

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

*Análise do perfil bioquímico-hematológico em populações de tuco-tucos
(Ctenomys lami) com e sem impacto antrópico, no Rio Grande do Sul, Brasil.*

GISELE GUIOMARA STEIN

PORTO ALEGRE
2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

*Análise do perfil bioquímico-hematológico em populações de tuco-tucos
(Ctenomys lami) com e sem impacto antrópico, no Rio Grande do Sul, Brasil.*

Autor: Gisele Guiomara Stein

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias a UFRGS para obtenção de grau de mestre.

Orientador: André Silva Caríssimi

Co-Orientador: Thales Renato O. de Freitas

PORTO ALEGRE
2009

FOLHA DE APROVAÇÃO

Gisele Guiomara Stein

Análise do perfil bioquímico-hematológico em populações de tuco-tucos (*Ctenomys lami*) com diferentes graus de impacto antrópico, no Rio Grande do Sul, Brasil.

Aprovada em 27 de março 2009.

APROVADO POR:

Prof. Dr. André Silva Caríssimi, UFRGS
Orientador

Prof. Dr. Félix Hilário Diaz González, PPGCV- UFRGS
Membro da Comissão

Dra. Eliane Dallegrave, FEPS
Membro da Comissão

Dra. Maria do Carmo Both, FZB/RS
Membro da Comissão

S813a Stein, Gisele Guiomara

Análise do perfil bioquímico-hematológico em populações de tuco-tucos (*Ctenomys lami*) com e sem impacto antrópico, no Rio Grande do Sul, Brasil./ Gisele Guiomara Stein. – Porto Alegre: UFRGS, 2009.

65 f. – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2009. André Silva Caríssimi, Orient.

1. Análise química do sangue: *Ctenomys lami* 2. Roedores: sangue: bioquímica I. Caríssimi, André Silva, Orient. II. Freitas, Thales Renato O. de, Co-orient. III. Título.

CDD 619.6233

Catálogo na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS

*“Não é digno de saborear o mel aquele que se afasta da colméia
por medo das picadelas das abelhas”*

– Shakespeare –

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos animais;

Criaturas frágeis, mas de valor imensurável;

Razão de minhas conquistas, motivação do meu dia a dia;

...

Agradeço aos meus pais, Albano e Elena Stein, os quais sempre me apoiaram sem questionar minhas escolhas.

Ao meu orientador André S. Carissimi, que novamente acreditou e acolheu mais um amante da vida silvestre. Ao meu co-orientador Thales R. O. Freitas que me proporcionou a oportunidade de poder trabalhar com estes pequenos roedores subterrâneos, mostrando-me um mundo novo, desconhecido, mas curioso.

Agradeço a minhas amigas, companheiras e orientadas, Ingrid Stein e Marina Estrázulas, pelo apoio e esforço durante esses dois anos de trabalho. À equipe do LACVET, em especial as amigas Luciana Lacerda e Nicole Hlavac, com as quais pude contar a qualquer momento.

Agradeço a todos os meus amigos, em especial à veterinária Marcele Oliveira e à futura RP Letícia Rota que me agüentaram durante os momentos mais difíceis com palavras amigas e maravilhosos finais de semanas reflexivos a beira mar.

E por último, agradeço ao Zé, que assim como para muitos, foi quem me levou em minha primeira captura de tuco-tuco. Obrigada por tornar esse caminho de pedras uma trilha na mata, onde os obstáculos se tornam flores coloridas e as dificuldades não são nada mais do que os sons dos animais num amanhecer de primavera...

RESUMO

As análises hematológicas e bioquímicas são de extrema, auxiliando no diagnóstico de doenças e estados nutricionais dos animais. O perfil hematológico e valores bioquímicos sanguíneos foram determinados em três populações de vida livre de *Ctenomys lami* (tuco-tuco), de três regiões distintas: Região A (Distrito de Itapuã), Região B (Município de Viamão) e Região C (Município de Viamão, Unidade de Conservação Refúgio de Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, distrito de Águas Claras), sendo as áreas A e B, impactadas pela bovinocultura, e área C, sem impacto antrópico, ambas no sul do Brasil.

Amostras de 62 animais foram coletadas ao total para as análises hematológicas. Os valores de hematócrito (Ht), hemoglobina (Hb) e eritrócitos apresentaram diferenças significativas entre machos (n=23) e fêmeas (n=39). O Ht e a Hb encontrados na espécie foram mais baixos em comparação com outras espécies de roedores subterrâneos, podendo estes valores estarem relacionados ao habitat de forrageio ou a características do solo. Diferenças significativas também foram detectadas na hemoglobina, CHCM e linfócitos das amostras coletadas de animais das regiões A e B em relação às da C. O valor da média dos hematócritos das amostras dos animais das regiões A e B foram mais elevados, porém diferenças significativas foram detectadas entre as amostras dos animais das regiões A e C. Algumas dessas alterações sugerem a relação dos valores encontrados com a compactação do solo e estresse dos animais em relação a áreas impactadas. Diferenças significativas no VCM foram encontradas nas amostras coletadas dos animais da região A em relação a C, e também nas plaquetas de animais da região A em relação a B. Não foram observados Corpúsculo de Kurloff nos animais analisados.

Para análises bioquímicas foram coletados amostras de 45 animais, sendo 15 animais por região, agrupados em três *pools*. Foram realizadas determinações bioquímicas

para as enzimas AST, ALT, GGT e enzima FA. Além desses, também foram avaliados creatinina, potássio, colesterol, triglicerídeos, uréia, albumina, proteínas totais, cálcio e fósforo. Diferenças significativas foram encontradas na atividade enzimática da fosfatase alcalina entre o *pool* de amostras dos animais da região A em relação a B ($P < 0,05$). Também houve diferença significativa nos valores de colesterol, sendo que o *pool* de amostras dos animais da região B apresentou significância estatística em relação aos *pools* das regiões A e C ($P < 0,05$). Dentre os minerais analisados, apenas o potássio teve alteração significativa, sendo esta encontrada entre o *pool* de amostras dos animais da região A em relação a C ($P < 0,05$).

