

VERONICA ANDRADE SIMAN

**AVALIAÇÃO MORFOFUNCIONAL E HISTOMORFOMETRIA TESTICULAR  
DO ROEDOR SILVESTRE *Kannabateomys amblyonyx* (Wagner, 1845) (Rodentia;  
Echimyidae)**

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 Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da  
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S596a  
2016 Siman, Veronica Andrade, 1987-  
Avaliação morfofuncional e histomorfometria  
testicular do roedor silvestre *Kannabateomys  
amblyonyx* (Wagner, 1845) (Rodentia; Echimyidae) /  
Veronica Andrade Siman. - Viçosa, MG, 2016.  
xi, 54f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador : Sergio Luis Pinto da Matta.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Roedor. 2. *Kannabateomys amblyonyx*. 3. Roedor -  
Fisiologia. 4. Espermatogênese em animais. 5. Células  
de Leydig. 6. Testículos. I. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Programa de  
Pós-graduação em Biologia Animal. II. Título.

CDD 22 ed. 599.35

VERONICA ANDRADE SIMAN

**AVALIAÇÃO MORFOFUNCIONAL E HISTOMORFOMETRIA TESTICULAR  
DO ROEDOR SILVESTRE *Kannabateomys amblyonyx* (Wagner, 1845) (Rodentia;  
Echimyidae)**

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 Scientiae*.

APROVADA: 19 de julho de 2016.

---

Kyvia Lugate Cardoso Costa

---

Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo

---

Sérgio Luis Pinto da Matta  
(Orientador)

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”

José de Alencar

Dedico esta dissertação a todas as pessoas que acreditaram no meu trabalho e estiveram ao meu lado, em especial aos meus pais, Willian e Solange, meus irmãos Leonardo e Henrique, ao Vitor, ao meu orientador Sérgio da Matta e toda equipe do Lab 333.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por iluminar a minha caminhada e me proporcionar sabedoria para concluir esta etapa com sucesso.

Aos meus pais, Willian e Solange, por tudo que fizeram e fazem por mim, por me concederem a oportunidade de prosseguir com meus estudos, me proporcionando sempre todo apoio necessário, pois sem vocês esse momento não seria possível, amo vocês!

Aos meus irmãos Leonardo e Henrique, que eu tanto amo, por estarem sempre ao meu lado, me apoiando em todos os momentos.

Ao Vitor, por toda paciência, por compreender a importância do mestrado em minha trajetória, e por estar sempre me incentivando, e me esperando. Te amo!

A minha afilhada linda, Ana Laura, e toda minha família pelo amor incondicional, pelas gargalhadas garantidas, e por dar sentido à minha vida.

Aos meus amigos de Ipatinga, em especial as minhas flores, por fazerem as voltas para casa sempre agradáveis e divertidas.

Às minhas “Xerosas”, que mesmo distantes estão sempre em meu coração.

À Lud, minha companheira de casa, por ouvir minhas lamúrias, meus medos, minhas incertezas. Obrigada por tudo.

À família Teixeira de Pinho por me acolher tão bem, e estar sempre disposta a me ajudar, e pelas comidinhas deliciosas que alegravam e acalmavam minhas semana.

Ao professor Sérgio Luis Pinto da Matta, por proporcionar todas as oportunidades para o meu crescimento, por acreditar em mim mais do que eu mesma e por me mostrar que tudo daria certo. Pelos deliciosos cafezinhos também. Muito obrigada!

Às Mosqueteiras, Fernanda, Vivi, Jana e Tati, por TUDO, por embarcarem nos meus sonhos, e contribuírem com as minhas conquistas, sou muito grata a vocês e a toda equipe do Lab 333, pelos ensinamentos, paciência e lanchinhos deliciosos. Foi incrível trabalhar com vocês.

À professora Giselle Mendes Lessa Del Giúdice e ao seu aluno Fabiano Aguiar, por nos fornecerem espécimes de *K. amblyonyx*.

À Raquel Godoy e Fernanda Carolina Dias pelo auxílio na confecção dos materiais e análises morfométricas.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento que proporcionou a realização deste projeto.

Aos professores do Departamento de Biologia Animal e do Departamento de Biologia Celular e Estrutural da Universidade Federal de Viçosa, pelos ensinamentos durante o curso, por toda colaboração e exemplo de profissionalismo.

Aos professores Kyvia Lugate Cardoso Costa e Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo por aceitarem participar da banca examinadora.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	x
ABSTRACT .....	xii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	1
2.1 Ordem Rodentia .....	1
2.1.1 Família Echimyidae .....	2
2.1.2 Subfamília Dactylomyinae.....	3
2.1.3 Gênero <i>Kannabateomys</i> .....	4
2.1.4 <i>Kannabateomys amblyonyx</i> .....	4
2.2 A morfologia testicular.....	6
2.2.1 Os testículos .....	6
2.2.2 O compartimento tubular .....	7
2.2.3 O compartimento intertubular .....	9
2.3 A espermatogênese.....	9
3. OBJETIVOS .....	11
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	12
Capítulo 1: Histomorfometria dos túbulos seminíferos e dinâmica da espermatogênese do roedor silvestre <i>Kannabateomys amblyonyx</i> (Rodentia, Echimyidae) (Wagner, 1845). .....	19
1. INTRODUÇÃO .....	20
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	21
2.1. Animais .....	21
2.2. Análises Histológicas .....	21
2.3. Morfometria tubular .....	21
2.4. Estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES).....	23
2.5. Contagem de células germinativas e de Sertoli.....	23
2.6. Rendimento intrínseco da espermatogênese.....	23
2.7. Cálculo da reserva espermática total .....	24
3. RESULTADOS .....	24
4. DISCUSSÃO .....	30
5. CONCLUSÃO .....	34
6. REFERÊNCIAS.....	34
Capítulo 2: Histomorfometria intertubular do roedor silvestre <i>Kannabateomys amblyonyx</i> (Rodentia, Echimyidae) (Wagner, 1845). .....	42
1. INTRODUÇÃO .....	43
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	44

2.1. Animais .....	44
2.2. Análises Histológicas .....	44
2.3. Morfometria intertubular .....	45
2.3.1. Proporção volumétrica (%) e volume dos componentes intertubulares ....	45
2.3.2. Morfometria das células de Leydig.....	45
2.4. Análises estatísticas .....	45
3. RESULTADOS .....	45
4. DISCUSSÃO .....	48
5. CONCLUSÃO .....	50
6. REFERÊNCIAS.....	50
CONCLUSÕES GERAIS .....	53

## RESUMO

SIMAN, Verônica Andrade, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2016. **Avaliação morfofuncional e histomorfometria testicular do roedor silvestre *Kannabateomys amblyonyx* (Wagner, 1845) (Rodentia; Echimyidae).** Orientador: Sérgio Luis Pinto da Matta.

Os roedores constituem a maior ordem de mamíferos do mundo, representando no Brasil, 36% da mastofauna. São animais encontrados em todos os habitats, apresentando grande importância na manutenção e dinâmica das florestas que habitam. Nosso conhecimento sobre a biologia e fisiologia da reprodução desses mamíferos silvestres é ainda muito limitado. A descrição de parâmetros espermatogênicos é de grande importância para a elaboração de políticas de conservação que previnam a extinção ou melhore o manejo das mesmas. Assim, objetivou-se descrever histomorfometricamente o compartimento tubular e intertubular dos testículos de *Kannabateomys amblyonyx*, enfatizando também a dinâmica da espermatogênese. Este é o primeiro estudo que avaliou a morfometria testicular deste representante da família Echimyidae, sendo esta a única espécie representante do gênero encontrada no Brasil. Foram utilizados sete animais capturados em regiões de Mata Atlântica, na Zona da Mata, em Minas Gerais, através de esforço ativo de captura por arma de pressão, sendo as capturas autorizadas previamente pelo IBAMA (Licença 37986-2). Um dos testículos foi incluído rotineiramente em historesina, seccionado e corado sendo obtidas imagens em microscopia de luz para realização de análises morfométricas. O outro testículo teve sua túnica albugínea retirada e pesada para obtenção do peso do parênquima testicular. O peso corporal foi de 418,43g, dos quais 0,41% estão alocados em gônada (IGS) e destes 0,38% em túbulo seminífero (ITS). Em torno de 93% do parênquima testicular são ocupados por túbulo seminífero, sendo 84% de epitélio, 2,5% de túnica própria, e 6,5% de lúmen. Os túbulos seminíferos apresentaram diâmetro de 214,23 $\mu$ m, e 72,68 $\mu$ m de altura de epitélio. Esses roedores possuem 21,62m de túbulo seminífero por testículo, e 12,92m por grama de testículo. Foram identificados 8 estádios do ciclo do epitélio seminífero, com associações celulares bem definidas, sendo o estágio I o mais frequente ao contrário do estágio IV. Foram contabilizadas, 0,47 espermatogônias A, 11,78 espermatócitos em preleptóteno, 3,81 em zigóteno, e 14,31 em paquíteno, além de 32,19 espermátides arredondadas, e 6,23 células de Sertoli. Os índices mitóticos e meióticos mostraram perdas de 60% e 43%, respectivamente, e o rendimento geral da espermatogênese foi de 69,73 células

germinativas. A capacidade total suporte das células de Sertoli foi de 10,03 células sendo de 5,17 para espermatídes arredondadas. O número de célula de Sertoli, por testículo e por grama de testículo, foi de  $44,98 \times 10^6$  e  $53,32 \times 10^6$ , respectivamente. A reserva espermiática testicular foi de 274,40. O intertúbulo, que constitui em torno de 7% do parênquima, é ocupado em sua maior parte por células de Leydig, possibilitando um índice Leydigossomático de 0,02%. O intertúbulo foi ocupado por 79,88% células de Leydig, 3,28% de espaço linfático, 6,26% de vasos sanguíneos, 1,56% de macrófagos, 0,53% de mastócitos e 8,48% de tecido conjuntivo. Esses percentuais equivalem a 5,10; 0,22; 0,43; 0,10; 0,005 e 0,54% do parênquima testicular, respectivamente. Existem em média  $33,46 \times 10^6$  células de Leydig por testículo e  $40,32 \times 10^6$  por grama de testículo. Essas células possuem um volume de  $1.280,99 \mu\text{m}^3$ , sendo  $213,19 \mu\text{m}^3$  nucleares e  $1.067,80 \mu\text{m}^3$  citoplasmáticos. A organização dos componentes do compartimento intertubular, corresponde ao padrão tipo III descrito por Fawcett.

## ABSTRACT

SIMAN, Veronica Andrade, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2016. **Histological and morphometric testicular evaluation on wild rodent *Kannabateomys amblyonyx* (Wagner, 1845) (Rodentia; Echimyidae).** Adviser: Sérgio Luis Pinto da Matta.

Rodents are the largest order of world's mammals, representing in Brazil, 36% of mammalian fauna. They are found in all habitats, with great importance in the maintenance and dynamics of the forests they inhabit. Our knowledge of the biology and physiology of reproduction of these wild mammals is still very limited. The description of spermatogenic parameters is of great importance for the development of conservation policies to prevent the extinction or improve the management of the species. This study aimed to describe histomorphometrically the tubular and intertubular compartments of the testes of *Kannabateomys amblyonyx*, also emphasizing the dynamics of spermatogenesis. This is the first study to evaluate the testicular morphometry this representative Echimyidae family, being the only species found in Brazil. Seven animals were caught in Atlantic Forest in the state of Minas Gerais, through active effort capture. One testis was included in historesin routinely, sectioned and stained to yield light microscopy images to carry out morphometric analysis. The other testis had its albuginea removed and weighed to obtain the weight of the testicular parenchyma. Body weight was 418.43g, of which 0.41% is allocated in gonad (IGS) and 0.38% in seminiferous tubule (ITS). Approximately 93% of testicular parenchyma is occupied by seminiferous tubule, being 84% of epithelium, 2.5% tunica propria, and 6.5% lumen. The seminiferous tubules have a diameter of 214.23 $\mu$ m and 72.68 $\mu$ m of epithelium height. These rodents have 21.62m of seminiferous tubule per testis, and 12.92m per gram of testis. Eight stages of the epithelium seminiferous cycle were identified with well-defined cell associations, being the most frequent stage I unlike the less frequent stage IV. They were recorded, 0.47 spermatogonia A, 11.78 spermatocytes in preleptotene, 3.81 in zygotene, 14.31 in pachytene, 32.19 round spermatids, and 6.23 Sertoli cells. The meiotic and mitotic indexes showed losses of 60% and 43%, respectively, and the spermatogenesis yield was 69.73 cells. The total support capacity of Sertoli cells was 10.03 cells being 5.17 to round spermatids. The number of Sertoli cell per testis and per gram of testis was 44.98x10<sup>6</sup> and 53.32x10<sup>6</sup>, respectively. Testicular sperm reserve was 274.40. The intertubule, which is around 7% of the parenchyma, is occupied mostly by Leydig cells, enabling

Leydigsomatic index of 0.02%. Thus, we observe in intertubule 79.88% of Leydig cells, 3.28% of lymphatic space, 6.26% of blood vessels, 1.56% of macrophages, 0.53% of mast cells and 8.48% connective tissue. These percentages are equivalent to 5.10, 0.22, 0.43, 0.10, 0.005 and 0.54% of the testicular parenchyma, respectively. There are on average of  $33.46 \times 10^6$  Leydig cells per testis and  $40.32 \times 10^6$  per gram of testis. These cells have a volume  $1.280.99 \mu\text{m}^3$  being  $213.19 \mu\text{m}^3$  and  $1.067.80 \mu\text{m}^3$  to the nucleus and cytoplasm, respectively. The organization of the components the intertubular compartment corresponds to type III described by Fawcett.

## 1. INTRODUÇÃO

A ordem Rodentia representa a maior ordem em número de espécies, englobando aproximadamente 40% de todos os mamíferos descritos, que estão distribuídos em aproximadamente 29 famílias, 443 gêneros e 2021 espécies (Nowak, 1999; Lage e Schmidt, 2006).

Esses mamíferos apresentam grande importância na manutenção das florestas neotropicais, contribuindo para recuperação e manutenção da diversidade genética das populações (Leite et al., 1994), além de contribuírem diretamente na dinâmica e na troca de energia dos ecossistemas, atuando como predadores, presas e consumidores primários e também na dispersão de sementes, o que contribui para a regeneração florestal (Emmons, 1990; Kuhnen et al., 2011).

Roedores são excelentes modelos biológicos e cerca de 95% dos animais destinados à pesquisas são ratos e camundongos, sendo muito usados em estudos direcionados à saúde humana. Eles são também utilizados como indicadores de alterações locais do habitat como alterações da paisagem, devido a sua capacidade de influenciar na dinâmica das florestas (Pizo, 1997; Sánchez-Cordero e Martínez-Gallardo, 1998; Vieira et al., 2003).

Apesar de, nos últimos anos, ter havido incremento nas publicações referentes ao processo espermatogênico em roedores, nosso conhecimento sobre a biologia e fisiologia da reprodução dos mamíferos silvestres continua ainda muito limitado. A descrição dos parâmetros reprodutivos básicos dessas espécies é muito importante para a elaboração de políticas de conservação que previnam a extinção ou melhore o manejo das mesmas, além de possibilitar também o estudo comparativo e evolutivo de sua função reprodutiva (Wildt, 2005). Além disso, muitas das novas doenças detectadas a cada ano possuem algum roedor silvestre envolvido na sua transmissão, exigindo que pesquisas e trabalhos de campo com esses animais sejam realizados cada vez mais buscando um número sempre crescente de investigações (Bonvicino et al., 2008). Apesar da ampla distribuição geográfica do *K. amblyonyx* seus hábitos especializados dificultam sua captura, tornando-os escassos em coleções científicas. Portanto, este é o primeiro trabalho que avaliou a espermatogênese do *Kannabateomys amblyonyx*, sendo esta a segunda espécie dentro da família a ser estudada no Brasil.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Ordem Rodentia

No Brasil, os roedores representam 36% de toda mastofauna, distribuídos em aproximadamente 71 gêneros e 235 espécies (Bonvicino et al., 2008), das quais pelo menos 79 são encontradas na Mata Atlântica (Fonseca et al., 1996), sendo esta a maior ordem dentro da classe Mammalia.

Foram encontrados registros fósseis de roedores representantes da subordem miomorfa, na América do Norte, com aproximadamente 25 milhões de anos, e da subordem histricomorfa, na América do Sul, com cerca de 35 milhões de anos (Sigrist, 2012). O grande sucesso evolutivo dos representantes dessa ordem se deve ao fato de constituírem um grupo relativamente recente de vertebrados e possuírem uma dieta bastante variada (Stoddart, 1993).

A ordem Rodentia é conhecida por ser o grupo com maior diversidade de espécies. Apesar de alguns representantes apresentarem peso e tamanho corporal discrepante, como por exemplo as capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), que pesam entre 35 e 65 kg e com comprimento corporal entre 1,07 a 1,34 metros (Bonvicino et al., 2008), a maioria é de médio a pequeno porte, sendo o rato pigmeu (*Baiomys taylori*) a menor espécie, pesando em média 6 gramas e medindo 0,012 metros de comprimento (Hudson, 1965).

