UFRRJ

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

DISSERTAÇÃO

MORFOLOGIA DO PÊNIS DE OURIÇO-CACHEIRO Sphiggurus villosus (F. Cuvier, 1823)

TÂNIA CRISTINA DA SILVA



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

MORFOLOGIA DO PÊNIS DE OURIÇO-CACHEIRO

Sphiggurus villosus (F. Cuvier, 1823)

TÂNIA CRISTINA DA SILVA

Sob a Orientação do Professor

Dr. Marcelo Abidu Figueiredo

e Coorientação do Professor

Dr. Mauricio Alves Chagas

Seropédica, RJ

Janeiro de 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

```
Silva, Cristina da , Tânia, 1975
S932m
                                         Morfologia do
        pênis do ouriço-cacheiro Sphiggurus villosus
        (F, Cuvier, 1823) (Erethizontidae, Rodentia) / Tânia
        Silva, Cristina da . - Barra Mansa, 2022.
           47 f.: il.
           Orientador: Marcelo Figueiredo Abidu.
           Coorientador: Mauricio Chagas, Alves.
           Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
        Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação
        Biologia Animal, 2022.
           1. Ouriço-cacheiro. 2. Histoarquitetura. 3. Órgão
        copulatório. I. Figueiredo Abidu, Marcelo, 1968-,
        orient. II. Chagas, Alves, Mauricio, 1969-, coorient.
        III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
        Programa de Pós Graduação Biologia Animal. IV. Título.
```

O presente estudo foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL



TERMO Nº 119 / 2022 - PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)

Nº do Protocolo: 23083.008675/2022-43

Seropédica-RJ, 11 de fevereiro de 2022.

Seropédica, 31 de janeiro de 2022

TÂNIA CRISTINA DA SILVA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre(a) no Programa de Pós Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração em Biodiversidade Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/01/2022

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.

> MARCELO ABIDU FIGUEIREDO (ORIENTADOR) LYCIA DE BRITO GITIRANA - UFRJ PAULO DE SOUZA JUNIOR - UNIPAMPA

(Assinado digitalmente em 16/02/2022 08:36) MARCELO ABIDU FIGUEIREDO PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR DeptAnatAH (12.28.01.00.00.00.44) Matrícula: 2181722

(Assinado digitalmente em 11/02/2022 20:34) PAULO DE SOUZA JUNIOR ASSINANTE EXTERNO CPF: 078.332.717-05

LYCIA DE BRITO GITIRANA
ASSINANTE EXTERNO CPF: 504.986.307-49

Para verificar a autenticidade deste documento entre em https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp informando seu número: 119, ano: 2022, tipo: TERMO, data de emissão: 11/02/2022 e o código de verificação: a1ec34b15a

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde, fé e perseverança que nunca me abandonaram e, mesmo que os dias tivessem um sabor amargo, a certeza de dias melhores, não me faltaram.

À São Jorge, por estar sempre junto a mim, por me conduzir e amenizar os meus caminhos ... a Fé.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Abidu Figueiredo, pela amizade ao longo de toda esta trajetória, pela confiança depositada, pelos ensinamentos, pela oportunidade de trabalho nas pesquisas desenvolvidas no LEPeMADS. Obrigada Professor!

Ao Co-Orientador Prof. Dr. Maurício Alves Chagas pelo incentivo e disponibilidade em contribuir com o desenvolvimento desta pesquisa.

À Professora Dra. Lycia de Brito Gitirana e toda Equipe do Laboratório de Histologia Integrativa da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Ao Professor Francisco Gérson de Araújo pela disponibilidade e resolutividade frente às demandas que se apresentaram durante esse período como discente e a todos os Professores do Programa de Pós-graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro -UFRRJ pelos valiosos ensinamentos ao longo da Pós-graduação.

Aos meus pais José Honório (in memoria) e Elma Alice, pelo amor que forneceu os alicerces para construir meus sonhos e pela torcida que faz vibrar e encorajar-me em todos os momentos de dificuldade.

À minha amada irmã, companheira e amiga Sandra por estar sempre ao meu lado, compartilhando das alegrias e dos momentos difíceis, por me fazer acreditar todos os dias que a vida vale a pena. Minhas vitórias são suas.

Ao meu Amigo Carlos Augusto Santos Sousa, por toda Amizade, parceria, dedicação. Obrigada!

Ao meu Amigo Flávio Santos Silva, pelo carinho, incentivo e por amenizar com sementes de Fé e Orações para trilhar todos os caminhos rumo a Prosperidade e Felicidade com as Bênçãos do Sagrado.

As Amigas do Laboratório, Renata Medeiros do Nascimento, Thaís Estruc, Rafaela DunKel Duarte, Shirley Viana Peçanha por compartilharem conhecimentos e risos nos intervalos das atividades.

A Daniela França pela Amizade, carinho e caronas para a Universidade.

Aos membros da banca examinadora por terem aceitado ao convite, dispondo parte do seu tempo para contribuir neste trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente incentivaram e contribuíram para a realização deste trabalho.



RESUMO

SILVA, Tânia Cristina. **Morfologia do pênis de ouriço-cacheiro** *Sphiggurus villosus* (**F.Cuvier, 1823**) (**Erethizontidae, Rodentia**). 2022. p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2022.

A Ordem Rodentia apresenta maior número de espécies, com significativa diversidade ocupando diferentes ambientes, hábitos e nichos ecológicos. Estudar anatomia comparada pode fornecer informações que servirão como base para grandes áreas das ciências biológicas e biomedicina, e, partindo dessa premissa, o trabalho teve como objetivos descrever a morfologia do pênis de ouriço-cacheiro S. Villosus. Foram utilizados 15 espécimes doados pelo Parque Nacional da Serra dos Órgãos ao Departamento de Anatomia Animal e Humana da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Estes foram fixados com perfusão de solução de formaldeído a 10%, acondicionados em caixas de polietileno e, posteriormente, dissecados. As dissecções procederam-se com uma incisão no óstio prepucial e toda pele ao redor envolvendo a região e toda a área circunscrita juntamente com a região perineal, de modo a expor a genitália, bem como, observar as regiões anatômicas do pênis, sua morfologia e os músculos de estática. A partir da caracterização anatômica in loco, os pênis foram excisados na raiz e levados para o Laboratório de Histologia Integrativa (UFRJ) para serem incluídos na rotina histológica e realizados as técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas. Os achados macroscópicos e microscópicos do pênis de Sphiggurus villosus, permitiram a identificação de músculos. isquiocavernoso e o bulboesponjoso, constituindo a raiz do pênis (radix penis). Esta estrutura de formato cilíndrico segue cranialmente disposta sendo contínua ao corpo (corpo do pênis). De cada amostra foram feitos cortes da região do corpo do pênis com 5 micrometros de espessura cada, para cada tipo de coloração. As colorações de hematoxilina-eosina, Tricrômico de Mallory, orceína e Picrosirius red permitiram a caracterização dos elementos da matriz extracelular. A técnica de imunohistoquimica com anticorpo anti-alfa-actina foi realizada para a marcação das células musculares. A microscopia eletrônica de varredura permitiu a caracterização da superfície do pênis de S. villosus, demostrando a disposição e morfologia das protuberâncias espinhosas na região da glande peniana. Os resultados da análise histoquímica e imunohistoquimica do pênis de S. villosus revelaram uma histoarquitetura do tipo musculo cavernoso. Os resultados da presente pesquisa nos permite compreender aspectos do comportamento reprodutivo dessas espécies, a fim de melhorar o manejo dos animais em cativeiro.

Palavras-chave: Histoarquitetura, órgão copulatório, ouriço-cacheiro

ABSTRACT

SILVA, Tânia Cristina. **Penis morphology** *Sphiggurus villosus* (**F. Cuvier, 1823**) (**Erethizontidae, Rodentia**). 2022. 41p. Dissertation (Master of Science – Animal Biology). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2022.

The Order Rodentia has a greater number of species, with significant diversity occupying different environments, habits and ecological niches. Studying comparative anatomy can provide information that will serve as a basis for large areas of biological sciences and biomedicine, and, based on this premise, the study aimed to describe the morphology of the S. Villosus hedgehog penis. Fifteen specimens donated by the Serra dos Órgãos National Park to the Department of Animal and Human Anatomy of the Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRRJ) were used, hese were fixed with perfusion of 10% formaldehyde solution, placed in polyethylene boxes and, later, dissected. The dissections were carried out with an incision in the preputial ostium and all the surrounding skin involving the region and the entire circumscribed area along with the perineal region, in order to expose the genitalia, as well as observe the anatomical regions of the penis, its morphology and the static muscles. From the anatomical characterization in loco, the penises were excised at the root and taken to the Integrative Histology Laboratory (UFRJ) to be included in the histological routine and histochemical and immunohistochemical techniques were performed. The macroscopic and microscopic findings of the penis of Sphiggurus villosus, allowed the identification of muscles. ischiocavernous and bulbospongiosus, constituting the root of the penis (radix penis). This cylindrical structure follows cranially arranged being continuous with the body (penis body). From each sample, cuts were made from the region of the penis body with 5 micrometers in thickness each, for each type of coloration. Hematoxylin-eosin, Mallory's Trichrome, orcein and Picrosirius red stains allowed the characterization of the elements of the extracellular matrix. The immunohistochemistry technique with anti-alpha-actin antibody was performed to mark the muscle cells. Scanning electron microscopy allowed the characterization of the surface of the penis of S. villosus, demonstrating the disposition and morphology of the spinous protuberances in the region of the glans penis. he results of the histochemical and immunohistochemical analysis of the penis of S. villosus revealed a musculocavernous type of histoarchitecture. he results of this research allow us to understand aspects of the reproductive behavior of these species, in order to improve the management of animals in captivity.

Keyword: Histoarchitecture, copulatory organ, hedgehog.

