1969; Laufer, 1968; Oschmann & Berridge, 1970). Justamente a parte referente à atividade nuclear é que tem sido mais estudada porque dessa depende, em primeira instância, a atividade citoplasmática e diferenciações correlatas.

Já tem sido bem demonstrado que um dos primeiros fenômenos envolvidos na diferenciação de células secretoras é um aumento na quantidade de DNA, ou seja, uma poliploidização somática (Painter, 1945; Painter & Bieseke, 1966; Mello et al., 1970; Suzuki et al., 1972) ou politenização conforme verificado nos dípteros.

A intensificação da atividade funcional está ligada, de um lado, ao aumento do número de genes para a produção de uma maior quantidade de RNA (aumento do conteúdo de DNA) e de outro à maior quantidade de derepressores do DNA no núcleo, o que proporciona o aumento do volume nuclear.

Este trabalho pretende verificar, com métodos cariométricos e citofotométricos, a maneira como esses 2 fatores se interrelacionam e revelam a atividade celular nas glândulas salivares de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep.

MATERIAL E MÉTODOS

Larvas de *Melipona*, representativas dos 5 estágios larvais foram fixadas em uma mistura de Carnoy e incluídas em parafina pela técnica usual.

As secções, com 15 μ m de espessura, foram submetidas à reação de Feulgen-Rossenbeck com tempo padrão de hidrólise de 10 minutos, para que os resultados pudessem ser interpretados como originados de uma variação específica do DNA.

As determinações de volume nuclear e conteúdo de DNA em unidades relativas por núcleo, basearam-se nas seguintes fórmulas:

$$V.N = \frac{1}{6} \pi . D . d^2$$

$$DNA = E . D . d$$

onde,

D e d representam os valores dos diâmetros maior e menor dos núcleos

e

E é o valor médio da extinção, obtida com o auxílio de um citofotômetro Zeiss, sob um comprimento de onda de 560 μ m.

Os dados obtidos foram tratados com testes estatísticos apropriados.

RESULTADOS

Nas larvas de *Melipona* a glândula de seda é constituída por 2 tubos longos que se fundem anteriormente, originando uma estrutura ímpar denominada duto final, que se abre próximo à extremidade do lábio.

Essa glândula pode ser dividida morfológicamente em 3 regiões: duto excretor final, duto da glândula e porção glândular propriamente dita ou porção secretora (fig. 1).

Tendo em vista diferenciações funcionais encontradas por outros autores ao longo da porção secretora (Cruz Landim & Mello, 1969; Melo et al., 1970), esta foi dividida no presente trabalho em 3 regiões: anterior, média e posterior (fig. 1).

Examinando-se as glândulas de seda coradas com Feulgen, notam-se diferenças nos núcleos que podem ser observadas de região para região em um mesmo estágio e de estágio para estágio dentro da mesma região (figs. 2 e 3). Uma intensidade maior de coloração e um aumento no volume são aspectos notados nos núcleos da região secretora, em todos os estágios. Pode ser observado ainda que as células glandulares sofrem também alterações, encontrando-se em processos de degeneração no final da fase larval (fig. 3). Os núcleos apresentam-se picnóticos nesta fase, com a correspondente diminuição de volume.

Os dados cariométricos e citofométricos corroboram algumas das observações visuais, como mostrado na tabela I.

Análises de variância, complementadas pelo teste de Duncan, permitiram comparar as médias para conteúdo de DNA e volume nuclear tanto de região para região no mesmo estágio (tabs. II e III) como na mesma região nos diferentes estágios (tabs. IV e V), verificando-se em ambos os casos que as variações do conteúdo médio de DNA e de volume nuclear médio não seguem os mesmos padrões.