Todas as espécies da ordem possuem dentição característica, a maioria apresentando 22 dentes, com um único par de incisivos de lâmina afiada e ausência dos caninos (Bishop, 1993). Estes caracteres possibilitam a otimização do alimento processado pelos incisivos, bem como a capacidade de roer, que é típica do grupo (Reis et al., 2010).

Os roedores ocupam hábitat distintos e constituem um grupo contendo espécies oportunistas, tanto pelos aspectos alimentares, quanto aos relacionados ao hábitat. Esses pequenos mamíferos são responsáveis pela transmissão de mais de 60 doenças já descritas, tanto para seres humanos quanto para animais domésticos (Massi et al., 2009).

No caso de mamíferos silvestres, a enorme diversidade de espécies, distribuídas nos mais variados hábitat, faz com que as mesmas utilizem estratégias reprodutivas bastante variadas (Weir e Rowlands, 1973). O sistema de acasalamento desses mamíferos varia de acordo com a espécie, sendo muitos destes promíscuos, outros poliândricos, monogâmicos ou poligínicos. Recentes estudos genéticos confirmaram alta incidência de paternidade múltipla em muitas espécies promíscuas (Waterman, 2007).

### 2.1.1 Família Echimyidae

A ordem Rodentia foi subdividida em 2 grandes grupos baseado no processo angular da mandíbula: o Sciurognathi, nos quais o processo angular dirige-se medialmente e é um

prolongamento da borda inferior do dentário, e o Hystricognathi, cujo processo angular dirige-se lateralmente e se origina na borda externa do dentário (Tulleberg, 1889). De acordo com estudos moleculares, o último grupo forma 3 divisões monofiléticas: os Phiomorphas, os Hystricidae e os Caviomorpha, que são encontrados na América do Sul (Huchon et al., 1999). Os Caviomorpha dividem-se em quatro superfamílias: Cavioidae, Chinchilloidae, Erethizontoidae e Octodontoidae, estando a família Echimyidae incluída na última (Huchon et al., 1999).

Os representantes da família Echimyidae são conhecidos como ratos espinhosos da América do Sul, devido à presença de pelos eriçados no dorso. Eles representam o clado mais diversificado dos Caviomorpha (Patterson e Pascual, 1968) englobando aproximadamente 23 gêneros e 90 espécies viventes (Fabre et al., 2013). A taxonomia dos equimiídeos é instável e muitas classificações vêm sendo propostas para esta família. Segundo a classificação de Woods e Kilpatrick (2005), esses roedores estão distribuídos em quatro subfamílias, sendo 3 viventes: Eumysopinae (ratos-de espinhos terrestres ou semifossoriais), Echimyinae (arborícolas), Dactylomyinae (ratos-do-bambu) e Heteropsomyinae (ratos das Antilhas, recentemente extintos).

A maioria das espécies representantes da família estão distribuídas ao longo de florestas tropicais da América do Sul e Central. No Brasil são encontradas desde áreas florestadas úmidas como a Mata Atlântica e Amazônia até abertas e secas, a Caatinga e o Cerrado (Fabre et al., 2013). Possuem modos de vida diversificados, podendo ser terrestres, semiaquáticos, arborícolas, semifossoriais e escansoriais. Na Mata Atlântica são encontrados cinco gêneros da família: o *Kannabateomys* (rato-do-bambu); os *Phyllomys* e *Callistomys* (arborícolas); o *Trinomys* (terrestre), e o *Euryzygomatomys* (semifossorial) (Fabre et al., 2013).

### 2.1.2 Subfamília Dactylomyinae

Os representantes da subfamília possuem hábitos arborícolas e são especializados em viver em bambus e até mesmo se alimentar deles (Emmons, 2005; Myers, 2001). Esses roedores possuem molares largos, prismáticos, com dobras fundas, séries molares bem aproximadas anteriormente; processos paraoccipitais alongados acompanhando a porção inferior das bulas; alongamento anormal dos dedos (dedos semelhante aos de primatas) e pelagem macia (Moojen, 1952).

São identificados três gêneros dentro da subfamília, com seus representantes distribuídos na América do Sul. O *Dactylomys*, representado por *Dactylomys boliviensis*, ocorre no extremo noroeste do Brasil e também do sudeste do Peru ao centro da Bolívia

(Dunnum e Salazar-Bravo, 2004; Upham et al., 2013); *Dactylomys dactylinus*, com distribuição em hábitat florestais da Amazônia ocidental do Brasil, Peru, Equador, Colômbia, Venezuela e Bolívia, chegando até o leste do rio Xingu no Brasil (Bezerra et al., 2007; Emmons e Feer, 1997) estendendo-se ao sul, com registro de ocorrência no Cerrado (Bezerra et al., 2007); e o *Dactylomys peruanus*, identificado somente nas florestas andinas do sudeste do Peru e em uma localidade no departamento de La Paz, na Bolívia, (Bezerra et al., 2007; Salazar-Bravo et al., 2003; Upham et al., 2013). O gênero *Kannabateomys*, representado apenas pela espécie *Kannabateomys amblyonyx*, considerada endêmica do bioma Mata Atlântica, está distribuído na região sudeste da América do Sul (Emmons e Feer, 1997; Silva et al., 2012). O gênero *Olallamys*, sem ocorrência no Brasil, é representado por duas espécies, *Olallamys edax* e *Olallamys albicauda* ambos com distribuição restrita à regiões montanhosas dos Andes do Norte da Colômbia e Venezuela (Uphan et al., 2013). No Brasil, encontram-se espécies dos dois primeiros gêneros.

### 2.1.3 Gênero *Kannabateomys*

A espécie *Kannabateomys amblyonyx*, foi originalmente descrita por Wagner em 1845 como uma nova espécie brasileira do gênero *Dactylomys* (*Dactylomys amblyonyx*), sendo sua descrição baseada apenas em caracteres morfológicos externos e coloração. Jentink (1891), através de revisão taxonômica de *Dactylomys typus* (=dactylinus) e *D. amblyonyx*, descreveu um histórico do gênero *Dactylomys* e, com base na diferença da forma das pregas do esmalte da denteição e grau de convergência das séries molares, propôs um novo gênero para receber o *D. amblyonyx*: o *Kannabateomys* (Jentink, 1891).

Moojen (1952), considera *Kannabateomys* como uma forma vicariante de *Dactylomys* na região meridional do Brasil e no Paraguai. Ele observa que parâmetros morfológicas como tamanho corpóreo, adaptações das mãos e pés ao hábito escalador e algumas características do crânio assemelham-se ao observado em *Dactylomys*. Entretanto, apesar do padrão semelhante dos molares, em *Kannabateomys* os sulcos dos molares inferiores não chegam a dividi-los como em *Dactylomys*, além do *Kannabateomys* possuir menor estreitamento anterior do palato.

### 2.1.4 *Kannabateomys amblyonyx*

O *Kannabateomys amblyonyx* (Figura 1), um grande roedor herbívoro e arbóreo, podendo chegar a pesar até 600 gramas, apresenta comprimento da cauda maior que o do corpo. Sua pelagem é abundante e macia, sendo a coloração geral do dorso castanho

amarelada, algumas vezes com um tom ferrugem, constituída de pelos de base acinzentada com ponta amarelada ou ferrugínea. As laterais do corpo são mais claras e a superfície ventral varia de branco-amarelada a amarelo-avermelhada, sem limite definido com o dorso. A cauda é densamente revestida de pelos finos e relativamente longos na base, formando pincel de pelos na ponta. O terceiro e quarto dígitos de todos os membros são alongados com garras robustas, não ultrapassando a última falange (Bonvicino et al., 2008).

Comumente conhecido no Brasil como rato-da-taquara devido ao hábito especializado de utilizar taquaras, tanto nativas como introduzidas, para abrigo e nidificação (Silva, 2005). Esta espécie apresenta alimentação composta principalmente de brotos, galhos e folhas de bambu (Silva e Vieira, 2006; Silva et al., 2008; Bonvicino et al., 2008). Diferente da maioria dos outros roedores, as patas do rato-de-taquara possuem longos dedos, semelhantes aos dos primatas, com unhas achatadas, que permitem a firme aderência aos colmos lisos do bambu (Olmos et al., 1993).



Figura 1 – Indivíduo de *Kannabateomys amblyonyx* alimentando-se de broto de bambu (Felipe Peters).

É encontrado em florestas tropicais úmidas, principalmente em moitas de bambu perto de cursos de água. No Brasil, vive na Mata Atlântica sendo considerada a única espécie desse bioma com alimentação especializada em bambu (Olmos et al., 1993). Apresenta atividade noturna e organiza-se em pequenos grupos familiares, defendendo seu território através de vocalização (Kierulff et al., 1994; Stallings et al., 1994; Silva, 2005; Silva e Vieira, 2006; Bonvicino et al., 2008; Silva et al., 2008).

Análises comportamentais detectaram provável relação de monogamia social dentro da espécie. O cuidado biparental que ocorre nesta espécie pode estar relacionado ao seu hábito arbóreo, o que provavelmente aumenta o risco dos animais juvenis inexperientes caírem das árvores ou serem predados enquanto se movem nos ramos (Silva et al., 2008).

Em relação à sua conservação, a espécie *K. amblyonyx* ocorre em várias áreas protegidas e não se encontra em risco de extinção (Red List, 2012). Entretanto, está localmente ameaçado no estado de Minas Gerais, pela destruição de seus hábitat, pelo desmatamento, queimadas e pela presença de cães domésticos.

No Brasil, sua distribuição estende-se desde o estado do Espírito Santo ao Rio Grande do Sul (Moojen, 1952) (Figura 2), sendo a densidade ecológica da espécie de aproximadamente 4,28 indivíduos por km<sup>2</sup> no Rio Grande do Sul (Silvia, 2005). Segundo a IUCN (International Union for Conservation of Nature), esta espécie ocorre no sudeste do Brasil, Paraguai e leste da província de Misiones, no nordeste da Argentina (Eisenber e Redford, 1999).



Figura 2. Mapa de distribuição de *Kannabateomys amblyonyx* de acordo com o Guia dos Roedores do Brasil (Bonvicino et al., 2008).

## 2.2 A morfologia testicular

### 2.2.1 Os testículos

Os túbulos seminíferos são separados pelo mesênquima que dá origem às células intersticiais, de Leydig, que começam a secretar andrógenos como a testosterona e a androstenediona, que induzem a diferenciação masculina dos ductos mesonéfricos e da genitália externa. Além da testosterona, o testículo fetal produz o hormônio antimülleriano (AMH), sintetizado pelas células de sustentação (de Sertoli) cuja função é suprimir o desenvolvimento dos ductos paramesonéfricos, que formam o útero e as tubas uterinas nas fêmeas. Os túbulos seminíferos permanecem maciços até a puberdade, quando a luz começa a se desenvolver (Moore e Persaud, 2008).

Após seu desenvolvimento o testículo dos mamíferos passa a apresentar funções endócrina e exócrina. A gônada masculina geralmente está localizada no escroto, que apresenta um papel importante na manutenção dos testículos a uma temperatura abaixo da intra-abdominal (Junqueira e Carneiro, 2013).

O testículo é envolvido pela albugínea testicular que emite septos para o interior do órgão, até a região do mediastino, dividindo o testículo em lóbulos, que podem variar de acordo com a espécie de mamífero (Russell et al., 1990). Esses septos são incompletos, e frequentemente há intercomunicação entre os lóbulos. Cada lóbulo é ocupado por um a quatro túbulos seminíferos que se alojam como novelos, envolvidos por um tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e células intersticiais (Junqueira e Carneiro, 2013). Funcionalmente, o testículo é dividido em dois compartimentos: o tubular ou espermatogênico e o intertubular ou intersticial, que é androgênico (Russell et al., 1990) e ambos constituem o parênquima testicular.

### 2.2.2 O compartimento tubular

O compartimento tubular, constituído pelos túbulos seminíferos, ocupa a maior parte do testículo dos mamíferos, variando de 60 a 90 % do parênquima testicular (França e Russell, 1998). Os túbulos estão dispostos em alças e suas extremidades são contínuas com os túbulos retos que conectam os túbulos seminíferos a uma rede de canais anastomosados, a rede testicular, localizada no mediastino do testículo. Os túbulos seminíferos são constituídos pela túnica própria, o epitélio seminífero e o lúmen tubular (Junqueira e Carneiro, 2013).

O epitélio seminífero é formado por duas populações distintas de células: as germinativas ou espermatogênicas, que são originárias do epiblasto e as células de Sertoli, provenientes do epitélio celomático (Karl e Capel, 1998). A túnica própria, que envolve cada túbulo seminífero, é formada por uma membrana basal associada às células

peritubulares ou mioides achatadas e contráteis, que possuem características de células musculares lisas (Junqueira e Carneiro, 2013). A associação das células mioides com a membrana basal fornece sustentação estrutural para as células de Sertoli e as germinativas do ambiente basal (Russell et al., 1990). No lúmen tubular há espermatozoides imersos em fluido testicular (Setchell, 1991). Há grande variação no número e nas dimensões dos túbulos seminíferos nas diferentes espécies de mamíferos (França e Russell, 1998).

As células de Sertoli são células piramidais cuja superfície basal está aderida à lâmina basal da túnica própria em toda sua extensão, ao longo de todo epitélio, tendo seu ápice no lúmen dos túbulos seminíferos (Junqueira e Carneiro, 2013). A união de células de Sertoli adjacentes, por junções de oclusão, forma a barreira testicular, dividindo funcionalmente o epitélio seminífero em dois ambientes: o basal e o adluminal (Costa et al., 2011). No ambiente basal encontram-se as espermatogônias e os espermátocitos primários na fase inicial da prófase meiótica (preleptótenos e leptótenos) e no ambiente adluminal estão os espermátocitos primários a partir da fase de zigóteno, os espermátocitos secundários e as espermátides arredondadas e alongadas (Junqueira e Carneiro, 2013). Essas junções proporcionam ao ambiente adluminal uma proteção contra a ação do sistema imune, o que é necessário para que ocorra a espermatogênese, uma vez que as células desse ambiente são haploides (Russell et al., 1990; Russell e Griswold, 1993). Na passagem dos espermátocitos em preleptóteno, do ambiente basal para o adluminal, as junções entre células de Sertoli modificam-se de modo a permitir esse evento, o que significa a existência de uma dinâmica juncional que permite às células germinativas progredirem para a luz do túbulo sem o rompimento das barreiras (Lui et al., 2001). Devido a esse isolamento, as células germinativas dependem das células de Sertoli para troca de nutrientes e metabólitos (Junqueira e Carneiro, 2013). Adicionalmente, as células de Sertoli ainda apresentam como funções em indivíduos adultos, o suporte das células germinativas, a fagocitose de excesso de citoplasma em forma de corpos residuais liberados durante a espermiogênese, a secreção da proteína ligante de andrógeno (ABP), a secreção de inibina e ativina, e a conversão de testosterona em estradiol (Junqueira e Carneiro, 2013).

Além das suas funções as células de Sertoli podem ser utilizadas como ponto de referência para se quantificar e avaliar funcionalmente o processo espermatogênico, pois nos animais adultos e ao longo dos diferentes estádios do ciclo do epitélio seminífero, estas células apresentam população estável (Russell et al., 1990; França e Russell, 1998; Johnson et al., 2000).

### 2.2.3 O compartimento intertubular

O tecido intersticial do testículo é importante para a nutrição das células dos túbulos seminíferos, transporte de hormônios e produção de andrógenos (Junqueira e Carneiro, 2013). O compartimento intertubular é constituído por vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, fibras e células do tecido conjuntivo como macrófagos e fibroblastos, além de células de Leydig, que é geralmente o tipo celular mais frequente nesse compartimento (Paula et al., 2007). Os capilares sanguíneos do testículo são parcialmente fenestrados (Ergün et al., 1996). As células de Leydig realizam a produção de andrógenos sintetizados a partir de uma molécula base, o colesterol, responsáveis pela manifestação e manutenção dos caracteres sexuais secundários e pela manutenção da espermatogênese em animais sexualmente maduros (Bardin, 1996).

De acordo com Fawcett et al. (1973), existem três padrões de organização dos componentes intertubulares. No padrão I estão as espécies com poucas células de Leydig, escasso conjuntivo, sendo o intertúbulo ocupado em sua maior parte por capilares sinusoides e vasos linfáticos. No padrão II, as células se organizam em grupos, com abundante conjuntivo e um vaso linfático central. Finalmente, no padrão III, os vários agrupamentos de Leydig ocupam a maior parte do intertúbulo, com pouco tecido conjuntivo e vasos linfáticos.

A variação na habilidade que diferentes mamíferos possuem em relação a secreção de testosterona se deve à capacidade individual que as células de Leydig possuem em secretar o hormônio e não aos diferentes volumes que estas ocupam no testículo (Ewing et al., 1979). Esta produção individual está diretamente relacionada com a quantidade de retículo endoplasmático liso presente nas células de Leydig (Zirkin, 1980), uma vez que esta é a organela mais abundante nessas células, possuindo vários sítios de ligação para as enzimas necessárias na conversão esteroideogênica (Costa, 2001). A quantidade de células de Leydig por animal depende de fatores como, a quantidade do hormônio luteinizante (LH) disponível e do número de receptores de LH por célula, a quantidade de testosterona que a célula é capaz de secretar, a velocidade com que o hormônio deixa os testículos via vasos linfáticos, vasos sanguíneos e fluido seminal, o volume sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (Russell, 1996).