Os valores hematológicos encontrados nesses espécimes de *Ctenomys lami* fornecem informações importantes sobre a espécie. O uso de *pools* demonstrou-se eficiente na avaliação bioquímica das populações, evidenciando uma diferença em alguns metabólitos. Os resultados encontrados sugerem possíveis alterações na dieta das populações e também diferença de habitat encontrado, devido ao impacto causado pelo homem. Desta maneira, este estudo poderá fundamentar pesquisas futuras, elucidando melhor as relações existentes entre a fisiologia dos animais e variações no habitat de vida destes.

ABSTRACT

Hematological profile and biochemical are very important to diagnosis of sickness and animal nutrition of animals in general. The hematological and biochemical profile were determined in three populations of *Ctenomys lami* that inhabits three different areas nominated as A and B, affected by cattle production, and C, without human impact, all of them in south Brazil, under the same geologic formation.

Sample of 62 individuals were collected. The packed cell volume (PCV), hemoglobin (Hb) and red blood cell (RBC) count presents statistic significant differences between males and females. PCV and Hb values founded were lower in comparison with other subterranean rodents, which could be related to the food searching behavior or soil characteristic of the species. Significant differences were found to for Hb, mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and lymphocytes between A and C areas. The PCV values were more elevated in areas A and B, with significance only between A and C. Some of these alterations may suggest a modification on stress levels of the animals inhabiting areas A and B with anthropic alterations, or maybe just an inherited characteristic.. Significant statistic differences were found either in mean corpuscular volume (MCV) between A and C areas, and plateletes between A and B areas. No Kurloff cells (Kurloff bodies) were observed in the blood smear from analyzed individuals.

Biochemical parameters were determined from 45 animals, fifteen from each area (A, B and C), grouped in serum pools of five animals (one male and four females) for the analyses. The biochemical parameters analyzed were aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), creatinine, potassium, cholesterol, triglicerides, urea, albumin, total proteins, calcium and phosphorus. Significant statistic difference was found in ALP activity between

areas A and B. Also significant differences were found in cholesterol levels, area B presented higher values when compared to the others, and in potassium levels between areas A and C. The use of serum pools demonstrated to be useful in the biochemical population analyzes, showing differences for some metabolites.

The hematological values founded for *Ctenomys lami* are an important information for this species, which can be used for future research and management. These results suggest possible alterations on the diet and physiology of the populations that inhabits the areas with the presence of exotic grasslands introduced by man. This data will be important in future research, as an additional information about animal health and conditions, aggregating information on the physiological differences, adaptation and habitat variations that are inherent to *Ctenomys lami*.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO.....	12
CAPÍTULO 2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
O gênero <i>Ctenomys</i>	14
Espécies nativas do gênero <i>Ctenomys</i> no Rio Grande do Sul.....	15
O nicho subterrâneo.....	17
Herbivoria.....	19
Respostas ecofisiológicas em roedores subterrâneos.....	20
Coleta sanguínea.....	23
Componentes sanguíneos.....	24
Perfil bioquímico.....	26
CAPÍTULO 3. PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE ROEDOR FOSSORIAL <i>Ctenomys lami</i> (RODENTIA-CTENOMIDEA), ENTRE DIFERENTES REGIÕES DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.....	29
Abstract.....	28
Resumo.....	30
Introdução.....	31
Materiais e métodos.....	32
Resultados e discussão.....	34
Conclusão.....	41
Referências Bibliográficas.....	42
CAPÍTULO 4. VALORES BIOQUÍMICOS SOROLÓGICOS EM POPULAÇÕES DE TUCO-TUCOS (<i>Ctenomys lami</i>) COM E SEM IMPACTO ANTRÓPICO, NO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.....	45
Abstract.....	45
Introdução.....	46
Materiais e métodos.....	47
Resultados	49
Discussão.....	52
Referências.....	56
CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
REFERÊNCIAS.....	59

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

Um dos maiores problemas que ameaçam a biodiversidade do país nos dias de hoje é a destruição do habitat. A urbanização crescente, a construção de redes viárias, de barragens, juntamente com o desmatamento de florestas e campos para converter os terrenos em zonas agrícolas e de produção animal extensiva, acabam gerando impactos significantes. A exploração inadequada dos recursos naturais, sem um plano de manejo adequado, tem causado a extinção de centenas de espécies da fauna brasileira. Dentre inúmeros animais que sofrem com a supressão de seus habitats, estão os roedores subterrâneos do gênero *Ctenomys*, encontrados no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Poucos estudos têm sido realizados sobre a fisiologia desses roedores e o impacto causado sobre esta em decorrência da degradação ambiental. Mesmo se tratando de um gênero bastante estudado no Rio Grande do Sul, quanto à diversidade morfológica, genética e evolução das espécies, estes ainda não possuem dados na literatura sobre valores hematológicos e bioquímicos normais.

O conhecimento dos parâmetros hematológicos e bioquímicos é de extrema importância, elucidando o diagnóstico de enfermidades que acometem tanto espécimes mantidos em cativeiro quanto os de vida livre. Devido à variação destes dados entre as espécies, o Médico Veterinário se depara com uma grande dificuldade de interpretação nos resultados laboratoriais. A obtenção de valores de referência sofre a influência de fatores associados ao método de coleta sanguínea, ao ambiente no qual estes animais vivem e, principalmente, aos procedimentos laboratoriais na análise das amostras. Em adição, os procedimentos laboratoriais devem estar padronizados, para que desta forma as variações entre os dados sejam minimizadas.

CAPÍTULO 2. REVISÃO DE LITERATURA

O gênero Ctenomys

O gênero *Ctenomys* foi descrito por Blainville em 1826. Pertencente à subordem Hystricomorpha (WOODS, 2005), este constitui um amplo grupo de aproximadamente 56 espécies de roedores fossoriais (REIG *et al.*, 1990; LACEY *et al.*, 2000). Também conhecidos como “tuco-tucos”, são pequenos roedores que vivem na maior parte de suas vidas sob a superfície da terra, em sistemas de túneis (NOWARK, 1991).