As variações citofotométricas do conteúdo de DNA ocorrem, da região proximal da glândula para a distal, nas seguintes proporções:

1: 2: 4: 4
1: 2: 8: 9: 10
1: 3: 12: 12: 14
1: 3: 30: 28: 32

1: 4: 28: 25: 28, do 1.º ao 5.º estágio respectivamente, notando-se portanto que o padrão de duplicação do conteúdo de DNA não se faz em progressão geométrica. O mesmo fenômeno é verificado quanto ao aumento do volume nuclear cuja variação ocorre de acordo com as seguintes proporções:

1.º estágio— 1: 2: 3: 3: 3
2.º estágio— 1: 2: 5: 5: 5
3.º estágio— 1: 3: 6: 6: 6
4.º estágio— 1: 3: 18: 18: 18
5.º estágio— 1: 3: 16: 16: 16

É importante ressaltar que a variabilidade dos dados não se verifica somente quando são comparados as regiões ou estágios diferentes. Assim, os dados citofotométricos e cariométricos, obtidos durante o desenvolvimento de glândula salivar larval de *Melipona*, mostram uma enorme variabilidade de núcleo na mesma região em todos os estágios (histogramas), enquanto que em um mesmo núcleo nem sempre o aumento do conteúdo de DNA implica em um aumento paralelo de volume nuclear, como pode ser verificado pelos diagramas.

DISCUSSÃO

As glândulas de seda ou salivares larvais são estruturas tubulares pares, formadas por diferentes regiões. Presentes nas larvas da quase totalidade dos insetos, embora em algumas as regiões não se diferenciem morfológicamente, vários autores já verificaram que mesmo nesses casos as células glandulares de cada região apresentam padrões diferentes de comportamento (Berendes, 1965; Simões, 1967; Teles da Silva, 1972).

Assim, com base nos dados encontrados na literatura e considerando a morfologia das glândulas de seda de *Melipona*, julgou-se interessante no presente estudo dividir a estrutura em diferentes regiões: duto final, duto da glândula, região anterior média e posterior, constituindo as 3 últimas a porção secretora do órgão.

Nesta porção, onde as células estão envolvidas na produção de secreção, os núcleos corados com Feulgen (figs. 2 e 3) apresentaram-se maiores e mais picnóticos que aqueles dos dutos, que provavelmente representam estruturas envolvidas apenas na eliminação do produto secretado, originando-se daí as glândulas salivares do adulto (Cruz Landim e Mello, 1967).

Tais aspectos morfológicos refletem-se nos estudos cariométricos e citofotométricos, mostrando esses estudos que os núcleos das regiões de duto apresentaram os menores conteúdos de DNA, enquanto os mais altos foram alcançados naqueles das regiões secretoras, em todos os estágios.

Sabendo-se da relação direta entre atividade funcional celular e poliploidização pode-se propor que na região de duto ou não ocorre produção de secreção ou a atividade celular é bem menor que aquela desenvolvida pelas células das porções secretoras. Contudo, de acordo com Mello & Vidal (1971) a produção de secreção somente é detectada quando os núcleos atingem um grau máximo de ploidia. Considerando este fato, os nossos resultados indicam então que a atividade secretora se realiza no 4.º estágio larval (tab. I).

Os altos valores médios para volume nuclear, obtidos nas regiões secretoras do 4.º estágio, confirmaram também essa conclusão, uma vez que o aumento da atividade secretora implica em aumento da quantidade de derepressores nucleares, devendo ser evidenciado um hipermetetismo nos tecidos metabolicamente ativos (Schreiber et al., 1967). No presente caso, como mostrado pelas proporções cariométricas mencionadas na parte referente a resultados, verificou-se a ocorrência de um hipometetismo nas regiões secretoras do 4.º estágio, sugerindo que esses valores para volume nuclear médio sejam o limite máximo de volume que essas regiões podem atingir sem que haja alteração da relação superfície/volume nuclear. De acordo com Bennett (1970), o aumento do conteúdo de DNA sem alteração do volume pode ocorrer, refletindo-se apenas em um aumento da densidade nuclear.

É necessário ressaltar a ocorrência de valor médio para conteúdo de DNA na região média secretora do 4.º estágio menor que aqueles obtidos nas regiões anterior e posterior do mesmo estágio (tab. II) frisando-se a constância do volume nuclear médio nas 3 regiões (tab. III). Pode-se supor que os núcleos, na região média glandular, apresentam uma maior quantidade de derepressores e consequentemente um DNA mais ativo, que aqueles das outras 2 regiões mencionadas.