LISTA DE ABREVIATURAS

- IUCN International Union for Conservation of Nature
- CEUA Comissão de Ética para o Uso de Animais
- **IBAMA** Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais
- PARNASO Parque Nacional da Serra dos Órgãos
- LEPeMADS Laboratório de Ensino e Pesquisa em Morfologia dos Animais Domésticos e Selvagens
- UFRRJ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
- UFRJ Universidade Federal do Rio de Janeiro
- **MEC** matriz extracelular
- **MP** megapixels
- µm micrômetros
- **kg** quilograma
- **cm** − centímetros
- **HE** Hematoxilina-eosina
- **mic** músculo isquicavernoso
- **mbe** músculo bulboesponjoso
- ta túnica albugínea
- **cc** corpo cavernoso
- **ce** corpo esponjoso
- **u** − uretra
- **s** septo
- op osso peniano
- m. músculo
- mm. músculos

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1- Figura 1. Hipótese filogenética mostrando a proposta da posição das famílias Hystricidae e Erethizontidae nas relações evolutivas da Ordem Rodentia (adaptada de BLANGA-KANFI, et al., 2009).
- Figura 2 Hipótese filogenética das relações evolutivas entre espécies da família Erethizontidae (modificado de VILELA, et al., 2009).
- Figura 3- Fotomacrografias do pênis de *Sphiggurus villosus* dissecado in loco. (I) Vista ventrocaudal de *S. villosus* evidenciando a região perineal (rp) entre o óstio prepucial (o) ventralmente e, o ânus (seta) dorsalmente. (II) Vista ventral evidenciando o pênis e testículos após retirada da pele (prepúcio e escroto): g glande do pênis com espículas penianas, td testículo direito, te testículo esquerdo longa da glande. (III) Vista ventrolateral do pênis de *S. villosus* evidenciando os seguimentos anatômicos: r -raiz, c corpo do pênis apresentando flexura peniana (pontilhado em preto), g glande com espículas penianas, *m. isquiocavernoso. Barra de escala 1cm.
- Figura 4- Eletromicrografias da superfície da glande do pênis de *S. villosus* evidenciando protuberâncias espinhosas orientadas caudalmente e dispostas por todo o seguimento da glande, os quais desaparecem na extremidade distal do pênis. (I) Vista lateral da glande com protuberâncias espinhosas únicas ou duplas orientadas caudalmente. (II) Projeções digitiformes da extremidade distal da glande voltando-se medianamente formando uma invaginação, *sacculus urethralis*. (III) Extremidade distal da glande e o processo uretral (seta). (IV) Protuberâncias espinhosas duplas ou triplas na glande do pênis.
- Figura 5 Fotomicrografias de cortes do pênis de *S. villosus*. Em (I): e epitélio pavimentoso estratificado queratinizado, ta túnica albugínea apresentando nervos (seta preta) vasos sanguíneos (setas brancas). (II): e epitélio, ta túnica albugínea, cc corpo cavernoso, ce corpo esponjoso, u uretra peniana apresentando mucosa pregueada; em (III): ta túnica albugínea, cc corpo cavernoso, op osso peniano a notar o osso compacto (seta preta) e osso esponjoso (seta branca), ce corpo esponjoso. (IV) Notar o osso compacto (seta preta) com matriz eosinofílica e presença de osteócitos; *condrócitos ao redor do osso compacto no corpo cavernoso do pênis. Coloração: HE.
- Figura 6- Fotomicrografias de cortes do corpo do pênis de *S. villosus*. Em (I): e epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, ta túnica albugínea, vasos (seta branca) e nervos (seta preta), cc corpo cavernoso; em (II): cc corpo cavernoso, ce corpo esponjoso. Notar trabéculas de feixes de fibras de colágeno estruturando os espaços cavernosos (*). Em (III): Feixes espessos de fibras de colágeno (setas pretas) provenientes da túnica albugínea (ta) circundam os tecidos eréteis (cc- corpo cavernoso e ce- corpo esponjoso). Em (IV): u uretra peniana dorsal e medianamente disposta aos corpos esponjosos (ce) circuncritos por tecido conjuntivo da túnica albugínea. Coloração: Tricrômico de Mallory.
- Figura 7- Fotomicrografias de cortes transversais do pênis de *S. villosus* (I): cc corpo cavernoso, ce corpo esponjoso, u uretra. Notar predomínio de feixes de fibras colagenosas

densamente compactadas estruturando o corpo cavernoso (setas). Em (II) notar intenso vermelho ocasionado pelo predomínio de feixes espessos de fibras de colágeno na histoarquitetura do corpo cavernoso do pênis (*) projetando-se para o interior (setas) de modo a estruturar os espaços cavernosos. Em (III): cc – corpo cavernoso; notar vasos e tecidos na mesma intensidade de coloração. Em (IV) cc – corpo cavernoso; notar presença de nervos (setas brancas) e vasos (setas pretas). Coloração: Picrossirius red.

Figura 8- Fotomicrografias de corte transversal do pênis de *S. villosus*; em (I) u – uretra peniana, ce -corpo esponjoso, cc – corpo cavernoso. Notar fibras elásticas dispostas transversalmente nos limites do corpo esponjoso (setas). (II). As fibras do sistema elástico (setas) estão distribuídas por todo o tecido conjuntivo do corpo cavernoso. Em (III e IV) notar intensa quantidade de fibras elásticas dispostas por todo corpo esponjoso, dispostas longitudinalmente (*) e transversalmente (setas). As fibras do sistema elástico são visualizadas em marrom pela coloração seletiva da orceína.

Figura 9- Fotomicrografias de corte transversal do pênis de *S. Villosus;* em (I, II e III): cc - corpo cavernoso (em diferentes aumentos) e ce - corpo esponjoso. Notar a presença de células musculares lisas (*) na histoarquitetura do corpo cavernoso nos diferentes aumentos (I, II e III); em (IV): notar células musculares lisas na submucosa do corpo esponjoso (ce), ao redor de estruturas vasculares e na parede de estruturas vasculares (setas), u – uretra, cc – corpo cavernoso. Reação imuno-histoquímica com anticorpo anti-α-actina de músculo liso.

SUMÁRIO

1	Е	Erro! Indicador não definido.								
2	E	Erro! Indicador não definido.								
	2.1. Ordem Rodentia									
	2	2.1.1. Taxonomia, Morfologia e Distribuição dos Porcos-espinhos								
	2.1.2. Porcos-espinhos do Novo Mundo, o gênero Sphiggurus e a espécie em estudo									
	2.2 Pênis									
3	3 Erro! Indicador não definido.									
	3.1	10								
	3.2	Erro! Indicador não definido.								
4	Erro! Indicador não definido.									
	4.1	11								
	4.2	Erro! Indicador não definido.								
	4.3	Erro! Indicador não definido.								
	4	.3.1. Técnicas histoquímicas para caracterização morfológica	12							
	4.4	Erro! Indicador não definido.								
	4.5	Erro! Indicador não definido.								
	4.6	15								
5	E	rro! Indicador não definido.								
	5.1	Erro! Indicador não definido.								
	5.2	Erro! Indicador não definido.								
6	E	Erro! Indicador não definido.								
7	Erro! Indicador não definido.									
8	E	Erro! Indicador não definido.								

1 INTRODUÇÃO

Dentro da classe Mammalia, a ordem Rodentia é a que apresenta o maior número de espécies, com significativa diversidade e evolutivamente ocupando diferentes ambientes, hábitos e nichos ecológicos. Entretanto, a despeito das diferenças morfológicas e ecológicas, seus representantes compartilham semelhanças na dentição, esqueleto craniano e musculatura que os unem como um grupo (SARAGE & LONG, 1986; FELDHAMER et al., 2007).

A anatomia comparada de mamíferos vem sendo estudada com a finalidade de fornecer informações que subsidiem conhecimentos para as grandes áreas da Ciências Biológicas e Biomedicina (SANTOS-SOUSA, 2016). A ampliação dos conhecimentos básicos estruturais adquiridos através dos estudos em morfologia permite entender as relações de parentesco e evolução das espécies; bem como o modo como essas interagem em seu o habitat natural e em cativeiro, auxiliando na preservação das mesmas (MOURA et al. 2007).

O ouriço-cacheiro (*Sphiggurus villosus*) pertence à maior ordem da classe dos mamíferos, os roedores. Todas as espécies do gênero são arborícolas, herbívoras e ou herbívoro-frugívoras e de hábitos noturnos. O período de gestação varia entre 60 e 70 dias, com um filhote por ninhada. Apenas cinco espécies podem ser encontradas no Brasil, dentre elas, o *Sphiggurus villosus*, distribuído geograficamente do estado do Rio de Janeiro até o do Rio Grande do Sul, incluindo o sul do estado de Minas Gerais. (Reis *et al.*, 2006; Santos Júnior, 1998; Bonvicino *et al.*, 2008). Mede de 59 a 60cm, seu dorso é pardo-amarelo-escuro, apresentando grande número de espinhos que medem 40 mm de comprimento. A região ventral do corpo é desprovida de espinhos, e é apenas coberta de pêlos mais ou menos macios.

A distinção sexual só é possível através da observação dos órgãos genitais externos: no macho sendo possível quando o pênis está exposto e o prepúcio mais aparente e na fêmea a vulva está imediatamente cranial ao ânus. A época reprodutiva ocorre entre os meses de abril/maio e setembro/outubro (Bexton & Robinson, 2003).