Possuem uma distribuição muito ampla, ocupando a região meridional da América do Sul, indo da Bolívia e sul do Peru até a Terra do Fogo no extremo sul (PEARSON, 1959; REIG *et al.*, 1990).

Seu nome científico vem do grego, onde “*Ctenus*” significa pente e “*mys*” que significa rato – “rato dos pentes”. Este nome é em decorrência de pelos modificados em cerdas encontradas nas patas (Figura 1), o que lhes garantem uma maior superfície de contato destas, auxiliando assim na escavação (REIG, 1989; REIG *et al.*, 1990; NOWAK, 1991; LACEY *et al.*, 2000).

Adaptações morfológicas nestes animais são encontradas devido ao seu hábito fossorial, como a redução da cauda e dos pavilhões auditivos, um maior desenvolvimento da musculatura (principalmente dos membros anteriores) e das unhas. Os dentes são grandes, fortes, apresentam um esmalte alaranjado no bordo anterior e são usados para o auxílio na escavação dos solos. Possuem a abertura bucal atrás dos incisivos (Figura 2), o que permite a visualização destes, mesmo quando o animal está com a boca fechada (REIG, 1989; REIG *et al.*, 1990; NOWAK, 1991; LACEY *et al.*, 2000).

O gênero tem uma grande diversidade cariotípica, possuindo a maior variação de cariótipos entre os mamíferos, podendo variar de $2n = 10$ até $2n = 50$ (REIG *et al.*, 1990). A capacidade de dispersão desses roedores fossoriais é baixa (REIG *et al.*, 1990;

MALIZIA *et al.*, 1995; LESSA & COOK, 1998), resultando em um pequeno fluxo gênico (PEARSON *et al.*, 1968), causa possível de fixação de novos rearranjos cromossômicos nas populações ao longo de sua evolução (PATTON & SHERWOOD, 1983; REIG, 1989).

A densidade populacional destes roedores subterrâneos tem a tendência de ser mais baixa do que a de espécies de superfície (LACEY *et al.*, 2002). Densidades populacionais do gênero *Ctenomys* raramente excedem 80 indivíduos por hectare, assim consideradas de baixa densidade (PEARSON, 1959; GALLARDO & ANRIQUE, 1991; ROSI *et al.*, 1992). Isto se deve em parte ao hábito de vida solitário, onde cada adulto ocupa um território exclusivo. Muitas vezes, a densidade populacional pode estar limitada de acordo com as condições ambientais, como heterogeneidade do solo e tipo de vegetação (LACEY *et al.*, 2002). Em algumas espécies de ctenomydeos, como é o exemplo do *Ctenomys talarum*, relata-se uma variação na densidade populacional de 15 indivíduos por hectare, podendo variar até 55 indivíduos por hectare, de acordo com a quantidade de biomassa de plantas na região (MALIZIA, 1991).



Figura 1 - Pelos modificados em cerdas encontradas nas patas de animais do gênero *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomidae) (Fotografia: José F. B. Stolz).



Figura 2 – Dentes incisivos em espécie do gênero *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomidae).

Espécies nativas do gênero Ctenomys no Rio Grande do Sul

No sul do Brasil, encontramos a distribuição geográfica de 4 espécies de tuco-tucos: *Ctenomys torquatus* Lichtenstein 1830, *Ctenomys flamarioni* Travi 1981, *Ctenomys minutus* Nehring 1887 e *Ctenomys lami* Freitas 2001 (Figura 3).

A espécie *Ctenomys torquatus* está localizada na porção centro-sul do estado, ocorrendo em campos abertos arenosos (TRAVI, 1983). Já a espécie *Ctenomys flamarioni* apresenta uma distribuição restrita à primeira linha de dunas da região Costeira do Rio Grande do Sul, desde o Chuí até aproximadamente 25 km ao sul do município de Arroio Teixeira (FREITAS, 1994; 1995). *Ctenomys minutus* distribui-se paralelamente à Planície Costeira, sendo o limite da distribuição ao norte o município de Jaguaruna em Santa Catarina e ao sul o município de São José do Norte, no Rio Grande do Sul (FREITAS, 1995; GAVA & FREITAS, 2002).

A espécie *Ctenomys lami* possui sete cariótipos diferentes, que se distribuem em uma região arenosa, denominada de Coxilha das Lombas, estendendo-se do norte do Rio Guaíba, no município de Porto Alegre, em direção a noroeste dos bancos de areia da lagoa

dos Barros, cercada por lagoas e banhados (FREITAS, 2001). Atualmente, esta área é caracterizada por apresentar pastagens e vegetação antrópica que ocorrem em solos arenosos (FREITAS, 1990; 2001). Devido à topografia da região e à distribuição geográfica dos diferentes cariótipos encontrados nas populações de *C. lami*, foi proposta a separação destas em quatro blocos populacionais ao longo dos 78 km das Coxilhas das Lombas: Bloco A, B, C e D (Figura 4) (FREITAS, 1990).