### 2.3 A espermatogênese

A espermatogênese é um processo fisiológico, altamente organizado, com duração de 40 a 60 dias na maioria dos mamíferos (Russell et al., 1990; França e Russell, 1998). Esse processo tem como resultado a formação de espermatozoides haploides após

divisões e diferenciações de espermatogônias diploides (França e Russell, 1998). O processo espermatogênico pode ser dividido em três fases, com características funcionais e morfológicas distintas: (1) a fase proliferativa ou espermatogonial, na qual as espermatogônias sofrem rápidas e sucessivas divisões mitóticas; (2) meiótica ou espermatocitogênica, quando o material genético passa por duas divisões celulares sucessivas e por recombinação genética durante a meiose; e (3) diferenciação ou espermiogênica, na qual as espermátides haploides sofrem marcantes modificações, transformando-se em espermatozoides, células muito especializadas e estruturalmente equipadas para alcançar e fertilizar os ovócitos (Russell et al., 1990).

A organização das células do epitélio seminífero em associações bem definidas recebem o nome de estádios e essas associações são essenciais para que as diferenciações ocorram corretamente (Leblond e Clermont, 1952). Os estádios se sucedem em determinadas áreas do epitélio e estas sucessões, que ocorrem em uma sequência lógica de progressão de desenvolvimento, recebem o nome de ciclo do epitélio seminífero (CES) (Ortavant et al., 1977; Russell et al., 1990). São precisos em média de 4 a 5 ciclos, dependendo da espécie, para que uma célula espermatogênica saia do ambiente basal e se diferencie em espermatozoide para ser espermiada (Leblond e Clermont, 1952; Paula, 1999).

O epitélio seminífero é composto por diferentes gerações de células germinativas, associado a um tipo de célula somática, a célula de Sertoli. Situadas próximas à lâmina basal estão as espermatogônias que, no início do amadurecimento sexual, iniciam um processo contínuo de divisões mitóticas produzindo sucessivas gerações celulares, podendo permanecer indiferenciadas dividindo-se e mantendo-se como célula-tronco de outras espermatogônias, ou diferenciar-se durante os ciclos de divisão mitótica (Junqueira e Carneiro, 2013). Além das espermatogônias indiferenciadas, são identificadas nos túbulos seminíferos as espermatogônias do tipo A, as intermediárias (In) e as espermatogônias do tipo B, pertencentes à linhagem das diferenciadas e comprometidas com a espermatogênese (De Rooij, 1998).

As células diferenciadas em espermatogônias do tipo B passam por ciclos mitóticos originando os espermatócitos primários, que são as maiores células da linhagem espermatogênica e que entram em meiose. Os espermatócitos primários duplicam seu DNA e ao final da primeira divisão meiótica, cada célula gera 2 espermatócitos secundários, diploides, com metade dos cromossomos iniciais. Estas células, que rapidamente entram em meiose II originando as espermátides, são células de pequeno tamanho e haploides (Junqueira e Carneiro, 2013). As espermátides, que são inicialmente

arredondadas, passam por um processo denominado espermiogênese, sofrendo uma série de mudanças morfológicas, histoquímicas e bioquímicas, diferenciando-se em espermátides alongadas e posteriormente resultando em espermatozoides, que sofrerão espermiacção e serão liberados no lúmen do túbulo. O processo de espermiogênese envolve a formação de um acrossomo, a condensação e o alongamento do núcleo, o desenvolvimento de um flagelo, e a perda de grande parte do citoplasma (Junqueira e Carneiro, 2013).

Alguns fatores são cruciais para que a espermatogênese ocorra de forma correta. Hormônios, como o FSH, atuando sobre as células de Sertoli e o LH, que age sobre as células de Leydig estimulando a produção da testosterona, são essenciais para estimular a espermatogênese. Além desses, vários outros fatores podem gerar alterações na espermatogênese, como temperatura, desnutrição, alcoolismo, radiações, alguns fármacos e metais pesados (Junqueira e Carneiro, 2013).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.2 Objetivo Geral

Analisar e descrever histológica e morfometricamente o testículo do roedor silvestre *Kannabateomys amblyonyx*.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Calcular os índices Gonadossomático (IGS), Tubulossomático (ITS), Epitéliosomático (IES) e Leydigossomático (ILS);
- Determinar as proporção volumétrica e volume dos componentes do parênquima testicular;
- Mensurar Diâmetro dos túbulos seminíferos e altura do epitélio seminífero;
- Calcular o comprimento dos túbulos seminíferos por testículo e por grama de testículo;
- Caracterizar os estádios do ciclo do epitélio seminífero e suas frequências relativas;
- Estimar a população celular do epitélio seminífero;
- Determinar o rendimento intrínseco da espermatogênese;
- Determinar as proporções volumétrica e volume dos componentes intertubulares;
- Calcular a relação nucleoplasmática das células de Leydig;
- Calcular o volume nuclear, citoplasmático e das células de Leydig;
- Calcular o volume total de células de Leydig por testículo;
- Calcular o número de células de Leydig por testículo e por grama de testículo.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARDIN, C. W. 1996. Androgens: early attempts to evaluate Leydig cell function in man. In *The Leydig cell*. Payne, A. H., Hardy, M. P., Russell, L. D. (eds.). Vienna, Cache River Press. P:31-42.

BEZERRA, A. M. R.; SILVA Jr, N. J.; MARINHO-FILHO, J. 2007. The Amazon bamboo rat *Dactylomys dactylinus* (Rodentia: Echimyidae: Dactylomyinae) in the Cerrado of central Brazil. *Biota Neotropica*. 7(1): 235-237.

BISHOP, I. R. 1993. Other cavy-like rodents. In *The encyclopedia of mammals*. MacDonald D (eds.). Harper Collins, London. P:700-703

BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. R. 2008. Guia de Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro, Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS. 94p.

COSTA, D. S. 2001. Análise morfofuncional da espermatogênese e características seminais de catetos (*Tayassu tajacu*). Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. 61p.

COSTA, K. L. C.; MATTA, S. L. P.; GOMES, M. L. M.; PAULA, T. A. R.; FREITAS, K. M.; CARVALHO, F. A. R.; SILVEIRA, J. A.; DOLDER, H.; MENDIS-HANDAGAMA, S. L. M. C. 2011. Histomorphometric evaluation of the neotropical brown brocket deer *Mazama gouazoubira* testis, with an emphasis on cell population indexes of spermatogenic yield. *Animal Reproduction Science*. 127: 202-212.

DE ROOIJ, D. G. 1998. Stem cells in the testis. *International Journal Experimental Pathology*. 79: 67-80.

DUNNUM, J. L.; SALAZAR-BRAVO, J. 2004. *Dactylomys boliviensis*. In *Mammalian Species*. American Society Mammalogist. 745: 1-4.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. 1999. *Mammals of the neotropics the central neotropics*. University of Chicago Press, Chicago. 3: 93-94

EMMONS, H. E. 1990. Neotropical rainforest mammals. The University of Chicago Press, Chicago. 281p.

EMMONS, L. H.; FEER, F. 1997. Neotropical rainforest mammals: a field guide. 2nd. (eds.). The University of Chicago Press, Chicago. 307p.

EMMONS, L. H. 2005. A revision of the general of arboreal Echimyidae (Rodentia: Echimyidae, Echimyinae) with the description of two new genera. *Mammalian Diversification: From Chromosomes to Phylogeography*. Lancey, E. A.; Myers, P. (eds.). University of California Press, Berkeley. P.247–309

EWING, L. L.; ZIRKIN, B. R.; COCHRAN, R. C.; KROMANN, N.; PETERS, C.; RUIZ-BRAVO, N. 1979. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell mass. *Endocrinology*. 105: 1135-1142.

FABRE, P. H.; GALEWSKI, T.; TILAK, M.; DOUZERY, E. J. P. 2013. Diversification of South American spiny rats (Echimyidae): a multigene phylogenetic approach. *Zoologica Scripta*. 42: 117–134.

FAWCETT, D. W.; NEAVES, W. B.; FLORES, M. N. 1973. Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biology Reproduction*. 9: 500-532.

FONSECA, G. A. B.; HERRMANN, G.; LEITE, Y. L. R.; MITTERMEIER, R. A.; RYLANDS, A. B.; PATTON, J. L. 1996. Annotated list of mammals of Brazil. *Occasional Papers Conservation Biological*. 4: 1-38.

FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L. D. 1998. The testis of domestic animals. In *A multidisciplinary overview*. Martínez, F., Regadera, J. (eds.). Churchill Livingstone, Madrid, Spain. 197-219.

HUCHON, D.; CATZEFLIS, F. M.; DOUZERY, E. J. 1999. Molecular evolution of the nuclear Von Willebrand factor gene in mammals and the phylogeny of rodents. *Molecular Biology Evolution*. 16: 577–589.

HUDSON, J. W. 1965. Temperature regulation and torpidity in the pygmy mouse, *Baiomys taylori*. *Physiological Zoology*. 38: 243-254

JENTINK, F. A. 1891. On *Dactylomys dactylinus* and *Kannabateomys amblyonyx*. Notes from the Leyden Museum, Leyden. 8: 105-111.

JOHNSON, L.; VARNER, D. D.; ROBERTS, M. E.; SMITH, T. L.; KEILLOR, G. E.; SCRUTCHFIELD, W. L. 2000. Efficiency of spermatogenesis a comparative approach. *Animal Reproduction Science*. 60 (61): 471-480.

JUNQUEIRA, L. C; CARNEIRO, J. 2013. *Histologia Básica*. 12ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 538p

KARL, J.; CAPEL. B. 1998. Sertoli cells of mouse testis originate from the coelomic epithelium. *Developmental Biology*. 203: 323-333.

KIERULFF, M. C.; STALLINGS, J. R.; SABATO, E. L. 1994. A method to capture the bamboo rat (*Kannabateomys amblyonyx*) in bamboo forest. *Mammalia*. 55(4): 633-635.

KUHNEN, V. V.; LIMA, R. E. M.; SANTOS, J. F.; GRAIPEL, M. E.; MACHADO FILHO, L. C. P.; SORIANO-SIERRA, E. J. 2011. First record of *Leopardus pardalis* (Linnaeus, 1758) at the State Park of the Serra do Tabuleiro. *Brazilian Journal Biology*. 71(1): 219-220.

LAGE, R. R.; SCHMIDT, S. E. M. 2006. Rodentia – Roedores Silvestres (Capivara, Cutia, Paca, Ouriço). In *Tratado de animais selvagens*. Cubas, Z. S., Silva, J. C. R., Catão-Dias, J. L. (eds.). *Medicina Veterinária Roca*. P. 475-491.

LEBLOND, C. P.; CLERMONT, Y. 1952. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Animal New York Academic Scientific*. 55: 548-584.

LEITE, Y. L. R.; STALLINGS, J. R.; COSTA, L. P. 1994. Partição de recursos entre espécies simpátricas de marsupiais na Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira Biologia*. 54: 525-536.

LUI, W. Y.; LEE, W. M.; CHENG, C. Y. 2001. Transforming growth factor-beta3 perturbs the inter-Sertoli tight junctions permeability barrier in vitro possibly mediated via its effects on occludin, zonula occludens-1, and claudin-11. *Endocrinology*. 142: 1865-1877.

MASSI, E.; VILAÇA, P. J.; RAZZOLINI, M. T. 2009. Evaluation on the Effectiveness of Actions for Controlling Infestation by Rodents in Campo Limpo Region, São Paulo Municipality, Brazil. *International Journal Environmental Health Research*. 19: 291-394.

MOOJEN, J. 1952. *Os Roedores do Brasil*. Rio de Janeiro: Ministério da Educação e Saúde, Instituto Nacional do Livro, Biblioteca Científica Brasileira. 214p.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N. 2008. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*. 8<sup>o</sup>ed. Eighth (eds.). 536p.

MYERS, P. 2001. *Echimyidae*, Animal Diversity Web. Accessed April 18, 2014 at <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Echimyidae/>.

NOWAK, R. M. 1999. *Walker's mammals of the world*. 6<sup>o</sup> ed. Johns Hopkins University Press. London. 2: 1053-1062.

OLMOS, F.; GALETTI, M.; PASHOAL, M.; MENDES, S. L. 1993. Habits of the Southern Bamboo Rat, *Kannabateomys amblyonyx* (Rodentia, Echimyidae) in Southeastern Brazil. *Mammalia*. 57: 325-333.

ORTAVANT, R.; COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M. T. 1977. Spermatogenesis in domestic animals. In *Reproduction in domestic animals*. Cole, H. H., Cupps, P. T. (eds.). Academic Press, New York,

PATTERSON, B., PASCUAL, R. 1968. New echimyid rodents from the Oligocene of Patagonia, and a synopsis of the Family. *Breviora*, Cambridge. 301: 1-14

PAULA, T. A. R. 1999. Avaliação histológica e funcional do testículo de capivaras adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 84 p.

PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P.; SILVA JÚNIOR, V. A.; COSTA, D. S.; FONSECA, C. C.; NEVES, M. T. D. 2007. Intertubular space characterization in adult capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. *Brazilian Archives Biology Technology*. 50(2): 289-297.

PIZO, M. A. 1997. Seed dispersal and predation in two populations of *Cabrlea canjerana* (Meliaceae) in the Atlantic Forest of southeastern Brazil. *Journal Tropical Ecology*. 13: 559-578.

IUCN RED LIST, 2012. The IUCN Red List of Threatened Species. Acesso em: <http://maps.iucnredlist.org/index.html>.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; FREGONEZI, M. N.; ROSSANEIS, B. K. 2010. Mamíferos do Brasil – Guia de identificação. 1º Ed. Rio de Janeiro: Technical Books. P. 213-287.

RUSSELL, L. D.; ETTLIN, R. A.; SINHA-HIKIM, A. P.; CLEGG, E. D. 1990. Mammalian spermatogenesis. In *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*. Russell, L. D., Ettlin, R. A., Sinha-Hikim, A. P., Clegg, E. D. (eds.). Cache River Press, Bolesta. P. 1-40.

RUSSELL, L. D.; GRISWOLD, M. D. 1993. The Sertoli cell. Cache River Press: Clearwater, Florida. 801p.

RUSSELL, L. D. 1996. Mammalian Leydig cell structure. In *The Leydig Cell*. Payne, A. H., Hardy, M. P., Russell, L. D. (eds.). Cache River Press, Vienna. P. 43-96.

SALAZAR-BRAVO, J.; TARIFA, T.; AGUIRRE, L. F.; YENSEN E.; YATES, T. L. 2003. Revised checklist of Bolivian mammals. *Occasional Papers Museum Texas Tech University*. 220: 1-27.

- SÁNCHEZ-CORDERO, V.; MARTINEZ-GALLARDO, R. 1998. Post dispersal fruit and seed removal by forest-dwelling rodents in a lowland rainforest in México. *Journal Tropical Ecology*. 14: 139-151.
- SETCHELL, B. P. 1991. Male reproductive organs and semen. In *Reproduction in domestic animals*. Cupps, P. T. (eds.). 4<sup>o</sup> ed, Academic, San Diego. 6: 221-250.
- SIGRIST, T. 2012. *Mamíferos do Brasil – Uma Visão Artística*. 1<sup>a</sup> edição, Vinhedo, São Paulo. P. 168-207.
- SILVA, R. B. 2005. *Ecologia do rato-da-taquara (Kannabateomys amblyonyx) no Parque Estadual de Itapuã*. Dissertação de Mestrado. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. 60p.
- SILVA, J. B.; VIEIRA, R. D. 2006. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de beterraba. *Revista Brasileira Sementes*, 23(2): 128-134.
- SILVA, R. B.; VIEIRA, E. M.; IZAR, P. 2008. Social monogamy and biparental care of the neotropical southern bamboo rat (*Kannabateomys amblyonyx*). *Journal Mammalogy* 89(6): 1464-1472.
- SILVA, F. A.; ASSIS, C. L.; SILVA, R. A.; ANTUNES, V. C.; LESSA, G.; QUINTELA, F. M. 2012. Distribution and conservation of the bamboo rat *Kannabateomys amblyonyx* (Rodentia: Echimyidae) in Minas Gerais state Brazil. *Neotropical Biology Conservation*. 7(1): 21-25.
- STALLINGS, J. S.; KIERULFF, M. C. M.; SILVA, L. F. B. M. 1994. Use of space, and activity patterns of Brazilian bamboo rats (*Kannabateomys amblyonyx*) in exotic habitat. *Journal Tropical Ecology*. 10: 431-438
- STODDART, D. M. 1993. *The encyclopedia of mammals. Facts on file*. MacDonald (eds.). P. 594-735.
- TULLBERG, T. 1899. Ueber das System der Nagethiere, eine phyloenetische studie. *Nova Acta Regiae Societatis Scientiarum Upsalensis*. 18: 1-514.

UPHAM, N. S.; OJALA-BARBOUR, R.; BRITO, M. J.; VELAZCO, P. M.; PATTERSON, B. D. 2013. Transitions between Andean and Amazonian centers of endemism in the radiation of some arboreal rodents. *BMC Evolutionary Biology*. 13: 1-24.

VIEIRA, R. F.; SILVA, A. A.; RAMOS, M. M. 2003. Aplicação de herbicidas em condições de pós-emergência via água de irrigação por aspersão- Revisão. *Planta Daninha*. Viçosa, 21: 495-506.

