

TARCÍSIO DE SOUZA DUARTE

MICROMORFOLOGIA DE PELOS ARISTIFORMES DE ROEDORES DAS
FAMÍLIAS Cricetidae e Echimyidae (Mammalia, Rodentia)

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Animal, para obtenção do
título de *Magister Scientie***

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

D812m
2013

Duarte, Tarcísio de Souza, 1987-
Micromorfologia de pelos aristiformes de roedores das
famílias *Cricetidae* e *Echimyidae* (Mammalia, Rodentia) /
Tarcísio de Souza Duarte. – Viçosa, MG, 2013.
52 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Gisele Mendes Lessa del Giúdice.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Zoologia - Classificação. 2. Rato-de-espinho.
3. Morfologia. 4. Microscopia. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Programa de
Pós-Graduação em Biologia Animal. II. Título.

CDD 22. ed. 599.35

TARCÍSIO DE SOUZA DUARTE

MICROMORFOLOGIA DE PELOS ARISTIFORMES DE ROEDORES DAS
FAMÍLIAS Cricetidae e Echimyidae (Mammalia, Rodentia)

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Animal, para obtenção do
título de *Magister Scientie***

APROVADA: 13 de março de 2013

Dra. Sônia Aparecida Talamoni

Dr. José Lino Neto

Dra. Gisele Mendes Lessa del Giúdice
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

À Universidade federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Animal pela oportunidade e pelo apoio dado durante a execução deste trabalho;

À FAPEMIG pela concessão da bolsa de fomento;

Aos membros da banca, Sônia Talamoni e José Lino Neto por terem aceitado de tão bom grado participar e contribuir com sua experiência e conhecimento neste trabalho;

Aos professores Adriano Paglia, Cláudia Costa e Yuri Leite, pela recepção e empréstimo do material das respectivas coleções de mamíferos, na UFMG, PUC-BH e UFES e pela confiança no trabalho;

Às coleções que não concederam as amostras, por me fazerem valorizar ainda mais a generosidade e o companheirismo dentro da academia;

À Gisele Lessa, por ter encarado a empreitada de me orientar, desde a graduação, apoiando e incentivando, seja com conselhos acadêmicos ou de vida, com puxões de orelha e palavras de carinho;

À Andreia Carvalho, por ter me inserido no mundo da tricológia e ter me ensinado, mesmo silenciosamente, muito mais coisas além de padrões microscópicos de cutícula e medula;

Aos professores Renato Feio, Pedro Romano, Rômulo Ribon e Jorge Dergan por todos os conselhos, opiniões e ajudas;

À todos que fizeram a história do Museu de Zoologia desde o seu início, possibilitando que chegássemos até aqui com uma estrutura que viabiliza este e diversos outros trabalhos de ponta na zoologia;

Aos meus pais por todos os ensinamentos, exemplo e apoio incondicional para que pudesse chegar até aqui;

Aos meus irmãos pelos exemplos de vida, sempre me ensinando a cada dia, na prática, a ser uma pessoa íntegra e de bem;

Aos sobrinhos recém-chegados, porém, mais amados do mundo, Vitor e Anita que me fazem querer seguir em frente e ser um exemplo de vida e motivo de orgulho para eles;

A toda a família, em especial às minhas avós, exemplos de força e história de vida;

À Andrea, por toda atenção, carinho, paciência, amor e pelas infinitas revisões nos meus textos, que fizeram dela, mesmo em pouco tempo, peça importantíssima para que eu conseguisse chegar até aqui;

À minha comadre Marina e à “irmã adotada” Rinamara, para as quais não tenho nem palavras para dizer o quanto foram importantes nesses dois anos;

Ao LabMasto em especial à Pollyana, Carol, Marcela, Pedro Henrique, Camilo, Fabiano por estarem sempre presentes;

Aos grandes amigos e parceiros de trabalho que fiz, Maria Clara, Natália e Rodolfo, por todos os momentos em que me ajudaram com ideias, correções, conselhos, e que mesmo à distância sempre estiveram à postos para me ajudar;

Aos amigos “moojenianos” Léo, Jhonny, Larissa, Gian, Leandro (Xibungo), Cris, Michele, Gilda, Helberth, Panda, Priscilla, Larissinha, Nayara pelas incontáveis horas de conversas, risadas, trocas de ideias, e “boêmias”;

À todos que de alguma forma, direta ou indiretamente contribuíram para que mais esta etapa fosse concluída. E que venham as próximas!

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

Introdução Geral 1

Capítulo 1:

Observações sobre os métodos de preparo de lâminas para análises tricológicas de pelos aristiformes. 12

Introdução 14

Material e métodos 15

Resultados 16

Discussão 18

Anexo I 21

Capítulo 2:

Aspectos micromorfológicos de pelos aristiformes de espécies de ratos-de-espinho das famílias Cricetidae e Echimyidae (Mammalia, Rodentia) 23

Introdução 25

Material e métodos 27

Resultados 31

Discussão 42

Anexo II 49

Conclusões Gerais 51

RESUMO

DUARTE, Tarcísio de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2013. **Micromorfologia de pelos aristiformes de roedores das Famílias Cricetidae e Echimyidae (Mammalia, Rodentia)**. Orientadora: Gisele Mendes Lessa del Giúdice

A tricotaxonomia é ramo da ciência que utiliza os padrões micromorfológicos dos pelos aplicados na identificação de espécies. Tal técnica tem sido muito útil no levantamentos de fauna, estudos de ecologia alimentar, análises forenses, entre outros. Dentre os diversos tipos de pelos, os chamados aristiformes são típicos de roedores das famílias Echimyidae, Cricetidae, Heteromyidae e Erethizontidae. Este tipo de pelo é pouco estudado, limitando-se a alguns trabalhos com microscopia eletrônica de varredura. O presente trabalho teve como objetivo identificar os padrões micromorfológicos de dezesseis espécies de ratos de espinho das famílias Echimyidae e Cricetidae. Foram confeccionadas lâminas histológicas para observação da cutícula e medula, seguindo processamento usual na análise microscópica de pelos. A morfologia cuticular apresentou dados significativos, sendo possível diferenciar as espécies com exceção dos gêneros *Trinomys* e *Phyllomys*, que apresentaram padrões iguais entre suas espécies. A partir dos resultados obtidos foi constituída uma chave dicotômica de identificação das espécies estudadas. Não foram observadas diferenças na morfologia cuticular dos pelos coletados de diferentes partes do corpo. A morfologia da medula foi pouco informativa em termos taxonômicos, ocorrendo de maneira semelhante nos pelos de todas as espécies estudadas. Os resultados obtidos reforçam a validade do uso da tricologia aplicada à taxonomia. Apesar dos estudos nesta área ainda serem incipientes para vários grupos de mamíferos, a tricotaxonomia apresenta a possibilidade do uso de métodos e análises práticas e eficientes, seja como auxiliar nas técnicas tradicionais ou como ferramenta principal para identificação de amostras sem procedência.

ABSTRACT

DUARTE, Tarcísio de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march 2013. **Micromorphology of aristiform hairs of rodents of Families Cricetidae and Echimyidae (Mammalia, Rodentia)**. Adviser: Gisele Mendes Lessa del Giúdice.

The part of the science that studies the hair is the trichology, which when applied to identifying micromorphological patterns of them, is named trichotaxonomy. This technique has been widely used in mastozoological applied studies that required species identification, as inventory of fauna, feeding ecology, forensic analyses, among others. Aristiform hairs are typical of rodents of Echimyidae, Cricetidae, Heteromyidae e Erethizontidae families and are different from the thorns because they are smaller and less rigid, not playing the role of protection of predators. This kind of hair is understudied, limited to a few studies under scanning electron microscopy. This paper identified the micromorphological patterns of 16 species of spiny rats of the families Echimyidae and Cricetidae under light microscopy. Preparations were made for viewing of cuticle and medulla of the hairs using the well known techniques by the most of current researchers. The results showed that there are no significant differences among the hairs of different parts of the animal's body. Moreover, it was seen that the medullar morphology and the cross sections of the hairs are uninformative in taxonomic terms, because they occurred equally in all species. The cuticular morphology was more significant and may be different among the species. From this, we constructed a dichotomous key to identification of the studied species. In conclusion, the trichological studies are incipient for certain groups and, this technique can be applied in taxonomic studies by combining the efficiency results with practicality and speed in performing the analyses as an adjunct to traditional identification or as a main tool (in the case samples without provenance).

INTRODUÇÃO GERAL

RESUMO: Pelos são anexos epidérmicos exclusivos do grupo dos mamíferos, cumprindo importantes funções como atuação no controle da temperatura corporal, proteção contra penetração de água e predadores, como no caso de pelos modificados em espinhos. Estas estruturas são compostas em geral, por três camadas concêntricas de células queratinizadas: córtex, medula e cutícula, sendo as duas últimas de grande relevância para análises morfológicas. A tricologia é o ramo da ciência que estuda a estrutura dos pelos, e tem sido usada como ferramenta importante para a identificação de espécies através da análise micromorfológica da cutícula e da medula. Esta linha de pesquisa é desenvolvida desde a década de 20 e vêm ganhando respaldo entre os mastozoólogos nos últimos anos. Apesar de não haver um consenso sobre a nomenclatura de padrões e de métodos, já é reconhecido que os padrões de medula e cutícula, combinados, conferem às espécies ou grupos de espécies, características diagnósticas que permitem identificação e utilização em trabalhos diversos dentro da mastozoologia.

Palavras chave: Pelos, tricologia, taxonomia, Rodentia.

A presença de pelagem é característica exclusiva dos mamíferos. Apesar da analogia funcional existente com as penas das aves, os pelos possuem processos de formação e desenvolvimento distintos. Os pelos são estruturas essencialmente epidérmicas, sem o componente mesodérmico que ocorre nas penas. Sua origem se deu, muito provavelmente, por meio de estruturas sensoriais dos ancestrais reptilianos, anteriormente à perda das escamas (Sherwood & Parsons 1984).

Os pelos possuem uma ampla gama de funções, como camuflagem, comunicação e sensorial, sendo o principal papel executado por essas estruturas a proteção contra os excessos de calor e o frio. Esta se dá por meio da formação de uma camada de ar entre a pele e a pelagem e ação de músculo eretores, os *erector pili*, estimulados pelos nervos simpáticos quando ocorrem as sensações térmicas (Pough et al. 2003).

Teerink (1991) sugere que a pelagem seja dividida em pelos guarda (overhairs) e os subpelos (underhairs) (Fig. 1a). Os pelos guarda possuem duas regiões morfológicamente distintas: (i) a haste, região proximal localizada logo após o bulbo do pelo, podendo ser ondulada (pelos-guarda primários) ou lisa (pelos-guarda secundários); e (ii) o escudo, região que vai desde a haste até o ápice do pelo, em geral liso, maior e mais largo que a haste. Este grupo de pelos cumpre principalmente as funções mecanorreceptora (por meio dos pelos mais longos, que se sobressaem na pelagem) e de dissimulação no ambiente (pela coloração individual dos pelos que confere o padrão da pelagem).

Os subpelos possuem morfologia homogênea, são mais numerosos, pequenos, finos e ondulados (Day 1966). Sua função é a proteção contra as variações de temperatura e contra a penetração de água (Andrew 1959).

Os pelos são formados por três camadas concêntricas (Fig. 1b): medula, córtex e cutícula. A medula é a camada mais interna, formada pela deposição de alfa-queratina mole nas células podendo conter bolhas de ar e pigmentos. O córtex é a camada intermediária, formado pela deposição nas células de alfa-queratina dura, podendo ocorrer grânulos de melanina. A camada mais externa é representada pela cutícula, composta por escamas cuticulares formadas a partir da deposição de alfa-queratina dura nas células apresentando pigmentos associados (Teerink 1991), com exceção dos quirópteros, que não apresentam nenhum tipo de pigmento, conforme consta em Benedict (1959).

Além dos pelos-guarda e subpelos, existem pelos modificados em espinhos e pelos aristiformes (Fig. 1c) que estão presentes nas famílias de roedores Cricetidae, Erethizontidae e Echymidae (Fig. 2). Os espinhos, dado sua robustez e por serem pontiagudos, tem reconhecidamente a função de proteção contra ataques de predadores e tiveram sua estrutura amplamente estudada por Chernova (2002). Apesar de serem frequentemente chamados de espinhos, os pelos aristiformes são menos robustos e não têm estrutura ou função biológica conhecida até o momento (Hoey et al. 2004).

O ramo da mastozoologia que estuda os pelos dos mamíferos é a tricologia (do grego, *thricos* = pelo e *logos* = ciência) (Quadros 2002). Quando os pelos são analisados para fins taxonômicos, dá-se o nome de tricotaxonomia (Sarkar et al. 2010). Muitos trabalhos foram realizados no intuito de aprofundar os conhecimentos a respeito da microestrutura dos pelos, desde as primeiras décadas do século 20 (Hausmann 1920a, 1924, 1930, 1944; Kirk et al. 1949; Benedict 1957) até os dias atuais, principalmente no início dos anos 2000, quando houve grande aumento no interesse dos pesquisadores em desenvolver a tricotaxonomia como ferramenta para identificação de mamíferos (Quadros & Braga 1998, Quadros & Monteiro-Filho 2006a, 2006b; Ibarra & Sanchez-

Cordero 2004; Moyo 2005; Vanstreels et al. 2010). Tais trabalhos têm sido aplicados em diversos campos da ciência, como em ecologia alimentar (Day 1966, Oli et al. 1993), identificação de fibras comerciais (Hausmann 1920), ciência forense (Sato et al. 2010, Yates et al. 2010, Peurach 2003) e paleontologia (Vullo et al. 2010).

A diagnose das espécies por meio da micromorfologia dos pelos é feita a partir da combinação das características de cada uma das três camadas componentes das fibras capilares (Quadros 2002). Na maioria dos casos, os pelos utilizados para este tipo de trabalho são os pelos guarda, com menor sobreposição das características entre espécies, diferente do que acontece com os subpelos, que costumam ser muito semelhantes entre as espécies e normalmente descartados das análises taxonômicas (Teerink 1991).

Normalmente os pelos oriundos de diferentes partes do corpo de um mesmo indivíduo não variam de padrão, o que permite que amostras de pelos as quais não se sabe a origem, como as coletadas em fezes ou egagrópilas, sejam analisadas sem prejuízo na identificação (Quadros e Braga 1998). A exceção a esta regra, segundo Day (1966) e Rygoot & Wyatt (1980) são os pelos de extremidades como orelhas, patas e cauda, que nos respectivos experimentos, apresentaram padrões diferentes do resto do corpo dos animais. Também não foram descritas na literatura diferenças evidentes entre machos e fêmeas quanto às características microestruturais dos pelos, com exceção de Riggott & Wyatt (1980), que descreveram diferenças na pelagem da cabeça de ratos de laboratório.