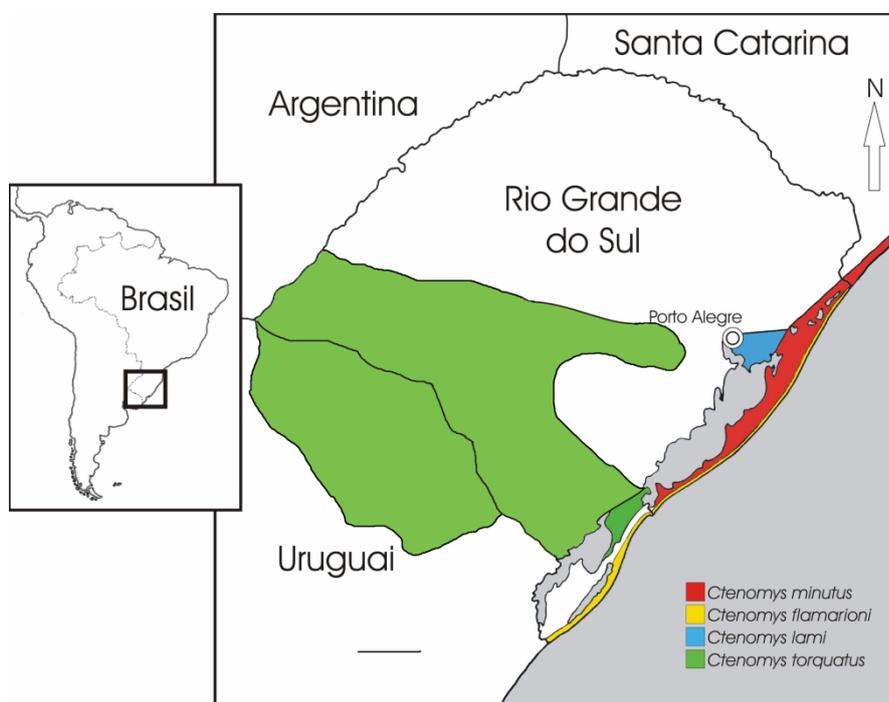


Figura 3 - Distribuição geográfica das quatro espécies do gênero *Ctenomys* encontrados no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

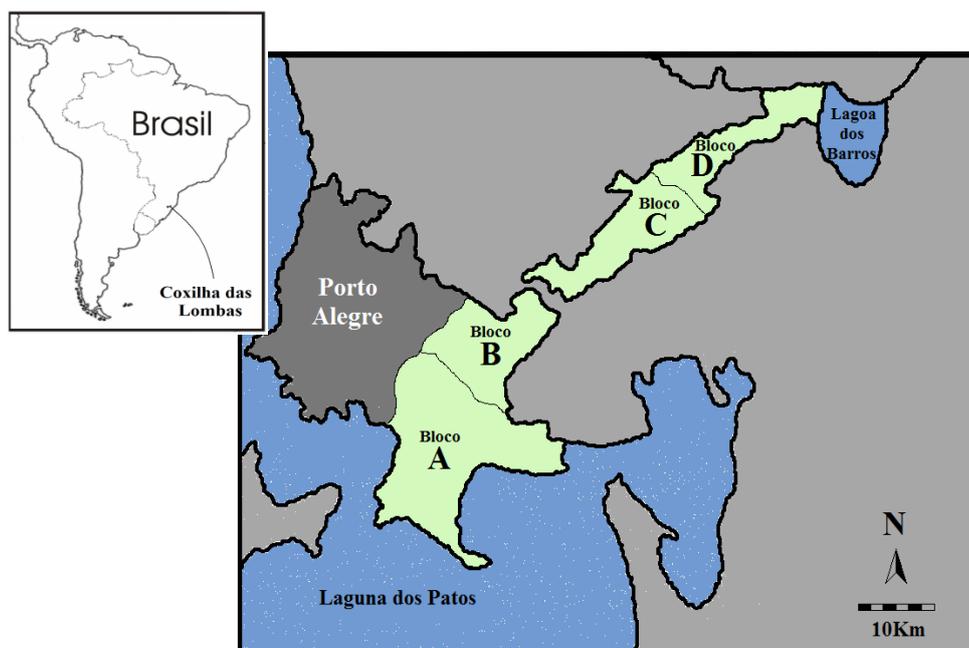


Figura 4 - Localização geográfica dos 4 blocos populacionais de *Ctenomys lami* sob a distribuição geográfica da espécie na Coxilha das Lombas, RS.

O nicho subterrâneo

Os mamíferos são animais adaptáveis às mais diferentes formas de vida. Dentre os mamíferos terrestres, aqueles que, em algum momento de sua vida, utilizam túneis ou escavações abaixo da superfície do solo para realizar alguma atividade vital, seja ela reprodução, alimentação ou proteção, são denominados fossoriais. Grupos que, além dessa característica, conduzem a maioria de suas atividades vitais em galerias abaixo da superfície terrestre são denominados de subterrâneos (LACEY *et al.*, 2000).

A maioria das espécies do gênero *Ctenomys* é solitária, com cada indivíduo ocupando um único sistema de túneis (NOWACK & PARADISO, 1991; LACEY *et al.*, 2000). Exceções ocorrem no período de reprodução, quando podem ser encontrados casais ocupando um mesmo sistema de túneis, ou quando a fêmea está lactante e cuidando da prole; podendo esta, variar de dois a quatro filhotes. As galerias chegam a ter até nove metros de extensão, com várias ramificações, câmaras para estocar alimentos e diferentes aberturas para a superfície, geralmente cobertas por um tampão de areia fresca (REIG *et*

al., 1990; GASTAL, 1994; ALTUNA *et al.*, 1999; ZENUTO *et al.*, 1999; LACEY *et al.*, 2000)

Estes roedores possuem uma versatilidade de habitat devido ao tipo de vida subterrânea que possuem. No entanto, estudos detalhados mostram que os tuco-tucos possuem uma predisposição a viverem em solos arenosos ou bem arejados (CONTRERAS, 1973).

Obter informações sobre roedores subterrâneos é particularmente difícil, uma vez que suas atividades são, na maioria, restritas ao interior do sistema de galerias. Conseqüentemente, pouco é conhecido sobre sua biologia populacional quando comparado ao conhecimento que se tem sobre outras espécies de pequenos roedores que vivem no ambiente de superfície (MALIZIA & BUSCH, 1997).

A diferença encontrada entre nichos subterrâneos e nichos de superfície terrestre é marcada pelo uso de uma nova dimensão: a profundidade. Esta, em conjunto com o tipo de solo escavado, é capaz de gerar diferenças de pressão, o que faz com que esses animais tenham respostas adaptativas às condições ambientais (LACEY *et al.*, 2000).