Ainda nas regiões secretoras foi possível observar uma diminuição dos valores médios de conteúdo de DNA nuclear (Tab. IV) e de volume do 4.º para o 5.º estágio (tab. V), fato este que deve estar relacionado com o início da autólise da glândula nesse último estágio do desenvolvimento. Esse fenômeno é posto em evidência na figura 2, onde o citoplasma das células glandulares aparece parcialmente degenerado, no final da fase larval.

Como ficou claro, o que faz a diferença entre fases e regiões da glândula são os níveis de ploidia atingidos, os quais tendem a aumentar da região proximal para a distal da glândula em todos os estágios e em uma mesma região, à medida que progride o desenvolvimento larval. Constituem exceções a esse padrão de comportamento a região média do 4.º estágio e as regiões secretoras estudadas no 5.º estágio, conforme mencionado acima.

No duto final e duto da glândula os valores para conteúdo de DNA e volume atingidos por seus núcleos são praticamente os mesmos em todos os estágios, enquanto nas regiões secretoras do 4.º e 5.º estágio aparecem núcleos cujos valores para DNA e volume são bem maiores que aqueles dos estágios precedentes. A explicação para esses dois comportamentos poderia ser encontrada no fato de os núcleos do duto final e da glândula exercerem atividades múltiplas no controle de metabolismo geral daquelas células e os da região secretora serem altamente diferenciados, atendendo nos últimos estágios somente à produção da seda. Em outras palavras, as células

dos dutos e mesmo as glandulares nos estágios iniciais estariam envolvidas na síntese de substâncias diversas, incluindo possivelmente enzimas digestivos, e nos estágios finais as glândulas se concentrariam na atividade de produzir seda para tecer o casulo onde deve ocorrer a pupação.

Como mostram os histogramas, a variação da quantidade de DNA e de volume de núcleo para núcleo, dentro da mesma região é tão grande que parece demonstrar que cada núcleo ou cada célula tem um comportamento particular, sendo que nem sempre o aumento da quantidade de DNA é seguido pelo aumento de volume nuclear, como mostram os diagramas.

Segundo Suzuki et al. (1972) em *Bombyx mori* não há amplificação seletiva do DNA homólogo ao RNAm para fibroína na região posterior da glândula de seda, sendo esses genes replicados na mesma proporção que o resto do genoma, acontecendo, no entanto, que todo o genoma destas células altamente poliplóides fica, na fase de secreção da seda, reprimido, com exceção dos genes envolvidos na síntese das proteínas que a compõem. Se tomarmos como geral a idéia de Suzuki et al. (1972), de que não ocorre amplificação gênica seletiva na glândula de seda, fenômeno que parece ter sido verificado em *Melipona* por autores anteriores (Cruz Landim & Mello, 1969; Mello et al., 1970), a quantidade de derepressores do DNA presentes em diferentes núcleos poderia neste caso ser tomada como causa de um assincronismo na variação DNA x volume nuclear. Como pode ser verificado pelos gráficos, nos estágios finais o fenômeno de a várias quantidades de DNA corresponder apenas um volume nuclear se intensifica. Quando se pensa em termos de apenas poucos genes ativos, a quantidade de derepressores necessária poderia ser tão pequena a ponto de não produzir mudanças detectáveis no volume nuclear. Pode-se supor ainda que alguns núcleos tenham atingido o volume máximo possível dentro do qual sua superfície é capaz de atender trocas metabólicas com o citoplasma.

Por outro lado, é sabido que durante a secreção certas células passam por fases de acúmulo e descarga de material secretado, ocorrendo uma variação em todo o conteúdo de orgânulos celulares neste ciclo. Em muitas glândulas o fenômeno é sincrônico, porém no nosso caso parece não haver sincronismo nem ao longo da glândula e nem em uma mesma região, sendo ainda provável que cada célula apresente um único ciclo de secreção como acontece em geral nos adultos destes insetos e, talvez, também na larva.