Várias chaves de identificação de mamíferos baseadas na micromorfologia dos pelos têm sido propostas (Oli 1993, Nagaoka 2002, Ibarra & Sanchez-Cordero 2004, Pierallini (2006), Martin et al. (2009). Em alguns casos, foram utilizados caracteres macroscópicos como coloração, padrões de bandeamento de cores e formato dos pelos. No entanto, este tipo de análise é contestada por apresentar características que podem

variando de acordo com ambiente, estado nutricional e tipo de alimentação, podendo apresentar sobreposições intraespecíficas (Mayer 1952, Riggott & Wyatt 1980).

A análise dos pelos é realizada com enfoque principal na microestrutura das escamas cuticulares, bem como na disposição dos grânulos de pigmento e dos espaços preenchidos com ar na porção medular. Alguns trabalhos utilizam técnicas de microscopia eletrônica de varredura (Fig. 3), que permitem uma observação com maior grau de detalhamento dos padrões cuticulares, favorecendo a obtenção de medidas dos pelos para avaliações quantitativas (Chernova & Kuznetsov 2001, Chernova 2001, 2002; Amman et al. 2004; Hoey et al. 2004). Entretanto, a maioria dos trabalhos atuais opta por realizar as análises em microscopia de luz, devido a maior facilidade de acesso aos reagentes e equipamentos necessários, bem como pela praticidade e rapidez na obtenção resultados. Diversas técnicas de confecção de lâminas para análises tricológicas foram propostas (Mayer 1952, Fernandez & Rossi 1998, Quadros 2006a, Brunner & Coman 1974). Apesar de alguns trabalhos como Penna (2009) realizarem testes comparativos entre os métodos, até o momento não foi possível determinar qual a técnica mais eficiente para a confecção das lâminas.

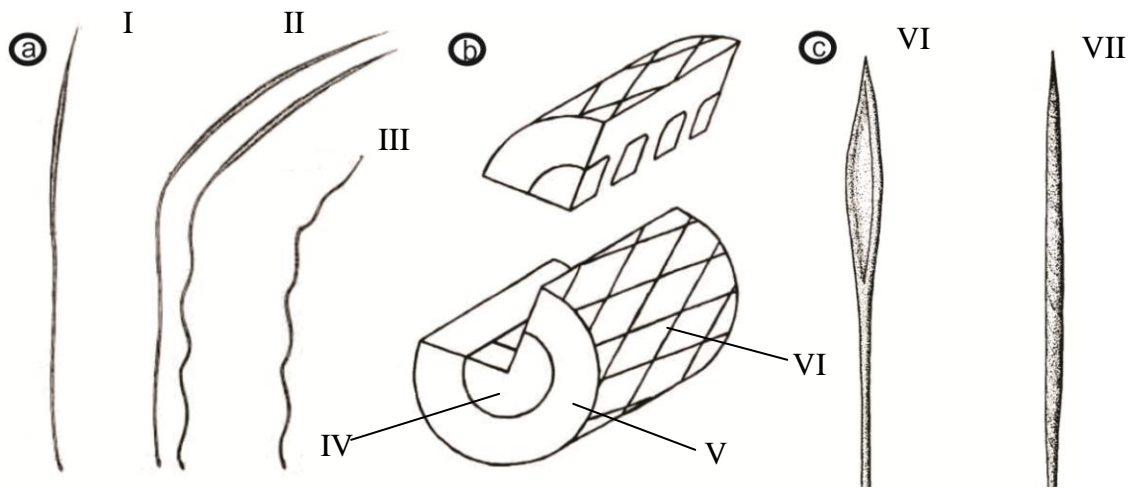


Figura 1: Esquemas dos diferentes tipos de pelos. a) Pelos guardas primários (I), secundários (II) e subpelo (III); b) corte evidenciando as três camadas que compõe os pelos: medula (IV), córtex (V), cutícula (VI); c) pelo aristiforme (VII) e espinho (VIII). (Modificado de Quadros 2002 e Penna 2009).

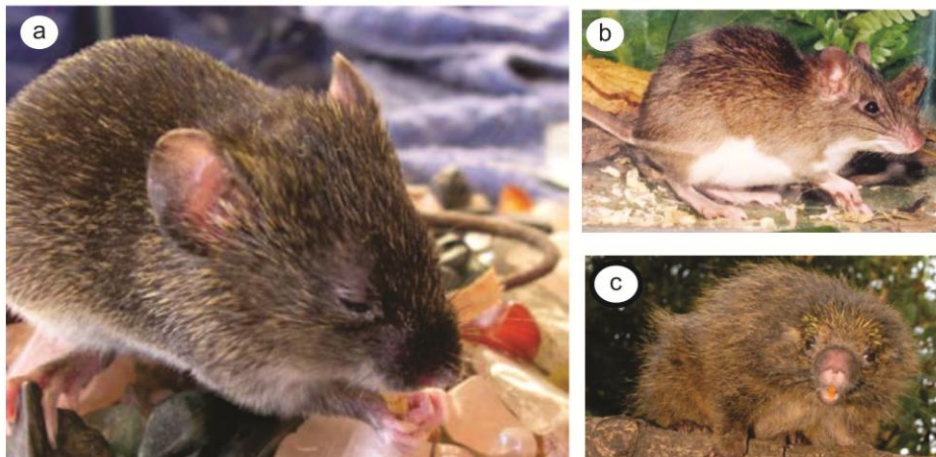


Figura 2: Exemplos de roedores com pelos aristiformes a) *Abrawayaomys ruschii*, da família Cricetidae (foto: Maria Olímpia Garcia Lopes), b) *Trinomys dimidiatus* (foto: Cibele Bovincino), da família Echimyidae e c) *Sphiggurus* sp., família Erethizontidae com espinhos (foto: João A. Oliveira).

A revisão acima resume o conhecimento básico sobre a estrutura dos pelos e sobre as pesquisas em tricologia até então desenvolvidas. Fica claro o aumento do interesse pela área dado o incremento no volume de trabalhos publicados nos primeiros anos da década de 2000. Diante da grande diversidade de mamíferos na América do Sul, se faz crescente a necessidade de técnicas que aprimorem o processo de identificação destes animais.

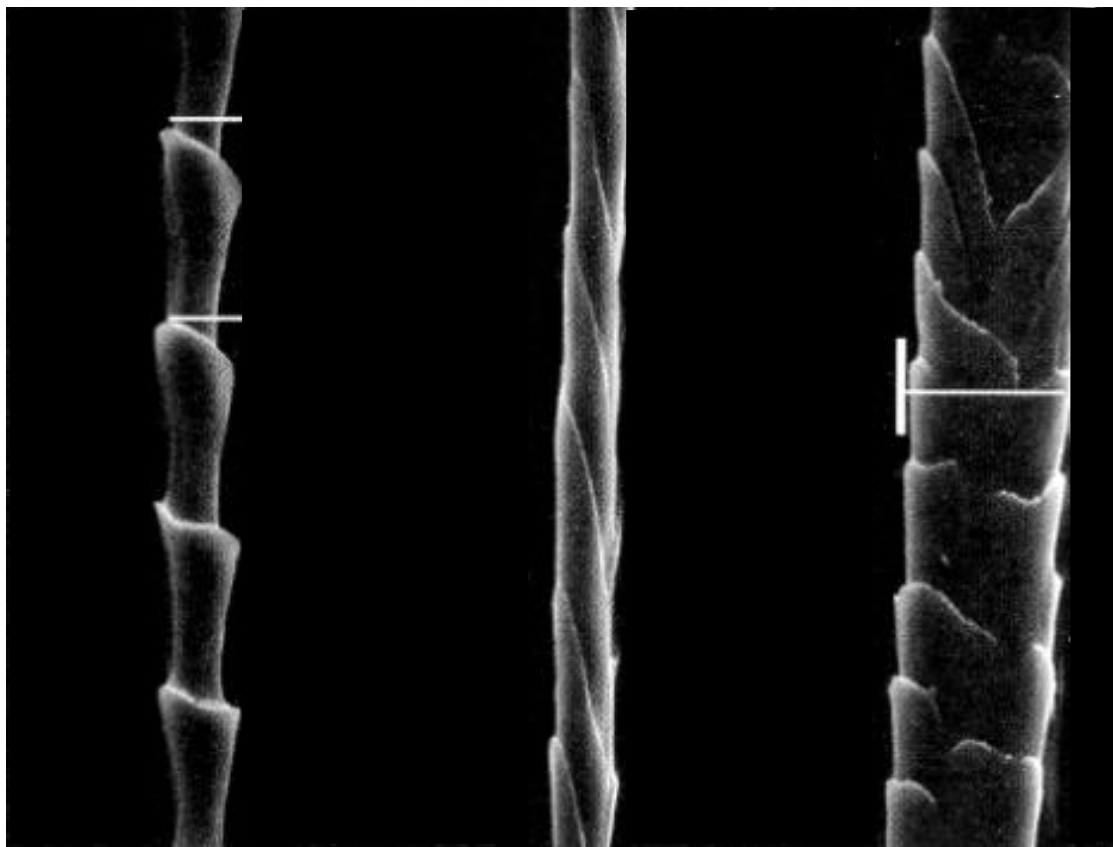


Figura 3: Exemplo de análise tricológica feita em Microscopia Eletrônica de Varredura (retirado de Amman (2002)).

LITERATURA CITADA

- Amman BR, Owen RD, Bradley RD. 2002. Utility of hair structure for taxonomic discrimination in bats, with an example from the bats of Colorado. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech University* 216:
- Andrew W. 1959. A covered called skin. Pp. 126-137. In: *Textbook of Comparative Histology*. Oxford University Press, Oxford.
- Benedict, FA. 1957. Hair structure as a generic character in bats. *University of California Publications in Zoology* 59: 285-548.
- Brunner H, Coman BJ. 1974. *The identification of mammalian hair*. Inkata Press. Melbourne.

- Chernova OF, Kuznetsov GV. 2001. Structural features of spines in some rodents (Rodentia: Myomorpha, Hystricomorpha). *Biology Bulletin* 28(4): 371-382.
- Chernova OF. 2001. The Structure of the Cuticle of Guard Hair in Fruit-Eating Bats(*Chiroptera, Pteropodidae*). *Doklady Biological Sciences* 382: 34-37.
- Chernova OF. 2002. New findings of a specialized spine cuticle in porcupines (Rodentia: Hystrichomorpha) and tenrecs (Insectivora: Tenrecidae). *Doklady Biological Sciences* 384: 267-270.
- Day MG. 1966. Identification of hair and feather remains in gut and feces of stoats and weasels. *Journal of Zoology, London* 148: 201-17.
- Fernández GJ, Rossi SM. 1998. Medullar type and cuticular scale pattern of hairs of rodents and small marsupials from the Monte Scrubland (San Luis Province, Argentina). *Mastozoología Neotropical* 5: 109-116.
- Hausman LA. 1920. The Microscopic Identification of Commercial Fur Hairs. *The Scientific Monthly* 10(1):70-78.
- Hausman LA. 1924. Further studies of the structural characters of mammalian hair. *The American Naturalist* 58(659): 544-557
- Hausman LA. 1930. Recent studies of hair structure relationships. *The Scientific Monthly* 30(3):258-277.
- Hausman LA. 1944. Applied microscopy of hair. *The Scientific Monthly* 59(3): 195-202.
- Hoey KA, Wise RR, Adler GH. 2004. Ultrastructure of echimyid and murid rodent spines. *Journal of Zoology, London*. 263: 307-315.
- Ibarra IIB, Sánchez-Cordero V. 2004. Catálogo de pelos guardia dorsal em mamíferos del Estado de Oaxaca, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Série Zoología* 75(2): 282-437.

- Kirk PL, Magagnose S & Salisbury, D. 1949. Journal of California Law and Criminology (1931 – 1951) 40(2): 236-241.
- Martin PS, Gheler-Costa C, Verdade LM. 2009. Microestruturas de pelos de pequenos mamíferos não-voadores: chave para agroecossistemas do Estado de São Paulo, Brasil. Biota Neotropica 9(1): 233-241.
- Mayer WV. 1952. The hair of California mammals with key to dorsal guard hairs of California mammals. The American Midland Naturalist 48: 480-512
- Moyo, Thamsanqa, Bangay, Shaun and Foster, Greg 2006, The identification of mammalian species through the classification of hair patterns using image pattern recognition, in *Afrigraph '06 : Proceedings of the 4th international conference on computer graphics, virtual reality, visualisation and interaction in Africa*, Association for Computer Machinery: 177-181.
- Nagaoka SM. 2002. Identificação de 11 espécies do gênero Monodelphis (Didelphidae:Didelphimorphia) através da microestrutura dos pelos. Monografia inédita da Universidade Estadual de Londrina.
- Oli MK. 2003. A key for identification of the hair of mammals of snow-leopard (*Panthera uncia*) habitat in Nepal. Journal of Zoology, London 231: 365-370.
- Penna MAH. 2009. Avaliação de características morfológicas e morfométricas dos pelos dos roedores da Mata Atlântica do estado de São Paulo. Tese de doutorado inédita, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo, Brasil.
- Peurach SC. 2003. High-altitude Collision between an Airplane and a Hoary Bat, *Lasiurus cinereus*. Bat Research News 44(1): 2-3.
- Pierallini R, Keller A, Moretti M. 2004. Chiave di determinazione dei Chiroteri (Mammalia) della Svizzera attraverso l'osservazione al microscópio ottico della struttura dei peli. Revue Suisse de Zoologie 111(2): 381-393.