WATERMAN, J. 2007. Male mating strategies in rodents. In *Rodent Societies: An Ecological and Evolutionary Perspective*. Wolff, J. O., Sherman, P. W. (eds.). The University of Chicago Press. London. P. 27-41.

WEIR, B. J.; ROWLANDS, I. W. 1973. Reproductive strategies of mammals. *Animal Revision Ecological System*. 4: 139-163.

WILDT, D. E. 2005. Lions, Tigers, and Pandas, Oh My. *Journal Andrology*. 26(4): 452-454.

WOODS, C. A.; KILPATRICK, C. W. 2005. Suborder Hystricognathi. *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Wilson, D. E., Reeder, D. M. (eds.). Johns Hopkins University Press, Baltimore. P. 1538–1600.

ZIRKIN, B. R.; EWING, L. L.; KROMANN, N.; COCHRAN, R. C. 1980. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell ultrastructure. *Endocrinology*. 107: 1867-1874.

## CAPITULO I

---

Histomorfometria dos túbulos seminíferos e dinâmica da espermatogênese do roedor silvestre *Kannabateomys amblyonyx* (Wagner, 1845) (Rodentia, Echimyidae).

## 1. INTRODUÇÃO

A ordem Rodentia (Bowdich, 1821) representa aproximadamente 40% de todas as espécies de mamíferos descritos. No Brasil, as 235 espécies, distribuídas em 71 gêneros, correspondem a 36% da mastofauna (Oliveira e Bonvicino, 2006). Dentre as diversas famílias existentes nesta ordem está a Echimyidae, cujos representantes são conhecidos como ratos espinhosos da América do Sul. No Brasil, o gênero *Kannabateomys*, pertencente a esta família, é composto apenas por uma espécie, o *Kannabateomys amblyonyx*, considerada endêmica do bioma Mata Atlântica, com ampla distribuição na região sudeste da América do Sul (Emmons e Feer, 1997; Silva et al., 2012). No Brasil está presente desde o estado do Espírito Santo até o Rio Grande do Sul, ocorrendo próximo a áreas úmidas de bambuzais (Moojen, 1952). Eles podem pesar até 600 gramas, sendo essencialmente herbívoros e arbóreos (Bonvicino et al., 2008). São conhecidos no Brasil como rato-da-taquara devido ao hábito especializado de utilizar taquaras, tanto nativas como introduzidas, para abrigo e nidificação (Silva, 2005).

A espermatogênese, é um processo altamente organizado e complexo, que dura em torno de 40 a 60 dias na maioria dos mamíferos, é dividido em três fases: proliferativa, meiótica e de diferenciação (França e Russell, 1998; França et al., 1998; França e Godinho, 2003). Nos túbulos seminíferos de animais sexualmente maduros, as células espermatogênicas não estão arranjadas ao acaso, mas sim organizadas numa série bem definida de associações celulares ou estádios. Com exceção de algumas espécies de primatas, o arranjo dos estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES) é segmentar em todos os mamíferos investigados e, usualmente, existe somente um estádio por secção transversal de túbulo seminífero (Leblond e Clermont, 1952; Russell et al., 1990). O período de tempo em que um dado estádio volta a se repetir em um mesmo segmento tubular é referido como ciclo do epitélio seminífero. Sua duração é uma constante biológica espécie específica e está sob controle do genótipo da célula germinativa (França et al., 1998). O conhecimento dos estádios que compõem o CES, associados à morfometria testicular, são ferramentas fundamentais no entendimento e na mensuração de parte do processo espermatogênico como um todo (Courot et al., 1970; Costa et al., 2011; Melo et al., 2013).

Apesar de, nos últimos anos, ter havido incremento nas publicações referentes ao processo espermatogênico, o conhecimento sobre a biologia e fisiologia da reprodução de animais silvestres continua ainda muito limitado e necessita ser ampliado. A descrição

desses parâmetros testicular é de grande importância para a elaboração de políticas de conservação que previnam a extinção ou melhore o manejo de espécies, ameaçadas ou não. Este é o primeiro trabalho que avalia o processo espermatogênico do *Kannabateomys amblyonyx*, única espécie do gênero existente no Brasil. Considerando-se a falta de informações básicas sobre a biologia reprodutiva das espécies, este estudo tem como objetivo analisar e descrever histomorfometricamente o compartimento tubular e a dinâmica da espermatogênese do roedor silvestre *Kannabateomys amblyonyx*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Animais

Foram utilizados sete espécimes de *Kannabateomys amblyonyx* sexualmente maduros, capturados em áreas de Mata Atlântica, no município de Cataguases, Minas Gerais (21° 20' S – 42° 45' W), através de esforço ativo, por arma de pressão, sendo as capturas autorizadas previamente pelo IBAMA (Licença 37986-2).

### 2.2. Análises Histológicas

Os espécimes foram pesados e os testículos foram removidos, pesados, fixados em solução de paraformaldeído 4%, tampão fosfato pH 7,4 0,1M por 24 horas e armazenados em álcool 70%. Os fragmentos testiculares foram desidratados em série crescente de etanol e incluídos em glicol-metacrilato (Historesin<sup>®</sup>, Leica). A albugínea de um dos testículos foi dissecada e pesada para o cálculo do peso líquido gonadal (massa do parênquima). Secções transversais semisseriadas de 3 µm de espessura foram obtidas em micrótomo rotativo, respeitando-se intervalo mínimo de 40 µm entre os cortes, a fim de se evitar a análise do mesmo túbulo seminífero. As secções obtidas foram coradas com azul de toluidina/borato de sódio 1%, montadas com Entellan<sup>®</sup>.

As imagens foram obtidas utilizando-se fotomicroscópio Olympus AX-70<sup>®</sup>, disponível no Laboratório de Sistemática Molecular do Departamento de Biologia Animal da UFV, e todas as análises morfométricas foram feitas através do software ImageJ<sup>®</sup>.

### 2.3. Morfometria tubular

A massa do parênquima (Mpar) foi obtida subtraindo-se do peso bruto do testículo (PT) o peso da albugínea (PA). Como a densidade do testículo é em torno de 1 (Johnson

e Neaves et al., 1981; Costa et al., 2011), o peso do testículo foi considerado igual ao seu volume.

As proporções volumétricas entre os compartimentos tubular e intertubular foram determinadas a partir de 5320 pontos por animal, utilizando-se um retículo com 266 interseções (pontos) projetadas sobre imagens capturadas em aumento de 10X. Realizou-se a contagem em 20 campos aleatoriamente distribuídos nos diferentes cortes histológicos do testículo de cada animal. Foram respeitados os pontos coincidentes sobre o túbulo seminífero, especificando-os sobre a túnica própria, epitélio seminífero, e lúmen, e os pontos sobre o espaço intertubular.

Os volumes, tubular (VT), intertubular (VI), do epitélio seminífero (VE), da túnica (VTu) e do lúmen (VLu), foram estimados a partir do conhecimento do percentual ocupado pelos mesmos no testículo e do conhecimento do volume líquido testicular, de acordo com as seguintes fórmulas:  $VT \text{ (mL)} = (\% \text{ tubular}/100) \times Mpar$ ;  $VI \text{ (mL)} = (\% \text{ do intertúbulo}/100) \times Mpar$ ;  $VE \text{ (mL)} = (\% \text{ do epitélio}/100) \times Mpar$ ,  $VTu \text{ (mL)} = ((\% \text{ da túnica}/100) \times Mpar)$ ;  $VLu \text{ (mL)} = (\% \text{ do lúmen}/100) \times Mpar$ .

Baseando-se nos valores de pesos corporais (PC), testiculares (PT) e a partir do conhecimento do volume dos túbulos seminíferos (VT), foram calculados os índices gonadossomático (IGS), tubulossomático (ITS) e epiteliossomático (IES), que se referem ao percentual de massa corporal alocados em gônadas, túbulos seminíferos e epitélio, respectivamente, utilizando as fórmulas:  $IGS = (PT \times 100) / PC$ ;  $ITS = (VT / PC) \times 100$ ;  $IES = (VE / PC) \times 100$ .

O diâmetro tubular médio por animal foi obtido por mensuração, aleatório, de 20 secções transversais de túbulos seminíferos com o contorno mais circular possível sem levar em consideração o estágio do CES. Nessas mesmas secções, foi mensurada a altura do epitélio seminífero, realizando-se duas medidas diametralmente opostas em cada secção transversal, sendo considerada como medida representativa a média das duas.

O comprimento total dos túbulos seminíferos (CTTS) nos testículo foi estimado a partir do conhecimento do volume ocupado pelos túbulos seminíferos no testículo e do diâmetro tubular médio obtido para cada animal, seguindo a fórmula:  $CTTS = VT / \pi R^2$ , onde R é o raio tubular. O valor obtido, expresso em micrômetros, foi convertido para metros multiplicando-se o valor encontrado por  $10 \times 10^6$ .

Para permitir a comparação entre espécies diferentes, o valor em metros foi dividido pelo peso gonadal, obtendo-se deste modo o comprimento dos túbulos seminíferos por grama de testículo (CT/g), a partir da fórmula:  $CT/g = CTTS \text{ (m)} / PT \text{ (g)}$ .

## 2.4 Estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES)

Os estádios do CES foram caracterizados pelo método da Morfologia Tubular (Berndtson, 1977). Este sistema permite a divisão de oito estádios por ciclo em mamíferos, baseados nas alterações da forma e localização do núcleo das diferentes gerações das células germinativas e na ocorrência de figuras de divisão meiótica. A frequência relativa dos estádios do CES foi determinada a partir da caracterização e contagem de 200 secções transversais de túbulos seminíferos para cada animal, escolhidos aleatoriamente.

## 2.5 Contagem de células germinativas e de Sertoli

As populações celulares que compõem o epitélio seminífero, foram estimadas a partir das contagens de 20 secções transversais de túbulos seminíferos no estágio I do ciclo do epitélio seminífero em cada animal, quantificando-se assim as populações de espermatogônias do tipo A (A), espermatócitos primários em preleptóteno (PL), em zigóteno (Z) e em paquíteno (P), além de espermátides arredondas (AR) e células de Sertoli (S). Foram obtidos o diâmetro médio nuclear (DM) das células germinativas e nucleolar das células de Sertoli pela mensuração de 30 núcleos e nucléolos de cada tipo celular citado, respectivamente. Em razão da variação dos tamanhos celulares, todas as contagens obtidas foram corrigidas (NC) de acordo com a espessura do corte e o diâmetro nuclear para as células espermatogênicas, e nucleolar, para células Sertoli, a partir da fórmula de Abercrombie (1946) modificada por Amann (1962):  $NC = \text{contagem obtida} \times \frac{\text{espessura do corte}}{\text{espessura do corte} \times \sqrt{(\text{DM}/2)^2 - (\text{DM}/4)^2}}$ .

O número total de células de Sertoli por testículo (S/t) foi determinado a partir do valor do comprimento de túbulos seminíferos ( $\mu\text{m}$ ), pelo número corrigido de nucléolos de Sertoli (NS) por secção transversal e pela espessura do corte (ES), através da fórmula  $(\text{CTTS } \mu\text{m} \times \text{NS}) / \text{ES}$ . Para o cálculo desse número por grama de testículo (S/gt), dividiu-se o valor obtido pelo peso testicular.

## 2.6 Rendimento intrínseco da espermatogênese

A partir dos valores celulares corrigidos calculou-se o rendimento intrínseco da espermatogênese. Assim foram determinados os seguintes coeficientes: coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais (PL/A), rendimento meiótico (AR/P), rendimento geral da espermatogênese (AR/SGA), a capacidade total de suporte das células de Sertoli  $((A + \text{PL} + P + Z + \text{AR}) / S)$ , e o índice de célula de Sertoli por espermátide arredondada (AR/S).

## 2.7 Cálculo da reserva espermática total

Considerando-se que a perda na espermiogênese é insignificante, determinou-se a reserva espermática testicular (RET) total e por grama de testículo a partir da população celular de espermátides arredondadas no estágio I do CES, baseando-se na fórmula:  $RET = (\text{comprimento dos túbulos seminíferos} / \text{espessura do corte}) \times \text{número corrigido de espermátides arredondadas por secção transversal}$  (Berndtson, 1977).

## 2.8 Análises Estatísticas

Os dados descritivos foram analisados utilizando a função estatística do programa Excel/ Windows7 e estão representados como média e desvio padrão.

## 3. RESULTADOS

Os parâmetros biométricos, corporal e testicular do *K. amblyonyx*, estão dispostos na Tabela 1. A massa corporal (MC) foi de 418,43 g e a massa testicular (MT) de ambos os testículos atingiu 1,72 g, resultando em um IGS de 0,41 %. A massa testicular líquida (MPar), correspondente à massa testicular menos a massa da albugínea, foi de 1,71g.

Tabela 1: Parâmetros biométricos, corporal e testicular, e índice gonadossomático (IGS) de *Kannabateomys amblyonyx*.

Massa Corporal (g)	418,43 ± 24,13
Massa Testicular (g)	1,72 ± 0,72
Massa da albugínea (g)	0,013 ± 0,005
Massa do Parênquima (g)	1,71 ± 0,72
IGS (%)	0,41 ± 0,06

Média±desvio-padrão; n=7.

Os parâmetros volumétricos tubulares de *K. amblyonyx* encontram-se na tabela 2. O compartimento tubular corresponde a 93,57% do parênquima e, dentro deste, 84,24% equivalem ao epitélio, 6,39% ao lúmen e 2,93% à túnica própria. Dessa forma, os valores para volume tubular (VT), epitelial (VE), de túnica própria (VP) e de lúmen (VL) equivalem, respectivamente, a 1,60; 1,44; 0,05 e 0,12 mL. Com base nesses valores foi possível calcular os índices tubulossomático (0,38%) e epiteliossomático (0,34%).

Tabela 2: Densidade volumétrica, índices e volumetria dos elementos tubulares do testículo de *Kannabateomys amblyonyx*.

Túbulo seminífero (%)	93,57 ± 0,70
-----------------------	--------------

Intertúbulo (%)	6,43 ± 0,70
Epitélio (%)	84,24 ± 0,89
Túnica própria (%)	2,93 ± 0,17
Lúmen (%)	6,39 ± 0,61
ITS (%)	0,38 ± 0,06
IES (%)	0,34 ± 0,11
Volume túbulo (ml)	1,60 ± 0,68
Volume epitélio (ml)	1,44 ± 0,59
Volume túnica (ml)	0,05 ± 0,02
Volume lúmen (ml)	0,12 ± 0,07

Média±desvio-padrão; n=7.

Na Tabela 3 estão apresentados os dados morfométricos tubulares de *Kannabateomys amblyonyx*. Os valores de diâmetro tubular (DT) e altura do epitélio (AE) foram de 214,23 µm e 72,68 µm, respectivamente. O comprimento tubular total foi de 43,85 m e o comprimento por grama de testículo, que permite comparações entre espécies diferentes, foi de 26,04 m.

Tabela 3: Diâmetro, altura e comprimentos tubulares de *Kannabateomys amblyonyx*.

Diâmetro Tubular (µm)	214,23 ± 13,66
Altura de Epitélio (µm)	72,68 ± 7,03
Comprimento Tubular Total (m)	43,57 ± 15,71
Comprimento Tubular/g de Testículo (m)	26,04 ± 3,27

Média±desvio-padrão; n=7.

Baseando no método da Morfologia Tubular foram identificados oito estádios no ciclo do epitélio seminífero de *K. amblyonyx*. Os estádios (figuras 1 e 2) estão descritos resumidamente a seguir:

**Estádio 1** - Paralelas à túnica própria encontram-se as espermatogônias do tipo-A e, dispostos entre elas encontram-se os núcleos de células de Sertoli. Os espermatócitos primários em preleptóteno estão distribuídas em uma ou duas camadas, também no ambiente basal. No ambiente adluminal estão os espermatócitos em zigóteno e paquíteno, sendo os paquítenos as maiores células do epitélio germinativo, devido ao seu enorme núcleo, e as espermátides arredondadas, com núcleos claros e cromatina descondensada, dispostas em várias camadas mais próximas ao lúmen (Figura. 1A).

**Estádio 2** - As principais características deste estágio são, o início do processo de remodelação do núcleo e citoplasma das espermatídes, a condensação da cromatina e o alongamento das espermatídes arredondadas. Observa-se também os espermatócitos em zigóteno e paquíteno, além das espermatogônias tipo-A, e células de Sertoli (Figura. 1B).

**Estádio 3** - Neste momento do ciclo do epitélio seminífero, as espermatídes que estavam em processo de remodelação encontram-se completamente alongadas, formando feixes bem definidos inseridos entre os espermatócitos primários em fase de paquíteno. São observados também espermatócitos primários em zigóteno e espermatogônias do tipo A (Figura. 1C).

**Estádio 4** - Muitas figuras de divisão meiótica são encontradas nesse estágio, representadas por placas metafásicas observadas nos espermatócitos primários, além dos espermatócitos primários em diplóteno. As espermatídes alongadas continuam formando feixes e os espermatócitos em zigóteno continuam presentes próximos às espermatogônias do tipo A (Figura. 1D).