Em geral, sistemas de túneis são caracterizados pela ausência de luz e excesso de umidade. O fluxo de ar é geralmente reduzido, causando temperaturas invariáveis, uma ventilação pobre e elevados níveis de dióxido de carbono (ARIELI, 1979). Os túneis geralmente são mantidos fechados, proporcionando proteção e condições mais estáveis do que aquelas encontradas no meio externo: menores flutuações de temperatura, alto grau de umidade relativa, concentração de O₂ entre 15 e 21% e de CO₂ de 0,5 a 2% (MACNAB, 1966). As trocas gasosas são muito importantes entre os habitats subterrâneos e o meio externo. Estas trocas dependerão das propriedades de difusão do solo, variando de acordo com o tipo de solo e a umidade presente (ARIELI 1979). Estas condições sugerem que

roedores subterrâneos apresentem uma variedade de adaptações fisiológicas e problemas não encontrados em animais sem o nicho de vida subterrâneo (LACEY *et al.*, 2000).

Herbivoria

Os tuco-tucos são animais herbívoros, que podem se alimentar tanto da parte aérea da vegetação ao redor das aberturas dos seus sistemas de túneis quanto de raízes no interior dos mesmos (TRAVI, 1983; LACEY *et al.*, 2000). Normalmente, cortam talos ou arrancam rizomas na superfície com o auxílio dos dentes incisivos, comendo na superfície, próximo à entrada do túnel ou transportando-os para o interior deste e depositando-os em câmaras logo abaixo da abertura de alimentação (REIG, 1970; COMPARATORE *et al.*, 1995; BUSCH *et al.* 2000). Também possuem o hábito de se alimentarem de raízes coletadas diretamente abaixo da superfície do solo, ao longo dos túneis mais superficiais (TRAVI, 1983).

O gênero *Ctenomys* é generalista, podendo todos os componentes das plantas, desde as raízes até regiões aéreas, serem consumidos. As partes subterrâneas das plantas aparecem com sendo uma pequena porção da dieta destes animais. Em *Ctenomys talarum* e *Ctenomys australis* as raízes nunca constituem mais de 22% da comida ingerida (COMPARATORE *et al.*, 1995). O maior forrageamento desse gênero ocorre fora de seus túneis, sobre a superfície terrestre. Os animais emergem de seus túneis por curtos períodos para colher a vegetação em crescimento sobre o solo (LACEY, 2000). Segundo Nevo *et al.* (1989), herbívoros subterrâneos não possuem o hábito de seleção dos alimentos consumidos. Assim, se fossem consumidores seletivos, o custo dessa seletividade por alimentos poderia exceder os seus benefícios. Desta maneira, tem-se relatado que tuco-tucos consomem uma variedade de plantas disponíveis em seus habitats (COMPARATORE *et al.*, 1995). Embora existam relatos de que estes animais sejam

generalistas, em contrapartida existem trabalhos sobre dietas preferenciais que comprovam a capacidade de seleção de alimentos por roedores subterrâneos. A preferência por partes aéreas de determinadas plantas ao invés de partes subterrâneas é evidente (LACEY, 2000).

Sendo herbívoros, consomem uma enorme quantidade de celulose, hemicelulose e lignina, precisando da simbiose com outros microorganismos para digerir estes componentes por fermentação anaeróbica (VAN SOEST, 1982). O alimento é mantido por um longo tempo no enorme ceco e intestinos, até a fermentação ter liberado por completo a energia decorrente deste processo (LOEB *et al.*, 1991; BUFFENSTEIN & YAHAV, 1994).

Para maximizar a energia extraída de suas dietas, alguns roedores subterrâneos realizam a coprofagia. Esta tem sido relatada em alguns *Ctenomydeos* e *Geomydeos* (CORTE, 1998). Funcionalmente, a coprofagia fornece uma boa fonte de proteína na dieta sob a forma de microorganismos digeridos (LEE & HOUSTON, 1993). Em adição, pode também fornecer uma importante suplementação dietética para filhotes em crescimento e fêmeas lactantes (JARVIS, 1991).

Respostas ecofisiológicas em roedores subterrâneos

Mamíferos subterrâneos herbívoros são semelhantes em estrutura e tamanho, construindo túneis similares. Características como olhos pequenos e posicionados na parte superior da cabeça, pavilhão auditivo reduzido, membros curtos, cauda grossa e curta e garras longas nas patas dianteiras são adaptações de vida subterrânea, as quais estão presentes nas espécies do gênero *Ctenomys* (PEARSON, 1959).

Estes animais apresentam algumas adaptações fisiológicas que são impostas em decorrência das características encontradas na vida subterrânea. A prevalência de hipóxia (baixas concentrações de oxigênio) e hipercapnia (altas concentrações de dióxido de carbono) atmosférica (MACLEAN, 1981) acabam gerando modificações fisiológicas não

encontradas em outros animais. Com exceção das espécies de animais que vivem em elevadas altitudes, roedores de superfície são pouco adaptados a viverem em atmosferas que contenham uma baixa pressão de oxigênio e altas pressões de dióxido de carbono. Sob essas condições, a função cardiovascular, a ventilação, a respiração e o balanço ácido-básico podem estar afetados (BOGGS *et al.*, 1984).

Considerando essas condições, roedores subterrâneos parecem ser muito mais tolerantes e adaptados. Algumas adaptações morfológicas são encontradas, incluindo o aumento na densidade capilar do esqueleto, músculo cardíaco e tecido pulmonar, juntamente com um considerado aumento na quantidade de mitocôndrias encontradas nos músculos esqueléticos (WIDMER *et al.*, 1997). Além disso, elevadas concentrações de hemoglobina são encontradas em alguns *taxons* (ARIELI & SHKOLNIK, 1977).