- Pough FH, Heiser JB, Janis, CM. 2003. A vida dos vertebrados. 3ed, Athena Editora. São Paulo.
- Quadros J, Braga FC. 1998. Caracterização morfológica dos pelos de diferentes partes do corpo de alguns carnívoros com ocorrência no estado do Paraná, BR. XIII Jornadas Argentinas de Mastozoología. Libro de resúmenes. Puerto Iguazú, Argentina: 67.
- Quadros J, Monteiro-Filho E. 1998. Effects of digestion, putrefaction, and taxidermy processes on *Didelphis albiventris* hair morphology. Journal of Zoology, London (1998) 244: 331- 334.
- Quadros J, Monteiro-Filho E. 2006. Coleta e preparação de pelos de mamíferos para identificação em microscopia óptica. Revista Brasileira de Zoologia 23(1): 274-278.
- Quadros J, Monteiro-Filho E. 2006. Revisão conceitual, padrões microestruturais e proposta nomenclatória para os pelos-guarda de mamíferos brasileiros. Revista Brasileira de Zoologia 232 (1): 279-292.
- Quadros, J. 2002. Identificação microscópica de pelos de mamíferos brasileiros e sua aplicação no estudo da dieta de carnívoros. Tese inédita Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.
- Riggott JM, Wyatt EH. 1980. Scanning electron microscopy of hair from different regions of the body rat. Journal of Anatomy 130: 121-126
- Romer AS, Parsons TS. Anatomia comparada dos vertebrados. São Paulo: Atheneu, 1985. 559 p.
- Sato I, Nakaki S, Murata K, Takeshita H, Mukai T. 2010. Forensic hair analysis to identify animal species on a case of pet animal abuse. Int. Legal Med 124: 249-25

- Stains HJ. 1958. Field key to guard hair of Tasmanian mammals. Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania 119: 69-82.
- Teerink BJ. 1991. Hair of West european mammals: atlas and identification. Cambridge University Press. Cambridge.
- Vanstreels RET, Ramalho FP & Adania CH. 2010 Guard-hair microstructure of Brazilian felids: considerations for species identification. Biota Neotrop.10(1)
- Vullo R, Girard V, Azar D, Néraudeau D. 2010. Mammalian hairs in Early Cretaceous amber. Naturwissenschaften 97: 683-687.
- Yattes BC, Espinoza EO, Baker BW. 2010. Forensic species identification of elephant (Elephantidae) and giraffe (Giraffidae) tail hair using light microscopy. Forensic Sci. Med. Pathol. 6: 165-171.

OBSERVAÇÕES SOBRE METODOLOGIA DE PREPARO DE LÂMINAS PARA
ANÁLISES TRICOLÓGICAS DE PELOS ARISTIFORMES

Tarcísio S. Duarte¹, Gisele Lessa¹

¹Museu de Zoologia João Moojen, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Vila Gianetti N° 32, CEP 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Telefone: 031 3899 2596. E-mail: museudezoologia@ufv.br

Título breve: TRICOLOGIA DE PELOS ARISTIFORMES

Correspondência: Tarcísio S. Duarte. Museu de Zoologia João Moojen, Universidade Federal de Viçosa. Vila Gianetti, 32, CEP 36570-000, Viçosa, Minas Gerais - Brasil.

Telefone: 031 3899 2586. E-mail: zizobio@gmail.com.

Resumo: Na tricotaxonomia, a microestrutura dos pelos é usada como ferramenta para identificação de espécies. Inúmeras metodologias de processamento de pelos têm sido propostas desde o início do século 20, sem, entretanto se chegar a um consenso de qual é a mais indicada. Nenhuma das técnicas presentes na literatura é específica sobre os pelos aristiformes e, por este motivo, este trabalho teve como objetivo testar o método mais usado pelos pesquisadores brasileiros para este tipo de pelo. Os resultados mostraram a necessidade de se promover adaptações às técnicas sugeridas no trabalho de Quadros (2006a), mantendo-a como uma técnica prática, barata e bastante útil para esta linha de pesquisa.

Palavras-chave: Rodentia, Tricotaxonomia, técnicas, pelos aristiformes.

Introdução

A tricotaxonomia (Sarkar et al. 2010) é uma das ferramentas utilizada atualmente na mastozoologia, e consiste na identificação de espécies ou grupos de espécies de mamíferos através da análise micromorfológica dos pelos, sendo de grande importância em estudos de ecologia alimentar (Quadros 2002; Graeff 2008), paleontologia (Meng & Wyss 1997) análises forenses (Peurach 2009, Sato et al. 2009, Yates et al. 2010) e levantamentos de mastofauna (Ibarra & Sánchez-Cordero 1999).

Os primeiros trabalhos relevantes nesta linha de pesquisa são datados das primeiras décadas do século 20 (Hausman 1920, 1930; Mathiak 1938). Desde então, inúmeras técnicas para análises microscópicas de pelos foram testadas (Mayer 1952, Fernandez & Rossi 1998, Brunner & Comman 1974, Teerink 1991), sem se chegar a um consenso sobre qual é a mais adequada. Quadros (2006a) realizou diversos testes e propôs uma metodologia prática e econômica para processamento dos pelos, que vem sendo amplamente utilizadas por pesquisadores de tricotaxonomia. O método proposto sugere, para preparações de cutícula, acondicionar os pelos em uma lâmina histológica recoberta com uma camada fina de esmalte, e prensar durante 20 minutos em um torno de mesa (ou morça) entre dois pedaços de madeira com as mesmas medidas da lâmina. Para a medula, o método recomendado foi a clarificação dos pelos em água oxigenada comercial de 30 volumes durante 80 minutos e confecção de lâminas permanentes utilizando Entelan® como meio de montagem. Penna (2009) também comparou diferentes métodos, buscando chegar a uma técnica que associe praticidade, eficiência e boa qualidade das lâminas.

Os pelos aristiformes estão presentes em espécies de roedores das famílias Echimyidae e Cricetidae, mas encontram-se também nas famílias Muridae, Hystricidae e Heteromyidae (Hoey et al. 2004). São, em geral, maiores e mais robustos que os pelos

guarda convencionais, achatados dorsoventralmente e apresentam formato arqueado, além de possuir um sulco longitudinal em sua região mediana desde a base até o ápice da fibra. Em função dessas diferenças morfológicas dos pelos guardas convencionais, as preparações para análises microscópicas podem não ser bem sucedidas quando os métodos para preparação são executados sem qualquer alteração. A presença do sulco longitudinal e o formato arqueado podem provocar a formação de bolhas nas lâminas, prejudicando a visualização dos padrões cuticulares, e a maior espessura dificulta o processo de descoloração dificultando a visualização da medula.

Posto que nenhum dos trabalhos sobre métodos em tricologia trata especificamente sobre o processamento e análise de pelos aristiformes, o objetivo deste estudo consiste em testar a eficiência das metodologias mais utilizadas em tricologia e apresentar adaptações para preparação de lâminas destes pelos para análises em microscopia de luz.

Material e métodos

Os testes foram realizados com 20 indivíduos pertencentes a cinco espécies de ratos-de-espinho das famílias Cricetidae e Echimyidae, listadas na tabela 1, todos tombados no Museu de Zoologia João Moojen, da Universidade Federal de Viçosa. Foram retirados de cada espécime dez pelos aristiformes da região dorsal, na altura da cintura lombar. Destes cinco foram preparados para análise microscópica seguindo o método proposto Quadros (2006b) e os outros cinco foram preparados com algumas adaptações. Para cutícula, testou-se: aumento da quantidade de esmalte passada na lâmina; diminuição no tempo de secagem do esmalte; e o manuseio dos pelos aristiformes com a utilização de pinças de relojoeiro. Enquanto que, para a medula, testou-se a diafanização dos pelos em solução 1:1 de água oxigenada 30 volumes com

álcool etílico absoluto. A observação e a obtenção de imagens foram realizadas em fotomicroscópio modelo AX70 TRF, Olympus Optical, com sistema U-PHOTO, acoplado a uma câmera fotográfica digital, modelo Spot Insightcolour 3.2.0, Diagnostic instruments Inc., e microcomputador com programa de captura de imagens Spot Basic.

Os resultados de ambas as preparações foram comparadas seguindo os seguintes critérios: (i) a qualidade da impressão cuticular das faces dorsal e ventral em função do tempo de secagem do esmalte; (ii) a presença de bolhas de ar e o grau de prejuízo que causaram na análise da cutícula; e (iii) para preparação de lâminas de medula, foi avaliado se em determinado tempo de exposição à água oxigenada, o nível de clareamento dos pelos causou prejuízo na visualização dos padrões.

Resultados

As lâminas confeccionadas para observação de cutícula, sem as adaptações para a técnica apresentaram, em todos os casos, formação de bolhas na face ventral dos pelos aristiformes, inviabilizando parcial ou totalmente a visualização e identificação das escamas (Fig 1a). A face dorsal apresentou menos bolhas que a face ventral, havendo, no entanto, prejuízo na visualização do padrão cuticular devido à dificuldade de manuseio da fibra e pelo tempo de secagem do esmalte (Fig. 1b). A observação da medula com o pelo descolorido em água oxigenada 30 volumes por 80 minutos apresentou resultados poucos satisfatórios (Fig. 1c), visto que em nenhum dos pelos foi possível visualizar com precisão a disposição e formato das células e grânulos que compõe a medula, de forma que não foi possível determinar os padrões das espécies analisadas.

Os pelos preparados com as modificações por sua vez, mostraram melhora significativa. Para as preparações de cutícula, a presença de bolhas foi menor, sem

prejudicar a identificação dos padrões cuticulares (fig. 2a e b) e para a medula, a diafanização ocorreu de forma que a distribuição dos grânulos de pigmento foi facilmente visualizada (fig. 2c).

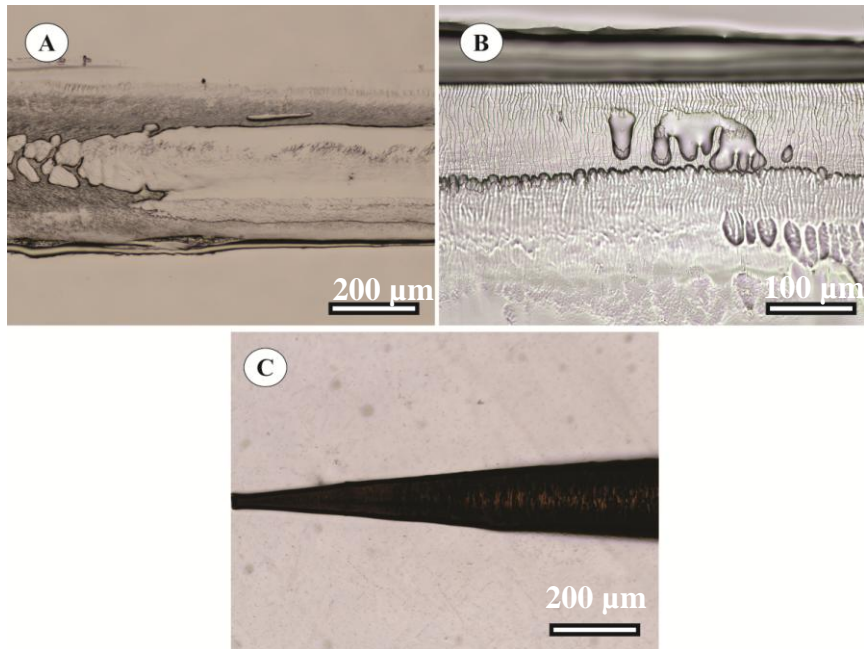


Figura 1: Aplicação das técnicas tradicionais em tricologia sem adaptações: impressões das faces (a) dorsal, com grande ocorrência de bolhas de ar e (b) ventral dos pelos aristiformes prejudicadas pelo formato do pelo e pela pouca quantidade de esmalte; e a (c) medula pouco descolorida, tornando impossível a visualização do padrão.

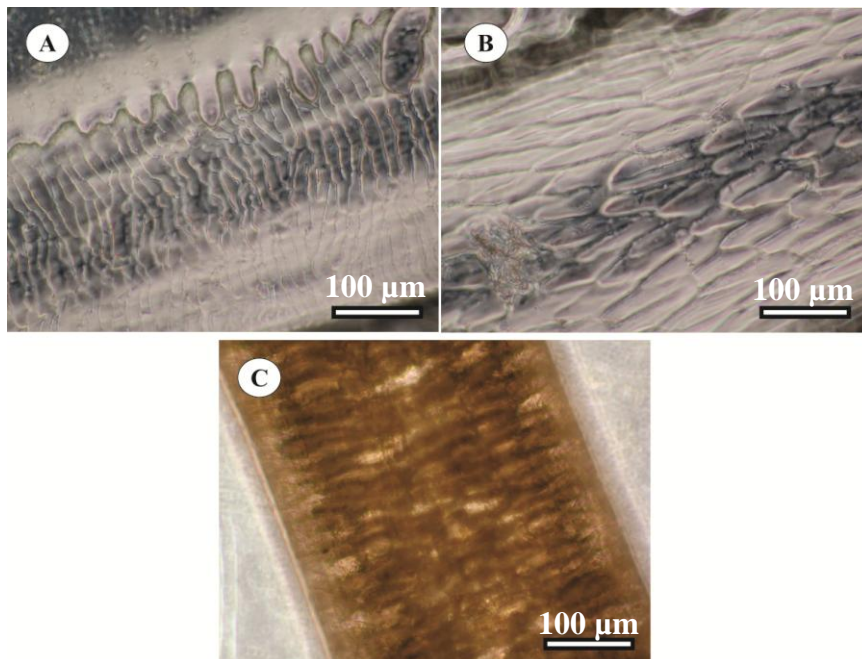


Figura 2: Pelos preparados com adaptações à metodologia de Quadros (2006b). (a) Face dorsal, (b) face ventral da cutícula e (c) medula, todos de *A. ruschi*.

Discussão

O uso de esmalte para unhas na confecção de lâminas cuticulares foi feito pela primeira vez por Khmeleskaya (1965), sendo posteriormente adaptado por outros autores como Weingart (1973) e Twigg (1975). Weingart (1973) sugere que a camada de esmalte seque por dez minutos antes da prensagem, o que no presente trabalho, tal como em Quadros (2006b), é refutado, sendo que em tempos muito abaixo de 15 minutos o esmalte não é seco o suficiente para não danificar a impressão. Entretanto, para pelos aristiformes é necessário que o esmalte não esteja seco, tal qual para os demais pelos aristiformes, uma vez que é preciso que a resina escoe e ocupe o espaço vazio gerado pelo sulco longitudinal. Portanto, recomenda-se que os pelos sejam acondicionados na lâmina de três a cinco minutos antes do tempo estipulado, sendo que este deve ser determinado de acordo com as condições climáticas do local de trabalho, como dito em Quadros (2006b).

É importante ressaltar que há diferenças de preparo para as duas faces dos pelos aristiformes. Para a face dorsal dos pelos, onde ocorre o sulco longitudinal, a camada de esmalte aplicada na lâmina deve ser um pouco mais espessa. É recomendado acondicionar os pelos na lâmina com auxílio de pinça de ponta fina, pressionando-os de forma delicada com a parte lateral da pinça antes da prensagem com o torno de mesa. Quando realizado com cuidado para não danificar o esmalte, este processo força o contato da parte côncava do sulco longitudinal com o esmalte, diminuindo consideravelmente a camada de ar que se forma entre o pelo e a lâmina e, conseqüentemente, o número de bolhas que prejudicam a visualização dos padrões.