A morfologia de animais silvestres tem sido muito pesquisada, sendo o sistema reprodutor e região pélvica uma importante ferramenta nas pesquisas, pois o assoalho pélvico possui grande importância por contribuírem no entendimento dos mecanismos relacionados à reprodução, ejaculação e processo de ereção, mantendo movimentos rítmicos durante toda a cópula, porém, poucos trabalhos descrevem sobre os aspectos específicos da anatomia na reprodução dos roedores da ordem (Rodentia) e sim sobre características gerais sobre o

período reprodutivo e desenvolvimento embrionário comparativo (Franciolli et al. 2011, Pieri et al. 2012).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ordem Rodentia

Espécies pertencentes à Ordem Rodentia estão distribuídas por todo o mundo, exceto na Nova Zelândia, Antártica e algumas ilhas oceânicas, ocupando desde regiões do litoral até montanhosas. Ecologicamente, podem ser encontradas em praticamente todos os tipos de nichos, apresentando várias adaptações para sobrevivência que lhes permitiram ser terrestres, fossoriais, arborícolas, semi-aquáticos ou altamente especializados para vida no deserto, no qual são saltatórios. O hábito alimentar do grupo é diversificado, sendo composto por espécies herbívoras e outras onívoras, consumindo, por exemplo, pequenas espécies de invertebrados ou fungos. (VAUGHAN; SARAGE & LONG, 1986; NOWAK & PARADISO, 1983).

Apresenta o maior número de espécies da classe Mammalia, cerca de 2.277 e seus representantes estão alocados em 33 famílias. Só no Brasil, há ocorrência de aproximadamente 71 gêneros e 235 espécies. A diversidade no tamanho corporal é marcante, variando de 1,3 m de altura e 50 kg, no caso da capivara, *Hydrochoeris hydrochaeris* (Linnaeus, 1766), a 10 cm e 5g entre os representantes da família Muridae (WILSON & REEDER, 2005; OLIVEIRA & BONVINCINO, 2006; SARAGE & LONG, 1986).

Apesar das diferenças ecológicas e morfológicas, o grupo compartilha a dentição como uma das características em comum entre seus representantes. Roedores possuem dois incisivos conspícuos na maxila e na mandíbula, sem raízes e que crescem constantemente, redução de tamanho nos pré-molares ou ausência desses em algumas espécies, e não possuem dentes caninos (SARAGE & LONG, 1986).

No esqueleto craniano pode-se encontrar as demais características em comum: a região pterigoide bem desenvolvida; fossa mandibular alongada e ausência de fossa e processo retro-articular, que permite que a mandíbula deslize rostral e caudalmente; o arco zigomático completo; grandes processos paracondilares presença de canal carótico; e região entre as órbitas às vezes bloqueadas e com processo zigomático do frontal bem desenvolvidos. O músculo temporal também é reduzido e, no esqueleto axial, muitas espécies apresentam clavículas (FELDHAMER et al., 2007).

2.1.1. Taxonomia, Morfologia e Distribuição dos Porcos-espinhos

Tullberg (1899) dividiu o grupo em duas Subordens: Sciurognathi e Hystricognathi, cuja primeira possui espécies de ratos e esquilos, por exemplo, e porcos-espinhos do Velho e Novo Mundo (Hystricidae e Erethizontidae, respectivamente) e porquinhos-da-índia se encontram na segunda Subordem (CARLETON, 1984). A classificação como porcos-espinhos do Velho e Novo mundo é diferenciada de acordo com a distribuição dessas espécies (NOWAK, 1999).

Com o propósito de resolver as relações entre famílias de roedores, Blanga-Kanfi et al. (2009) propuseram uma hipótese filogenética com base em um conjunto de dados abrangentes incluindo seis fragmentos de genes nucleares de 41 espécies de roedores, juntamente com oito espécies de grupos externos (Figura 1).

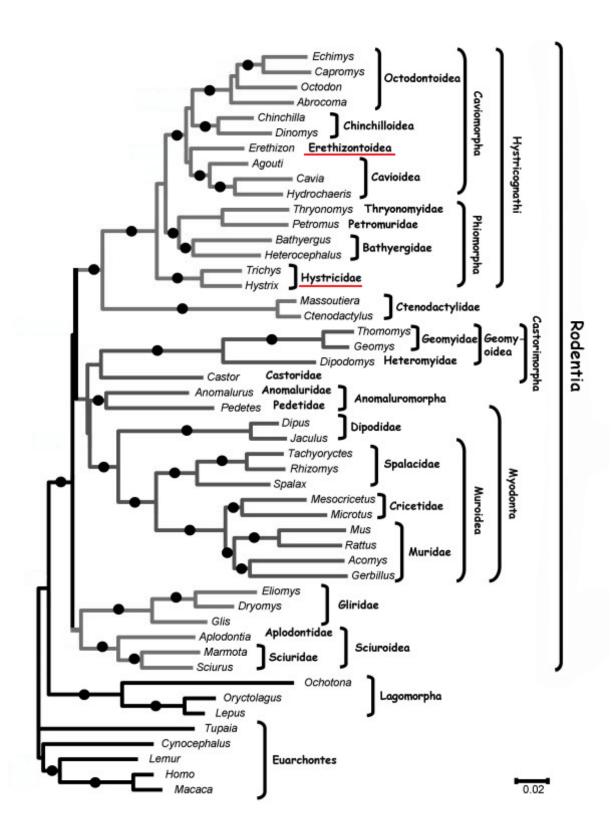


Figura 1-. Hipótese filogenética mostrando a proposta da posição das famílias Hystricidae e Erethizontidae nas relações evolutivas da Ordem Rodentia (adaptada de BLANGA-KANFI, et al., 2009).

2.1.2. Porcos-espinhos do Novo Mundo, o gênero Sphiggurus e a espécie em estudo

Pertencente à família Erethizontidae, os porcos-espinhos do Novo Mundo são encontrados da costa ártica da América do Norte ao norte da Argentina (WOODS, 1984). Desta forma, os cinco gêneros e quinze espécies com nomenclatura atualizada de acordo com Bonvicino et al. (2008), Voss et al. (2011; 2013), Nascimento & dos Santos (2014) e IUCN (2017) são:

- 1. Gênero Coendou Lacepede, 1799
 - 1.1 Coendou mexicanus Kerr, 1792
 - 1.2 Coendou quichua Thomas, 1899
 - 1.3 Coendou bicolor (Tschudi, 1844)
 - 1.4 Coendou prehensilis (Linnaeus, 1758)
 - 1.5 Coendou nycthemera (Olfers, 1818)
 - 1.6 Coendou speratus Mendes Pontes, Gadelha, Melo, Sá, Loss, Caldara Jr., Costa & Leite, 2013
 - 1.7 Coendou baturitensis Feijó & Langguth, 2013
- 2. Gênero Sphiggurus F. Cuvier, 1825
 - 2.1 Sphiggurus insidiosus (Lichtenstein, 1818)
 - 2.2 Sphiggurus villosus (F. Cuvier, 1823)
 - 2.3 Sphiggurus spinosus F. Cuvier, 1823
 - 2.4 Sphiggurus melanurus (Wagner, 1842)
 - 2.5 Sphiggurus roosmalenorum (Voss & da Silva, 2001)
 - 2.6 Sphiggurus vestitus (Thomas, 1899)
- 3. Gênero Erethizon F. Cuvier, 1825
 - 3.1 Erethizon dorsatum (Linnaeus, 1758)
- 4. Gênero Echinoprocta Gray, 1822
 - 4.1 Echinoprocta rufescens (Gray, 1865)

5. Gênero – Chaetomys Gray, 1843

5.1 Chaetomys subspinosus (Olfers, 1818)

No Brasil, pode-se encontrar espécies pertencentes aos gêneros *Chaetomys, Coendou* e *Sphiggurus* (OLIVEIRA & BONVINCINO, 2006; BONVICINO et al., 2008; PAGLIA et al., 2012; PONTES et al., 2013; FEIJÓ & LANGGUTH, 2013; NASCIMENTO & SANTOS, 2014) e uma hipótese filogenética baseada em dados moleculares por Vilela et al. (2009) demonstram as relações entre espécies dessa Família (Figura 2).

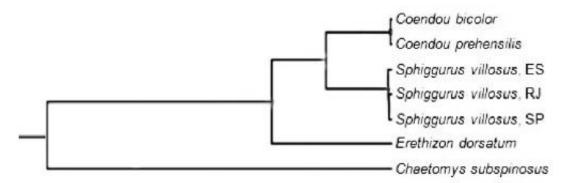


Figura 2 – Hipótese filogenética das relações evolutivas entre espécies da família Erethizontidae (modificado de VILELA, et al., 2009).

Quase todos os representantes do gênero *Sphiggurus* têm ocorrência no Brasil, com exceção de *S. vestitus*. A espécie *S. roosmalenorum* pode ser encontrada na região do Rio Madeira, no Amazonas (VOSS & DA SILVA, 2001), *S. spinosus* no sul e leste do país (WOODS & KILPATRICK, 2005), *S. melanurus* nos estados do Amapá, Pará, Roraima e Amazonas (VOSS et al., 2001). Já *S. insidiosus* pode ser encontrado do estado do Ceará ao Espírito Santo e *S. villosus* está distribuído do Rio de Janeiro ao Rio Grande do Sul, incluindo o estado de Minas Gerais (OLIVEIRA & BONVINCINO, 2006; BONVICINO et al., 2008).

Pouco se sabe sobre ecologia e comportamento de Erethizontidae neotropicais e menos ainda sobre a história natural de representantes do gênero *Sphiggurus*. Em um geral, encontra-se apenas alguns trabalhos que descrevem morfologia, hipóteses filogenéticas, distribuição geográfica e demografia (SANTOS JUNIOR, 1998; VOSS & ANGERMANN, 1997; BONVINCINO et al., 2000; GALVÃO, 2003).

Representantes do gênero apresentam quatro dígitos providos de garras fortes, uma calosidade com estrutura óssea que substitui o hálux e seis pares de tetas, como os demais gêneros da família, e crânio mais delgado e achatado que *Coendou* (HUSSON, 1978). Adultos de *Sphiggurus* são menores, com cauda igual ou menor que o corpo (CC= 311-415mm,

CA=238-415mm, PÉ=64-82mm) e pesam em torno de 1200 g (OLIVEIRA & BONVINCINO, 2006; MOOJEN, 1952; CUBAS et al., 2014; VOSS et al., 2001).

