

CITOLOGIA TESTICULAR DE GRAXAIM-DO-MATO (*Cerdocyon thous*)

KAREN CRISTINE DE ALBUQUERQUE FERREIRA PEREIRA¹; FABIANE DE HOLLEBEN CAMOZZATO FADRIQUE²; ANTÔNIO SÉRGIO VARELA JÚNIOR³; CARINE DAHL CORCINI⁴; RAQUELI TERESINHA FRANÇA⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – karencafpereira@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - fadriquefabiane@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – antoniovarela@furg.br

⁴Universidade Federal de Pelotas – corcinicd@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – raquelifranca@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A citologia testicular é uma forma de avaliar a espermatogênese do indivíduo através da presença e quantificação de células germinativas e células de sertoli; podendo auxiliar no entendimento da produção espermática, dentro e fora da época reprodutiva, de canídeos silvestres (PEREIRA et al., 2023). Além disso, tem como vantagens ser um procedimento de rápida execução, baixo custo e pouco invasivo que não gera efeito adverso na espermatogênese (JAMES et al., 1979; SANTOS et al., 2010).

Esse tipo de estudo ainda não foi descrito em graxaim-do-mato (*Cerdocyon thous*), uma das seis espécies de canídeos silvestres que ocorre no Brasil (ABREU et al., 2023). O graxaim-do-mato é uma espécie que possui distribuição por grande parte do país com excessão da Amazônia (BERTA, 1982). É um mamífero de porte médio, habita florestas, bordas de florestas, matas abertas e savanas arborizadas, possuem hábitos predominantemente noturnos e são oportunistas, se alimentando de pequenos mamíferos, frutas, invertebrados e carcaças (BERTA, 1982). Possui importante papel na dispersão de sementes, sendo extremamente importante no processo de manutenção e regeneração de ambientes naturais (HOWE; SMALLWOOD, 1982; MOTTA-JUNIOR et al., 1994).

Apesar de estar classificado como pouco preocupante quanto ao risco de extinção (LUCHERINI, 2015), é uma das espécies de carnívoros com a maior ocorrência de atropelamentos no país (VIEIRA, 1996; CÂNDIDO-JUNIOR et al., 2002; GUMIER-COSTA; SPERBER, 2009; LEMOS; FECURE, 2011; GRILO et al., 2018). Por isso, o estudo de parâmetros reprodutivos dessa espécie é fundamental para sua preservação, tendo em vista que o período reprodutivo das fêmeas se estende do inverno a primavera (SOUZA et al., 2012) mas datas consistentes não foram encontradas para os machos (SILVA et al., 2022).

O objetivo do trabalho foi utilizar a citologia para avaliar a espermatogênese de graxains-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre.

2. METODOLOGIA

Entre o período de setembro de 2023 a julho de 2024 foram coletados material biológico de três espécimes de *Cerdocyon thous*, machos, adultos, com média de peso corporal de 6,2 kg. Os indivíduos foram oriundos de dois destinos diferentes, sendo um deles recebido pelo Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre e Centro de Triagem de Animais Silvestres da Universidade Federal de Pelotas (NURFS-CETAS/UFPEL), com vida e dois encontrados atropelados sem vida.

O indivíduo recebido pelo NURFS-CETAS/UFPEL, passou por coletas em dois diferentes momentos, respeitando o quadro clínico do animal. Já os indivíduos

atropelados foram encontrados sem vida, um na Avenida Adolfo Fetter no município de Pelotas/RS e o outro na BR-293 no município do Capão do Leão/RS.

Os animais tiveram uma ficha de cadastro preenchida, onde foram coletados dados individuais e para os animais sem vida, dados para identificação do tempo aproximado de óbito. Foi realizada a citologia testicular através da punção por agulha fina (PAF). O material foi depositado em lâminas de vidro e espalhados pelo método de *squash*, corados com coloração do tipo Romanowsky e analisado em microscópio. As células foram classificadas em células de Leydig, células de Sertoli, espermatogônias, espermatócitos primários, espermatídes iniciais, espermatídes tardias e espermatozóides. A avaliação citológica foi realizada contando 500 células por lâmina para determinação do índice espermático (número de espermatozóides por 100 células espermatogênicas) e do índice de células de sertoli (número de células de sertoli por 100 células espermatogênicas), conforme a metodologia utilizada por Santos et al. (2010).