Para a face ventral, o maior entrave é o formato arqueado dos pelos que faz com que o pelo fique com uma das bordas laterais apoiada sobre a lâmina, ficando posicionado em diagonal. Se prensado desta forma, o pelo será dobrado ao meio em seu comprimento e a impressão cuticular será imprecisa, dificultando a identificação dos

padrões presentes. Assim, o preparo da lâmina para a face ventral deve ser feito com duas pinças, de forma que a fibra seja segurada em uma das pontas com uma e com a outra o pelo seja acondicionado no esmalte, sempre usando a lateral da pinça para pressionar o pelo. É esta parte do processo que exige que o esmalte esteja um pouco úmido, de modo que o pelo fique grudado na posição certa e não se solte, como ocorre quando a resina está totalmente seca. Desta forma obtém-se a impressão cuticular com maior sucesso e qualidade em comparação ao uso apenas da prensa.

Para a observação da medula, a opção pela descoloração com água oxigenada comercial 30 volumes, por um tempo de 80 minutos não foi eficiente, corroborando a informação dada por Penna (2009). Da mesma forma os cortes transversais sugeridos em Teerink (1991) que teoricamente facilitariam a entrada da solução descolorante não conferiram resultados satisfatórios. Desta forma, optou-se pelo método proposto por Penna (2009) onde há exposição dos pelos em uma solução descolorante mais diluída por um maior período de tempo. O pesquisador recomenda a clarificação dos pelos em solução 1:1 de água oxigenada comercial 30 volumes e etanol 100% durante 96 horas. Os pelos submetidos a essa técnica ficaram claros o suficiente para a observação adequada dos padrões medulares, sem danificar a estrutura.

Apesar dos resultados encontrados nos testes onde os métodos foram fielmente reproduzidos não terem sido satisfatórios, a praticidade e o baixo custo de aplicação dos mesmos torna válida a busca por alternativas que permitam a obtenção de resultados adequados para a análise dos pelos aristiformes. As observações feitas durante a execução dos métodos deixaram claro que não há uma única técnica para preparação de lâminas tricológicas, de modo que as particularidades do tipo de pelo estudado devem ser levadas em consideração e explicitadas nos trabalhos sempre que a alteração nos métodos adotados for necessária.

LITERATURA CITADA

- Hausman LA. 1920. The Microscopic Identification of Commercial Fur Hairs. The Scientific Monthly 10(1):70-78.
- Hoey KA, Wise RR, Adler GH. 2004. Ultrastructure of echimyid and murid rodent spines. Journal of Zoology, London. 263: 307-315.
- Ibarra IIB & Sánchez-Cordeiro V. 2004. Catálogo de pelos guardia dorsal en mamíferos del estado de Oaxaca, México. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología 75(2): 383-437.
- Ingberman B & Monteiro-Filho ELA. 2006. Identificação microscópica dos pelos das espécies brasileiras de *Alouatta* Lacépède, 1799 (Primates, Atelidae, Alouattinae). Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro 64(1):61-71.
- Khmelevskaya NV. Structure of the hair cuticle, ins variability and significance for taxonomy. Osterreichische Zoologische Zeitschrift, Viena, 44: 1063 – 1074.
- Mathiak HA. 1938. A key to the hairs of mammals of southern Michigan. Journal of Wildlife Management 2: 251-268.
- Meng J & Wyss AR. 1997. Multituberculate and other mammal hair recovered from Paleogene excreta. Nature 385: 712-714
- Peurach SC. 2003. High-altitude Collision between an Airplane and a Hoary Bat, *Lasiurus cinereus*. Bat Research News 44(1): 2-3.
- Pierallini R, Keller A, Moretti M. 2004. Chiave di determinazione dei Chiroterti (Mammalia) della Svizzera attraverso l'osservazione al microscópio ottico della struttura dei peli. Revue Suisse de Zoologie 111(2): 381-393.
- Quadros J e Monteiro-Filho EJA. 1998. Effects of digestion, putrefaction, and taxidermy processes on *Didelphis albiventris* hair morphology. J. Zool. (London) 244: 331-334.

- Sarkar PS, De JK, Manna CK. 2010 Identification of Dorsal Guard Hair of Seven Species of the Family Cercopithecidae (Primates : Mammalia). Proceedings of the Zoological Society of London 63 (2): 121-128
- Sato I, Nakaki S, Murata K, Takeshita H, Mukai T. 2010. Forensic hair analysis to identify animal species on a case of pet animal abuse. Int. Legal Med 124: 249-25
- Teerink BJ. 1991. Hair of west European mammals: atlas and identification. Cambridge University Press. 224p.
- Twigg GI. 1975. Techniques in mammalogy. Mammal Review, Oxford, 5: 71 – 82.
- Weingart EL. 1973. A simple technique for revealing hair scale patterns. American Midland Naturalis, Notre Dame, 90: 508 – 509.
- Yattes BC, Espinoza EO, Baker BW. 2010. Forensic species identification of elephant (Elephantidae) and giraffe (Giraffidae) tail hair using light microscopy. Forensic Sci. Med. Pathol. 6: 165-171.

Anexo I

Material examinado – 17 espécimes de 4 espécies

Abrawayaomys ruschii Cunha & Cruz, 1979 (n = 3).

MZUFV – CM: 3562, 3565, 3569.

Euryzygomatomys spinosus Fischer, 1814 (n = 4).

MZUFV – CM: 193, 2209, 2828, 2977.

Phyllomys pattoni Emmons, Leite, Cock & Costa, 2002 (n = 4)

MZUFV – CM: 331, 385, 696, 794.

Trinomys albispinus Geoffroy, 1838 (n = 6)

MZUFV – CM: 1124, 1593, 1905, 1916, 2858, 1937.

ASPECTOS MICROMORFOLOGICOS DE PELOS ARISTIFORMES DE RATOS-
DE-ESPINHO DAS FAMÍLIAS CRICETIDAE ECHIMYIDAE (MAMMALIA,
RODENTIA)

Tarcísio S. Duarte¹, Gisele Lessa¹

¹Museu de Zoologia João Moojen, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Vila Gianetti N° 32, CEP 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Telefone: 031 3899 2596. E-mail: museudezoologia@ufv.br

Título breve: TRICOLOGIA DE PELOS ARISTIFORMES

Correspondência: Tarcísio S. Duarte. Museu de Zoologia João Moojen, Universidade Federal de Viçosa. Vila Gianetti, 32, CEP 36570-000, Viçosa, Minas Gerais - Brasil. Telefone: 031 3899 2586. E-mail: zizobio@gmail.com.

RESUMO: O estudo que se dedica a identificar padrões micromorfológicos entre diferentes espécies de mamíferos é denominada de tricotaxonomia. Este trabalho teve o objetivo de identificar os padrões micromorfológicos dos pelos aristiformes de espécies de ratos-de-espinho das famílias Echimyidae e Cricetidae. Adaptando protocolos disponíveis na literatura, 120 indivíduos de 16 espécies tiveram seus pelos analisados. Os resultados demonstraram a importância dos padrões cuticulares em relação à medula e aos cortes transversais, permitindo a identificação da maioria das espécies analisadas. As espécies *Phullomys* spp. e *Trinomys* spp. foram exceções apresentando morfologias iguais entre si. Com os resultados encontrados foi proposta uma chave de identificação para as espécies amostradas baseadas nos caracteres cuticulares, com o intuito de subsidiar o uso desta técnica em trabalhos de mastozoologia. Apesar dos bons resultados, o estudo com pelos aristiformes indica que além da avaliação dos parâmetros qualitativos é necessário a utilização de análises quantitativas com testes estatísticos robustos para a identificação de espécies.

Palavras-chave: Tricologia, Pelos Aristiformes, Taxonomia, Echimyidae, Cricetidae

Introdução

Os pelos são estruturas epidérmicas exclusivas dos mamíferos, constituídas por células mortas altamente queratinizadas (Sherwood et al. 1985). A pelagem exerce diversas funções biológicas, como proteção contra a perda ou ganho excessivo de calor e penetração de água na pele; camuflagem e dissimulação no ambiente; funções sensitivas; defesa contra predadores, no caso de pelos modificados em espinhos (Pough, et al. 1999).

A pelagem dos mamíferos é tradicionalmente dividida em dois grandes grupos: subpelos e pelos guarda. Estes possuem textura lanosa e cumprem os papéis de controle de temperatura corporal e dissimulação no ambiente (Teerink 1999). Pelos aristiformes são pelos modificados presentes em diversos grupos de mamíferos, como nas famílias de roedores Cricetidae e Echimyidae. São mais rígidos, maiores e mais largos em comparação aos pelos não modificados, apresentando formato de “ponta de lança”, possuindo uma base larga e ápice afilado (Fig. 1a). Apresentam um sulco longitudinal na região média ao longo de todo seu comprimento e bordas mais arredondadas, o que os confere o formato de “U” (Fig. 1b). Por vezes, são também chamados de espinhos, entretanto, espinhos propriamente ditos estão presentes na família Erethizontidae. Estes são maiores, mais robustos e pontiagudos, o que os confere a capacidade de serem usados na defesa dos animais, contra predadores, o que não ocorre com os pelos aristiformes.

Quando observados em corte transversal, todos os tipos de pelo são compostos por três camadas concêntricas com composições bioquímicas diferentes: cutícula, córtex e medula. A cutícula é a camada mais externa, formada por inúmeras escamas queratinizadas transparentes que se sobrepõem, de modo que a extremidade apical de uma escama cobre a extremidade proximal da escama posterior. Tais estruturas possuem

diversos formatos e disposições, variando de acordo com cada espécie ou grupo de espécies. O córtex é a camada intermediária, formada por células cornificadas e reduzidas que aparecem em microscopia de luz como uma massa hialina, sem maiores detalhes. A medula é composta por células mortas, reduzidas, bem agrupadas e se distinguem do córtex por serem células bastante visíveis. A morfologia e disposição das células da medula, bem como das camadas intercelulares, conferem às espécies, características particulares sendo, juntamente à cutícula, de grande importância para identificação taxonômica (Teerink, 1991).

O uso da microestrutura de pelos individuais como caráter taxonômico ainda é alvo de controvérsias (Mayer 1952, Chernova 2002). Estudos realizados desde a década de 20 até os dias atuais vêm aplicando a tricotaxonomia nos mais diversos campos de estudo, como ecologia (Quadros 2002; Graeff 2008), paleontologia (Meng & Wyss 1997), ciência forense (Sato et al. 2009; Yates et al. 2010), arqueologia (Dove & Peurach 2002) e análise de fibras comerciais (Hausman 1920). Para tanto, chaves dicotômicas de identificação de indivíduos através dos pelos têm sido construídas para diversos grupos de mamíferos, sejam médios e grandes (Quadros 2002, Ingbermam & Monteiro-Filho 2006), pequenos, voadores (Benedict 1952, Pierallini 2006) ou não voadores (Martín et al. 2009, Penna 2009).

Poucos trabalhos foram desenvolvidos para o estudo de pelos aristiformes e espinhos, destacando-se Chernova & Kuznetsov (2001), Chernova (2002), Hoey et al. (2004) que abordaram principalmente características quantitativas, relativas às dimensões das escamas cuticulares dos pelos, com uso de técnicas de microscopia eletrônica de varredura. A pouca disponibilidade de dados e a dificuldade de acesso à técnica de microscopia eletrônica tornam, portanto, este tipo de análise pouco práticas quando se necessita de uma identificação rápida e de custo reduzido.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo identificar os padrões cuticulares e medulares dos pelos aristiformes de algumas espécies de roedores das famílias Echyimidae e Cricetidae; caracterizar a forma dos pelos em cortes transversais, avaliando se esse caractere pode ser considerado diagnóstico para espécies ou grupos de espécies além de estabelecer se há variação morfológica nos pelos aristiformes de acordo com a parte do corpo dos indivíduos de onde foram coletados.

Material e Métodos

Os pelos analisados foram retirados de indivíduos taxidermizados, tombados nas coleções de mastozoologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-MG), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e Universidade Federal de Viçosa (UFV). No total, foram observados pelos de cento e quinze indivíduos divididos entre dezesseis espécies, conforme resumido na tabela 1. O número amostral variou de acordo com a disponibilidade dos espécimes nas coleções visitadas.

Foram retirados pequenos tufo de pelos de cinco pontos diferentes do corpo dos indivíduos: cabeça (C); dorso, região escapular (DE); dorso, região lombar (DL); ventre, região peitoral (VP); ventre, região pélvica (VPe) (Fig. 2). Todas as amostras foram armazenadas em microtubos plásticos com os respectivos nomes científicos e números de tombo ou campo. Cinco pelos de cada ponto foram submetidos a preparações para análise de cutícula e medula em microscopia de luz.

A visualização da cutícula foi realizada utilizando-se o método proposto por Quadros & Monteiro-Filho (2006b) que consiste na impressão dos pelos em esmalte comercial para unha. Para esta camada, observou-se as escamas de acordo com os parâmetros que constam em Quadros & Monteiro-Filho (2006a) Para análises da

medula, os pelos foram descoloridos em solução 1:1 de água oxigenada 30 volumes e etanol 100%, seguindo o método descrito por Penna (2009). Ambos os procedimentos foram precedidos de lavagem dos pelos em álcool comercial, retirando o máximo de detritos aderidos, e secagem em papel absorvente.

Tabela 1: Lista das espécies que tiveram os pelos aristiformes analisados.