Em se tratando especificamente da espécie *S. villosus*, pode-se observar coloração amarelado-acinzentada no dorso e marrom-acinzentada ou marrom escuro no ventre. Sua pelagem é constituída por sobrepelos finos e longos capazes de encobrir os pelos guarda aculeiformes cilíndricos (espinhos) espalhados até a base da cauda preênsil, diferentemente do observado nos outros dois gêneros encontrados no Brasil (BONVICINO et al., 2008; FARIA et al., 2011). Quanto a sua biologia, trata-se de uma espécie solitária, noturna, arborícola e herbívora, alimentando-se de folhas, flores, brotos, sementes e frutos que busca no dossel das árvores. Em cativeiro observou-se que a espécie atinge a maturidade sexual em 19 meses, vive por 12 anos e tem uma ninhada por ano. A gestação dura 203 dias e origina de um a dois filhotes por vez, pesando 40g. O período de lactação é de 10 semanas (MOOJEN 1952; EMMONS & FEER 1997; OLIVEIRA & BONVINCINO, 2006; CUBAS et al., 2014).

Trabalhos na área de anatomia são escassos na espécie, estando restritos a estudos de caso, como adenocarcinomas em glândulas salivares (PERLES et al., 2017), e descrições morfológicas, como lobação pulmonar e distribuição brônquica (GUIMARÃES et al., 2012), por exemplo.

2.2 Pênis

O pênis é o órgão copulador masculino, sendo que este termo deriva do latim pendere, que significa pendurar ou pendurado. Já entre os romanos, assim como na língua portuguesa, haviam inúmeras expressões populares para designar o pênis (clava, vômer, radix, ramus, gladius) (FERNANDES, 1999). O termo é amplamente utilizado para uma série de animais invertebrados e vertebrados. Porém, em espécimes filogeneticamente mais distantes de indivíduos da classe Mammalia, frequentemente, esse órgão fica internalizado, sendo exposto apenas no momento da cópula (HOSKEN *et al.*, 2018).

De acordo com a forma e com sua estrutura, o pênis dos mamíferos ainda é classificado em fibroelástico e em músculo cavernoso. No pênis do tipo fibroelástico há aumento do comprimento peniano com poucas modificações no diâmetro durante a cópula, sendo encontrado no boi, no porco e em ratos. No pênis do tipo músculo cavernoso, que ocorre no cavalo, no cão, no gato e coelhos, há aumento tanto do comprimento quanto do

diâmetro durante a cópula (NICKEL et al., 1979; DYCE et al., 2010; KÖNIG & LIEBICH, 2016).

Anatomicamente, o pênis é dividido em raiz ou parte fixa, corpo ou porção intermediaria e a glande ou porção livre. A estrutura histológica do pênis revela que o tecido erétil se encontra organizado de modo a formar dois corpos cilíndricos, denominado corpo cavernoso e corpo esponjoso, sobretudo nas regiões de raiz e corpo. Essas duas estruturas também são envolvidas por uma fáscia peniana constituída de tecido conjuntivo denso fibroelástico, a túnica albugínea. Já o corpo esponjoso é pouco mais longo e se localiza ventralmente circundando a uretra (NICKEL et al., 1979, ROSS & ROMRELL, 1993; MAIA et al., 2006; DYCE et al., 2011; KÖNIG & LIEBICH, 2016).

Diversos estudos sobre a anatomia morfofuncional do pênis foram descritos, como em cães (CHRISTENSEN, 1954; HART & KITCHELL, 1965; NINOMIYA et al. 1989; SAADON, 2016), ratos (PINHEIRO et al., 2000), javali (BABINSKI et al., 2005), cutia (MOLLINEAU et al., 2006), porco espinho de crista africano (ATALAR & CERIBASI, 2006), morcego orelhudo cinzento (HERDINA et al., 2010), bovino e búfalo (RIBEIRO et al., 2013), coelho (MAIA et al., 2006; ABIDU-FIGUEIREDO et al., 2013) tuco-tucos (ROCHA-BARBOSA et al., 2013), gatos (BORGES et al., 2017), ouriço terrestre (AKBARI et al., 2018) carneiro (SCHIMMING & MORAES, 2018) e canguru (WARBURTON et al., 2019). Esses estudos auxiliaram a compreensão do comportamento de cópula dessas espécies (HART & KITCHELL, 1965; HANYU, 1988), além do fato que esses estudos implementaram técnicas que auxiliam o manejo e a melhoria das estratégias reprodutivas (BORGES et al., 2017), além de fornecer informações para a compreensão dos processos fisiopatológicos e o uso de terapias mais adequadas (HANYU et al., 1992; KUSTRITZ, 2001; ABIDU-FIGUEIREDO et al., 2013; GOERICKE-PESCH et al., 2013; BURSCHELL et al., 2014, BORGES et al., 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

O objetivo deste estudo foi analisar a estrutura macroscópica e microscópica do pênis de *Sphiggurus villosus* de modo a contribuir para o aumento de informações sobre a estrutura peniana dos animais silvestres.

3.2 Objetivos específicos

- Descrever a anatomia macroscópica do pênis de Sphiggurus villosus;
- Caracterizar, utilizando técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas, os elementos constituintes ou estruturais do pênis do *Sphiggurus villosus*;
- Caracterizar a superfície peniana de *Sphiggurus villosus*, através da microscopia eletrônica de varredura.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Comitê de ética

Este estudo é parte do Projeto "Pesquisa básica e aplicada em morfologia dos animais silvestres e exóticos" submetido e aprovado pela Comissão de Ética para o Uso de Animais (CEUA/UFRRJ, n° 018/2017).

4.2 Procedimento para o estudo macroscópico

Foram utilizados 15 ouriços machos provenientes do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO, RJ), doados ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Morfologia dos Animais Domésticos e Selvagens (LEPeMADS) do Departamento de Anatomia Animal e Humana da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Os espécimes foram posicionados em decúbito ventral, sendo os membros pélvicos abduzidos manualmente de modo a expor a região inguinal. Posteriormente, foi feito uma incisão na borda crânio lateral do óstio prepucial no sentido médio lateral de aproximadamente 2 centímetros seguida de uma incisão circular em toda a área ao redor do óstio prepucial incluindo a região perineal de *S. villosus*.

A documentação fotográfica da dissecção do pênis e os elementos de estática da espécie foram feitas com uma Câmera digital Nikon 5MP. Em seguida, foi feita uma incisão na raiz do pênis para a sua remoção. Os 15 (quinze) pênis remanescentes, foram acondicionados em frascos contendo solução de formaldeído à 10% para ser submetido ao procedimento histológico.

4.3 Análise microscópica

O processamento das amostras para análise da estrutura tecidual foi realizado no Laboratório de Histologia Integrativa da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Fragmentos do corpo de 15 (quinze) pênis de *Sphiggurus villosus* foram processadas de acordo com a técnica histológica de rotina para inclusão em parafina. Para tal, os

fragmentos foram desidratados utilizando-se concentrações crescentes de álcool etílico (álcool 70% por 30 min.; álcool 90% por 40 minutos; álcool 100% - dois banhos de 40 minutos cada). Os tempos utilizados foram os que se mostraram mais apropriados para a manutenção da integridade do material. Após a desidratação, os fragmentos foram clarificados em dois banhos sucessivos de xilol (30 minutos cada), impregnado em parafina (dois banhos de 40 minutos cada) e incluídos em parafina. Esse processamento foi realizado com o auxílio de um processador de bancada semifechado, automatizado, modelo Leica TP1020.

Cortes histológicos de 5 µm de espessura foram obtidos com o auxílio de um micrótomo da marca Leica, modelo RM2125 RT e coletados em lâminas e levados à estufa à 37°C durante 24 horas para secagem. Os cortes foram submetidos à diferentes colorações com a finalidade de caracterizar a morfologia geral dos pênis de *Sphiggurus villosus*.

4.3.1. Técnicas histoquímicas para caracterização morfológica

4.3.1.1 Coloração pela Hematoxilina-Eosina (HE) (LILLIE& FULLMER, 1976)

Os cortes foram desparafinizados em xilol (dois banhos), hidratados (álcool etílico 100%, 90%, 70%) e lavados em água destilada. A seguir procedeu-se a coloração pela hematoxilina de Harris por 15 segundos, seguida de lavagem em água corrente por até 5 minutos. Em seguida, os cortes foram corados por 10 segundos pela eosina. Após rápida lavagem em água destilada, os cortes foram desidratados (álcool etílico 70%, 90%, 100%), clarificados em dois banhos de xilol e montados com lamínulas usando-se entellan (Entellan®new, Merck). Neste método os núcleos coram-se em azul, e o citoplasma em rosa, permitindo a visualização geral da estrutura tecidual.

4.3.1.2 Técnica de coloração pelo Tricrômico de Mallory (LILLIE & FULLMER, 1976).

Os cortes foram desparafinizados em xilol (dois banhos), hidratados (álcool etílico 100%, 90%, 70%) e lavados em água destilada. Os cortes foram corados pela fucsina ácida à 1% por 2 minutos, lavado em água destilada e submetidos ao ácido fosfomolíbdico à 1% por 2 minutos e rapidamente lavado com água destilada. Posteriormente, os cortes foram corados pela solução com orange G 2%, azul de metila à 0,5% em ácido oxálico à 2%. Depois, os cortes foram lavados em água destilada, desidratados, clarificados em dois banhos de xilol e montados com lamínulas usando-se entellan (Entellan® new, Merck). Os núcleos coram-se em azul, as fibras colagenosas em azul e o tecido muscular em laranja.