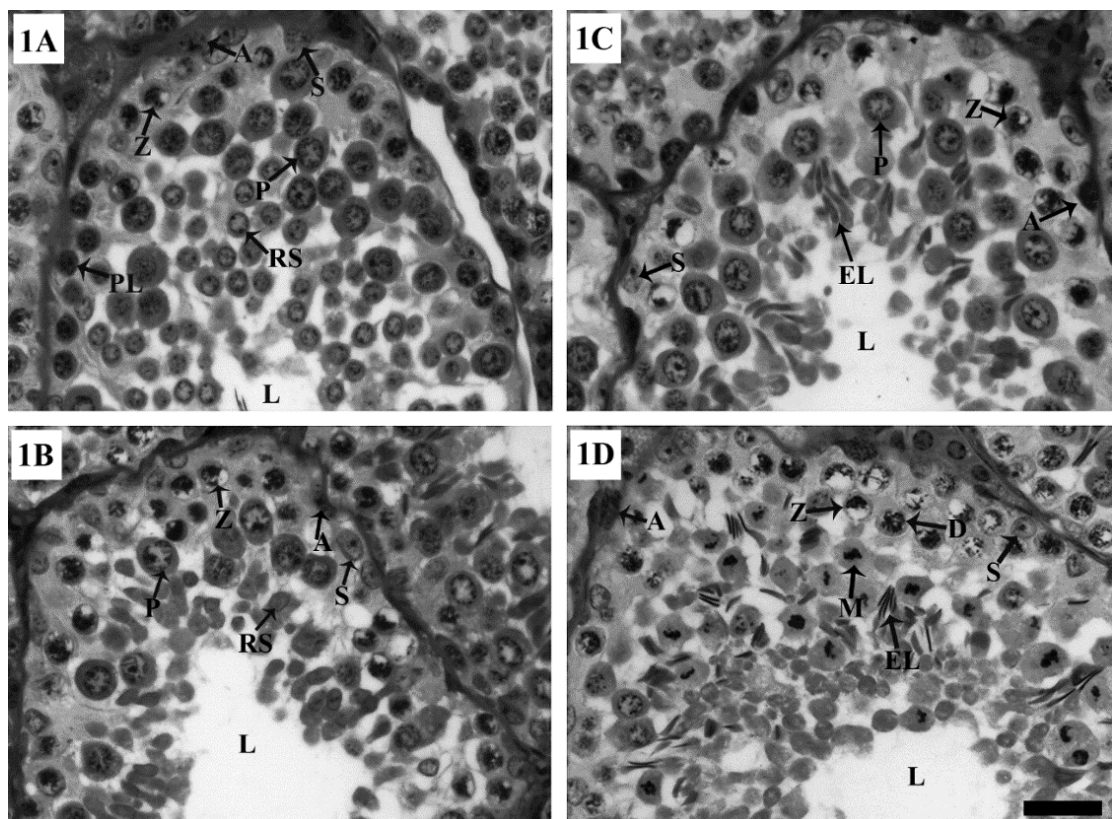


Figura 1: Estádios 1 a 4 do ciclo do epitélio seminífero de *K. amblyonyx*: Espermatogônia tipo-A (A), Sertoli (S), espermatócitos primários em preleptóteno (PL), zigótenos (Z), paquíteno (P) e diplóteno (D), espermatídes arredondadas (AR) e alongadas (AL), figura meiótica (M), e lúmen (L). Azul de toluidina/borato de sódio (1%). Barra 20µm.

**Estádio 5** - Neste estágio, alguns espermatócitos primários encontram-se em fase de

transição de zigóteno para paquíteno, e outros já encontram-se definidos como paquíteno. São observadas duas gerações de espermátides, arredondadas e alongadas, estando os feixes das alongadas localizados na região profunda do epitélio seminífero. Espermatogônias do tipo-intermediária e B foram encontradas na base do epitélio, juntamente com células de Sertoli (Figura. 2A).

**Estádio 6** - As espermátides alongadas estão localizadas um pouco mais próximas ao lúmen tubular perdendo a característica de feixes. Todos os espermatócitos que estavam em transição são vistos como paquíteno. Foram encontradas também espermatogônias intermediárias e tipo-B, além das células de Sertoli (Figura. 2B).

**Estádio 7** - Espermátides alongadas se encontram muito próximos ao lúmen tubular. Foram encontrados espermatócitos I em leptóteno e paquíteno, além de espermatogônias do tipo-A e B, sendo os núcleos das últimas, mais escuros devido à grande quantidade de heterocromatina, nos formatos arredondado ou oval. Espermátides arredondadas e células de Sertoli também foram observadas (Figura. 2C).

**Estádio 8** - As espermátides alongadas estão destacando-se do epitélio seminífero e alcançando o lúmen. Também estão presentes espermatócitos I em preleptóteno e paquíteno, espermátides arredondadas, espermatogônias do tipo-A e células de Sertoli, além da presença de muitos corpos residuais (Figura. 2D).

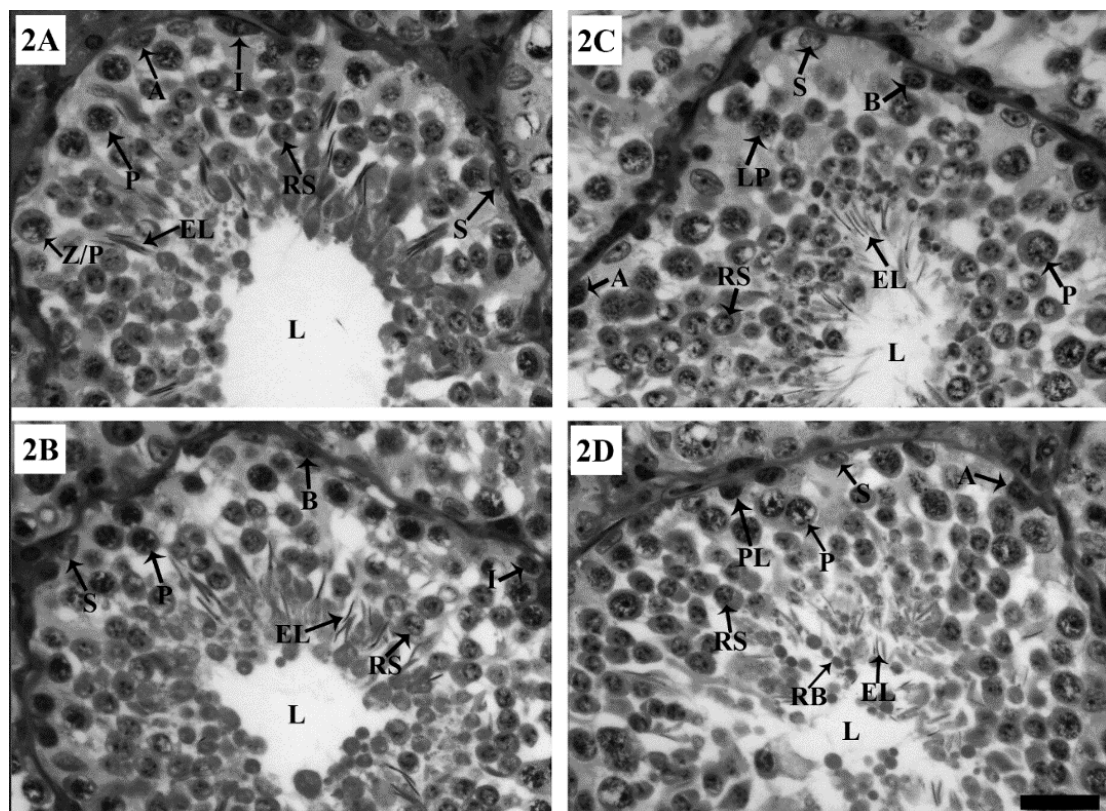


Figura 2: Estádios 5 a 8 do ciclo do epitélio seminífero de *K. amblyonyx*: Espermatogônia tipo-A (A), intermediária (I) e B(B), Sertoli (S), espermatócitos em, preleptóteno (PL), leptóteno (LP), zigótenos (Z), paquíteno (P), e em transição (Z/P), espermátides arredondadas (AR) e alongadas (AL), lúmen (L) e corpos residuais (CR). Azul de toluidina/borato de sódio (1%). Barra 20µm.

Na figura 3 observa-se a frequência dos estádios do CES do *K. amblyonyx*. Os estádios 1, 2 e 3 representam o período pré-meiótico, predominando o estágio 1, que representou em torno de 25% do valor total do ciclo. O estágio 4, que define o período meiótico, representou 5% da frequência, enquanto os estádios pós-meióticos (5, 6, 7 e 8) apresentaram valores semelhantes, variando de 9 a 14%.

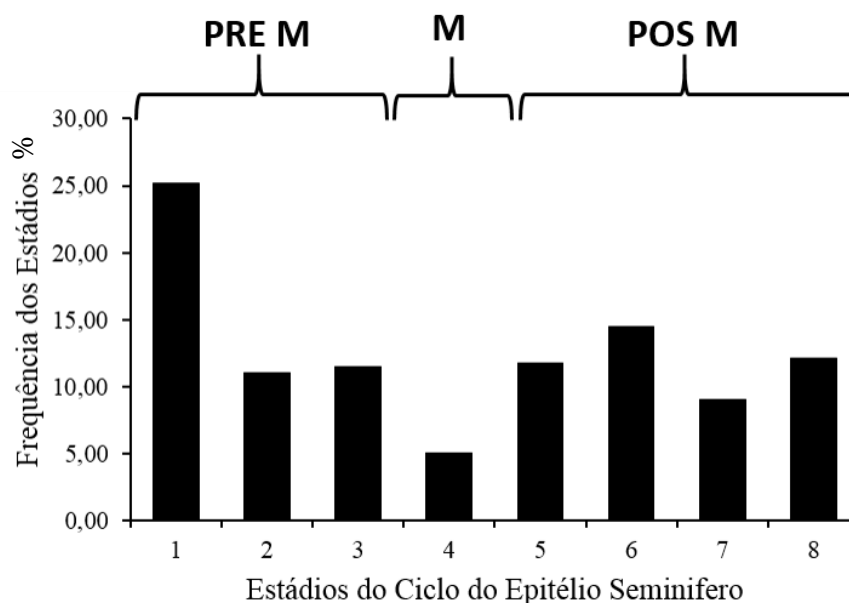


Figura 3: Percentagem média de cada fase do ciclo do epitélio seminífero caracterizado de acordo com sistema de morfologia tubular, e as fases do ciclo. Pre M: fase pré- meiótica; M: fase meiótica; Pos M: fase pós- meiótica.

Os números corrigidos de células do epitélio seminífero no estágio 1 e o rendimento geral da espermatogênese de *K. amblyonyx* estão dispostos na Tabela 4. Foram contabilizadas 0,47 espermatogônias A, 11,78 espermatócitos em preleptóteno, 3,81 em zigótenos e 14,31 em paquíteno, além de 32,19 espermátides arredondadas e 6,23 células de Sertoli. A partir dos valores de diâmetros nucleares das células espermatogênicas e nucleolares da célula de Sertoli foram determinados o coeficiente de eficiência mitótica equivalente a 25,06, que se refere à quantidade de espermatócitos em preleptóteno/leptóteno que cada espermatogônia foi capaz de produzir. O rendimento meiótico, que representa o número de espermátides arredondadas por espermatócitos em paquíteno foi de 2,25. Assim, o rendimento geral da espermatogênese correspondeu a 68,49 espermátides arredondadas a partir de uma espermatogônia do tipo A.

Tabela 4: Número corrigido da população de células germinativas no estágio 1 do CES e rendimento geral da espermatogênese de *Kannabateomys amblyonyx*.

Espermatogônia tipo-A	0,47 ± 0,08
Espermatócitos em preleptóteno	11,78 ± 1,84
Espermatócito em zigóteno	3,81 ± 5,29
Espermatócitos primário em paquíteno	14,31 ± 1,63
Espermátides arredondadas	32,19 ± 5,73
Células de Sertoli	6,23 ± 0,49
Coefficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais	25,06 ± 3,82
Rendimento meiótico	2,25 ± 0,40
Rendimento geral da espermatogênese	68,49 ± 9,36

Média±desvio-padrão; n=7.

Os valores relacionados aos índices das células de Sertoli e à produção espermática estão listados na tabela 5. Cada célula de Sertoli suporta em média 5,17 espermátides arredondadas e 10,03 células espermatogênicas no total. Foram contabilizadas  $44 \times 10^6$  células de Sertoli por testículo e  $53 \times 10^6$  por grama de testículo. A reserva espermática por testículo e por grama de testículo, relacionadas à eficiência do processo espermatogênico do *K. amblyonyx*, atingiram  $235,33 \times 10^6$  e  $274,49 \times 10^6$  espermátides, respectivamente.

Tabela 5: Índices de célula de Sertoli e reserva espermática testicular em *Kannabateomys amblyonyx*.

Índice de célula de Sertoli (espermátides arredondadas/Sertoli)	5,17 ± 0,91
Capacidade suporte total das células de Sertoli	10,04 ± 1,44
Célula de Sertoli por grama de testículo ( $\times 10^6$ )	53,32 ± 4,24

Célula de Sertoli por testículo (x10 <sup>6</sup> )	44,98 ± 1,62
Reserva espermática por testículo (x10 <sup>6</sup> )	235,33 ± 30,51
Reserva espermática por grama de testículo (x10 <sup>6</sup> )	274,49 ± 43,94

Média±desvio-padrão; n=7.

#### 4. DISCUSSÃO

Os índices somáticos representam a proporção de massa corporal que é alocada em determinado compartimento e, adicionalmente, índices como o IGS podem fornecer informações sobre a fisiologia reprodutiva e até mesmo sobre o sistema de acasalamento de uma espécie. Animais de pequeno porte geralmente alocam maior proporção do peso corporal nos testículos, em comparação com animais de grande porte (Kenagy e Trombulak, 1986). Dessa forma, espécies de roedores de grande porte como a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), a paca (*Cuniculus paca*) e a cutia (*Dasyprocta leporina*) possuem o IGS de 0,12, 0,22 e 0,33%, respectivamente (Carretta-Júnior, 2012), sendo esses valores inferiores quando comparados com espécies consideradas de pequeno porte como, por exemplo, o *Akodon cursor* cujo IGS é de 1,07%, *Akodon montensis*, 1,1% e *Necomys lasiurus* 0,80% (Cordeiro Júnior, 2009). Assim, o IGS encontrado para o *Kannabateomys amblyonyx* (0,41%) se justifica, uma vez que este é considerado um roedor de grande porte, estando entre as espécies que apresentam maior peso corporal da família Echimyidae (Oliveira e Bonvicino, 2006). A exceção é o *Trinomys moojeni*, cujo índice é de 0,93% (Cordeiro et al., 2010), sendo mais alto que o encontrado no presente estudo, o que pode ser explicado em parte pelo seu menor porte.

Os túbulos seminíferos ocupam usualmente mais que dois terços do parênquima testicular (Russell e França, 1995). Desse modo, o valor encontrado de 93,57% para *K. amblyonyx* está dentro do intervalo geral estabelecido para mamíferos, além de se assemelhar o valor descrito para outra espécie da mesma família, o *T. moojeni* com 97,60% de túbulo seminífero (Cordeiro Júnior et al., 2010), sendo este o maior valor de densidade volumétrica descrita até o momento para um roedor silvestre. Assim o valor do ITS está diretamente relacionado ao sucesso reprodutivo das espécies (França e Russell, 1998). O *K. amblyonyx* alocou 0,38% do seu peso corporal em túbulos seminíferos, sendo este valor inferior ao descrito para pequenos roedores silvestres, como o *O. nigripes* (0,58%; Balarini, 2013), o *A. cursor* (0,66%; Balarini, 2013), e o *O. nasutus* (0,82%; Morais, 2014). Outros roedores de grande porte, como a *C. paca*; 0,24% e *D.*

*leporina*; 0,23% (Carretta Júnior, 2012) também possuem ITS inferior aos dos pequenos roedores, com exceção da *H. hydrochaeris*, (0,06%; Carretta Júnior, 2012), que apresenta o parênquima testicular composto apenas por 52,09% de túbulos seminíferos (Paula et al., 2002).

Foi visto que animais monogâmicos apresentam menores valores de IGS e ITS em relação às espécies com comportamentos promíscuos. A explicação para isso é que espécies monogâmicas formam casais ou haréns, onde um único macho é responsável pela cópula, levando à menor necessidade de investimento testicular. Ao contrário, nas espécies promíscuas vários machos têm acesso à mesma fêmea, o que gera competição por reprodução, sendo mais aptos aqueles machos com produção espermática mais destacada (Kenagy e Trombulak, 1986). Assim, sugere-se que o *K. amblyonyx*, seja uma espécie monogâmica. Concordante com nossos achados, sabe-se que roedores da subordem Hystrichomorpha, à qual pertence a espécie em estudo, são todos monogâmicos, possuem expectativa de vida relativamente alta em relação à maioria dos roedores e produzem poucas ninhadas por ano, sendo geralmente uma ou duas (Eisenberg, 1981; Eddy e O'Brien, 1994).