Família	Espécie	Nº indivíduos
Cricetidae	<i>Abrawayaomys ruschii</i>	10
	<i>Neacomys paracou</i>	2
Echimyidae	<i>Phyllomys pattoni</i>	13
	<i>P. lamarum</i>	3
	<i>Euryzygomatomys spinosi</i>	13
	<i>Makalata didelphoides</i>	9
	<i>Clyomys laticeps</i>	3
	<i>Trinomys albispinus</i>	6
	<i>T. elegans</i>	2
	<i>T. denigratus</i>	4
	<i>T. setosus</i>	12
	<i>T. gratiosus</i>	2
	<i>T. minor</i>	7
<i>T. iheringhi</i>	7	
<i>T. paratus</i>	12	
Total		120

A identificação dos padrões de cutícula e de medula foi realizada através da análise dos pelos retirados da região dorsal lombar (DL) por este ser o ponto em comum no qual todas as espécies apresentam pelos aristiformes. Para descrição dos padrões micromorfológicos das diferentes partes do corpo, pelos aristiformes dos outros quatro pontos descritos foram comparados aos do ponto DL. As descrições dos padrões

cuticulares e medulares seguiram a nomenclatura proposta por Quadros & Monteiro-Filho (2006a) e adaptadas quando necessário,

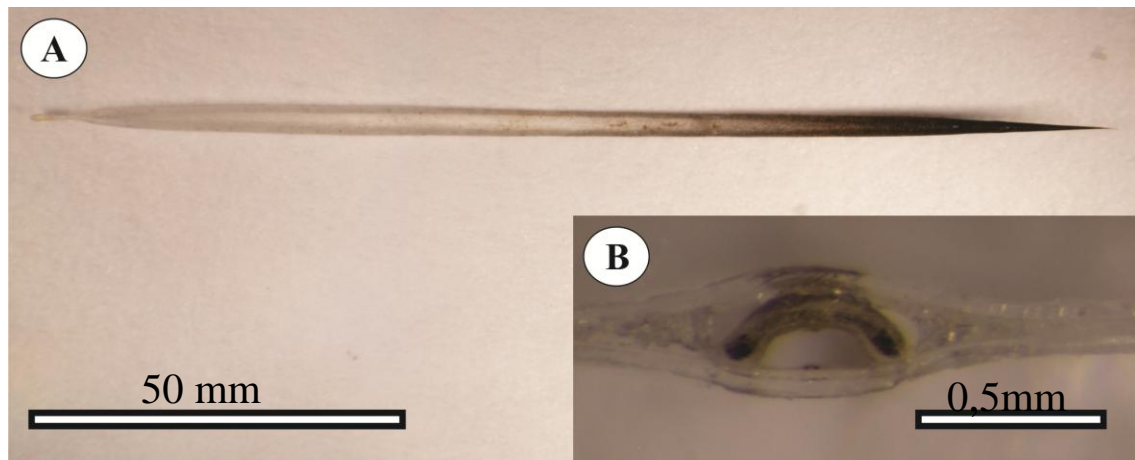


Figura 1: Pelo aristifome de *Arawayaomys ruschii* (MZUFV – CM 3562) (a) visão geral e (B) corte transversal.

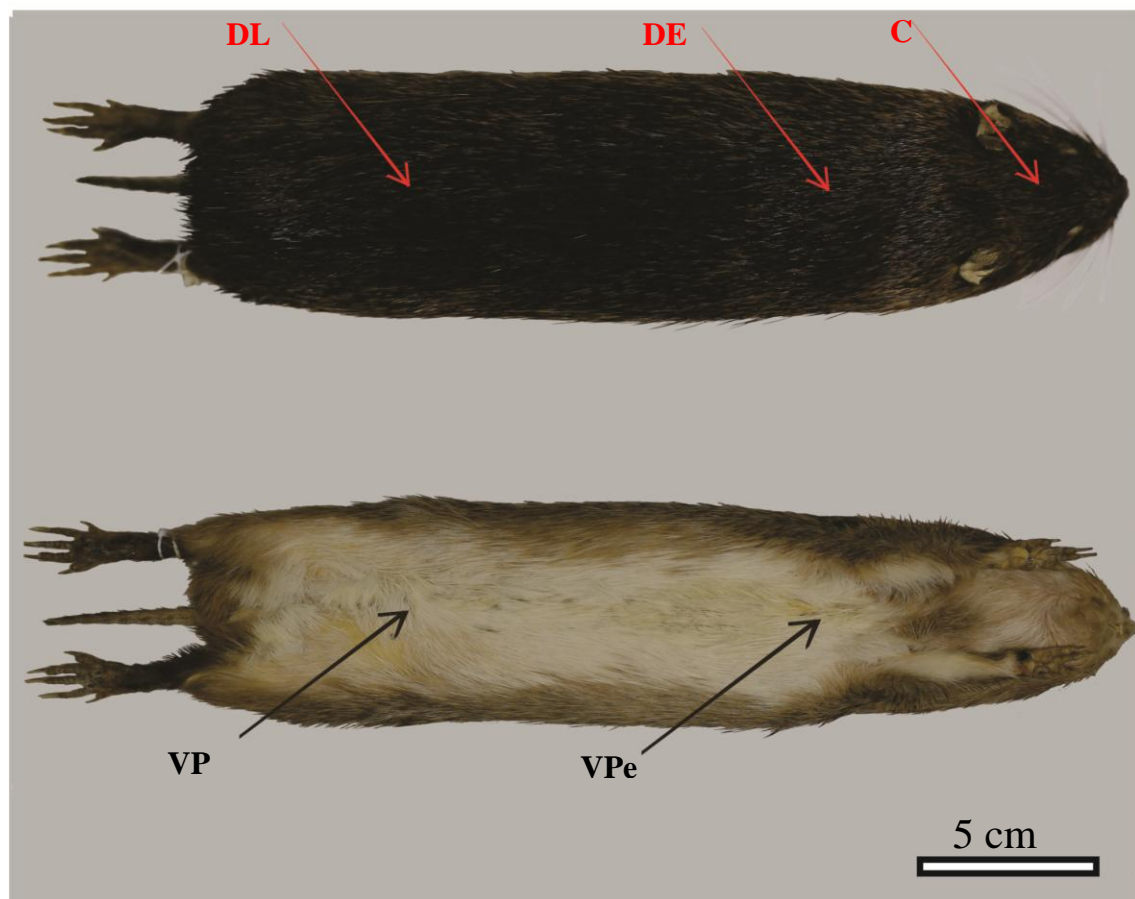


Figura 2: Pontos de coleta nos ratos-de-espinho. Em vermelho, os pontos do dorso: C – cabeça, DE – dorso na região escapular, DP – dorso na região lombar; e em preto, os pontos da região ventral VE – ventre na região escapular; VP – ventre na região pélvica.

Outra técnica utilizada foi a de identificação do padrão morfológico de cortes transversais dos pelos aristiformes. Para isto, os pelos foram devidamente encaixados em peças secas de pecíolo de embaúba e processados em um micrótomo de mesa. As formas encontradas foram comparadas às presentes no atlas de identificação proposto por Teerink (1991). Os pelos aristiformes, por serem achatados, foram esquematicamente divididos em face ventral e dorsal, e em partes proximal (mais próxima do bulbo do pelo), média e apical. A observação e a obtenção de imagens foram realizadas em fotomicroscópio modelo AX70 TRF, Olympus Optical, com sistema U-PHOTO, acoplado a uma câmera fotográfica digital, modelo Spot Insightcolour 3.2.0, Diagnostic instruments Inc., e microcomputador com programa de captura de imagens Spot Basic.

Resultados

A análise da cutícula mostrou que nas regiões proximal e apical, a variação morfológica é pequena entre as espécies. Em todas as espécies, na região proximal podemos encontrar apenas o padrão ondeado transversal com escamas pequenas, em formato retangular, encaixados como ladrilhos (Fig. 3a). A porção apical apresentou cutícula com morfologia ondeado transversal, com escamas curtas muito próximas umas das outras e bordas com ornamentações (Fig. 3c).

A maior diversidade morfológica da cutícula foi observada na região mediana dos pelos: Parte das espécies analisadas apresentou um único padrão cuticular ao longo de todo o perímetro dos pelos, como em *Trinomys denigratus* (fig. 4a e b), *T. elegans* (fig. 4c e d), *T. gratiosus* (fig. 4d e e) que apresentaram padrão cuticular duplo oblíquo, com curvatura voltada para o ápice do pelo. Já *Proechimys roberti* (fig. 5a e b) e *Clyomys laticeps* (fig. 5c e d) apresentaram, respectivamente os padrões ondeada

transversal com leve curvatura voltada para o ápice do pelo e ondeada transversal com ornamentações conspícuas nas bordas das escamas.

Nas demais espécies fora observado um fato que ainda inédito na literatura: a ocorrência de padrões cuticulares distintos em cada uma das faces dos pelos, o que será considerado aqui como sobreposição de padrões cuticulares.

Euryzygomatomys spinosus apresenta na face dorsal, padrão dupla oblíqua com curvatura das escamas formando um “C” em direção ao bulbo na face dorsal (fig. 5e) e padrão ondeado transversal típico na face ventral (fig. 5f). Já *T. setosus*, *T. igerighi*, *T. paratus* formam um novo agrupamento congênico com o mesmo perfil de morfologia cuticular, sendo dupla oblíqua com curvatura das escamas formando também um “C”, direção ao ápice na face dorsal (figs. 6a, c, e) e ondeado irregular na face ventral (figs. 6b, d, f).

Phyllomys pattoni e *P. lamarum* apresentaram na face dorsal escamas pequenas, retangulares, encaixadas como ladrilhos (figs. 7a e c, respectivamente). A face ventral permite a diferenciação destas espécies, visto que *P. pattoni* apresenta padrão ondeada transversal (fig. 7b) e *P. lamarum*, ondeada transversal com bordas incompletas (fig. 7d).

O padrão de ladrilho, acima descrito, pode ocorrer com uma variação, onde as escamas apresentam ao invés do formato retangular um formato fusiforme, como *Trinomys albispinus* (fig. 8a), *T. minor* (fig. 8b) e *Makalata didelphoides* (fig. 8c). Também nestes casos, foi possível individualizar os pelos devido às diferenças entre suas faces ventrais, sendo que *T. albispinus* apresentou padrão ondeada transversal com ornamentações conspícuas nas bordas das escamas (fig. 8b); *T. minor* mostrou um padrão ondeado transversal típico (fig. 8d) e *M. didelphoides*, ondeado transversal com ornamentações conspícuas na região mediana (fig. 8f).

Abrawayaomys ruschii e *Neacomys paracou* observou-se a ocorrência de padrões diferentes dos padrões ondeados. Em *A. ruschii*, além do padrão ondeada transversal na face dorsal (fig. 9a) ocorre o padrão e folidácea estreita (fig. 9b) na face ventral. Já *N. paracou* não apresenta padrões ondeados, sendo que em sua face dorsal ocorre uma cutícula semelhante ao padrão folidácea larga (fig. 9c), enquanto na face ventral a cutícula é folidácea estreita (fig. 9d).

A análise medular apresentou poucas variações, sendo encontrados apenas dois tipos de padrões medulares: o tipo listrado (Fig. 10a), que ocorre desde a região mediana até a ponta dos pelos de *A. ruschii* e *N. paracou*; e padrão crivado (Fig. 10b) para as demais espécies. A morfologia dos pelos em corte transversal também não apresentou grandes variações, e em todas as espécies amostradas foi observado o pelo com formato em “U” (Fig. 10c), posto que a face dorsal do pelo possui uma concavidade ou sulco longitudinal ao longo de todo o comprimento e a face ventral é convexa e lisa.

A análise comparativa entre os pelos dos diferentes pontos do corpo não revelou diferenças importantes, e todas as espécies analisadas apresentaram padrões de pelos dos pontos C, DE, VP e VPe iguais aos padrões de DL.

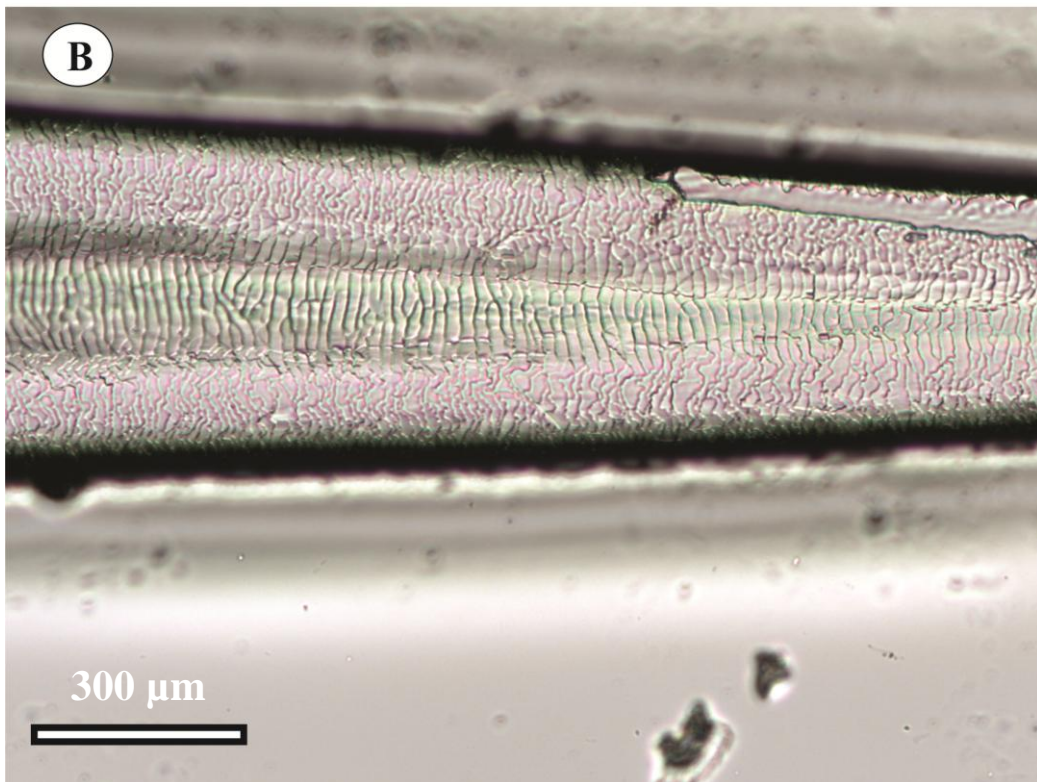
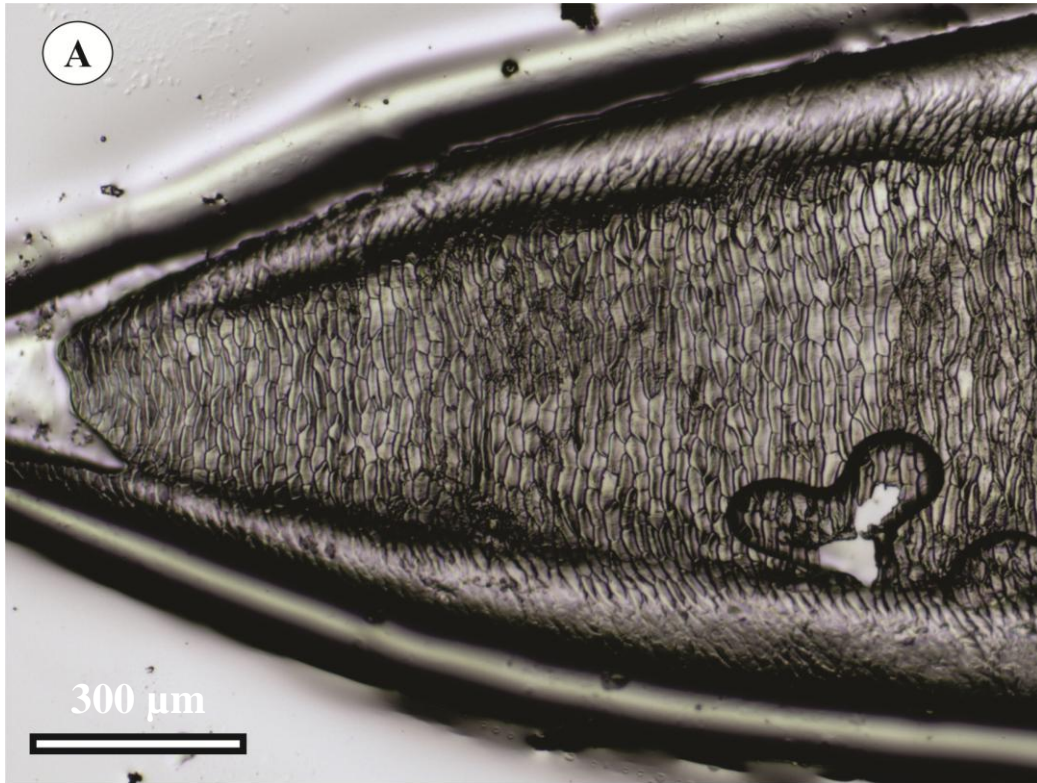


Figura 3: Padrões (a) ondeado transversal típico e (b) poligonal, semelhante a folidácea larga ocorrentes na base dos pelos aristiformes de todas as espécies.