O fato de ocorrer uma variação no conteúdo de DNA de núcleo para núcleo do molde verificado, em uma mesma região, não nos permite excluir a possibilidade de esta ter como causa uma assincronia na reduplicação genômica. Assincronias de reduplicação foram verificadas por Gillot (1968), em *Bombyx mori*, na glândula de seda. Usando incorporação de timidina H^3 e C^{14} , Gillot demonstrou incorporações diferenciais não só de núcleo para núcleo em células vizinhas, como de região para região em um mesmo núcleo. Esse autor atribui as diferenças verificadas a assincronias na replicação de regiões heterocromáticas do DNA, especialmente da cromatina X. No caso das abelhas não se poderia falar de uma cromatina X (Cunha & Kerr, 1957) mas sabe-se que a heterocromatinização dos núcleos das células glandulares é diferente ao longo da glândula e dos estágios (figs. 2 e 3). Também a produção de DNA em "loci" específicos, como ocorre nas

glândulas salivares de dípteros, fugindo aos valores de replicação, não pode ser excluída como fonte de variação, apesar do verificado por Suzuki et al., (1972). A variabilidade nuclear pode ser considerada fator responsável pelas diferenças verificadas entre indivíduos de um mesmo estágio, através de análise de variâncias.

Contudo, no nosso entender, embora a presença de DNA metabólico e as assincronias de replicação expliquem a variação quase que contínua dentro de uma determinada classe de ploidia não explicam a existência de várias classes de ploidia dentro da mesma região e da mesma fase, o que não constitui, entretanto, fato novo, pois de acordo com White (1973), células com vários graus de ploidia podem coexistir em um mesmo tecido.

Por tudo isto, pode-se admitir que a variação que ocorre de indivíduo para indivíduo em uma mesma fase de desenvolvimento seja o mesmo fenômeno que se vê na região da glândula de seda em cada indivíduo, não invalidando portanto o padrão geral de comportamento.