Os valores do diâmetro tubular (DT) podem variar de acordo com o número de células mioides, com o tamanho da população das células germinativas, das células de Sertoli e também com o tamanho do lúmen. Os valores encontrados para a maioria dos amniotas situam-se entre 160 a 350µm, exceto para algumas espécies de marsupiais, onde este parâmetro pode chegar a 550 µm (Roosen-Runge, 1977; Setchell et al., 1994). Assim, o DT de *K. amblyonyx* (214,23 µm) situa-se na faixa intermediária dessa amplitude, assim como o equímideo *T. moojeni*, (172,0µm; Cordeiro Júnior et al., 2010) e alguns cricetídeos como *A. cursor*, 203,83µm e *O. nigripes*, 205,8 (Balarini, 2013), *H. megacephalus*, 206,50µm (Melo et al., 2013) e também os grandes roedores como *C. paca* e *D. leporina*, com 202 e 174µm (Carretta-Júnior, 2012), respectivamente.

A mensuração da altura do epitélio seminífero é utilizada para avaliação da produção espermática, uma vez que acompanha diretamente as variações do ciclo do epitélio seminífero (Wing e Christensen, 1982). O epitélio seminífero do *K. amblyonyx* (72,68 µm) está dentro dos valores já descritos para a maioria das espécies, 60 a 100µm (França e Russell, 1998; Hess e França, 2007; Caldeira et al., 2010; Costa et al., 2010; Costa et al., 2011), assim como o *T. moojeni* (67,0 µm; Cordeiro Júnior et al., 2010).

O *K. amblyonyx* possui 43,57m de comprimento total de túbulos seminíferos por testículo. Entretanto, a quantificação métrica do túbulo seminífero por grama de testículo é o parâmetro que permite a comparação entre animais de diferentes portes, sendo,

portanto, mais utilizada. A maioria dos mamíferos já estudados apresenta de 10 a 20 metros de túbulos seminíferos por grama de testículo (Amann, 1970; França e Russell, 1998; Leal e França, 2008), faixa que englobou o valor achado para a espécie *K. amblyonyx* (26,04m).

Os oito diferentes estádios do CES de *K. amblyonyx*, que são representados por variação nas organizações celulares nos epitélios germinativos, ocorreram de forma segmentar, apresentando apenas 1 estágio por secção transversal de túbulo seminífero, sendo este resultado semelhante com a maioria dos mamíferos descritos (Leblond e Clermont, 1952; França e Russell, 1998; Paula, 1999; Almeida et al., 2006; Guião-Leite et al., 2006; Bittencourt et al., 2004; Vasconcelos, 2011; Carretta-Júnior, 2012).

A predominância do estágio I nos túbulos do *K. amblyonyx* foi semelhante ao descrito para alguns mamíferos como *O. rufus* (Morais, 2014), *D. leporina* e *C. paca* (Carretta-Júnior, 2012) e também em outros animais silvestres, como a jaguatirica (*L. pardalis*; Castro, 2012) e o morcego (*Sturnira lilium*; Morais, 2014). A menor predominância do estágio IV, como ocorreu em *K. amblyonyx*, também foi observada em algumas espécies, lobo (*Chrysocyon brachyurus*; Bitencourt et al., 2007), rinocerontes (*Ceratotherium simum* e *Diceros bicornis*; Portas et al., 2012), e coala (*Phascolarctos cinereus*; Oishi et al., 2013).

Estabelecendo-se as razões entre as espermatogônias A e os outros tipos celulares é possível estimar a eficiência do processo espermatogênico (Johnson et al., 2000; França et al., 2005). A fim de se estabelecer quantos espermatócitos primários em preleptóteno cada espermatogônia A é capaz de produzir, calcula-se o índice mitótico. Esse índice é utilizado para quantificar as perdas celulares que ocorrem na fase proliferativa (França e Russell, 1998). Grande parte das espécies estudadas possuem seis gerações de espermatogônias, gerando cada uma 64 espermatócitos primários (Clermont, 1972; França e Russell, 1998). O coeficiente de eficiência de mitose do *K. amblyonyx* foi de 25,65 células, correspondendo a 40% do total esperado e mostrando, portanto, perda de 60%. Ainda assim este número é considerado baixo, pois valores superiores foram observados em outros roedores de grande porte, como *H. hydrochaeris*, *C. paca*, *D. leporina*, 84,29%, 86,73%, e 87,52%, respectivamente, (Carretta-Júnior, 2012), e mesmo em pequenos animais como *O. nasutus* e *O. rufus*, 90% (Morais, 2014). Essa perda se encontra dentro do intervalo observado para a maioria dos animais que é de 60 a 90% (Roosen-Runge, 1977; França e Russell, 1998)

O índice meiótico médio dos animais até agora estudados está entre 1,90 e 3,20 espermátides arredondadas originadas a partir de cada espermatócito em paquíteno

(França e Russell, 1998; Guião-Leite e Paula, 2003; Bittencourt et al., 2004; Barros et al., 2007; Costa et al., 2007; Costa et al., 2010; Costa et al., 2011), estando os valores do *K. amblyonyx* (2,25) dentro desse intervalo. Caso não houvesse perdas celulares, cada paquíteno resultaria em 4 espermátides arredondadas, mas devido a ocorrência de apoptoses, essenciais para a manutenção da quantidade apropriada de células espermatogênicas e eliminação das células defeituosas, as perdas celulares são sempre esperadas (Chatuverdi e Johnson, 1993; Eaker et al., 2001). As perdas celulares nessa fase variam de 5% a 30% (França e Russell, 1998), sendo os valores para o *K. amblyonyx* (43,75%) superiores a esse intervalo, à semelhança de *H. hydrochaeris* 47%, e *C. paca*, 38% (Carretta-Júnior, 2012).

Considerando-se que as perdas durante a espermiogênese são insignificantes (Russell e Peterson, 1984), o rendimento geral da espermatogênese é estabelecido pela quantidade de espermátides arredondadas que se originam a partir de uma espermatogônia A. O rendimento do *K. amblyonyx* (68,49) está dentro dos valores já descritos para a maioria dos mamíferos domésticos (26,2 a 74,2 - França e Russell, 1998) sendo maior do que observado nos cricetídeos *O. nasutus*/19,71 e *O. rufus*/11,98 (Morais, 2014), *O. nigripes*/36,54 e *A. cursor*/31,38 (Balarini, 2013) e em roedores de grande porte como a *C. paca*/19,80, *H. hydrochaeris*/21,12 e *D. leporina*/22,68 (Carretta-Júnior, 2012). O número reduzido de espermatogônias A encontradas nos túbulos do *K. amblyonyx*, associado a reduzidas perdas no período mitótico, contribuíram para elevar os valores do rendimento espermatogênico.

As células de Sertoli são responsáveis por suportar e nutrir as células germinativas, sendo essa relação fundamental para que a espermatogênese ocorra de forma normal e coerente (Griswold, 1995). Essas células não são mais capazes de se dividir em fase pós-púbere possuindo, portanto, capacidade suporte de um número definido de células germinativas, sendo essa capacidade um indicativo da eficiência dessas células (França e Russell, 1998). Assim, as células de Sertoli são utilizadas como parâmetro para avaliar o processo espermatogênico específico de cada espécie (Russell e Peterson, 1984). A capacidade suporte de cada célula de Sertoli em *K. amblyonyx* (10,04) está próximo aos valores relatados para *H. hydrochaeris*/11,25 (Carretta-Júnior, 2012), *Mazama gouazoubira*/13,2 (Costa et al., 2011) e para o cricetídeo *O. rufus*/8,21 (Morais, 2014) sendo inferior à capacidade de suporte encontrada em *O. nasutus*/16,42 (Morais, 2014), *A. cursor*/26,67 e *O. nigripes*/27,28 (Balarini, 2013). Ao se avaliar a eficiência da célula de Sertoli em relação às espermátides arredondadas, observou-se que os valores do *K. amblyonyx* (5,17) foi muito inferior ao descrito para o *T. moojeni* (14,7 – Cordeiro

Júnior, 2009), espécie também pertencente à família Echimyidae. Na intenção de confrontar valores de componentes testiculares entre espécies diferentes, é mais apropriado a utilização desses parâmetros por grama de testículo. Assim o número de célula de Sertoli por grama de testículo do *K. amblyonyx* ( $53,32 \times 10^6$ ) foi similar ao *T. moojeni* ( $53,00 \times 10^6$  - Cordeiro Júnior, 2009), sendo superior ao encontrado em muitos mamíferos, que possuem em média  $25 \times 10^6$  células (França e Russel, 1998; Costa et al., 2011) e aos cricetídeos *O. nigripes* e *A. cursor* ( $35 \times 10^6$  e  $48 \times 10^6$  – Balarini, 2013).

A partir da mensuração da reserva espermática total (RET) é possível estimar o número potencial de espermatozoides produzidos por testículo e por grama de testículo em determinada espécie a cada ciclo do epitélio seminífero (Berndtson, 1977). A RET do *K. amblyonyx* por grama de testículo ( $274,49 \times 10^6$ ) foi inferior aos valores descritos para *O. nigripes*/ $584 \times 10^6$  e *A. cursor*/ $608 \times 10^6$  (Balarini, 2013), *O. nasutus*/ $849,64 \times 10^6$  e *O. rufus*/ $962 \times 10^6$  (Morais, 2014), e *D. leporina*/ $674 \times 10^6$  (Carretta-Júnior, 2012), e superior ao encontrado na maioria dos mamíferos domésticos ( $120 \times 10^6$  –  $206 \times 10^6$ ; França e Russell, 1998), no morcego *M. molossus* ( $5,66 \times 10^6$ ; Morais et al., 2013) e na capivara *H. hydrochaeris*/ $105 \times 10^6$  (Carretta-Júnior, 2012).

## 5. CONCLUSÃO

O *Kannabateomys amblyonyx* apresentou baixo valor para IGS, IES e ITS e pequena capacidade suporte de célula de Sertoli em relação às espermátides arredondadas, mostrando também baixa reserva espermática total. Assim, é possível inferir que eles possuem um sistema de acasalamento do tipo monogâmico, uma vez que possuem menor necessidade de investimento em produção espermática, já que formam casais ou haréns.

## 6. REFERÊNCIAS

ABERCROMBIE, M. 1946. Estimation of nuclear populations from microtome sections. *Anatomical Records*. 94: 239-247.

ALMEIDA, F. F. L.; LEAL, M. C.; FRANÇA, L. R. 2006. Testis morphometry, duration of spermatogenesis and spermatogenic efficiency in the wild boar (*Sus scrofa*). *Biology Reproduction*. 75: 792-799.

AMANN, R. P. 1962. Reproductive capacity of dairy bulls. IV. Spermatogenesis and testicular germ cell degeneration. *American Journal of Anatomy*. 110: 69-78.

AMANN, R. P. 1970. Sperm production rates. In The testis. Johnson, A. D; Gomes, W. R; Vandermark, N. L. (eds.). Academic Press. New York. P.433-482.

BALARINI, M. K. 2013. Avaliação morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico dos roedores silvestres *Akodon cursor* (Winge, 1887) e *Oligoryzomys nigripes* (Olfers, 1818) (Rodentia: Cricetidae). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 81 p.

BARROS, J. B. G.; PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P.; FONSECA, C. C.; GUIÃO-LEITE, F. L.; ROSSI, J. L.; OLIVEIRA, P. C.; COSTA, E. P. 2007. Sertoli cell index and spermatid reserves in adult captive African lions (*Panthera leo*, Linnaeus, 1758). *Animal Reproduction Science*. 102: 350-356.

BERNDTSON, W. E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. *International Journal of Andrology*, 13 (4): 315-326.

BITTENCOURT, V. L.; PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P.; FONSECA, C. C.; NEVES, M. T. D.; COSTA, M. E. L.; MALTA, M. C. C.; COELHO, C. M.; BASTOS, J. A. B. 2004. Evaluation of the cell population of the seminiferous epithelium and s index indicative of sperm production through testicular biopsy in manded wolf (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811) adult. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 28 (2): 108-113.

BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. R. 2008. Guia de Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro, Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS. 94p.

CALDEIRA, B. C.; PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P.; BALARINI, M. K.; CAMPOS, P. K. A. 2010. Morphometry of testis and seminiferous tubules of the adult crab-eating fox (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766). *Revista Ceres*. 57: 569-575.

CARRETTA-JÚNIOR, M. 2012. Estuda comparativo do processo espermatogênico e duração do ciclo do epitélio seminífero através da técnica de imunohistoquímica com bromodeoxiuridina de três diferentes espécies de roedores da subordem hystricomorfa: Cutia (*Dasyprocta leporina*), Paca (*Cuniculus paca*) e Capivara (*Hydrochoerus*

*hydrochaeris*). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 146p.

CASTRO, M. M. 2012. Duração do ciclo do epitélio seminífero e produção espermática de *Leopardus pardalis* (Linnaeus, 1758). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 51 p.

CHATURVEDI, P. K.; JOHNSON, L. 1993. Architectural arrangement of stages of the spermatogenic cycle within human seminiferous tubules is related to efficiency of spermatogenesis. *Cell and Tissue Research*. 273: 65-70.

CLERMONT, Y. 1972. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiological Reviews*. 52: 198-236.

CORDEIRO JÚNIOR, D. A. 2009. Estrutura e função testiculares em roedores silvestres das famílias Echimyidae (*Trinomys moojeni*) e Cricetidae (*Akodon cursor*, *Akodon montensis*, *Necomys lasiurus* e *Oligoryzomys nigripes*), da Reserva Particular do Patrimônio Natural do Caraça - MG. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. 109 p.

CORDEIRO JÚNIOR, D. A.; COSTA, G. M. J.; TALAMONI, A. S.; FRANÇA, L. R. 2010. Spermatogenic efficiency in the spiny rat, *Trinomys moojeni* (Rodentia: Echimyidae). *Animal Reproduction Science*. 119: 97-105.

COSTA, G. M.; LEAL, M. C.; FERREIRA, A. C.; GUIMARÃES, D. A.; FRANÇA, L. R. 2010. Duration of spermatogenesis and spermatogenic efficiency in two large neotropical rodent species: the agouti (*Dasyprocta leporina*) and paca (*Agouti paca*). *Journal of Andrology*. 31: 489-499.

COSTA, K. L. C.; MATTA, S. L. P.; GOMES, M. L. M.; PAULA, T. A. R.; FREITAS, K. M.; CARVALHO, F. A. R.; SILVEIRA, J. A.; DOLDER, H.; MENDIS-HANDAGAMA, S. L. M. C. 2011. Histomorphometric evaluation of the neotropical brown brocket deer *Mazama gouazoubira* testis, with an emphasis on cell population indexes of spermatogenic yield. *Animal Reproduction Science*. 127: 202-212.

- COSTA, D. S.; MACEDO, D. B.; SANTOS, M. D.; PAULA, T. A. R.; FARIA, F. J. C. 2011. Intrinsic rate of spermatogenesis in free-ranging feral pigs (*Sus scrofa* sp). *Animal Reproduction Science*. 125: 165-169.
- COSTA, D. S.; MENEZES, C. M. C.; PAULA, T. A. R. 2007. Spermatogenesis in white-lipped peccaries (*Tayassu peccary*). *Animal Reproduction Science*. 98: 322-334
- COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M. T.; ORTAVANT, R. 1970. Spermatogenesis. In *The Testis*. Johnson A.D, Gomer W.R, Vandemark N.L. (eds.). Academic Press, New York. P. 399-432.
- EAKER, S.; PYLE, A.; COBB, J.; HANDEL, M. A. 2001. Evidence for meiotic spindle checkpoint from analysis of spermatocytes from Robertsonian-chromosome heterozygous mice. *Journal of Cell Science*. 114: 2953-2965.
- EDDY, E. M.; O'BRIEN, D. A. 1994. The spermatozoon. In *The physiology of reproduction*. Knobil, E, Neill, J.D. (eds.). Raven, New York. P. 29-77.
- EISENBERG, J. F. 1981. *The mammalian radiations: An analysis of trends in evolution, adaptation, and behavior*. University of Chicago Press, Chicago. 610p.
- EMMONS, L. H.; FEER, F. 1997. *Neotropical rainforest mammals: a field guide*. 2nd. Ed. The University of Chicago Press, Chicago. 245p.
- EMMONS, L. H. 2005. A revision of the general of arboreal Echimyidae (Rodentia: Echimyidae, Echimyinae) with the description of two new genera. *Mammalian Diversification: From Chromosomes to Phylogeography*. Lancey, E. A, Myers, P. University of California Press, Berkeley. P. 247–309.
- FRANÇA, L. R.; AVELAR, G. F.; ALMEIDA, F. F. L. 2005. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology*. 63: 300-318.

FRANÇA, L. R.; GODINHO, C. L. 2003. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length, and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*). *Biology Reproduction* 68:1554-1561.

FRANÇA, L. R.; OGAWA, T.; AVARBOCK, M. R.; BRINSTER, R. L.; RUSSELL, L. D. 1998. Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. *Biology Reproduction*. 59: 1371-1377.

FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L. D. 1998. The testis of domestic animals. In A multidisciplinary overview. Martínez, F., Regadera, J., (eds.). Churchill Livingstone, Madrid, Spain. P. 197-219.

GUIÃO-LEITE, F. L.; PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P.; FONSECA, C. C.; NEVES, M. T. D.; BARROS, J. B. G. 2006. Cycle and duration of the seminiferous epithelium in puma (*Puma concolor*). *Animal Reproduction Science*, 90: 307–316.