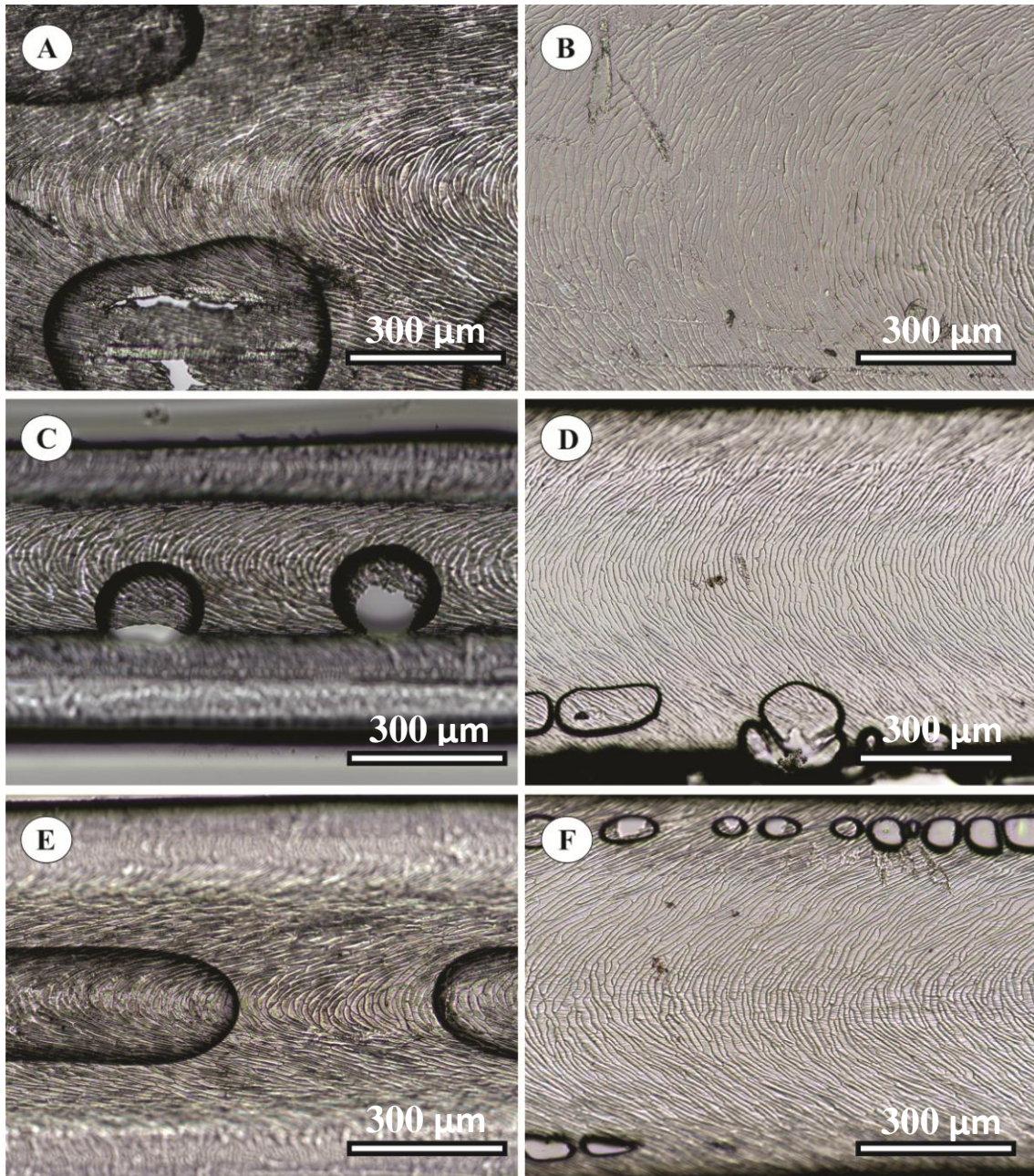


Figura 4: Padrões cuticulares das faces dorsal e ventral respectivamente, dos pelo aristiformes de *Trinomys denigratus* (A, B), *T. elegans* (C, D) e *T. graciosus* (E, F).

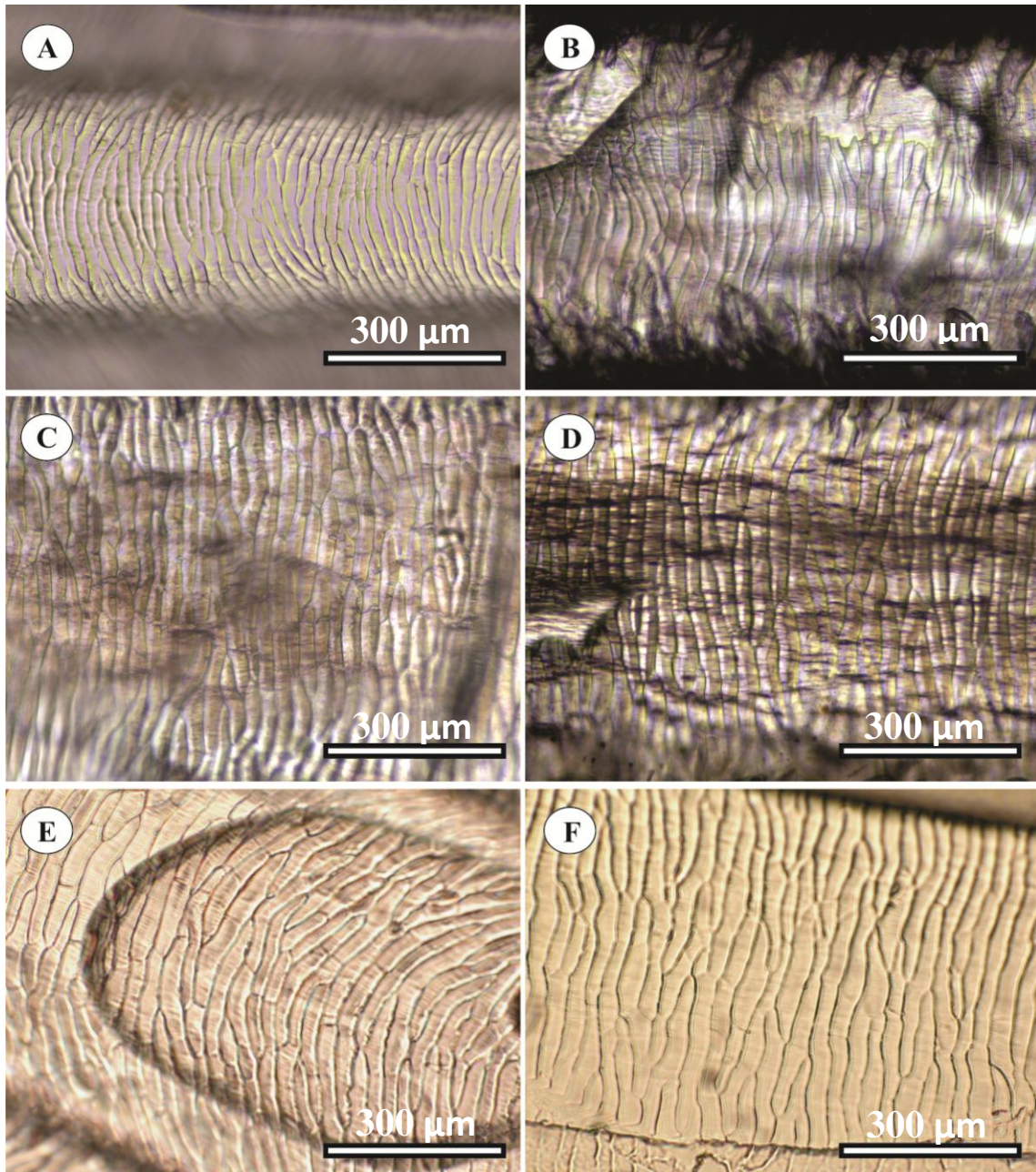


Figura 5: Padrões cuticulares das faces dorsal e ventral, respectivamente, dos pelos guarda das espécies *Proechimys robertii* (A, B), *Clyomys laticeps* (C, D) e *Euryzygomatomys spinosus* (E, F).

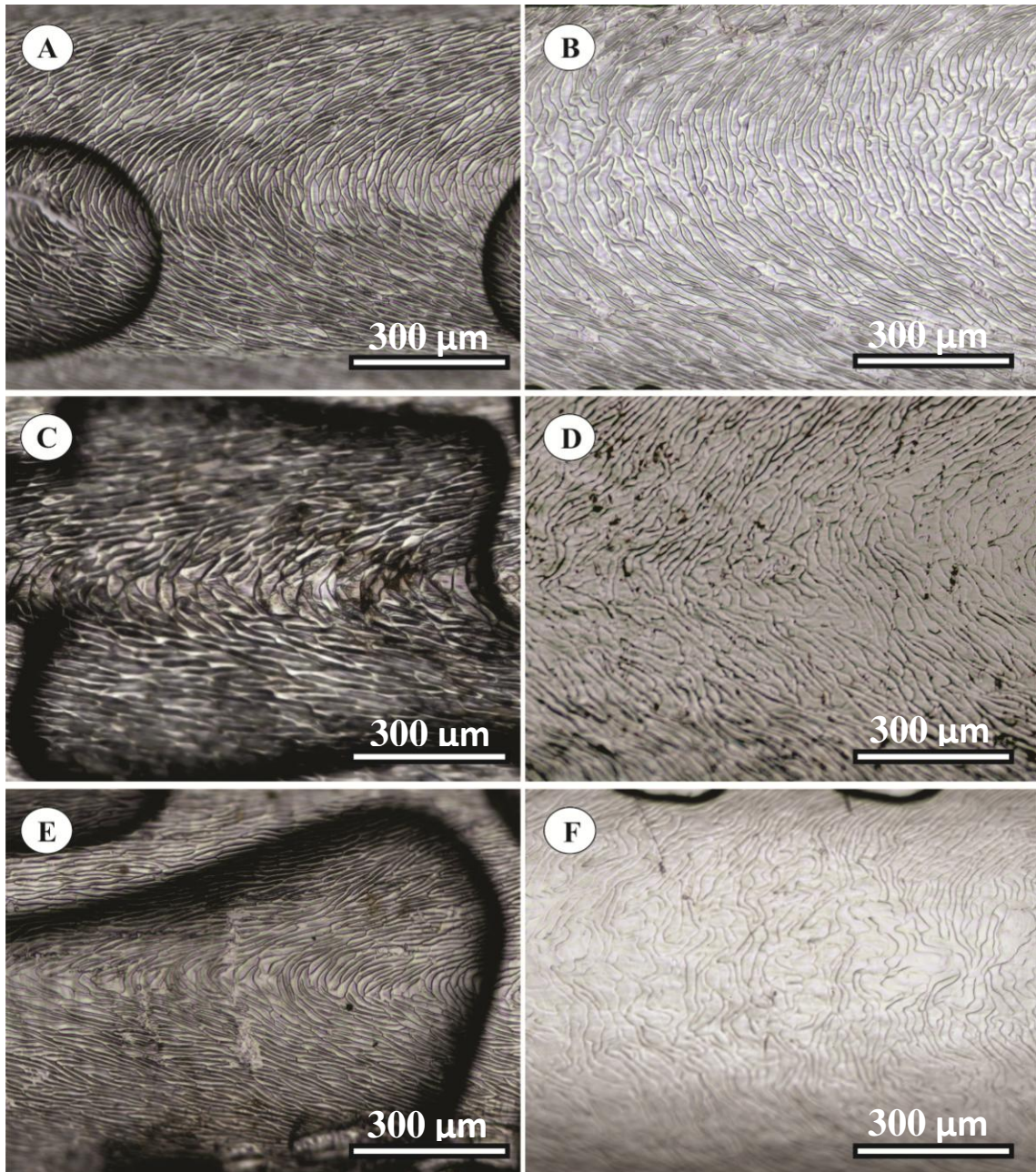


Figura 6: Padrões cuticulares das faces dorsal e ventral respectivamente, dos pelos aristiformes de *Trinomys setosus* (A, B), *T. iheringhi* (C, D) e *T. paratus* (E, F).