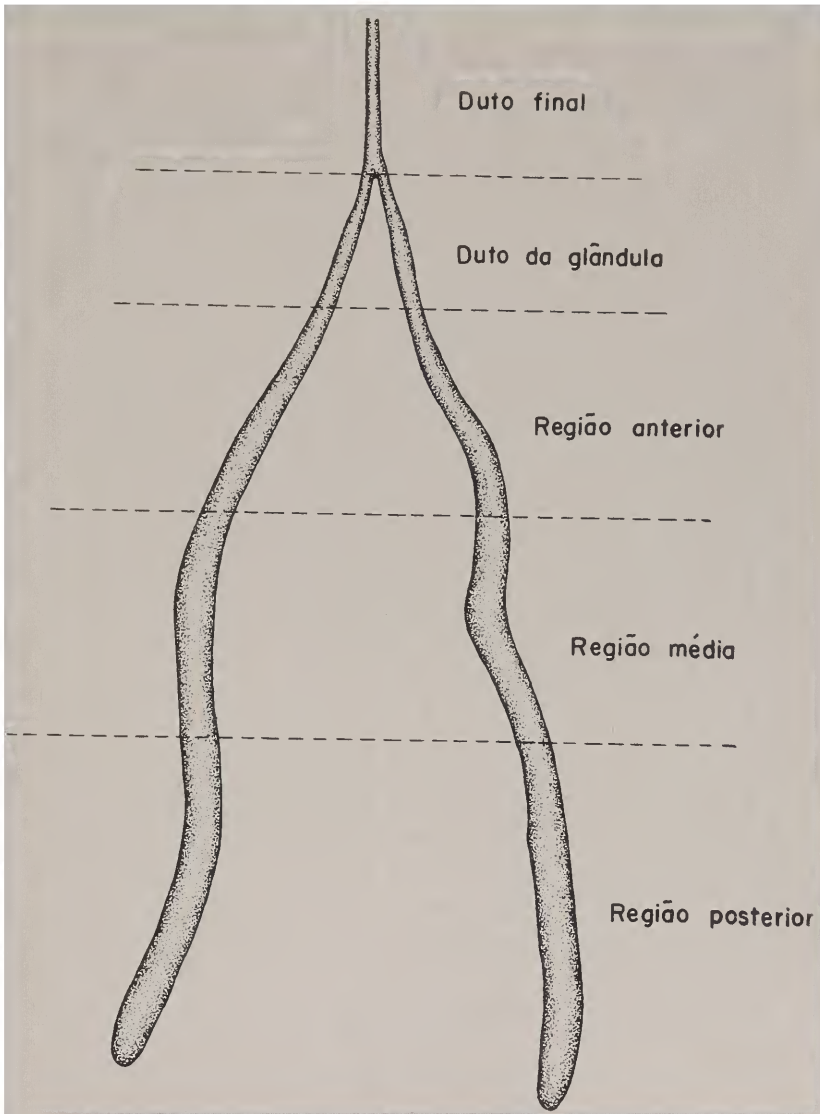
AGRADECIMENTOS

A Dra. Carmina da Cruz Landim, minha orientadora, sou especialmente grata pelo apoio e incentivo sempre constantes.

REFERENCES

- Begak, W. & G. Góissis, 1971. DNA and RNA content in diploid and tetraploid amphibians. *Experientia* 27: 345.
- Bennet, M. D., 1970. Natural variations in nuclear characters of meristems in *Vicia faba*. *Chromosoma* 29: 317-335.
- Berendes, H. D., 1965. Salivary gland function and chromosomal puffing patterns in *Drosophila hydei*. *Ibidem* 17: 35-77.
- Berendes, H. D. & T. K. Holt, 1965. Differentiation of transplanted larval salivary glands of *Drosophila hydei* in adults of the same species. *J. Exp. Zool.* 160: 299-318.
- Cruz Landim, C. da & M. L. S. Mello, 1967. The post-embryonic changes in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Hym. Apoidea). II. Development of the salivary glands system. *J. Morph.* 123 (4): 481-502.
- Cruz Landim, C. da & M. L. S. Mello, 1969. Development of polyploidy in silk glands of *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Hym. Apoidea) during the larval stage. *J. Exp. Zool.* 170 (2): 149-156.
- Cunha, A. B. da & W. E. Kerr, 1957. A genetical theory to explain sex-determination by arrhenotokous parthenogenesis. *Forma et Functio* 1 (4): 33-36.
- Evans, L. S. & J. V. Vant'Hof, 1975. Is polyploidy necessary in higher plants? *An. J. Bot.* 62 (10): 1060-1064.
- Gillot, S., 1968. Hétérogénéités fonctionnelles dans l'ADN de noyaux géants. *Exp. Cell Res.* 50: 388-402.