Os eritrócitos são responsáveis pelo transporte de oxigênio (O₂) e por 10% do dióxido de carbono (CO₂). A hemoglobina é composta por quatro átomos de ferro capazes de carrear quatro moléculas de O₂ quando completamente saturados (KANEKO, 1989). A adaptação mais comum à hipóxia está relacionada com a presença de hemoglobina com alta afinidade por oxigênio. Elevada afinidade por oxigênio tem sido relatada para algumas espécies de roedores subterrâneos e semi-subterrâneos, como os cães-da-pradaria (BOOGS, 1984; ARIELI *et al.*, 1986). Esta afinidade é influenciada pela concentração de 2,3 difosfoglicerato (2,3 DPG) nos eritrócitos. Quando a concentração de 2,3 DPG é alta, a afinidade do O₂ pela hemoglobina se torna diminuída, resultando em um aumento na liberação desse oxigênio para os tecidos. Animais que vivem sobre a superfície terrestre apresentam uma resposta a condições de hipóxia, aumentando a concentração de 2,3 DPG em seus eritrócitos, o que geralmente não acontece em roedores subterrâneos, apresentando estes, respostas variáveis a condições atmosféricas semelhantes (LACEY *et al.*, 2000).

O transporte de oxigênio no sangue é marcadamente variável em roedores subterrâneos (Tabela 1), quando comparados à espécie de roedor não subterrâneo *Mus musculus* (Figura 5 e 6), apresentando altas concentrações no hematócrito e hemoglobina. Algumas espécies de roedores subterrâneos apresentam concentrações de hematócrito e hemoglobina elevadas, percebendo-se uma diminuição desses valores relacionados ao

hábitat em que estas espécies vivem. Habitats xéricos (áridos), onde exista uma melhor difusão gasosa através do solo, resultam em um decréscimo de hipóxia nos túneis encontrados nessas regiões em comparação a regiões méxicas (úmidas), podendo isto estar relacionado com variações destes parâmetros em roedores subterrâneos (LACEY *et al.*, 2000).

Certos processos fisiológicos têm recebido mais atenção do que outros, assim como determinados *taxons* subterrâneos possuem maior número de estudos. A maioria dos trabalhos encontrados prioriza as famílias de roedores subterrâneos Spalacinae e Bathyergidae (AR, 1986; JARVIS & BENNET 1991; NEVO 1995). Em adição, escassos estudos sobre os sistemas fisiológicos têm sido realizados nas demais famílias de roedores subterrâneos (LACEY *et al.*, 2000).

Tabela 1. Média das concentrações de hematócrito e hemoglobina de roedores subterrâneos em diferentes habitats.

Espécie	Habitat	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dl)
<i>Nannospalax ehrenbergi</i>			
	n = 52 México	52	16.0
	n = 54 México	51	16.3
	n = 58 México	51	16.6
	n = 60 Árido	48	14.7
<i>Cryptomys hottentotus</i>	México	48	14
<i>Heterocephalus glaber</i>	Árido	46	13.6
<i>Tomomys bottae</i>	Árido	46	17,1
<i>Nannospalax ehrenbergi</i>	Árido	45,6	15,0

Fonte: LACEY *et al.*, 2000.

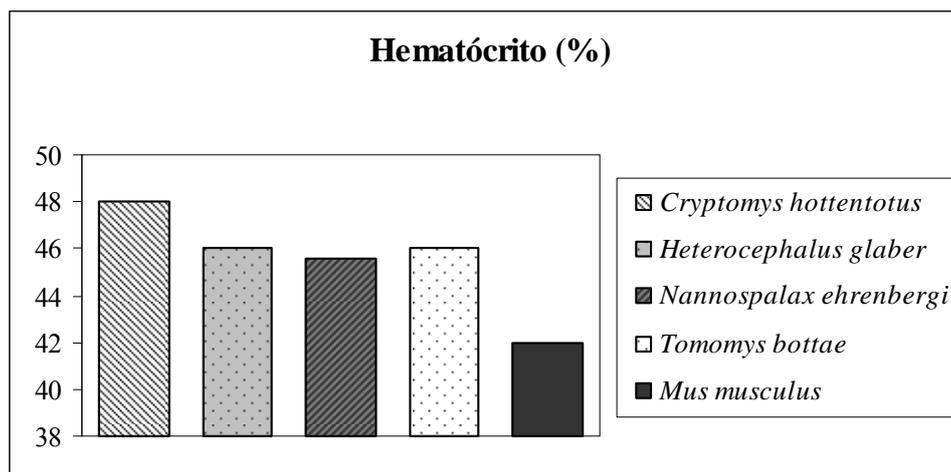


Figura 5. Comparação dos valores médios de hematócrito entre quatro espécies de roedores subterrâneos e uma espécie de roedor terrestre (*Mus musculus*). Fonte: adaptado de LACEY *et al.*, 2000.

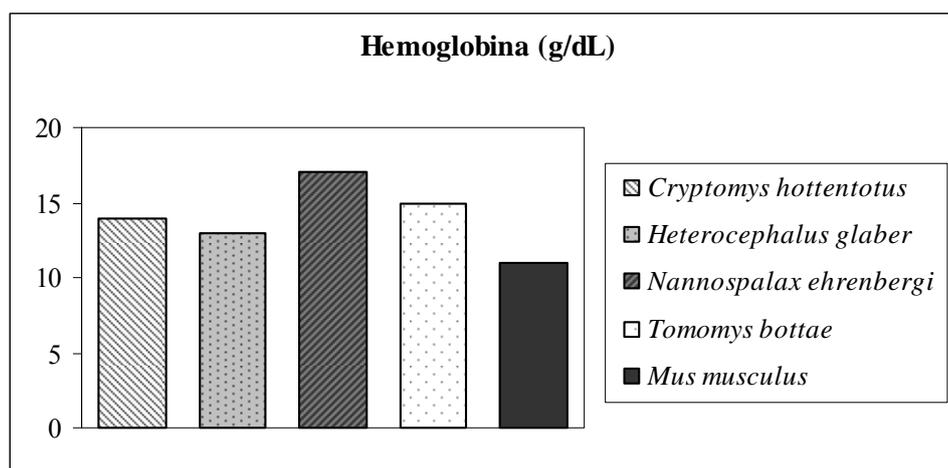


Figura 6. Comparação dos valores médios de hemoglobina entre quatro espécies de roedores subterrâneos e uma espécie de roedor terrestre (*Mus musculus*). Fonte: adaptado de LACEY *et al.*, 2000.