GRISWOLD, M. D. 1995. Interaction between germ cells and Sertoli cells in the testis. *Biology Reproduction*. 52: 211–216.

HESS, R. A.; FRANÇA, L. R. 2007. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. In *Molecular mechanisms in spermatogenesis*. Cheng, C.Y. (eds.). Landes Bioscience. New York. P. 1-15.

JOHNSON, L.; PETTY, C. S.; NEAVES, W. B. 1981. A new approach to qualification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermatogenesis. *Biology Reproduction*. 25: 217-226

JOHNSON, L.; VARNER, D. D.; ROBERTS, M. E.; SMITH, T. L.; KEILLOR, G. E.; SCRUTCHFIELD, W. L. 2000. Efficiency of spermatogenesis a comparative approach. *Animal Reproduction Science*. 60(61): 471-480.

KENAGY, G. J.; TROMBULAK, S. C. 1986. Size and function of mammalian testis in relation to body size. *Journal of Mammalogy*. 67: 1-22.

LEAL, M. C.; FRANÇA, L. R. 2008. Postnatal Sertoli and Leydig cell proliferation and the establishment of puberty and sexual maturity in *Chinchilla lanigera* (Rodentia, Chinchillidae). *Reproduction Fertility and Development*. 20: 665–673.

LEBLOND, C. P.; CLERMONT, Y. 1952. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Annals New York Academy Science*. 55:548-584.

MELO, F. C. S. A.; SOUSA, T. P.; COSTA, K. L. C.; MATTA, S. L. P.; MELO, F. R.; SANTA-RITA, R. M. 2013. Descriptive morphometry and stereology of the tubular compartment in the wild rodent *Hylaeamys megacephalus* (Rodentia: Cricetidae) from Central Brazil. *Animal Reproduction Science*. 138: 110-117.

MOOJEN, J. 1952. Os Roedores do Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Educação e Saúde, Instituto Nacional do Livro, Biblioteca Científica Brasileira. 214 p.

MORAIS, D. B.; PAULA, T. A. R.; BARROS, M. S.; BALARINI, M. K.; FREITAS, M. B. D.; MATTA, S. L. P. 2013. Stages and duration of the seminiferous epithelium cycle in the bat *Sturnira lilium*. *Journal of Anatomy*. 222: 372-379.

MORAIS, A. C. T. 2014. Histomorfometria testicular nos roedores silvestres *Oxymycterus rufus* e *Oxymycterus nasutus* (Rodentia: Cricetidae). Tese de doutorado, Universidade federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 88p.

OISHI, M.; TAKAHASHI, M.; AMASAKI, H.; JANSSEN, T.; JOHNSTON, S.D. 2013. The seminiferous epithelial cycle and microanatomy of the koala (*Phascolarctos cinereus*) and southern hairy-nosed wombat (*Lasiiorhinus latifrons*) testis. *Journal of Anatomy*. 222: 380-389.

OLIVEIRA, J. A.; BONVICINO, C. R. 2006. Ordem Rodentia. In Mamíferos do Brasil. Reis N.R, Peracchi A.L, Pedro W.A, Lima I.P. (eds.). Londrina, Paraná. P. 347-400.

PAULA, T. A. R. 1999. Avaliação histológica e funcional do testículo de capivaras adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. 84 p.

- PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P.; COSTA, D. S. 2002. Avaliação histológica e quantitativa do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. *Bioscience Journal*. 18 (1): 121-136.
- PORTAS, T.; EVANS, G.; GRAAF, S. 2012. The seminiferous cycle of the rhinoceros. *Animal Reproduction Science*. 136: 128-132.
- ROOSEN-RUNGE, E. C. 1977. The process of spermatogenesis in animals. Academic Press, Cambridge, London. 213p.
- RUSSELL, L. D.; ETTLIN, R. A.; SINHA-HIKIM, A. P.; CLEGG, E. D. 1990. Mammalian spermatogenesis. In *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*. Russell, L. D., Ettlín, R. A., Sinha-Hikim, A. P., Clegg, E. D. (eds.). Cache River Press, Bolesta. P. 1-40.
- RUSSELL, L. D.; FRANÇA, L. R. 1995. Building a testis. *Tissue Cell*. 27: 129-147.
- RUSSELL, L. D.; PETERSON, R. N. 1984. Determination of the elongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals. *Journal Reproduction Fertility*. 70, 635-641.
- SETCHELL, B. P.; MADDOCKS, S.; BROOK, D. E. 1994. Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract. 2nd in *The Physiology of Reproduction* (E Knobil, JD Neill, eds.). Raven Press, New York.
- SILVA, R. B. 2005. Ecologia do rato-da-taquara (*Kannabateomys amblyonyx*) no Parque Estadual de Itapuã. Dissertação de Mestrado. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. 60p.
- SILVA, F. A.; ASSIS, C. L.; SILVA, R. A.; ANTUNES, V. C.; LESSA, G.; QUINTELA, F. M. 2012. Distribution and conservation of the bamboo rat *Kannabateomys amblyonyx* (Rodentia: Echimyidae) in Minas Gerais state Brazil. *Neotropical Biology and Conservation*, 7(1): 21-25.

VASCONCELOS, G. S. C. 2011. Ciclo do epitélio seminífero de quati (*Nasua nasua*, Linnaeus, 1766). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 59p.

WAGNER, J. A. 1845. Diagnosen einiger neuen. Arten von Nagem und Handfluglem. Archiv fur Naturgeschichte, Berlin. 146-147

WING, T. Y.; CHRISTENSEN, A. K. 1982. Morphometric studies on rat seminiferous tubules. American Journal of Anatomy. 165: 13-25.

## CAPITULO II

---

Histomorfometria do compartimento intertubular do roedor silvestre *Kannabateomys amblyonyx* (Wagner, 1845) (Rodentia, Echimyidae).

## 1. INTRODUÇÃO

Os roedores, constituem a maior ordem da classe mammalia, apresentando cerca de 2021 espécies catalogadas no mundo (Lage e Schmidt, 2006). Eles exercem importante influência na dinâmica das florestas neotropicais, contribuindo diretamente para a recuperação e manutenção da diversidade genética das populações (Leite et al., 1994). Em relação ao seu sistema de reprodução, podem ser promíscuos, poliândricos, monogâmicos e poligínicos (Hutchins et al., 2004).

O roedor silvestre *Kannabateomys amblyonyx*, a única espécie representante do gênero, possui ampla distribuição geográfica, estendendo-se desde o sudeste do Brasil, até o sudeste do Paraguai e nordeste da Argentina. Vivem em pequenos grupos familiares e defendem seu território através da vocalização (Emmons e Feer, 1997; Silva et al., 2008; Sarti et al., 2012).

Estudos que avaliam e descrevem órgãos ou células envolvidas na espermatogênese dos mamíferos silvestres são importantes ferramentas nas análises das condições reprodutivas de uma dada espécie em seu habitat, uma vez que esses parâmetros podem sofrer influências de fatores ambientais, além de contribuírem para conservação dos espécimes (Paula et al., 2002).

Os testículos dos mamíferos são divididos morfofuncionalmente em dois compartimentos: o tubular e o intertubular (Russell et al., 1990). A região intertubular é composta por células de Leydig, vasos sanguíneos, espaços linfáticos, células e fibras do tecido conjuntivo (Russell, 1996). As células de Leydig são as principais produtoras de testosterona do organismo sendo esse hormônio responsável por estimular a espermatogênese, além de promover a diferenciação do trato genital masculino, iniciar e manter os caracteres sexuais secundários assim como a função das glândulas acessórias (O'Donnell et al., 2001).

Segundo Fawcett (1973), existem três padrões distintos, possivelmente relacionados à habilidade dos vasos linfáticos em promover a circulação dos fluidos testiculares e em manter as concentrações de andrógenos nos testículos e vasos sanguíneos. Dentre as diferentes espécies de mamíferos observa-se grande variação no percentual volumétrico e no arranjo entre os componentes do compartimento intertubular. No padrão I estão as espécies com poucas células de Leydig, escasso conjuntivo, sendo o intertúbulo ocupado em sua maior parte por capilares sinusoides e vasos linfáticos. No padrão II, as células se organizam em grupos, com abundante conjuntivo e um vaso linfático central. Finalmente, no padrão III, os vários agrupamentos de Leydig ocupam a maior parte do intertúbulo, com pouco tecido conjuntivo e vasos linfáticos.

A quantidade de células de Leydig por animal depende de fatores como, a quantidade do hormônio luteinizante (LH) disponível e do número de receptores de LH por célula, a quantidade de testosterona que a célula é capaz de secretar, a velocidade com que o hormônio deixa os testículos via vasos linfáticos, vasos sanguíneos e fluido tubular, o volume sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (Russell, 1996).

Tendo em conta a necessidade e importância de se conhecer os processos reprodutivos de roedores silvestres e, principalmente, sobre a quantificação dos componentes do interstício testicular, objetivou-se com este estudo caracterizar o compartimento intertubular em *Kannabateomys amblyonyx*, através da avaliação dos elementos deste compartimento por meio de análises histomorfométricas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Animais

Os representantes da espécie *Kannabateomys amblyonyx* (n=7) foram capturados em áreas de Mata Atlântica, no município de Cataguases, Minas Gerais (21° 20' S – 42° 45' W), através de esforço ativo de captura, por arma de pressão, sendo as capturas autorizadas previamente pelo IBAMA (Licença 37986-2).

### 2.2. Análises Histológicas

Os testículos dos animais foram retirados, pesados, e fixados em solução de paraformaldeído 4%, por 24 horas e armazenados em tampão fosfato pH 7,4 0,1M. Os fragmentos dos testículos destinados ao estudo em microscopia de luz foram transferidos para etanol 70% e posteriormente processados rotineiramente pela inclusão em glicol-metacrilato (Historesin<sup>®</sup>, Leica). Secções transversais semisseriadas de 3 µm de espessura foram realizadas em micrótomo rotativo, utilizando-se navalhas de vidro e respeitando-se intervalo mínimo de 40 µm entre os cortes, a fim de se evitar a análise da mesma porção do testículo. As preparações foram coradas com azul de toluidina/borato de sódio 1%, montadas com Entellan<sup>®</sup> e posteriormente analisadas. Todos os materiais e equipamento utilizados nestes processos foram disponibilizados pelo Laboratório de Biologia Estrutural, do Departamento de Biologia Geral, na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG, Brasil.

As imagens foram obtidas utilizando-se fotomicroscópio Olympus AX-70<sup>®</sup>, disponível no Laboratório de Sistemática Molecular do Departamento de Biologia Animal da UFV, e todas as análises morfométricas das imagens foram feitas através do software Image J<sup>®</sup>.

## 2.3. Morfometria intertubular

### 2.3.1. Proporção volumétrica (%) e volume dos componentes intertubulares

Para a obtenção das proporções volumétricas (%) dos componentes intertubulares foram contados 1.000 pontos projetados sobre as imagens capturadas na região do intertúbulo, com aumento de 400x, nos diferentes cortes histológicos do testículo de cada animal. Foram computados os pontos coincidentes sobre núcleo e citoplasma de células de Leydig, tecido conjuntivo, macrófagos, mastócitos, vaso sanguíneo e vaso linfático.

Para se calcular o percentual de cada elemento no intertúbulo, foi utilizada a fórmula: n° de pontos sobre o elemento x 100/1000. Para calcular o percentual do elemento nos testículos, multiplicou-se o % intertúbulo pelo % elemento dividindo o resultado por 100. A volumetria intertubular do elementos por grama de testículo, expresso em ml, foi estimado através da fórmula: (% elementos nos testículos x peso do parênquima dos testículo) /100.

### 2.3.2. Morfometria das células de Leydig

Para se estimar as dimensões volumétricas das células de Leydig foi mensurado o diâmetro de trinta núcleos, com o contorno mais circular possível, cromatina perinuclear e nucléolo evidente. A partir desses valores, calculou-se o volume nuclear ( $VN = 4/3 \pi R^3$ , R: raio nuclear), o volume citoplasmático ( $VC = \% \text{ citoplasma} \times VN / \% \text{ núcleo}$ ) e o volume celular ( $VCL = VN + VC$ ), sendo os resultados expressos em  $\mu\text{m}^3$ .

Para cálculo do número total de células de Leydig (TCL) dividiu-se o volume total dessas células no parênquima testicular ( $\mu\text{m}^3$ ) pelo volume de cada célula ( $\mu\text{m}^3$ ) e para estimativa do número destas células por grama de testículo, dividiu-se o TCL pelo peso gonadal total.

O índice Leydigossomático (ILS) foi calculado a fim de se quantificar o investimento em células de Leydig em relação à massa corporal, utilizando-se a fórmula:  $ILS = \text{volume total de célula de Leydig nos testículos} / \text{Peso Corporal} \times 100$ .

## 2.4. Análises estatísticas

Os dados descritivos foram analisados utilizando a função estatística do programa Excel/ Windows7 e estão representados como média e desvio padrão.

## 3. RESULTADOS

Os pesos corporais e testiculares, bem como as densidades volumétricas dos componentes no intertúbulo e nos testículos estão dispostos na tabela 1. O compartimento

intertubular representou 6,43% do parênquima testicular, sendo o valor do parênquima equivalente a 1,71g.

A densidade volumétrica intertubular, ou o percentual que cada elemento representa no espaço intersticial foi de 3,28% para o espaço linfático, 6,26% para vasos sanguíneos, 1,56% para macrófago, 0,53% para mastócitos, 8,48% para tecido conjuntivo e 79,88% para células de Leydig, sendo estas as maiores representantes deste compartimento. Os percentuais desses mesmos parâmetros nos testículos foram, respectivamente, 0,22%, 0,43%, 0,10%, 0,005%, 0,54%, e 5,10%.

Tabela 1: Morfometria intertubular de *Kannabateomys amblyonyx*

Massa corporal (g)	418,43 ± 24,13	
Massa testicular média (g)	1,72 ± 0,72	
Percentagem intertubular (%)	6,43 ± 0,70	
Massa do Parênquima (g)	1,71 ± 0,72	
	Densidade volumétrica no intertúbulo (%)	Densidade volumétrica nos testículos (%)
Espaço Linfático	3,28 ± 0,62	0,22 ± 0,06
Vaso sanguíneo	6,26 ± 1,63	0,43 ± 0,17
Macrófago	1,56 ± 0,20	0,10 ± 0,02
Mastócito	0,53 ± 0,26	0,005 ± 0,003
Célula de Leydig	79,88 ± 2,76	5,10 ± 0,48
Tecido Conjuntivo	8,48 ± 0,76	0,54 ± 0,08

Média±desvio-padrão; n=7.

A volumetria dos elementos intertubulares por grama de testículo se encontra na tabela 2, onde pode ser observado o grande volume ocupado pelas células de Leydig nos testículos de *K. amblyonyx*.

Tabela 2: Volumetria intertubular dos elementos por grama de testículo (ml) de *Kannabateomys amblyonyx*

Espaço Linfático	0,002 ± 0,0006
Vaso Sanguíneo	0,0042 ± 0,0016
Macrófago	0,001 ± 0,0002
Mastócito	0,00005 ± 0,00003

Célula de Leydig	0,050 ± 0,005
Tecido Conjuntivo	0,005 ± 0,0008

Média±desvio-padrão; n=7.

Os dados referentes a morfometria das células de Leydig estão dispostos na tabela 3. As células de Leydig, produtoras de testosterona, são também as principais ocupantes do espaço intersticial, apresentando um volume de 1.289,99  $\mu\text{m}^3$ . Deste valor, 1.067 $\mu\text{m}^3$  são referentes ao citoplasma e 213,19 $\mu\text{m}^3$  ao núcleo. Foram encontrados no compartimento intertubular um total de 33,46x10<sup>6</sup> de células de Leydig por testículo e 40,32x10<sup>6</sup> por grama de testículo. A partir dos valores de massa corporal e das proporções volumétricas das células de Leydig foi obtido o índice Leydigossomático (0,02%), que se refere à massa corporal alocada em células de Leydig. O citoplasma das células de Leydig nestes animais apresenta-se repleto de gotículas lipídicas (Figura 1).