- Jacob, J. & A. J. Jurand, 1975. Certain ultrastructural aspects of the process of secretion in salivary gland cells of insect larvae. *J. Insect Phys.* 11: 1337.
- Kloetzel, J. A. & H. Laufer, 1968. Fine structural analysis of larval salivary gland function in *Chironomus thummi*. *J. Cell Biol.* 39, 74 a.
- Kloetzel, J. A. & H. Laufer, 1969. A fine structural analysis of larval salivary gland function in *Chironomus thummi* (Diptera). *J. Ultrastruct. Res.*, 29: 15-36.
- Laufer, H., 1968. Development interactions in Diptera salivary glands. *Amer. Zool.* 8: 257-271.
- Lipp, C., 1963. Über kinwechstum Endomitosen und Funktionszyklen in der trocogen Zellen von *Corixa punctata* Felig. *Chromosoma*, 5: 454-486.
- Mello, M. L. S.; C. S. Takahashi & A. R. T. Gagliardi, 1970. Polyploidy pattern in larval silk glands of *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apoidea). *Insectes Soc.*, 17: 295-302.
- Mello, M. L. S. & B. C. Vidal, 1971. Histochemical and histophysical aspects of silk secretion in *Melipona quadrifasciata* (Hym. Apoidea). *Z. Zellforsch.* 118: 555-569.
- Nováková, V.; W. Sandritter & G. Schlueter, 1970. DNA content of neurons in the rat central nervous systems. *Exp. Cell. Res.*, 60: 454-456.
- Oschman, J. L. & M. J. Berridge, 1970. Structural and functional aspects of salivary fluid secretion in *Calliphora*. *Tissue & Cell*, 2 (2): 281-310.
- Painter, T. J., 1945. Nuclear phenomena associated with secretion in certain gland cells. *J. Exp. Zool.*, 100 (3): 523-541.
- Painter, T. J. & J. J. Bieseke, 1966. The fine structure of hypopharyngeal gland cell of the honey bee during development and secretion. *Proc. Acad. Sci.*, 55: 1414-1419.
- Schreiber, G.; M. R. Schreiber & I. A. Fallieri, 1967. Interfase autossintética e heterossintética nas glândulas de *Aplysia brasiliensis* Barg. *Ciência e Cultura, São Paulo*, 19: 473-474.
- Simões, L. C. G., 1967. Síntese de DNA durante o desenvolvimento larval de *Rynchosciara* sp. Tese de Doutorado. Instituto Central de Biologia, Belo Horizonte, U. F. M. G., 78 pp.
- Suzuki, Y.; L. P. Gage & D. Brown, 1972. The genes for silks fibroin in *Bombyx mori*. Animal Report of Director. Department of Embriology. Carnegie Institution Year Book, 71: 19-21.
- Teles da Silva, M. M., 1972. Contribuição ao estudo da biologia de *Eciton burchelli* Westwood (Hym., Form.). Tese de Doutorado apresentada ao Depto. de Biologia da Faculdade de Filosofia de Ribeirão Preto, 374 pp.
- White, M. J. D., 1973. The chromosomes. Ed. Chapman and Hall (London), 214 pp.