Coleta sanguínea

Em muitos roedores, como *Cavia porcellus* e *Chinchilla sp.*, a venopunção se torna dificultada pelo pequeno calibre das veias periféricas. A veia jugular, a veia safena lateral e a veia cefálica têm sido os locais mais comuns de coleta sanguínea nesses animais. Para pequenos roedores, atualmente, a veia cava cranial (Figura 6) está sendo amplamente

utilizada por clínicos veterinários como primeira escolha para coleta sanguínea, sendo considerado um método extremamente seguro (CAMPBELL & ELLIS, 2007).



Figura 6 – Coleta de sangue por punção da veia cava cranial em *Ctenomys lami*.

Componentes sanguíneos

A hematologia de animais silvestres é similar a de animais domésticos em muitos aspectos. No entanto, a obtenção de valores confiáveis de referência pode ser difícil devido a variações associadas à coleta sanguínea, procedimentos laboratoriais, fatores intrínsecos e extrínsecos de cada espécie animal. Muitos desses animais são presas para outros animais na vida selvagem, fazendo com que demonstrem uma resposta de “fuga e luta” quando contidos para a coleta sanguínea, o que muitas vezes resulta em alterações significativas no hemograma (CAMPBELL & ELLIS, 2007).

No hemograma avalia-se quantitativa e qualitativamente os componentes sanguíneos, dessa forma, demonstrando a condição clínica do paciente no instante da coleta (GARCIA-NAVARO *et al.*, 1994). É necessário saber o tipo de coleta e acondicionamento das amostras, as quais podem influenciar nos resultados. Fatores como

hemólise, estresse do animal ou uso de sedativos e tranqüilizantes podem alterar o exame hematológico. Como anticoagulante, o EDTA (Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético) é utilizado preferencialmente para estudos da morfologia sanguínea, estando em suas vantagens a boa preservação das células, a estabilidade da solução e o baixo custo (JAIN, 1986; GARCIA-NAVARO *et al.*, 1994).

Os eritrócitos dos roedores da subordem Hystricomorpha possuem uma meia-vida relativamente pequena em comparação a cães e gatos, sendo comumente observado policromasia nos esfregaços sanguíneos (CAMPBELL & ELLIS, 2007). Algumas espécies apresentam variação de tamanho dos eritrócitos em comparação a outros roedores (MOORE, 2000).

Os leucócitos apresentam morfologia peculiar. O núcleo do neutrófilo apresenta lóbulos distintos e o citoplasma contém grânulos eosinofílicos bem marcantes, semelhantes àqueles encontrados nos neutrófilos dos coelhos, o que leva à denominação de “pseudoeosinófilos” (chamados de heterófilos – MOORE, 2000.). O tamanho e a distribuição dos grânulos dos heterófilos permitem a diferenciação destes com os verdadeiros eosinófilos (ARCHER & JEFFCOTT, 1977; JAIN, 1993; HAWKEY & DENNET, 1989). Assim, os neutrófilos apresentam grânulos acidofílicos redondos, em menor quantidade e distribuição esparsa no citoplasma, ao passo que os eosinófilos apresentam o citoplasma totalmente ocupado por granulações maiores, em maior quantidade e intensamente acidofílicas. (ARCHER; JEFFCOTT, 1977; JAIN, 1986; LOPES *et al.*, 1988).

Nos linfócitos de alguns roedores dessa subordem, observam-se eventualmente inclusões citoplasmáticas conhecidas como Corpúsculo de Kurloff (ETZEL, 1931; JAIN, 1986; HAWKEY ; DENNET, 1989). Estes Corpúsculos de Kurloff ocorrem em pequeno número em machos imaturos de *Cavia porcellus*, sugerindo que sua presença está

influenciada pelos hormônios sexuais. Isto é suposto também pela observação de que durante a gestação ocorre um aumento destes corpúsculos nessa espécie (JAIN, 1993). Não se sabe exatamente a origem e função desses linfócitos possuidores de Corpúsculos de Kurloff, porém acredita-se que possuem função semelhante aos linfócitos citotóxicos (células NK – natural killer) (IZZARD *et al.*, 1976; EREMIN *et al.*, 1980).

Perfil bioquímico

Os perfis bioquímicos sanguíneos vêm sendo utilizados extensivamente em Medicina Veterinária não somente para avaliação clínica individual, como também para avaliar populações de animais (PAYNE & PAYNE, 1987). Quando interpretados adequadamente, os valores bioquímicos fornecem importantes informações em relação ao estado clínico de um animal, ao balanço nutricional, a situações deficitárias, a monitorações de tratamentos e a prognósticos. A interpretação adequada do perfil bioquímico sanguíneo implica na utilização de valores de referência adaptados para as condições geográficas, de manejo, de raça, de alimentação e até do próprio laboratório que realiza as dosagens. Dentro dos parâmetros sanguíneos, a atividade enzimática é a que apresenta maior variabilidade (HANDELMAN & BLUE, 1993).

A dosagem de algumas enzimas presentes no plasma pode servir de grande auxílio no diagnóstico de transtornos clínicos e/ou subclínicos relacionados com um ou mais órgãos (KANEKO *et al.*, 1997). As enzimas mais frequentemente utilizadas na clínica veterinária são a fosfatase alcalina (FA), creatina quinase (CK), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH), que podem ser utilizadas para avaliar o funcionamento de órgãos internos (GONZÁLEZ; SILVA, 2003).