Todas as amostras foram coletadas após a concessão da autorização do SISBIO (Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade) sob nº 87773-1 e CEUA/UFPEL (Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas) sob nº 113/23.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao total foram realizadas quatro coletas em três animais diferentes, sendo duas coletas em um mesmo animal vivo (animal 1) e duas coletas em animais mortos (animal 2 e 3). O animal vivo teve a primeira coleta realizada dentro do período reprodutivo e a segunda fora do período reprodutivo, já os animais mortos foram encontrados um dentro e outro fora do período reprodutivo. O período de óbito dos animais encontrados atropelados variou entre 12 a 24 horas, porém não interferiu na contagem de células, possibilitando a identificação das mesmas.

A morfologia das células da linhagem espermatogênica foram bastante semelhantes as encontradas em graxaim-do-campo, variando apenas na quantidade, porém tendo também as espermatídes como as células mais encontradas nos animais avaliados (PEREIRA et al., 2023). As contagens celulares estão descritas na tabela 1, sendo divididas em espermatozóides maduros (Z), células espermatogênicas (S) e células de sertoli (SE), e através dessas contagens foram calculados os índices espermático (SI) e de células de sertoli (SEI).

Tabela 1. Quantificação de células testiculares através da citologia em três espécimes de *Cerdocyon thous*.

Animal	Idade	Mês	Nº de Z	Nº de S	Nº SE	SI	SEI
1	Adulto	Setembro/23	96	481	19	19,95	3,95
2	Adulto	Novembro/23	0	458	42	0	9,17
1	Adulto	Dezembro/23	0	469	31	0	6,60
3	Adulto	Julho/24	62	469	31	13,21	6,60

As células foram agrupadas em espermatozóides maduros (Z), células espermatogênicas (S), células de Sertoli (SE), índice espermático (SI) e índice de células de Sertoli (SEI).

Podemos observar na tabela acima, que as coletas realizadas dentro do período reprodutivo apresentaram contagem de espermatozóides e fora do período os indivíduos não apresentaram essas células. Além disso, o animal 1 que passou

por duas coletas demonstrou que em um primeiro momento o mesmo estava produzindo espermatozoides porém ao sair do período reprodutivo, parou a sua produção. Um trabalho realizado por Silva et al. (2022), onde graxains-do-mato de vida livre foram capturados para coleta de sêmen, demonstrou que a contagem de espermatozoides reduziu significativamente em animais fora do período reprodutivo. Demonstrando que o período reprodutivo influencia diretamente na produção espermática dessa espécie.

Em relação ao SEI, a média encontrada no trabalho foi de 6,58, sendo um valor maior ao encontrado em cães, cuja média foi de 4,21 (SANTOS et al., 2010), e menor ao encontrado em graxains-do-campo, com média de 14,07 (PEREIRA et al., 2023). Esse índice ajuda a estimar o potencial das células germinativas (FORESTA; VAROTTO, 1992). Já o SI, responsável por demonstrar a eficácia da etapa final de maturação e espermiogênese (PAPIC et al., 1988), se manteve zero nos animais submetidos a coletas fora do período reprodutivo, e foram aumentando conforme os meses dentro do período reprodutivo. Segundo Silva et al. (2022), o período reprodutivo dessa espécie ocorre entre os meses de junho a setembro; no entanto, a continuação da pesquisa se torna fundamental para determinação do período reprodutivo na região e maior entendimento sobre a produção espermática dessa espécie.