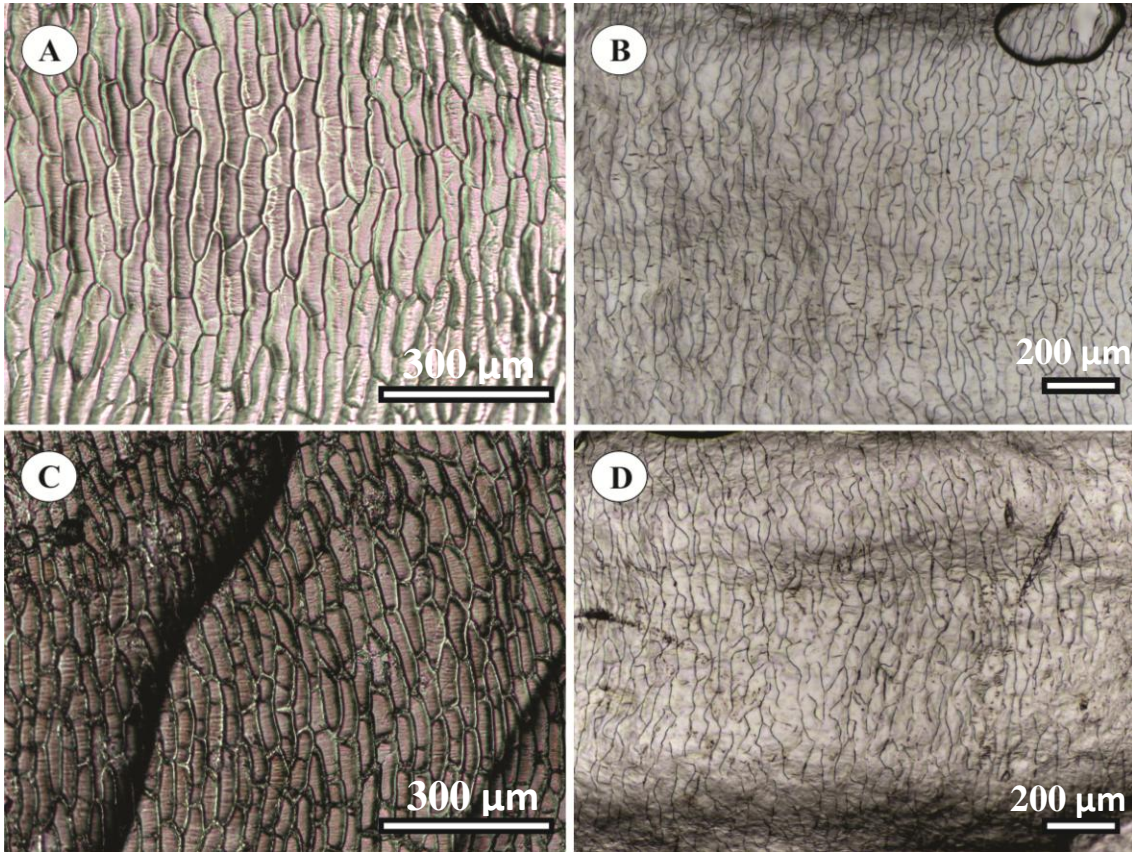


Figura 7: Padrões cuticulares das regiões dorsal e ventral, respectivamente, das espécies *Phylomys pattoni* (A, B) e *P. lamarum* (C, D).

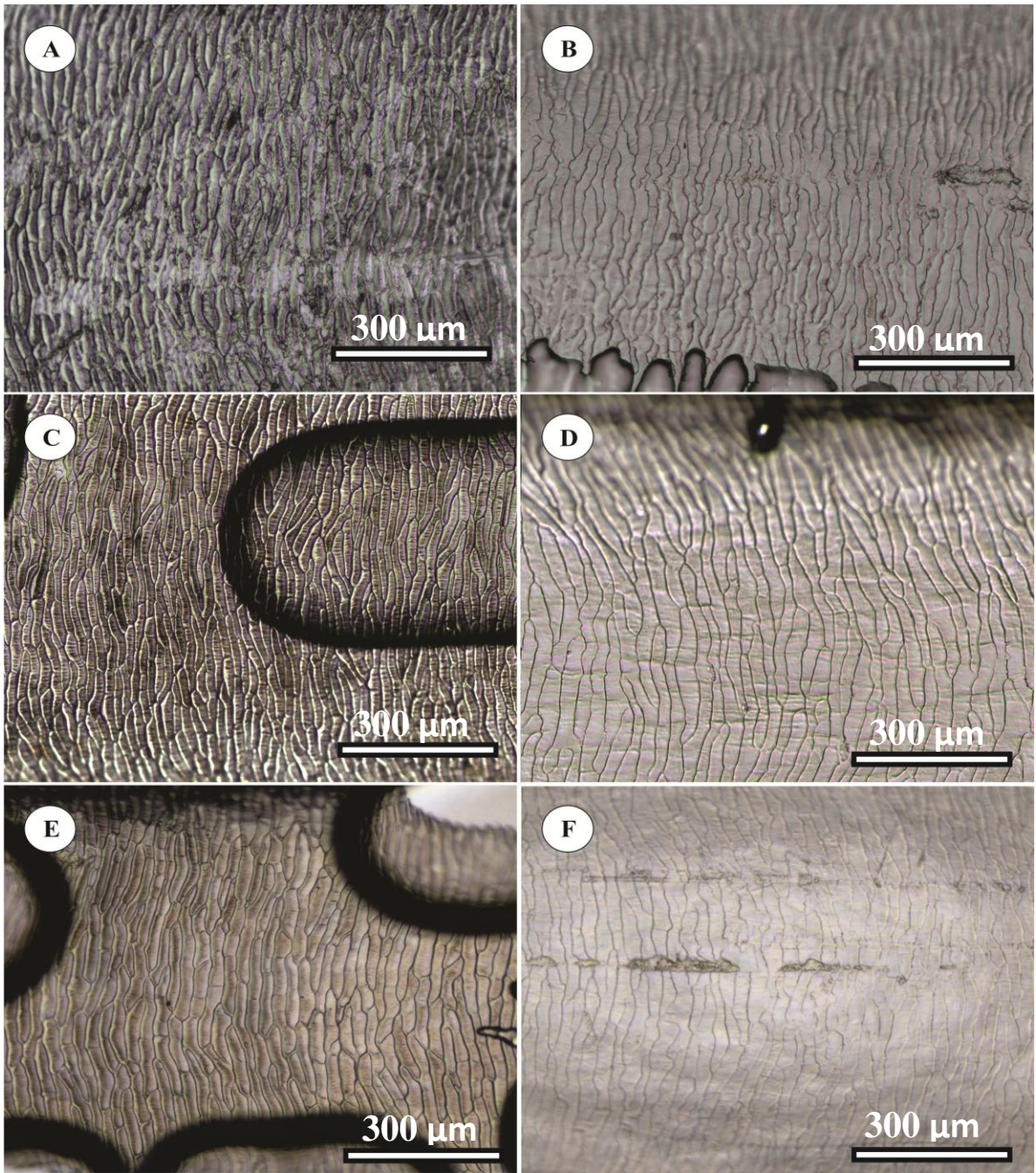


Figura 8: Padrões cuticulares das regiões dorsal e ventral dos pelos aristiformes de *Trinomys albispinus* (A e B), *T. minor* (C e D) e *Makalata didelphoides* (E e F).

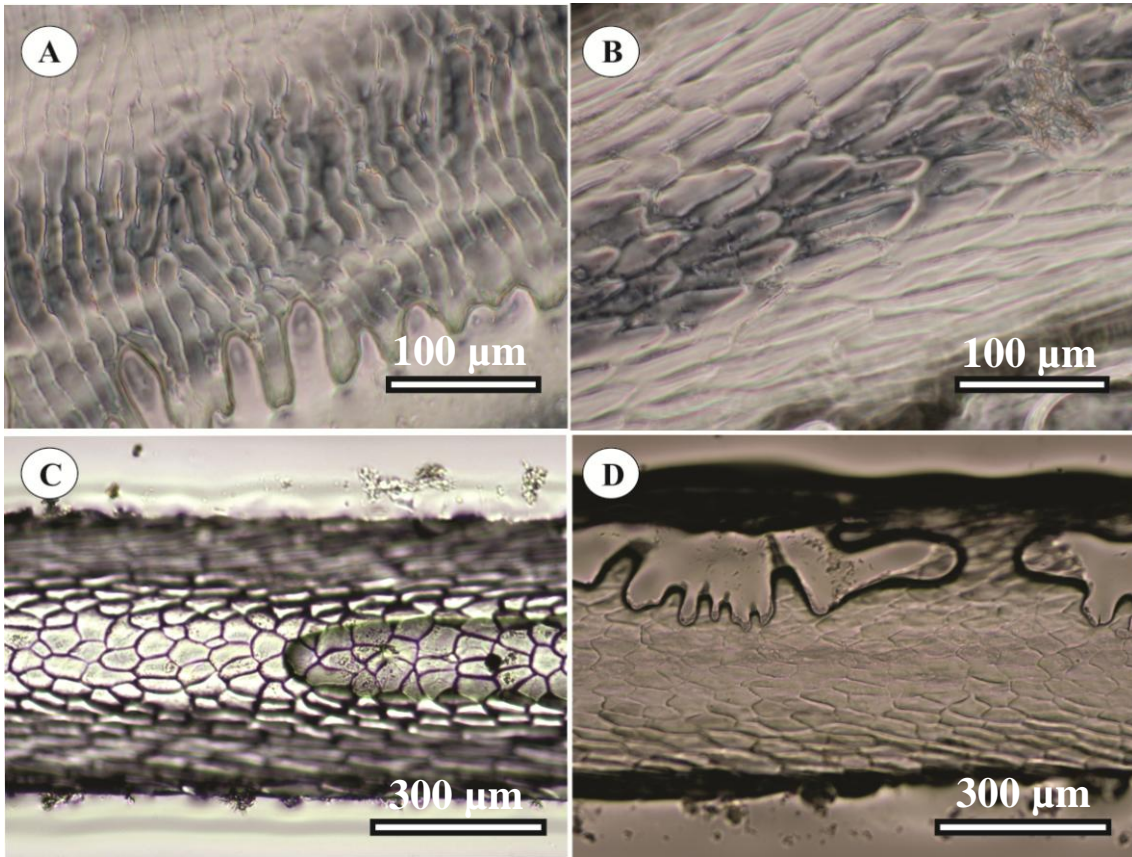


Figura 9: Padrões cuticulares das faces dorsal e ventral, respectivamente, das espécies *Arawayaomys ruschii* (A, B) e *Neacomys paracou* (C, D).

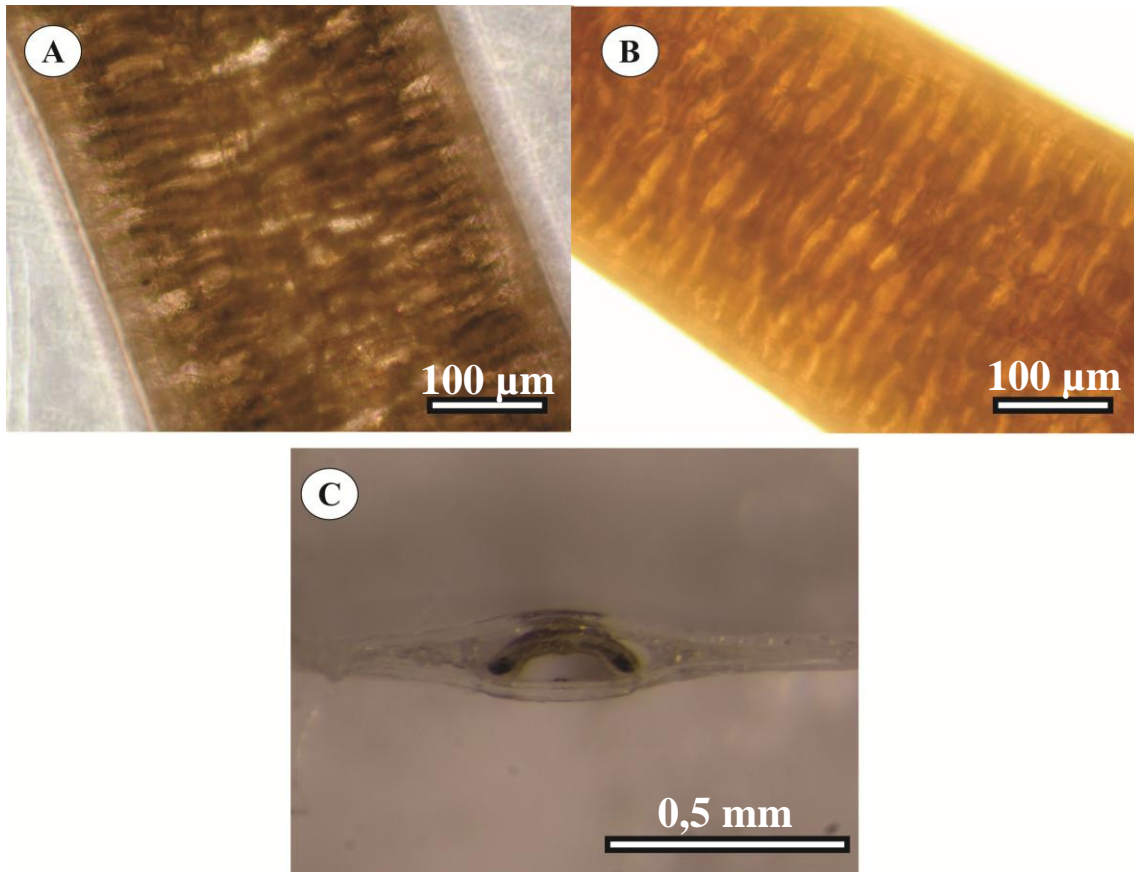


Figura 10: Padrões medulares (a) listrado encontrado nas espécies de Cricetidae e (b) crivado, encontrado para as espécies da família Echimyidae e (c) morfologia padrão, em formato de “U” invertido encontrada para todos os pelos aristiformes analisados.

Discussão

Os padrões pavimentosos, ou seja, cujas escamas não possuem bordas livres e nem há sobreposição entre escamas adjacentes (Quadros 2002) foram predominantes nas espécies da família Echimyidae nas formas ondeada transversal, ondeada transversal com bordas ornamentadas e ondeada dupla oblíqua. Já os padrões imbricados, nos quais as escamas apresentam bordas livres (Quadros 2002), como folidácea estreita e losângico estreita ocorreram apenas nas espécies da família Cricetidae.

Os padrões cuticulares identificados como a variação do ondeado transversal, em que as escamas se dispõem encaixadas como pequenos tijolos, até então nunca identificados em mamíferos com ocorrência no Brasil, já haviam sido observados em mamíferos europeus por Teerink (1991). Não é possível considerá-los como um novo registro de padrão cuticular, mas o fato de várias espécies relativamente representativas em coleções zoológicas (*P. pattoni*, *T. albispinus*, *M. didelphoides*, por exemplo) apresentarem este padrão, demonstra a grande lacuna dentro dos estudos tricológicos para mamíferos brasileiros, principalmente de pequeno porte.

A presença de espécies com sobreposição de padrões cuticulares não havia sido registrada em nenhum outro trabalho e é considerada, portanto, um novo e importante registro dentro da tricologia. Penna (2009) analisou os pelos de *A. ruschii* e os padrões ondeado transversal e losângico estreito também foram detectados. Foi considerado, no entanto, que os mesmo padrões ocorriam de forma contínua, um após o outro ao longo do comprimento do pelo, sem descrição de sobreposição de padrões. Problemas do método utilizado podem explicar a não percepção desta sobreposição. Uma prática bastante reproduzida em trabalhos como esse é a visualização apenas da impressão dos pelos deixada na resina, o que limita a observação apenas de um plano de visão dos pelos. A observação dos pelos ainda aderidos ao esmalte permite, por meio do ajuste

micrométrico do microscópio, a visualização das duas faces do pelo e conseqüentemente, dos dois padrões ocorrendo em sobreposição evitando este tipo de equívoco.