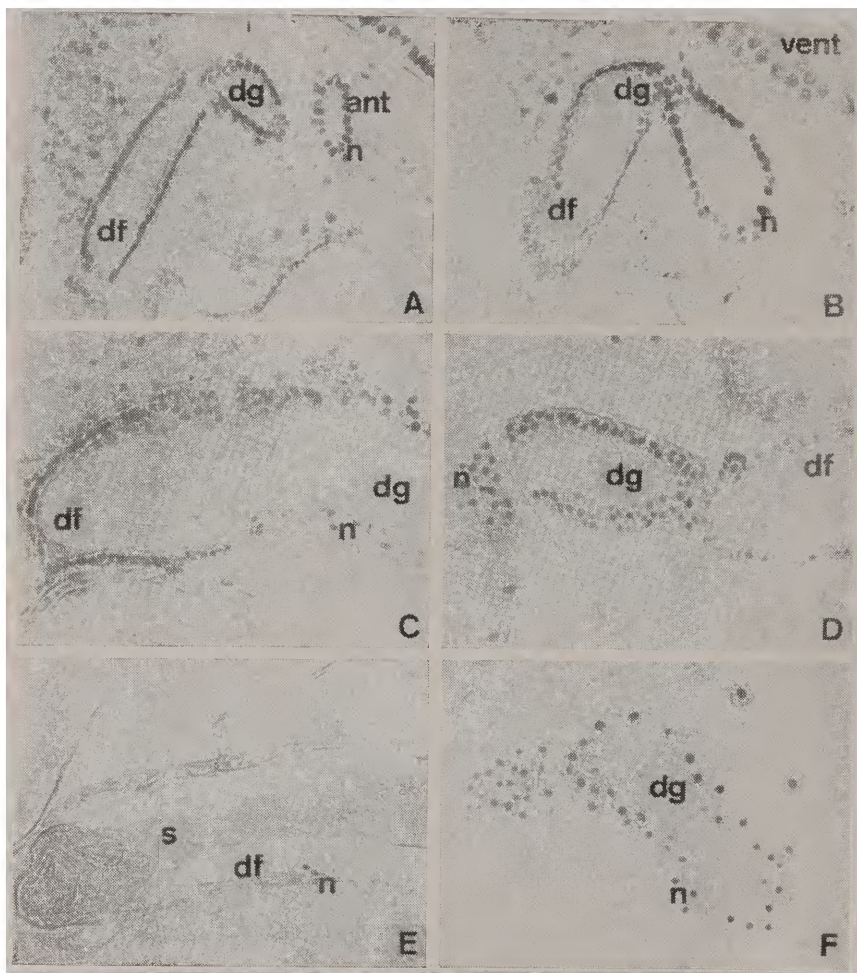


Fig. 2. A-D — Duto final e duto da glândula de seda de *Melipona* no 1º, 2º, 3º e 4º estágios larvais respectivamente; E. — Duto final durante o 5º estágio larval; F. — Duto da glândula durante o 5º estágio larval
 n = núcleo; df = duto final; dg = duto da glândula; ant = região anterior; s = secreção.

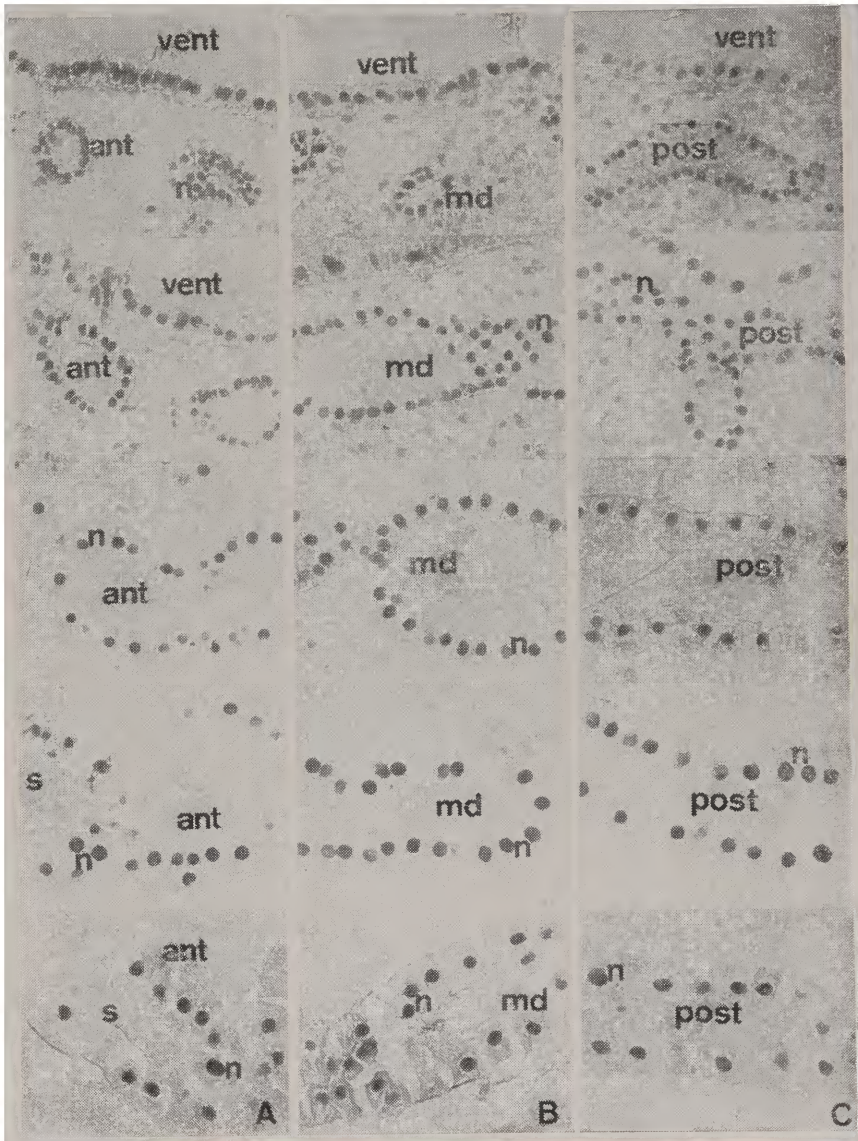


Fig. 3. A-C — Região anterior (ant), média (md) e posterior (post) da glândula de seda durante os 5 estágios larvais de *Melipona quadrifasciata anthidioides* a começar pelo 1º.