4.3.1.3. Técnica de coloração pela orceína com coloração de fundo por light green (VALDIEIRO et al., 2019)

Os cortes foram desparafinizados em dois banhos de xilol (dois banhos), hidratados (álcool etílico 100%, 90%) e imersos em álcool 70° acidificado com ácido clorídrico a 0,1N por 1 minuto. Em seguida, os cortes foram corados por 3- minutos pela orceína (a 60°C, em estufa). Posteriormente, os cortes foram imersos em álcool 70% acidificado com ácido clorídrico a 0,1N por 1 minuto, seguido de lavagem em água destilada. A seguir, os cortes foram imersos em solução de light green a 1% por 3 minutos. Após esta etapa, os cortes foram lavados em água destilada, desidratados, clarificados e montados com lamínulas usando-se entellan (Entellan® new, Merck) e lamínula. As fibras do sistema elástico são coradas em vermelho-acastanhado, se contrastando com o fundo verde claro.

4.3.1.4 Técnica de coloração pelo Picrossírius red (JUNQUEIRA et al., 1979).

Os cortes foram desparafinizados em dois banhos de xilol, hidratados e em seguida corados por 1 hora pelo picrossirius red (solução 1% de Sirius Red F3BA em solução aquosa saturada de ácido pícrico). Posteriormente, os cortes foram imersos em solução de ácido clorídrico 0,1N por 2 minutos, visando retirar o excesso de corante e, a seguir, em água destilada. Em seguida, os cortes foram corados pela hematoxilina de Harris por 30 segundos e lavados em água corrente por 6 minutos. A seguir, os cortes foram desidratados, clarificados e montados com lamínulas usando-se entellan (Entellan® new, Merck). Feixes de fibras colagenosas espessas, em arranjo compacto, são evidenciados em vermelho.

4.4 Imuno-histoquímica

Os cortes destinados ao estudo pela imuno-histoquímica foram coletados em lâminas silanizadas para evitar o desprendimento do corte durante o procedimento da técnica. Os cortes foram desparafinizados e hidratados. Em seguida, os cortes foram tratados com uma solução de bórax 1% por 15 minutos para inibição dos grupamentos aldeídicos. Após lavagem com água destilada, a peroxidase endógena foi bloqueada com 1 banho de 20 minutos em H₂O₂ à 15% em PBS. Posteriormente, os cortes foram lavados duas vezes em tampão fosfato salina (PBS) e colocados em solução de soro de albumina bovina (BSA) à 3% em PBS por 1 hora e novamente lavado em PBS por 5 minutos. Em seguida, o material foi incubado com anticorpo primário anti-α-actina (HHF35, DAKO) para músculo liso diluída a 1:50 a 4 °C. Os cortes foram incubados com anticorpo secundário biotinilado durante 30 minutos, depois com ABC, diluído para 1: 100, durante 30 minutos. Para revelar a reação, os cortes foram incubados com 3,3'-diaminobenzidina (DAB) por 3 minutos e lavados em PBS. Finalmente, os cortes foram contra-corados com solução de light green a 1% por 3 minutos, desidratados, clarificados em xilol e montados com lamínulas usando-se Entellan®.

A imuno-histoquímica com anticorpo anti-alfa-actina foi realizada com objetivo de detectar células musculares lisas possibilitando a descrição de sua distribuição no tecido erétil do pênis do *Sphiggurus villosus*.

4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

As amostras destinadas à análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram fixadas em solução de formaldeído a 10% e desidratadas em série etanólica crescente (70%, 80%, 90%, 100% - 3x). Após a desidratação as amostras foram secas pelo método do HMDS (Hexametildisilazano, Sigma-Aldrich®). A amostra é submersa em HMDS com etanol na proporção 1:1 (5 min), seguido por HMDS a 100% (5 min). Após essa etapa, a amostra foi seca em temperatura ambiente. Todas as etapas do processo foram realizadas dentro de capela de exaustão. Em seguida a amostra foi montada sob suporte metálico (stub) e posteriormente metalizadas com cobertura de 18 nm de ouro. O tempo de metalização foi de

70 segundos e corrente de 40mA (Leica EM SCD050). O processamento da amostra e a metalização foram realizadas na Unidade de Microscopia Multiusuário Souto-Padrón Lins (UNIMICRO). As micrografias eletrônicas foram obtidas utilizando um microscópio eletrônico de varredura a 30kV (ZEISS EVO 10) no Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO – UFRJ).

4.6 Documentação fotográfica

As imagens histológicas foram obtidas com o auxílio de um microscópio Leica DM750, tendo sido capturadas utilizando-se uma câmera digital modelo Leica DFC425.

5 RESULTADOS

As dissecções e as técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas possibilitaram a análise dos achados macroscópicos e microscópicos do pênis de *Sphiggurus villosus*, permitindo a caracterização da morfologia externa e interna dos pênis através da identificação dos seus elementos teciduais.

5.3 Aspectos macroscópicos e de superfície do pênis de Sphiggurus villosus

A dissecção do pênis de *Sphiggurus villosus* permitiu a identificação de músculos. isquiocavernoso e o bulboesponjoso, constituindo a raiz do pênis (radix penis). Esta estrutura de formato cilíndrico segue cranialmente disposta sendo contínua ao corpo (corpo do pênis). Nesta região, uma flexura peniana determina a orientação caudal do seguimento distal do corpo que é contínua com a extremidade livre - glande (glans penis) (Figura 3).

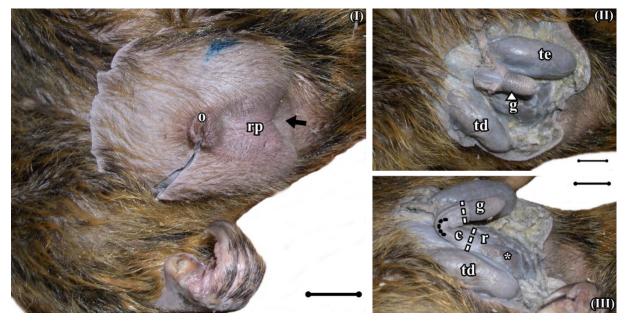


Figura 3- Fotomacrografias do pênis de *Sphiggurus villosus* dissecado in loco. (I) Vista ventrocaudal de *S. villosus* evidenciando a região perineal (rp) entre o óstio prepucial (o) ventralmente e, o ânus (seta) dorsalmente. (II) Vista ventral evidenciando o pênis e testículos após retirada da pele (prepúcio e escroto): g – glande do pênis com espículas penianas, td – testículo direito, te – testículo esquerdo longa da glande. (III) Vista ventrolateral do pênis de *S. villosus* evidenciando os seguimentos anatômicos: r -raiz, c – corpo do pênis apresentando flexura peniana (pontilhado em preto), g – glande com espículas penianas, *m. isquiocavernoso. Barra de escala 1cm.

A raiz e o corpo do pênis apresentam corpo cavernoso único disposto dorsolateralmente e o corpo esponjoso ventral. O corpo esponjoso envolve o segmento peniano da uretra e se dispõem ventralmente, sendo o único tecido erétil a constituir a glande de *Sphigurus villosus*.

O corpo cavernoso e corpo esponjoso são delineados por uma lâmina espessa de tecido fibroso, a túnica albugínea, que se dispõe ao redor destes tecidos eréteis dando formato cilíndrico ao pênis.

A glande do pênis apresenta inúmeras protuberâncias espinhosas dispostas ao longo da glande, as quais desaparecem ao se aproximar da extremidade distal. A extremidade distal da glande possui projeções ligeiramente digitiformes que se voltam medianamente formando uma invaginação o *sacculus urethralis* (Figura 4).

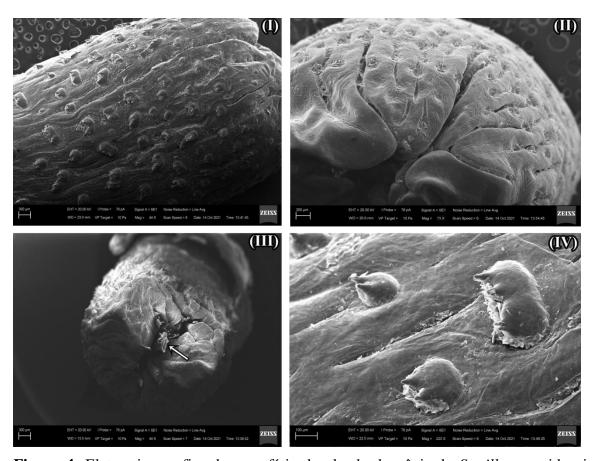


Figura 4- Eletromicrografias da superfície da glande do pênis de *S. villosus* evidenciando protuberâncias espinhosas orientadas caudalmente e dispostas por todo o seguimento da glande, os quais desaparecem na extremidade distal do pênis. (I) Vista lateral da glande com protuberâncias espinhosas únicas ou duplas orientadas caudalmente. (II) Projeções digitiformes da extremidade distal da glande voltando-se medianamente formando uma

invaginação, *sacculus urethralis*. (III) Extremidade distal da glande e o processo uretral (seta). (IV) Protuberâncias espinhosas duplas ou triplas na glande do pênis.

5.4 Aspectos histoquímicos e imunohistoquímicos do pênis de Sphiggurus villosus

O corpo esponjoso e o corpo cavernoso contêm vasos sanguíneos irregulares, os seios vasculares. No corpo cavernoso, os feixes de fibras colagenosas são mais espessos em comparação com a região do corpo esponjoso, e estruturam os espaços cavernosos por meio de trabéculas de feixes de fibras de colágeno.

A uretra peniana é revestida por uma mucosa pregueada, formada por epitélio de transição que repousa sobre uma lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo.

Um epitélio pavimentoso queratinizado reveste a superfície externa do pênis e repousa sobre uma lâmina própria de tecido conjuntivo que se une a fáscia conjuntiva peniana, a túnica albugínea. Esta estrutura determina o formato cilíndrico do pênis de *S. villosus*, onde emite feixes conjuntivos que circundam os tecidos eréteis (Figura 5).