4. CONCLUSÕES

A morfologia das células de graxaim-do-mato analisadas, foram bastante semelhantes as encontradas em graxaim-do-campo. A média dos valores de SEI e SI são semelhantes aos descritos em cães. Foi encontrado um aumento nas células reprodutivas nos meses em que esses animais se encontravam em período reprodutivo. Ainda assim, é necessário a continuação do estudo para melhor compreensão do período reprodutivo e estabelecimento de valores de referência para o SEI e o SI.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, E. F.; CASALI, D.; COSTA-ARAÚJO, R.; et al. Lista de Mamíferos do Brasil (2023-1). Zenodo. 2023.

BERTA, A. *Cerdocyon thous*. **Mammalian species**, v. 186, p. 1-4, 1982.

CÂNDIDO-JUNIOR, J. F.; MARGARIDO, V. P.; PEGORARO, J. L.; et al. Animais atropelados na rodovia que margeia o Parque Nacional do Iguaçu, Paraná, Brasil, e seu aproveitamento para estudos da biologia da conservação. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE UNIDADES DE CONSERVAÇÃO**, Fortaleza, 2002. Fortaleza: Fundação O Boticário, Rede Nacional Pró-Unidades de Conservação, Associação Caatinga editora, 2002, p. 553-562.

FORESTA, C.; VAROTTO, A. Assessment of cytology by fine needle aspiration as a diagnostic parameter in the evaluation of the oligospermic subject. **Fertil Steril**, v. 58, p. 1028-1033, 1992.

GRILO, C.; COIMBRA, M. R.; CERQUEIRA, R. C., et al. BRAZIL ROAD-KILL: a data set of wildlife terrestrial vertebrate road-kills. **Ecology**. v. 99, n. 11, p. 2625, 2018.

GUMIER-COSTA, F.; SPERBER, C.F. Atropelamentos de vertebrados na Floresta Nacional de Carajás, Pará, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 2, p. 459-466. 2009.

HOWE, H. F.; SMALLWOOD, J. Ecology of seed dispersal. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 13, p. 201–223, 1982.

JAMES, R. W.; HEYWOOD, R.; FOWLER, D. J. Serial percutaneous testicular biopsy in the beagle dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 20, p. 219-228, 1979.

LEMOS, F. G.; FACURE, K. G. Seasonal variation in foraging group size of crab-eating foxes and hoary foxes in the Cerrado biome, Central Brazil. **Mastozoología Neotropical**, v. 18, n. 2, p. 239-245, 2011.

LUCHERINI, M. 2015. *Cerdocyon thous*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T4248A81266293. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T4248A81266293.en>. Accessed on 12 September 2024.

MOTTA-JUNIOR, J. C.; LOMBARDI, J. A.; TALAMONI, S. A. Notes on crab-eating fox (*Dusicyon thous*). Seed dispersal and food habits in southeastern Brazil. **Mammalia**, v. 58, p. 156–159, 1994.

PAPIC, Z.; KATONA, G.; SKRABALO, Z. The cytologic identification and quantification of testicular cell types. **Acta Cytol**, v. 32, p. 697-706, 1988.

PEREIRA, K. C. A. F.; FADRIQUE, F. H. C.; CORCINI, C. D.; FRANÇA, R. T. Citologia testicular de graxaim-do-campo (*Lycalopex gymnocercus*). In: **9ª SEMANA INTEGRADA DE INOVAÇÃO, ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO**, Pelotas, 2023. XXVI Encontro De Pós-Graduação, Pelotas: UFPel, 2023

SANTOS, M.; MARCOS, R.; CANIATTI, M. Cytologic study of normal canine testis. **Theriogenology**, v. 73, p. 208-214, 2010.

SILVA, M. C. C.; JORGE-NETO, P. N.; MIRANDA, G. M.; et al. Reproductive parameters of male crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*) subjected to pharmacological semen collection by urethral catheterization. **Theriogenology Wild**, v. 1, p. 1-8, 2022.

SOUZA, N. P.; FURTADO, P. V.; RODRIGUES DA PAZ, R. C. Non-invasive monitoring of the estrous cycle in captive crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*), **Theriogenology**, v. 77, p. 233–239, 2012.

VIEIRA, E. M. Highway mortality of mammals in central Brazil. **Ciência e Cultura**, v. 48, p. 270-272, 1996.