TABELA I. - Média dos valores da quantidade de DNA e do volume dos núcleos das glândulas de seda de Melipona quadrifasciata (n = 250).

Ex- tensão da glândula	duto final		duto da glândula		região anterior		região média		região posterior	
	DNA+ SD	volume + SD	DNA + SD	volume + SD	DNA + SD	volume + SD	DNA + SD	volume + SD	DNA + SD	volume + SD
19	5,65±0,88	34,29±4,03	12,11±5,79	70,59±19,66	27,09± 8,12	136,82±26,63	26,50± 9,25	128,09± 13,71	28,93± 9,73	136,72± 17,92
29	6,14±0,81	42,95±11,64	13,00±4,23	92,78±45,53	50,49± 7,22	256,32±50,44	55,74±11,73	281,30± 62,34	62,17±12,47	280,04± 56,91
39	7,45±2,71	50,32±15,31	18,25±4,98	140,51±48,58	72,14±18,97	325,52±96,44	64,37±21,55	323,77±135,36	83,13±17,40	377,27±100,20
49	9,34±1,06	59,09±12,60	21,09±4,48	116,63± 9,57	181,89±29,09	939,78±94,88	160,32±13,63	889,24±103,97	192,29±10,87	995,10±218,55
59	6,23±2,24	57,14±16,11	26,55±9,21	152,55±50,61	168,06±15,79	813,48±210,76	146,69±20,00	883,26±173,87	165,92±14,20	784,88±167,83

TABELA II. - Comparação das médias do conteúdo de DNA de região para região em um mesmo estádio.

Estádios	Regiões				
	Duto final	Duto da glândula	média	anterior	posterior
1º	5,62	12,01	<u>26,50</u>	27,20	28,93
2º	6,24	13,00	55,75	50,50	61,99
3º	7,45	18,28	<u>64,32</u>	<u>72,14</u>	83,60
4º	9,53	21,09	160,32	180,42	191,90
5º	6,21	26,56	146,69	<u>168,06</u>	<u>165,84</u>

TABELA III. - Comparação das médias representativas do volume nuclear de região para região, em um mesmo estádio.

Estádios	duto final	duto da glândula	região anterior	região média	região posterior
1º	34,24	70,59	<u>136,82</u>	128,09	<u>136,72</u>
2º	42,96	92,87	<u>256,32</u>	281,30	<u>279,88</u>
3º	50,36	140,51	<u>324,62</u>	<u>323,37</u>	<u>376,20</u>
4º	59,09	116,63	<u>939,78</u>	<u>889,24</u>	<u>995,10</u>
5º	57,14	152,55	<u>813,48</u>	873,88	<u>784,97</u>

TABELA IV. - Comparação das médias da quantidade de DNA apresentada pela mesma região nos diferentes estádios.

Regiões	Estádios				
	1º	2º	3º	4º	5º
Duto Final	5.62	6.24	7.45	9.53	6.21
Duto da glândula	12.01	13.00	18.28	21.09	26.56
Região anterior	27.20	50.50	72.14	180.42	168.06
Região média	26.50	55.75	64.37	160.32	146.69
Região posterior	28.93	61.99	83.60	191.90	165.84

TABELA V. - Comparação das médias de volume nuclear apresentado pela mesma região nos diferentes estádios.

Regiões	Estádios				
	1º	2º	3º	4º	5º
Duto final	34.24	42.96	50.36	59.09	57.14
Duto da glândula	70.59	92.87	140.51	116.63	152.55
Região anterior	136.82	256.32	324.62	939.78	813.48
Região média	128.09	281.30	323.37	889.24	873.88
Região posterior	136.72	279.88	376.20	995.10	784.97