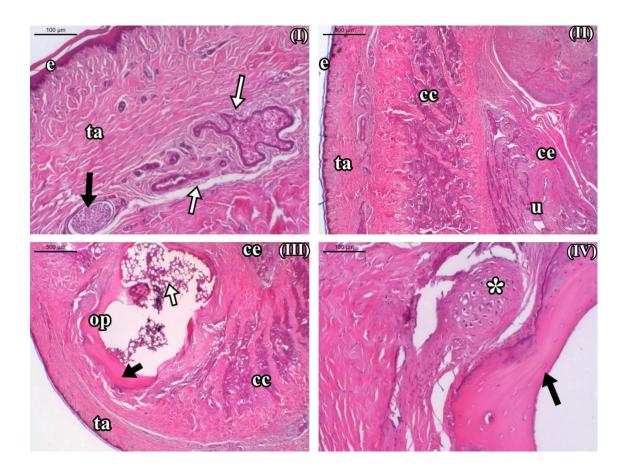


Figura 5 - Fotomicrografias de cortes do pênis de *S. villosus*. Em (I): e – epitélio pavimentoso estratificado queratinizado, ta – túnica albugínea apresentando nervos (seta preta) vasos sanguíneos (setas brancas). (II): e – epitélio, ta – túnica albugínea, cc – corpo cavernoso, ce corpo esponjoso, u – uretra peniana apresentando mucosa pregueada; em (III): ta – túnica albugínea, cc – corpo cavernoso, op – osso peniano a notar o osso compacto (seta preta) e osso esponjoso (seta branca), ce – corpo esponjoso. (IV) Notar o osso compacto (seta preta) com matriz eosinofílica e presença de osteócitos; *condrócitos ao redor do osso compacto no corpo cavernoso do pênis. Coloração: HE.

As fibras de colágeno participam estruturalmente da histoarquitetura peniana de *S. villosus*. Os tecidos eréteis (corpo cavernoso e esponjoso) são estruturados por feixes de fibras de colágeno em diferentes orientações, os quais mostram-se mais espessas em todo o corpo cavernoso. No corpo esponjoso notam-se feixes de fibras mais delgados (Figura 6 e Figura 7).

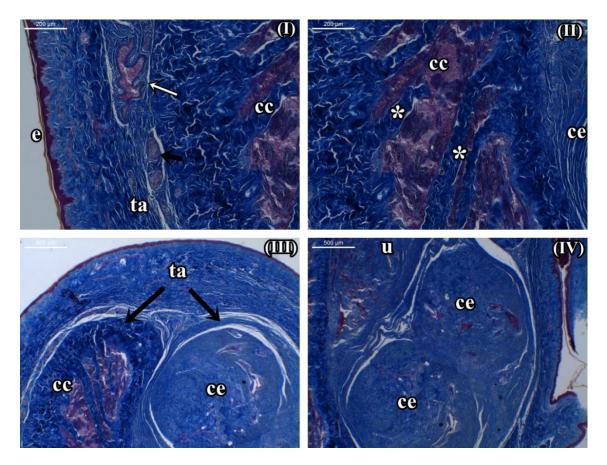


Figura 6- Fotomicrografias de cortes do corpo do pênis de *S. villosus*. Em (I): e – epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, ta – túnica albugínea, vasos (seta branca) e nervos (seta preta), cc – corpo cavernoso; em (II): cc – corpo cavernoso, ce - corpo esponjoso. Notar trabéculas de feixes de fibras de colágeno estruturando os espaços cavernosos (*). Em (III): Feixes espessos de fibras de colágeno (setas pretas) provenientes da túnica albugínea (ta) circundam os tecidos eréteis (cc- corpo cavernoso e ce- corpo esponjoso). Em (IV): u – uretra peniana dorsal e medianamente disposta aos corpos esponjosos (ce) circuncritos por tecido conjuntivo da túnica albugínea. Coloração: Tricrômico de Mallory.

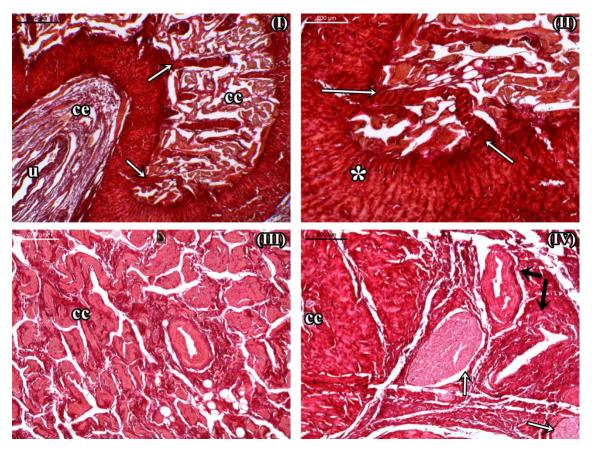


Figura 7- Fotomicrografias de cortes transversais do pênis de *S. villosus* (I): cc – corpo cavernoso, ce – corpo esponjoso, u – uretra. Notar predomínio de feixes de fibras colagenosas densamente compactadas estruturando o corpo cavernoso (setas). Em (II) notar intenso vermelho ocasionado pelo predomínio de feixes espessos de fibras de colágeno na histoarquitetura do corpo cavernoso do pênis (*) projetando-se para o interior (setas) de modo a estruturar os espaços cavernosos. Em (III): cc – corpo cavernoso; notar vasos e tecidos na mesma intensidade de coloração. Em (IV) cc – corpo cavernoso; notar presença de nervos (setas brancas) e vasos (setas pretas). Coloração: Picrossirius red.

As fibras elásticas também estão presentes em grande quantidade e dispersas em diferentes orientações por todo o tecido conjuntivo, principalmente no corpo esponjoso, e ao redor de estruturas vasculares (Figura 8).

As células musculares lisas estão presentes em grande quantidade no corpo cavernoso e no corpo esponjoso estão restritas às regiões das estruturas vasculares, ocorrendo na região de submucosa (Figura 9).

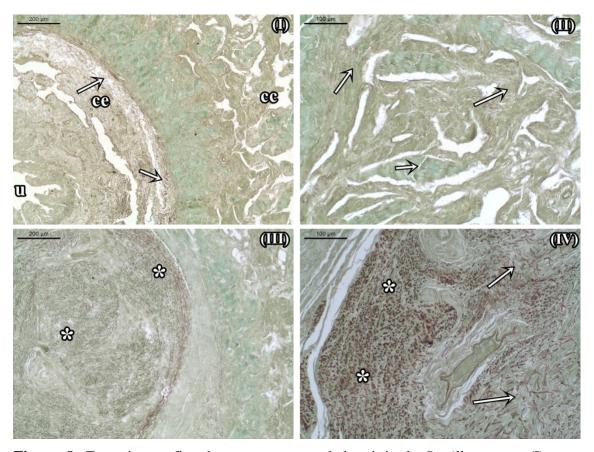


Figura 8- Fotomicrografias de corte transversal do pênis de *S. villosus*; em (I) u – uretra peniana, ce -corpo esponjoso, cc – corpo cavernoso. Notar fibras elásticas dispostas transversalmente nos limites do corpo esponjoso (setas). (II). As fibras do sistema elástico (setas) estão distribuídas por todo o tecido conjuntivo do corpo cavernoso. Em (III e IV) notar intensa quantidade de fibras elásticas dispostas por todo corpo esponjoso, dispostas longitudinalmente (*) e transversalmente (setas). As fibras do sistema elástico são visualizadas em marrom pela coloração seletiva da orceína.

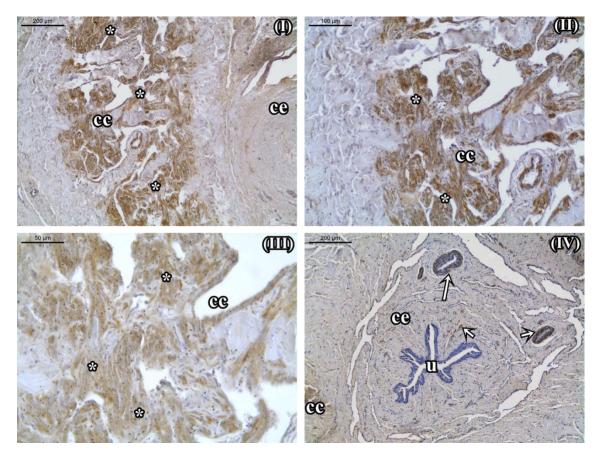


Figura 9- Fotomicrografias de corte transversal do pênis de *S. Villosus;* em (I, II e III): cc - corpo cavernoso (em diferentes aumentos) e ce - corpo esponjoso. Notar a presença de células musculares lisas (*) na histoarquitetura do corpo cavernoso nos diferentes aumentos (I, II e III); em (IV): notar células musculares lisas na submucosa do corpo esponjoso (ce), ao redor de estruturas vasculares e na parede de estruturas vasculares (setas), u – uretra, cc – corpo cavernoso. Reação imuno-histoquímica com anticorpo anti-α-actina de músculo liso.

6 DISCUSSÃO

A morfologia do pênis tem sido amplamente usado em estudos taxonômicos e sistemáticos (BRADLEY & SCHMIDLY, 1987; BRADLEY *et al.*, 1989; LEÓN-ALVARADO & RAMIREZ-CHAVES, 2017), como em outros estudos que fornecem subsídios para uma melhor compreensão da cópula e sistemas de seleção sexual (ALTUNA & LESSA, 1985; SIMSON *et al.*, 1995; ATALAR & CERIBASI, 2006; PARAG *et al.*, 2006, ROCHA-BARBOSA *et al.*, 2013; AKBARI *et al.* 2017; HOSKEN *et al.* 2018, WARBURTON *et al.*, 2019, SANTOS-SOUSA, 2021).