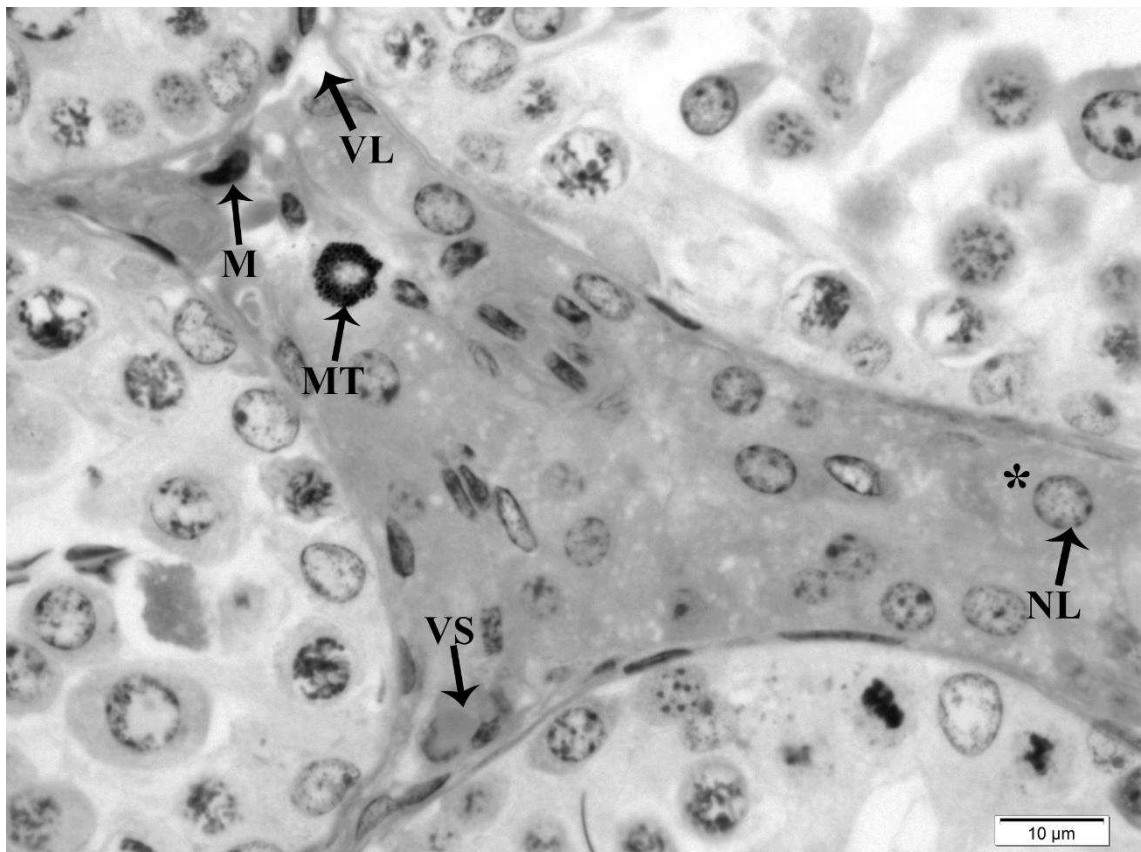


Figura 1 – Compartimento intertubular do *K. amblyonyx* identificando seus componentes. NL - Núcleo de Leydig; \* - Citoplasma de Leydig com gotículas lipídicas; M - Macrófago; VS- Vaso Sanguíneo; VL – Vaso Linfático e MT – Mastócito.

Tabela 3: Morfometria das células de Leydig de *Kannabateomys amblyonyx*

Diâmetro nuclear ( $\mu\text{m}$ )	$7,40 \pm 0,18$
Volume nuclear ( $\mu\text{m}^3$ )	$213,19 \pm 15,23$
Volume citoplasmático ( $\mu\text{m}^3$ )	$1.067,80 \pm 80,94$
Volume de célula de Leydig ( $\mu\text{m}^3$ )	$1.280,99 \pm 93,17$
Número de célula de Leydig por testículo ( $\times 10^6$ )	$33,46 \times 10^6 \pm 5,65 \times 10^6$
Número de célula de Leydig por grama de testículo ( $\times 10^6$ )	$40,32 \times 10^6 \pm 5,08 \times 10^6$
ILS (%)	$0,02 \pm 0,0031$

Média $\pm$ desvio-padrão; n=7.

#### 4. DISCUSSÃO

O compartimento intertubular, semelhante ao descrito para outros roedores silvestres, é tipicamente composto por células de Leydig, vasos sanguíneos, espaços linfáticos e tecido conjuntivo podendo ser encontrados fibroblastos, macrófagos, mastócitos e conjuntivo frouxo (França e Russell, 1998). Este espaço segue três padrões de organização segundo Fawcett et al. (1973). No padrão 1 o compartimento intertubular é ocupado, em sua maior parte, por espaço linfático e vasos sanguíneos, mostrando poucas células de Leydig e tecido conjuntivo. No tipo 2 as células de Leydig estão espalhadas e espaçadas no abundante tecido conjuntivo frouxo, com um vaso linfático central ou excêntrico. No tipo 3 existem abundantes agrupamentos de células de Leydig, ocupando grande parte do compartimento, com pouco conjuntivo e vasos. Assim, o *Kannabateomys amblyonyx* está dentro do padrão 3 da classificação de Fawcett, ao contrário do que é relatado para outros roedores em geral que apresentam o padrão I.

O parênquima testicular de *K. amblyonyx* é composto por 6,43% de espaço intertubular. Esse percentual se assemelha a alguns roedores da família Cricetidae, como o *O. rufus*/9,1%, e *O. nasutus*/4,8% (Morais, 2014), *Oligoryzomys flavescens*/5% (Boiani et al., 2007), *Hylaeamys megacephalus*/5,54% (Melo et al., 2013), *Oligoryzomys nigripes*/6,22% e *Akodon cursor*/9,30% (Balarini, 2013), sendo maior que o de *T. moojeni*/2,4% (Cordeiro Júnior et al., 2010) pertencente à mesma família. Por outro lado, mostrou-se muito inferior ao percentual de intertúbulo descrito para *Hydrochoerus hydrochaeris*, que possui 49,9% do seu parênquima testicular composto por intertúbulo (Carretta-Júnior, 2012).

Grande parte dos mamíferos estudados possui seu espaço intersticial ocupado, na sua maior parte, por células de Leydig (Paula et al., 2007). O *Kannabateomys amblyonyx* também apresenta esta característica. O percentual de células de Leydig no intertúbulo

(79,88%) se assemelha ao descrito para alguns roedores cricetídeos como *O. nigripes*/65,98% e *A. cursor*/67,15% (Balarini, 2013), além de outras classes de mamíferos como as espécies de morcego *Sturnira lilium*/83,19% (Morais, 2014) e *Molossus molossus*/87% (Morais, 2012). Por outro lado, o percentual de células de Leydig em *K. amblyonyx* foi superior a alguns roedores de grande porte, como a capivara, a cutia, e a paca que apresentaram respectivamente 34,8%, 2,0% e 2,64% (Carretta-Júnior, 2012).

Ao avaliar-se a densidade volumétrica das células de Leydig no testículo, o percentual encontrado em *K. amblyonyx* foi superior aos observados em outra espécie pertencente à mesma família, o *T. moojeni* (0,3%; Cordeiro Júnior et al., 2010). Entretanto, os valores de espaço linfático se assemelham entre as duas espécies, *T. moojeni* (0,4%; Cordeiro Júnior et al., 2010), porém o *T. moojeni* possui maior proporção de vasos sanguíneos (1,5%; Cordeiro Júnior et al., 2010). Segundo Paula et al. (2002), espécies com sistemas de acasalamento monogâmico, têm maior necessidade de investimento na produção de andrógenos, uma vez que precisam de maiores quantidades de testosterona para proteger seu harém, o que pode explicar a grande densidade volumétrica das células de Leydig no testículo do *K. amblyonyx*.

De forma semelhante à espécies como *Akodon cursor* e *O. nigripes*, o *K. amblyonyx* apresentou gotículas lipídicas espalhadas no citoplasma das células de Leydig. Balarini (2013) associa esse fator à uma atividade testicular constante, independente de influências sazonais.

O diâmetro nuclear das células de Leydig encontradas em *Kannabateomys amblyonyx* foi semelhante ao observado para o *T. moojeni* (6,7  $\mu\text{m}$ ; Cordeiro Júnior et al., 2010), ambos pertencentes à família Echimyidae. Também foi semelhante em relação ao encontrado para alguns cricetídeos, como *O. nigripes*/6,96  $\mu\text{m}$  e *A. cursor*/7,06  $\mu\text{m}$  (Balarini, 2013), *Oxymycterus rufus*/6,40  $\mu\text{m}$  e *Oxymycterus nasutus*/6,87  $\mu\text{m}$  (Morais, 2014), e também nos roedores de grande porte como a capivara (8,34 $\mu\text{m}$ ; Carretta-Júnior et al., 2012), cutia (8,44 $\mu\text{m}$ , Carretta-Júnior, 2012) e paca (7,52  $\mu\text{m}$ , Carretta-Júnior, 2012).

A partir dos valores do diâmetro nuclear, calcula-se o volume de cada célula de Leydig. O volume destas células em *K. amblyonyx* (1.280,99  $\mu\text{m}^3$ ) mostrou-se superior aos valores mensurados para *T. moojeni* (799  $\mu\text{m}^3$ ; Cordeiro Júnior et al., 2010), justificado pelo maior volume citoplasmático de *K. amblyonyx* (1.067,80  $\mu\text{m}^3$ ). Além disso, os valores referentes ao volume das células de Leydig do *K. amblyonyx* foram mais relevantes comparando-os com espécies da família cricetidae, como *Oxymycterus rufus* e

*Oxymycterus nasutus* (352,8  $\mu\text{m}^3$ , 572  $\mu\text{m}^3$ ; Morais, 2014), *O. nigripes* e *A. cursor* (800  $\mu\text{m}^3$  e 850  $\mu\text{m}^3$ , Balarini, 2013), *A. montensis* e *N. lasiurus* (807  $\mu\text{m}^3$  e 967  $\mu\text{m}^3$ ; Cordeiro Júnior, 2009). Valores semelhantes foram observados em outros roedores (2169 $\mu\text{m}^3$  em capivaras, 1125  $\mu\text{m}^3$  em cutias - Carretta-Júnior, 2012; 1500  $\mu\text{m}^3$  em camundongo, cobaio - Russell, 1996).

A maioria dos mamíferos descritos possui valores de células de Leydig por grama de testículo situado entre 20 e 87 milhões (França e Russell, 1998; Russell, 1996). Assim, o *K. amblyonyx* (40,32x10<sup>6</sup>) encontra-se dentro deste intervalo, mas acima do descrito para outros roedores silvestres como *T. moojeni* (3,8 x10<sup>6</sup>; Cordeiro Júnior et al., 2010), *O. nigripes* (11 x10<sup>6</sup>; Balarini, 2013), *Dasyprocta leporina* (16,2 x10<sup>6</sup>; Carretta-Júnior, 2012), *C. paca* (35,88 x10<sup>6</sup>; Carretta-Júnior, 2012) e *A. cursor* (38 x10<sup>6</sup>; Balarini, 2013).

O índice Leydigossomático (ILS), referente à quantidade de massa corporal alocada em células de Leydig foi, para *K. amblyonyx*, superior ao de roedores como *C. paca* (0,005; Carretta-Júnior, 2012) e *D. leporina* (0,007%; Carretta-Júnior, 2012). Entretanto, este índice encontra-se dentro da amplitude descrita para outros mamíferos silvestres (0,02 – 0,04%; Balarini, 2013; Carretta-Júnior, 2012; Morais et al., 2012; Morais, 2014; Paula et al., 2007).

## 5. CONCLUSÃO

O *Kannabateomys amblyonyx* apresenta o espaço intersticial ocupado em sua maior parte por células de Leydig. Desta forma essa espécie se enquadra no padrão III da classificação de Fawcett. A grande densidade volumétrica das células de Leydig no testículo os confirmam como animais monogâmicos, uma vez que estes tem maiores necessidades de produção de testosterona.

## 6. REFERÊNCIAS

BALARINI, M. K. 2013. Morphofunctional evaluation of the testis and spermatogenesis of wild rodents *Akodon cursor* (Winge, 1887) and *Oligoryzomys nigripes* (Olfers, 1818) (Rodentia: Cricetidae). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 81 p.

BOIANI, L.; CASANOVA, G.; OLIVERA, A.; BEROIS, N. 2007. Seminiferous epithelium cycle of a hantavirus reservoir, the long-tailed mouse *Oligoryzomys flavescens* (Rodentia - Cricetidae). Tissue Cell. 39: 267-275.

CARRETTA-JÚNIOR, M. 2012. Estudo comparativo do processo espermatogênico e duração do ciclo do epitélio seminífero através da técnica de imunohistoquímica com bromodeoxiuridina de três diferentes espécies de roedores da subordem Hystricomorpha: cutia (*Dasyprocta leporina*), paca (*Cuniculus paca*) e capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 131p.

CORDEIRO JÚNIOR, D. A.; COSTA, G. M. J.; TALAMONI, A. S.; FRANÇA, L. R. 2010. Spermatogenic efficiency in the spiny rat, *Trinomys moojeni* (Rodentia: Echimyidae). *Animal Reproduction Science*. 119: 97-105.

EMMONS, L. H.; FEER, F. 1997. Neotropical rainforest mammals: a field guide. 2nd. ed. The University of Chicago Press, Chicago. 245p.

FAWCETT, D. W.; NEAVES, W. B.; FLORES, M. N. 1973. Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biology of Reproduction*, 9: 500-532.

FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L. D. 1998. The testis of domestic animals. In *A multidisciplinary overview*. Martínez, F., Regadera, J. (eds.). Churchill Livingstone, Madrid, Spain. P. 197-219.

HUTCHINS, M.; KLEIMAN, D. G.; GEIST, V. 2004. Grzimek's Animal Life. In *Encyclopedia*. Gale Group, 2nd ed. McDade (eds.). 16: 121 – 473.

MELO, F. C. S. A.; SOUSA, T. P.; COSTA, K. L. C.; MATTA, S. L. P.; MELO, F. R.; SANTA-RITA, R. M. 2013. Descriptive morphometry and stereology of the tubular compartment in the wild rodent *Hylaeamys megacephalus* (Rodentia: Cricetidae) from Central Brazil. *Animal Reproduction Science*. 138: 110-117.

MORAIS, D. B. 2012. Espermatogênese no morcego *Sturnira lilium* (Chiroptera: Phyllostomidae): aspectos morfológicos, morfométricos e ultraestruturais. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 83 p.

MORAIS, A. C. T. 2014. Histomorfometria testicular nos roedores silvestres *Oxymycterus rufus* e *Oxymycterus nasutus* (Rodentia: Cricetidae). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 88p

O'DONNELL, L.; ROBERTSON, K. M.; JONES, M. E.; SIMPSON, E. R. 2001. Estrogen and spermatogenesis. *Endocrine Reviews*, 22: 289-318.

PAULA, T. A. R.; COSTA, D. S.; MATTA, S. L. P. 2002. Avaliação histológica do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. *Bioscience Journal*. 18(1): 121–136.

PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P.; SILVA JÚNIOR, V. A.; COSTA, D. S.; FONSECA, C. C.; NEVES, M. T. D. 2007. Intertubular space characterization in adult capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 50(2): 289-297.

SARTI, P. T.; SILVA, R. B. e VIEIRA, E. M. 2012. Padrões de atividade diária do rato-da-taquara (*Kannabateomys amblyonyx*) no Sul do Brasil. *Neotropical Biology and Conservation*. 7(2): 108-113.

SILVA, R. B.; VIEIRA, E. M. e IZAR, P. 2008. Social monogamy and biparental care of the neotropical southern bamboo rat (*Kannabateomys amblyonyx*). *Journal of Mammalogy*. 89: 1464-1472

RUSSELL, L. D.; ETTLIN, R. A.; SINHA-HIKIM, A. P.; CLEGG, E. D. 1990. Mammalian spermatogenesis. In *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*. Russell, L.D., Ettlin, R.A., Sinha-Hikim, A.P., Clegg, E.D. (eds.). Cache River Press, Bolesta. P. 1-40.

RUSSELL, L. D. 1996. Mammalian Leydig cell structure. In *The Leydig Cell*. Payne A.H., Hardy, M.P., Russell, L.D (eds.). Cache River Press, Vienna. P. 43-96.

## CONCLUSÕES GERAIS

Em relação ao processo espermatogênico do roedor silvestre *Kannabateomys amblyonyx* é possível concluir que:

- Apresenta baixo índice gonadossomático em relação a outros roedores de menor porte;
- Possui o parênquima testicular com organização semelhante ao descrito para outros mamíferos já descritos;
- Apresenta baixo percentual de massa corporal alocado em túbulos seminíferos;
- Os túbulos seminíferos representam a maior parte do parênquima testicular, e o epitélio germinativo é o principal componente tubular;
- A altura do epitélio germinativo encontra-se dentro dos valores já descritos para grande parte de mamíferos;
- Apresenta 8 diferentes estádios do ciclo do epitélio seminífero, com predomínio do estágio I e pequena frequência do estágio IV;
- Apresenta perda de 60% dos espermatócitos primários em preleptóteno produzido por espermatogônias A, sendo essa perda considerada baixa em relação a outros roedores;
- Apresenta perdas celulares na fase meiótica superiores em relação aos roedores já descritos;
- Apresenta um rendimento geral da espermatogênese elevado, porém dentro do intervalo observado em outros mamíferos;
- Possui o número de células de Sertoli por grama de testículo superior ao relatado para a maioria dos mamíferos;
- Apresenta reserva espermática testicular (número potencial de espermatozoides produzidos) por grama de testículo inferior aos roedores já descritos para outros roedores;
- Apresenta o compartimento intertubular semelhante ao descrito para outros roedores silvestres;
- Apresenta 6,43% do parênquima testicular ocupado por intertúbulo;
- Possui o espaço intersticial organizado como o padrão três, de acordo com a classificação de Fawcett;

- Possui as células de Leydig como o componente de maior porcentagem no intertúbulo, assim como a maioria dos roedores descritos;
- Apresenta grande densidade volumétrica de células de Leydig no testículo;
- Possui gotículas lipídicas espalhadas no citoplasma das células de Leydig, associando essa espécie com atividade testicular constante, independente de influências sazonais.