Wei et al. (1998) descreve como a morfologia das escamas cuticulares pode ser afetada durante a vida dos animais por fatores externos, principalmente por atrito entre pelos de camadas adjacentes da pelagem, o que pode explicar a diferença de padrões em alguns dos nossos registros. Em *M. didelphoides*, por exemplo, o padrão ondeado duplo oblíquo ocorre em ambos os lados do pelo, mas na região dorsal o padrão ondeado aparece de forma irregular. Os diferentes padrões sobrepostos nos pelos de *A. ruschii*, no entanto, não aparentam se originar devido a condições externas; fatores genéticos com relação direta ao processo de crescimento dos pelos podem explicar a ocorrência de morfologias tão distintas nas diferentes faces dos pelos. (Sherwood, Romer & Parsons 1985).

O padrão medular encontrado nas espécies amostradas não corrobora o padrão fusiforme identificado por Quadros (2002), dito como característico da família Echimiidae. Assemelhando-se, contudo ao padrão “wide aeriform lattice” (nomenclatura de Brunner & Comman (1974)) descrito por Penna (2009). Outro resultado em comum a este trabalho é a uniformidade dos padrões medulares, encontrado em todas as espécies analisadas no presente estudo e em 19 das 22 espécies de roedores amostradas por Penna. Diante desta ausência de variação no padrão medular entre as espécies, os dados obtidos para esse caractere não foram considerados na construção da chave de com relação à análise cuticular no que diz respeito à utilização de pelos como ferramenta taxonômica.

A análise da morfologia dos pelos em corte transversal não foi relevante em termos taxonômicos para o grupo de espécies amostrado, diferentemente de Teerink

(1991) onde esta característica foi usada de forma complementar aos padrões de medula e cutícula para traçar perfis tricológicos para mamíferos europeus. A repetição do formato em “U”, salvo pouquíssimas variações, nos pelos amostrados no presente estudo não promoveu a inclusão desses dados no guia de identificação proposto, visto que esta característica não conferiu característica diagnóstica que permitisse ou auxiliasse na diferenciação entre as espécies. É importante ressaltar, porém, que os cortes transversais podem ser de grande importância para análises morfométricas, onde a profundidade do sulco longitudinal e a distância entre as bordas laterais dos espinhos podem ser características distintivas entre espécies ou grupos de espécies, como demonstrado em Hoey et al. (2004)

Os resultados obtidos para análises das diferentes partes do corpo estão em acordo com Quadros e Braga (1998) e Keogh (1985), que afirmaram não encontrar diferenças significantes entre os pelos do dorso, ventre e flancos dos indivíduos. É possível, portanto, inferir que os pelos de origem desconhecida, vindos de amostras fecais ou egagrópilas, podem ser comparados aos padrões microestruturais identificados a partir de pelos retirados da região dorsal, região padrão de onde os pelos são retirados para análises, sem prejuízo na identificação das espécies.

Hoey et al. (2004) separou os gêneros *Proechimys*, *Trinomys* e *Hoplomys* por aspectos qualitativos. O autor deixa claro que não foi possível separar as espécies do gênero *Proechimys* através de características morfológicas e sugere a realização de análises quantitativas com análises estatísticas robustas para determinar se existem ou não diferenças. No presente trabalho, apesar das amostras não abrangerem todas as espécies dos gêneros analisados, os resultados obtidos para *Phyllomys* e *Trinomys* reiteram as conclusões expostas por Hoey et al., evidenciado que para esses gêneros a

diferenciação em espécies individuais só é possível por meio da combinação da micromorfologia com a análise morfométrica dos pelos.

Apesar de não ser possível traçar perfis tricológicos exclusivos para todas as espécies, o baixo custo e a facilidade de acesso aos materiais, juntamente à rapidez na confecção de lâminas, justificam o investimento nesta linha de pesquisa e o estímulo do uso da tricotaxonomia nos trabalhos em que a diferenciação em nível específico não é exigida, como em monitoramentos populacionais (Vantreels et al. 2009). Porém, é de suma importância que os trabalhos se dediquem cada vez mais à busca pela identificação de padrões tricológicos de grupos de mamíferos pouco explorados por meio de caracteres qualitativos e quantitativos, fornecendo subsídios para que a tricologia se constitua como uma ferramenta segura e precisa para identificação de mamíferos em várias pesquisas aplicadas.

LITERATURA CITADA

- Benedict, FA. 1957. Hair structure as a generic character in bats. University of California Publications in Zoology 59: 285-548.
- Brunner H, Coman BJ. 1974. The identification of mammalian hair. Inkata Press. Melbourne.
- Chernova OF, Kuznetsov GV. 2001. Structural features of spines in some rodents (Rodentia: Myomorpha, Hystricomorpha). Biology Bulletin 28(4): 371-382.
- Chernova OF. 2001. The Structure of the Cuticle of Guard Hair in Fruit-Eating Bats(*Chiroptera, Pteropodidae*). Doklady Biological Sciences 382: 34-37.
- Chernova OF. 2002. New findings of a specialized spine cuticle in porcupines (Rodentia: Hystrichomorpha) and tenrecs (Insectivora: Tenrecidae). Doklady Biological Sciences 384: 267-270.

- Hausman LA. 1920. The Microscopic Identification of Commercial Fur Hairs. *The Scientific Monthly* 10(1):70-78.
- Hoey KA, Wise RR, Adler GH. 2004. Ultrastructure of echimyid and murid rodent spines. *Journal of Zoology, London*. 263: 307-315.
- Keogh HJ. 1983. A photographic reference system based on the cuticular scale patterns and of the hair of 44 species of southern African Cricetidae and Muridae. *South African Journal of Wildlife Research*(15): 109-159.
- Martin PS, Gheler-Costa C, Verdade LM. 2009. Microestruturas de pelos de pequenos mamíferos não-voadores: chave para agroecossistemas do Estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica* 9(1): 233-241.
- Mayer WV. 1952. The hair of California mammals with key to dorsal guard hairs of California mammals. *The American Midland Naturalist* 48: 480-512
- Penna MAH. 2009. Avaliação de características morfológicas e morfométricas dos pelos dos roedores da Mata Atlântica do estado de São Paulo. Tese de doutorado inédita, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo, Brasil.
- Peurach SC. 2003. High-altitude Collision between an Airplane and a Hoary Bat, *Lasiurus cinereus*. *Bat Research News* 44(1): 2-3.
- Pierallini R, Keller A, Moretti M. 2004. Chiave di determinazione dei Chiroteri (Mammalia) della Svizzera attraverso l'osservazione al microscópio ottico della struttura dei peli. *Revue Suisse de Zoologie* 111(2): 381-393.
- Pough FH, Heiser JB, Janis, CM. 2003. *A vida dos vertebrados*. 3ed, Athena Editora. São Paulo.
- Quadros J, Braga FC. 1998. Caracterização morfológica dos pelos de diferentes partes do corpo de alguns carnívoros com ocorrência no estado do Paraná, BR. XIII

- Jornadas Argentinas de Mastozoología. Libro de resúmenes. Puerto Iguazú, Argentina: 67.
- Quadros J, Monteiro-Filho E. 1998. Effects of digestion, putrefaction, and taxidermy processes on *Didelphis albiventris* hair morphology. Journal of Zoology, London (1998) 244: 331- 334.
- Quadros J, Monteiro-Filho E. 2006. Coleta e preparação de pelos de mamíferos para identificação em microscopia óptica. Revista Brasileira de Zoologia 23(1): 274-278.
- Quadros J, Monteiro-Filho E. 2006. Revisão conceitual, padrões microestruturais e proposta nomenclatória para os pelos-guarda de mamíferos brasileiros. Revista Brasileira de Zoologia 232 (1): 279-292.
- Quadros, J. 2002. Identificação microscópica de pelos de mamíferos brasileiros e sua aplicação no estudo da dieta de carnívoros. Tese inédita Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.
- Riggott JM, Wyatt EH. 1980. Scanning electron microscopy of hair from different regions of the body rat. Journal of Anatomy 130: 121-126
- Romer AS, Parsons TS. Anatomia comparada dos vertebrados. São Paulo: Atheneu, 1985. 559 p.
- Sarkar PS, De JK, Manna CK. 2010 Identification of Dorsal Guard Hair of Seven Species of the Family Cercopithecidae (Primates : Mammalia). Proceedings of the Zoological Society of London 63 (2): 121-128
- Sato I, Nakaki S, Murata K, Takeshita H, Mukai T. 2010. Forensic hair analysis to identify animal species on a case of pet animal abuse. Int. Legal Med 124: 249-25
- Teerink BJ. 1991. Hair of West european mammals: atlas and identification. Cambridge University Press. Cambridge.

- Vanstreels RET, Ramalho FP & Adania CH. 2010 Guard-hair microstructure of Brazilian felids: considerations for species identification. *Biota Neotrop.*10(1)
- Yattes BC, Espinoza EO, Baker BW. 2010. Forensic species identification of elephant (Elephantidae) and giraffe (Giraffidae) tail hair using light microscopy. *Forensic Sci. Med. Pathol.* 6: 165-171
- Wei Z, Shuhui Y, Yingxu W, Yanchun X, Weibao Y, Xiaowen Z. 1998. Acquired morphological changes of Mammalian hair scales. *Journal of Forestry Research.* 9(2): 65-70.

Anexo II

Material examinado – 108 espécimes de 16 espécies

ORDEM Rodentia

FAMÍLIA Cricetidae

Abrawayaomys ruschii Cunha & Cruz, 1979 (n=10).

MZUFV – CM: 3562, 3565, 3569. **MZPUC/MG:** 1874, 1971, 2163, 2157, 2282.
UFMG: 2492.

Neacomys paracou Voss, Lunde & Simmons, 2001 (n = 4).

MZPUC/MG: 1402, 1403, 1443, 2064.

FAMÍLIA Echimyidae

Cliomys laticeps Thomas, 1909 (n=3).

MZPUC/MG: 2009, 2389. **UFMG:** 1703.

Euryzygomatomys spinosus Fischer, 1814 (n = 8).

MZUFV – CM: 193, 2209, 2828, 2977. **MZPUC/MG:** 117, 2265. **UFMG:** 1948, 1949.

Makalata didelphoides Desmarest, 1817 (n =9).

MZPUC/MG: 1342, 1391, 1392.

Phyllomys pattoni Emmons, Leite, Cock & Costa, 2002 (n = 13)

MZUFV – CM: 331, 385, 696, 794. **UFES – MAM:** 439, 440, 621, 622, 623, 624, 643, 908, 2156.

Phyllomys lamarum Thomas, 1926 (n = 3)

UFES – MAM: 639, 640.

Trinomys albispinus Geoffroy, 1838 (n = 11)

MZUFV – CM: 1124, 1593, 1905, 1916, 2858, 1937. **MZPUC/MG:** 1131, 1132, 1136, 1137. **UFMG:** 2475.

Trinomys denigrates Moojen 1948 (n = 4)

MZPUC/MG: 993, 994, 996, 997.

Trinomys elegans Lund, 1841 (n = 3)

UFMG: 2315, 2316, 2317,

Trinomys graciosus Moojen 1948 (n = 2)

UFMG: 1950, 3040.

Trinomys iheringhi Thomas 1911 (n = 5)

UFES – MAM: 2230, 2231, 2232, 2233, 2286.

Trinomys minor Reis & Pessoa, 1991 (n = 7)

UFMG: 1446, 2474. **UFES – MAM:** 960, 961, 962, 963, 964.

Trinomys paratus Moojen, 1948 (n = 12)

UFMG: 1248, 1963. **UFES – MAM:** 645, 653, 657, 669, 671, 673, 674, 682, 683, 815

Trinomys setosus Dermarest, 1817 (n = 13)

MZPUC/MG: 1774, 1822, 1829. **UFES – MAM:** 285, 286, 287, 288, 289.2043, 2047, 2061, 2062, 2063.

Conclusões Gerais

Os resultados encontrados neste estudo mostraram que os pelos aristiformes podem ser utilizados em estudos de tricotaxonomia, conferindo resultados tão relevantes quanto os trabalhos com os pelos guarda. Como os pelos aristiformes possuem morfologia bastante diferente dos pelos guarda, faz-se necessário que as metodologias mais usuais sofram algumas adaptações. A quantidade de esmalte utilizada nas lâminas e a forma de manuseio dos pelos, nas lâminas de cutícula e o tempo de exposição e a composição da solução descolorante para preparações de medula, foram as principais adaptações.

Na análise dos pelos aristiformes das dezesseis espécies em questão, revelou que os pelos aristiformes variam principalmente nos padrões cuticulares, em detrimento dos medulares e da morfologia dos cortes transversais. Foi possível perceber também que não há diferenças significativas entre os pelos de diferentes partes do corpo dos animais, de modo que pode-se adotar apenas uma região do corpo para análise de animais taxidermizados, e análises de pelos de origem desconhecida podem ser feitas por comparação com pelos de apenas uma parte do corpo dos animais.

Além disso, viu-se clara diferenciação na morfologia cuticular entre as espécies das famílias Cricetidae e Echimyidae. Os Equimídeos mostraram um grande predomínio de padrões ondulados e suas variações, enquanto os cricetídeos apresentaram padrões mais poligonais.

Encontrou-se para a cutícula, um padrão até então não descrito na literatura. A ocorrência de dois padrões cuticulares distintos em faces diferentes do pelo, o que foi denominado como sobreposição de padrões. A análise cuticular permitiu a separação de espécies individuais ou em grupos de espécies, como por exemplo, as espécies do gênero *Trinomys* da amostra foram separadas em três grupos morfológicos distintos: *T.*

albispinus e *T. minor*; *T. denigratus*, *T. elegans* e *T. gratiosus*; e *T. setosus*, *T. iheringhi* e *T. paratus*.

Todos estes resultados reafirmam a importância dos estudos de tricotaxonomia, visto que estes podem revelar características diagnósticas para as espécies. Além disso, mostram a relevância dos pelos aristiformes, por vezes subjulgados nos trabalhos na área. Desta forma, é de suma importância que mais estudos como este sejam feitos, de forma a abranger um número maior de espécies ou grupos de espécies, aumentando os subsídios que permitam a identificação de espécies por meio de uma metodologia prática e pouco invasiva.