Para Nickel *et al.* (1979), König e Liebich (2016), Dyce *et al.* (2019), o pênis dos mamíferos pode ser classificado de acordo com sua constituição dos elementos teciduais em dois tipos: pênis fibroelástico e pênis do tipo músculo cavernoso. No pênis do tipo fibroelástico, a histoarquitetura é predominantemente composta por fibras colagenosas e fibras do sistema elástico, tendo como característica a flexura sigmoide que é desfeita no momento da cópula com consequente aumento do pênis em comprimento. O pênis do tipo músculo cavernoso ou vascular não apresenta a flexura sigmoide, tendo seu aumento, tanto em diâmetro como em comprimento, no momento da copula. Em *S. villosus*, foi evidente uma concentração de tecido muscular na composição do corpo cavernoso em contraste com a túnica albugínea que o envolve. Essas considerações são corroboradas pelas colorações, como o Tricrômico de Mallory, que permitiu observar uma coloração roxo-avermelhada no interior do corpo cavernoso confirmada pela positividade na imuno-marcação para anti-alfa-actina para músculo liso.

Ressalte-se ainda que, a matriz peniana de *S. villosus* foi composta por predomínio de tecido conjuntivo denso, características essas demonstradas pelas técnicas histoquímicas de Tricrômico de Mallory e picrossírius red, que de acordo com De Brito-Gitirana (2019) os elementos fibrosos do tecido conjuntivo preferencialmente formado por fibras à base de colágeno quando submetidos ao Tricrômico de Mallory são visualizados em azul e, a coloração pelo picrossírius red permite observar o arranjo dos elementos fibrosos à base de colágeno na coloração vermelha. Estes mesmos achados foram reportados nos estudos de Atalar e Ceribasi (2006) em porco-espinho (*Histrix cristata*).

Akbari *et al.* (2017) ao estudarem a morfologia peniana de sete ouriços adultos (*Eurinaceus europaeus*) consideraram que estes animais, possuem o pênis semelhante aos carnívoros como cão e gato, todavia, os mesmos autores não se basearam nas classificações

propostas por Nickel *et al.* (1979), König e Liebich (2016) e Dyce *et al.* (2019), os quais determinam que o pênis destes são musculo-cavernosos. Para Akbari *et al.* (2017) a classificação mais adequada para a histoarquitetura peniana foi proposta por Wrobel e Bergmann (2006) ao se considerar três tipos de pênis de acordo com o desenvolvimento de tecidos eréteis em vez de elementos fibrosos do tecido conjuntivo. O primeiro, "pênis do tipo vascular", continha feixes de tecido muscular. O segundo, "pênis do tipo fibroso", tinha elementos conjuntivos fibrosos bem desenvolvidos no tecido erétil e, o terceiro, "pênis do tipo intermediário", tinha moderada quantidade de elementos conjuntivos. Com base nesta classificação, os autores classificaram o pênis como tipo intermediário.

As fibras elásticas também ocorreram abundantemente no corpo esponjoso e, em menor proporção no cavernoso, na túnica albugínea e por toda matriz peniana de *S. villosus*. Estes elementos também foram descritos em diversos estudos sobre o pênis de mamíferos em condições normais (PINHEIRO *et al.*, 2000; BABINSKI *et al.*, 2005; MAIA *et al.*, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2013; SCHIMMING & MORAES, 2018; SANTOS-SOUSA, 2021) como em diferentes situações fisiológicas (ABIDU-FIGUEIREDO *et al.*, 2013, BORGES *et al.*, 2017).

De acordo com os estudos de Cotta-Pereira *et al.* (1976), Kreis e Vale (1993) e Kielty (2006), as fibras do sistema elástico estabilizam o colágeno e caracterizam áreas teciduais engajadas com a elasticidade e extensibilidade; essas fibras elásticas ocorrem normalmente em estruturas que, após aplicação de forças de alongamento, sofrem deformação e, uma vez cessadas essas forças, o tecido retorna à sua forma original.

A presença de um corpo cavernoso localizado dorsolateralmente e um corpo esponjoso ventralmente, envoltos por uma fáscia de tecido conjuntivo - a túnica albugínea, são relatos presentes em vários estudos com mamíferos placentários (CHRISTENSEN, 1954; HART & KITCHELL, 1965; NINOMIYA *et al.*, 1989; PINHEIRO *et al.*, 2000; BABINSKI *et al.*, 2005; ATALAR & CERIBASI, 2006; MAIA *et al.*, 2006; MOLLINEAU *et al.*, 2006; HERDINA *et al.*, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2013; ABIDU-FIGUEIREDO *et al.*, 2013; BORGES *et al.*, 2017; SAADON, 2016; AKBARI *et al.*, 2018; SCHIMMING & MORAES, 2018, SANTOS-SOUSA, 2021) e em um representante da infraclasse Marsupialia (WARBURTON *et al.*, 2019) corroborando com os resultados observados em *S. villosus*.

Os seguimentos anatômicos raíz, corpo e ápice evidenciados no presente estudo são regiões características dos pênis de mamíferos relatados em toda literatura. Ainda assim, uma flexura mediana no corpo do pênis (terço médio) foi observada, o que alterou a orientação do

pênis no interior do prepúcio. Sendo assim, apesar da raiz peniana proporcionar uma orientação cranial, a presença da flexura peniana a nível de corpo do pênis em formato de "C" determinou com que a glande se direcionasse caudalmente. Estes achados diferem dos reportados para outros ouriços e ou porcos espinhos como reportados por Atalar e ceribasi (2006) e Akbari et al. (2017).

Segundo Dursun (1996), a glande e o corpo do pênis dos equídeos e carnívoros são separados um do outro por um evidente colo do pênis. Sendo apontado por Popesko et al. (1990), indicando os mesmos resultados para coelhos. Rocha et al.,(2013), analisando três espécies analisadas Tuco-tucos, , and *Ctenomys torquatus*, *C. minutus C. flamarioni* (*Rodentia: Ctenomyidae*), observaram que a superfície da glande do pênis é recoberta por pequenos espinhos, onde a forma e densidade parecem ser específicas da espécie. Sendo esses pequenos espinhos semelhantes aos espinhos penianos encontrados em outros grupos de roedores (Bradley e Schmidly, 1987; Parag et al., 2006).

As ornamentações penianas podem ter várias funções como, por exemplo, induzir a ovulação ou atuar como incentivo à aceitação masculina através da estimulação vaginal, ou garantir o bloqueio genital, prendendo as paredes da vagina durante a relação sexual (Altuna e Lessa, 1985). Em espécies com alta competição espermática, esses espinhos também podem ter a função de remover o sêmen depositado na vagina da fêmea de acasalamentos anteriores (Parag et al., 2006).

Protuberâncias espinhosas na superfície da glande foram verificadas no presente trabalho, esses resultados foram semelhantes aos resultados de Akbari *et al.* (2017), com ouriço europeu, assim como em outros mamíferos como gato, rato-toupeira africano, (Parag, A et.al 2006) porco-espinho, Atalar 2005 porquinho da índia, (Cooper. G) cutia Mollineau W.et al 2006.

Em mamíferos eutérios, como primatas não humanos, roedores, quirópteros e carnívoros em geral, o pênis pode ser enrijecido por uma estrutura óssea chamada osso peniano (HAMILTON, 1949), sendo essa estrutura altamente variável, podendo ser pequena ou alongada. Tipicamente o báculo ou osso peniano consiste em uma haste ossificada na extremidade distal do corpo cavernoso e se estende para a glande, aumentando sobre influência hormonal pela testosterona (DIXSON, 1998).

Várias hipóteses têm sido formuladas para explicar o surgimento do osso peniano. Alguns autores sugerem que o osso peniano surgiu como um subproduto da seleção indireta e pleiotropia (BURT, 1960; MAYR, 1963); entretanto, em contrapartida, os custos energéticos

para o crescimento e manutenção dessa estrutura, bem como os riscos de infecção, fratura ou ruptura (SANDERSON, 1950; BOLTON *et al.*, 1996; KIERDOF, 1996) sugerem que o osso do pênis é uma característica adaptativa (LARIVIÈRE & FERGUSON, 2002).

Apesar das hipóteses em relação da presença de osso peniano e seleção sexual, Hosken *et al.* (2018) ressaltaram que inferências filogenéticas relacionadas às diferenças na morfologia e tamanhos de pênis em animais não são possíveis, visto que ainda existem muitas lacunas na literatura em relação à caracterização morfológica em muitas espécies e sobretudo análises moleculares mais abrangentes.

Embora tenha sido verificado a presença de osso peniano em *S. Villosus*, não foi possível descrever a sua morfologia e disposição topográfica no pênis. Entretanto, é razoável supor que estas estruturas estejam dispostas pela região da glande uma vez que estes achados são observados e descritos na literatura para carnívoros (CHRISTENSEN, 1954; HART & KITCHELL, 1965; NICKEL *et al.* 1979; NINOMIYA *et al.*, 1989; KÖNIG & LIEBICH, 2016; BORGES *et al.*, 2017, DYCE *et al.* 2019; SANTOS-SOUSA, 2021), ratos (PINHEIRO *et al.*, 2000) e outros porcos espinhos (ATALAR & CERIBASI, 2006; LEÓN-ALVARADO & RAMIREZ-CHAVES, 2017) ocorrendo como um modificação do corpo cavernoso.

Em relação à uretra peniana de *S. villosus* foi demostrado que a uretra é formada por epitélio de transição (urotélio) que repousa sobre uma lâmina própria de tecido conjuntivo, constituindo uma mucosa pregueada, esses achados foram semelhantes ao descrito nos pênis de outros mamíferos (WROBEL & BERGMANN, 2006).

7 CONCLUSÃO

Os pênis de *S. villosus* apresentaram a origem, morfologia macroscópia e microscópica semelhantes ao de roedores como Histrix cristata e espécies do gênero coendu.

A classificação anatômica do pênis proposta pela literatura anatomica animal não contempla na totalidade a organização estrutural do pênis de *S. villosus*.

Os resultados apresentados no presente estudo podem auxiliar na compreensão do comportamento de cópula destes animais, melhorando o manejo e promovendo a melhoria de estratégias reprodutivas em animais de cativeiro. Além disso, os resultados contribuem para o a aumento das informações na área de morfologia animal comparada.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIDU, F. M.; COSTA W.S.; CHAGAS M.A.; SAMPAIO F.J.B.; CARDOSO L.E.M. Agerelated changes in the concentration of elastic fibers in different regions of the rabbit penis. **Acta Cirúrgica Brasileira.** v. 28, p. 378-384, 2013.

ALTUNA, CA. and LESSA EP., 1985. Penial Morphology in Uruguayan Species of Ctenomys (Rodentia: Octodontidae). **Journal of Mammalogy**, vol. 66, no. 3, p. 483-488. http://dx.doi. org/10.2307/1380923

ATALAR, O., and A. O. Ceribasi. 2006. The morphology of the penis in porcupine (Hystrix cristata). **Veterinami Medicina** 51:66-79.

BABINSKI, M. A.; BRITO-GITIRANA, L.; CHAGAS, M. A.; ABIDÚ, F. M.; COSTA, W. S.; SAMPAIO, F. J. B. Immunohistochemical analysis of smooth muscle cells and volumetric density of the elastic system fibers of wild boar (Sus scrofa) penis. **Animal Reproduction Science**, v.86, n. 3-4, p. 317–328, 2005.

BLANGA-KANFI, B.; MIRANDA, H.; PENN, O.; PUPKO, T. DEBRY, J. W.; HUCHON, D. Rodent phylogeny revised: analysis of six nuclear genes from all major rodent clades. BMC **Evolutionary Biology**, v. 9, p. 71, 2009.

BRADLEY, RD. and SCHMIDLY, JD., 1987. The glans penis and bacula in latin American taxa of the Peromyscus boylii group. **Journal of mammalogy**, vol. 68, p. 595-616.

BRADLEY, RD., SCHMIDLY, JD. and OWEN, RD.,1989. Variation in the glans penis and bacula among latin american populations of the Peromyscus boylii species complex. **Journal of mammalogy**, vol. 70, no. 4, p. 712-725. http://dx.doi.org/10.2307/1381706

BONVINCINO, C. R. ALMEIDA, F. C.; CERQUEIRA, R. The karyotype of Sphiggurusvillosus (Rodentia: Erethizontidae) from Brazil. **Studieson Neotropical Fauna &Environment**, v. 35, p. 81–83, 2000.

BORGES, N.C.S.; PEREIRA, S.M.A.; PEREIRA, V.A.; ABIDU, F.M.; CHAGAS M.A. Effects of castration on penile extracellular matrix morphology in domestic cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 19. p. 1261-1266, 2017.

; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. Guia dos roedores do Brasil,													
com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Par													
Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS, 2008.													
			_; PENNA-	FIRME,	V.;	BRAGGI	О, Е.	Molecular	and	karyologic			
evidence	of	the	taxonomic	status	of	Coendou	and	Sphiggurus	(Ro	ODENTIA:			
HYSTRIC	COG	VATE	II) Journal of	f Mamm	าลไกฮ	v v 83(4)	n 107	1_1076_200	2				

CARLETON, M. D. Chapter 9: Introduction to Rodents. In: ANDERSON, S.; JONES, J. K., Orders and Families of Recent Mammals of the World. New York: John Wiley & Sons, p.255-265, 1984.

CARPENTER M.B. **Neuroanatomia Humana**. 7^a ed. Interamericana, Rio de Janeiro, p.770, 1978.

Guia para a dissecação do cão. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 85-99, 2001.

COTTA-PEREIRA, G.; GUERRA, R.F.; BITTENCOURT-SAMPAIO, S. Oxytalan, eulaunin and elastic fibers in the human skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v.66, n. 143-148, 1976.

Cooper G, Schiller AL. **Anatomy of the Guinea Pig**. Harvard University Press, Cambridge, MA. 1975

De BRITO-GITIRANA, L.B. Coleção conhecendo: Histologia dos Tecidos. Rio de Janeiro: Publit, 2019.

MAIA, R. S.; BABINSKI, M.A.; ABIDU, F. M.; CHAGAS M.A; COSTA, W.S.; SAMPAIO, F.J.B. Concentration of elastic system fibers in the corpus cavernosum, corpus spongiosum, and tunica albuginea in the rabbit penis. International Journal of Impotence Research. v.18, n. 2, p.121-125, 2006.

OLIVEIRA, J. A. de; BONVINCINO, C. R. Ordem Rodentia. IN: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. **Mamíferos do Brasil**. Londrina, p. 386-387, 2006.

PARAG, A., BENNETT, NC., FAULKES, CG. and BATEMAN, PW., 2006. Penile morphology of African mole rats (Bathyergidae): structural modification in relation to mode of ovulation and degree of sociality. **Journal of Zoology**, vol. 270, p. 323-329. http://dx.doi. org/10.1111/j.1469-7998.2006.00141. x.

PERLES, L.; KAWAMOTO, F. Y. K.; MATSUI, A.; RIBEIRO, J. M.; VASCONCELOS, R. O.; WERTHER, K. Salivary gland adenocarcinoma in an orange-spined hairy dwarf porcupine (*Sphiggurus villosus*).**BrazilianJournalofVeterinayPathology**, v. 10(1), p. 27-31,2017.

PINHEIRO, A. C. A. D.; COSTA, W. S.; CARDOSO, L. E. M.; SAMPAIO, F. J. B. Organization and relative content of smooth muscle cells, collagen and elastic fibers in the corpus cavernosum of rat penis. **Journal of Urology**, v.164, n.5, p.1802–1806, 2000.

PONTES, A. R. M.; GADELHA, J. R.; MELO, É. R. A.; SÁ, F. B. de; LOSS, A. C.; JUNIOR, V. C.; COSTA, L. P.; LEITE, Y. L. R. A new speciesofporcupine, genus Coendou (Rodentia: Erethizontidae) from the Atlantic forestof northeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 3636 (3), p. 421–438, 2013.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. **Mamíferos do Brasil**. Londrina, 2006: 386-387, 2006.

RIBEIRO I.C.A.; ABIDU, F M.; COSTA F.B.; PEREIRA, S. M.A.; CHAGAS, M.A. Stereological study of the elastic fiber and smooth muscle cell system in the bovine and buffalo penis. Pesquisa Veteretinária Brassileira, v. 33. p. 107, 2013.

Rocha-Barbosa, O., J. S. L. Bernardo, M. F. C. Loguercio, T. R. O. Freitas, J. R. Santos-Mallet, and C. J. Bidau. 2013. Penial morphology in three species of Brazilian Tuco-tucos, Ctenomys torquatus, C. minutus and C. flamarioni (Rodentia: Ctenomydae). **Brazilian Journal of Biology** 73:201-209.

SANDERSON, G.C. Methods of measuring productivity in raccoons. **Journal of Zoology**, v. 14, p. 389-402, 1950.

Simson, S., L. Ferruci, C. Kurtonur, B. Özkan, and M. G. Filippucci. 1995. Phalli and Bacula of European Dormice: description and comparison. Hystrix, the Italian **Journal of Mammalogy** 6:231-244.

SCHIMMING, B.C.; MORAES, G.N. Morphological analysis of the elastic and collagen fibers in the ram penis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38 n.11 p, 2159-2165, 2018.

VAUGHAN, T.A. Order Rodentia. IN: **Mammalogy**. London: CBS College Publishing pp. 244-276, 1986.

VOSS, R. Revisionary Notes on Neotropical Porcupines (Rodentia: Erethizontidae) 3. An Annotated Checklist of the Species of *Coendou*Lacépède, 1799. **American Museum Novitates**, (3720), p. 1-36. 2011.

______; ANGERMANN, R. Revisionary notes on Neotropical porcupines (Rodentia: Erethizontidae). 1. Type material described by Olfers (1818) and Kuhl (1820) in the Berlin Zoological Museum. American Museum Novitates, (3214), p. 1–42, 1997.

HUBBARD, C.; JANSA, S. A. Phylogenetic Relationships of New World Porcupines (Rodentia, Erethizontidae): Implications for Taxonomy, Morphological Evolution, and Biogeography. American Museum Novitates, (3769), p. 36, 2013.

WARBURTON, N. M.; BATEMAN, P. W.; FLEMING, P. A. Anatomy of the cavernous muscles of the kangaroo penis highlights marsupial-placental dichotomy. **Journal of Anatomy**, v. 243, n. 3, p: 306-315, 2019.

KIELTY, C. M. Elastic fibres in health and disease. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 8, p. 1-23, 2006.

KREIS, T.; VALE, R. Guidebook to the Extracellular Matrix and Adhesion Proteins. Oxford University Press, Oxford, p.40-51, 1993.

LARIVIÈRE, S.; FERGUSON, S.H. On the evolution of the mammalian baculum: vaginal friction, prolonged intromission or induced ovulation? **Mammal Review**, v. 32, p. 283-294, 2002.

Mollineau W, Adogwa A, Jasper N, et al. The gross anatomy of the male reproductive system of a neotropical rodent: the agouti (Dasyprota leporina). **Anat Histol Embryol.** 2006; 35(1): 47–52, doi: 10.1111/j.1439-0264.2005.00656.x, indexed in Pubmed: 16433673.

Murakami R. A histological study of the development of the penis of wild-type and androgen-insensitive mice. **J Anat**. 1987; 153: 223–231, indexed in Pubmed: 3429322.

NICKEL R, SCHUMMER A, SEIFERLE E. **The Anatomy of the domestic animals**. Male genital organs. Vol. 2. Verlag Paul Parey, Berlin. 1981: 304–348.

WROBEL, K.H.; BERGMANN, M. Male reproductive system. In: Eurell, J. A.; Frappier, B.