A enzima ALT está relacionada a danos hepáticos em muitos mamíferos. Em animais herbívoros essa enzima não possui muito valor na avaliação deste órgão, pois

possui uma baixa especificidade no tecido hepático (JENKINS, 2000). Já a enzima AST possui uma alta atividade no fígado, coração, músculo esquelético e aumentos de sua atividade estão normalmente relacionados a danos nesses órgãos (THRALL, 2004). A enzima FA é largamente encontrada nos tecidos ao redor dos canálculos biliares do fígado, ossos, intestino e placenta em fêmeas prenhes. Aumentos na atividade dessa enzima estão minimamente relacionados a necroses hepáticas, porém, aumentos significativos ocorrem em estase biliar, simultaneamente com um aumento nos níveis de ácidos biliares (JENKINS, 2000).

A enzima gama glutamiltransferase (GGT) encontra-se em altas concentrações no fígado. Em situações patológicas de colestases, ocorrem aumentos da atividade da GGT. Também é encontrada elevada atividade dessa enzima nos rins de roedores, mas a atividade desta é praticamente indetectável no plasma e soro desses animais (THRALL, 2004).

A concentração de colesterol em roedores também é indicativa de alterações hepáticas. Este pode estar aumentado em roedores em obstruções biliares extrahepáticas. A hipercolesterolemia geralmente está associada à infiltração de gordura no fígado (CAMPBELL, 2004). A concentração desse metabólito também está relacionada com as mudanças na dieta dos animais (BARTLEY, 1980; KOLB *et al.*, 1995). Uma nutrição rica em carboidratos ou gorduras é capaz de levar a um aumento nos níveis sanguíneos do colesterol (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

A taxa de filtração glomerular dos rins é usualmente avaliada pela mensuração da creatinina ou de uréia sanguíneas. A creatinina não é absorvida pelos túbulos renais, sendo poucas quantidades normalmente excretadas na urina. Quando ocorre uma elevação da creatinina no sangue, relaciona-se a um decréscimo da filtração glomerular em mamíferos (JENKINS, 2000). A síntese da uréia no organismo providencia a excreção de amônia

durante o catabolismo dos aminoácidos, estando esta síntese relacionada à *taxa* do catabolismo protéico. A uréia também é utilizada para averiguação da *taxa* de filtração glomerular dos rins, porém é menos sensível devido ao fato de poder ser reabsorvida nos túbulos renais. Variações ocorrerão com a quantidade de proteína consumida pelo animal, aumentando a produção hepática de uréia (JENKINS, 2000; KANEKO *et al.*,1997).

A concentração de triglicerídeos é variável, de acordo com as quantidades absorvidas de gordura no intestino, síntese ou excreção pelos hepatócitos e armazenamento pelo tecido adiposo (THRALL, 2004).

CAPÍTULO 3. Parâmetros hematológicos do roedor fossorial *Ctenomys lami* (Rodentia-Ctenomidea) no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Hematological parameters of fossorial rodent *Ctenomys lami* (Rodentia-Ctenomidea) in Rio Grande do Sul, Brazil.

Gisele G. Stein^{1*}, Luciana A. Lacerda², Nicole Hlavac², José F. B. Stolz³, Ingrid V. Stein², Thales R.O. Freitas³ e André S. Carissimi¹.

ABSTRACT: Stein G.G., Lacerda L.A., Hlavac N., Stolz J.F.B., Stein I.V., Freitas T.R.O. & Carissimi A.S. 2009. [**Hematological parameters of fossorial rodent *Ctenomys lami* (Rodentia-Ctenomidea) in Rio Grande do Sul, Brazil.**] Parâmetros hematológicos do roedor fossorial *Ctenomys lami* (Rodentia-Ctenomidea) no Rio Grande do Sul, Brasil. Departamento de Medicina Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9090 - 91540.000 - Bairro Agronomia, Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: gisele.stein@ufrgs.br

ABSTRACT - The hematological profile was determined in three populations of *Ctenomys lami* that inhabits three different areas nominated as A and B, affected by cattle production, and C, without human impact, all of them in southern Brazil, under the same geologic formation. Sixty two individuals were collected. The packed cell volume (PCV) values, hemoglobin (Hb) and red blood cell (RBC) count presents statistic significant differences between males and females. PCV and Hb values were lower in comparison with other subterranean rodents, which could be related to the food searching behavior or soil characteristic of the species. Significant statistic differences were found to for Hb, mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and lymphocytes between animals belonging to A and C areas. The PCV values were higher for animals from areas A and B, with significance only between A and C. Some of these alterations may suggest a modification on stress levels of the animals inhabiting areas A and B with anthropic

alterations, or maybe just an inherited characteristic. Significant statistic differences were found either in mean corpuscular volume (MCV) between A and C areas, and platelets between A and B areas. No Kurloff cells were observed in the blood smear from analyzed individuals. The hematological values founded for *Ctenomys lami* are an important information for this species, which can be used for future research and management.

INDEX TERM: Hematology, blood, fossorial rodent, tuco-tuco, *Ctenomys lami*.

RESUMO: O perfil hematológico sanguíneo foi determinado em três populações de *Ctenomys lami*, em áreas denominadas A e B, impactadas pela bovinocultura, e C, sem impacto antrópico, ambas no sul do Brasil. Sessenta e dois animais foram coletados ao total. Os valores de hematócrito (Ht), hemoglobina (Hb) e eritrócitos apresentaram diferenças significativas entre machos e fêmeas. Os valores médios de Ht e a Hb encontrados na espécie foram mais baixos em comparação com os de outras espécies de roedores subterrâneos, podendo estes valores estarem relacionados ao habitat de forrageio ou às características do solo. Também foram encontradas diferenças significativas nas médias de hemoglobina, CHCM e linfócitos em animais das áreas A e B em relação à área C. O valor da média dos hematócritos dos animais entre as áreas foi mais elevado nas áreas A e B, porém significativamente diferentes entre A e C. Algumas dessas alterações sugerem a relação dos valores encontrados com o estresse dos animais em relação a áreas impactadas. Variações significativas no VCM foram encontradas entre os animais das áreas A e C, e também nas plaquetas destes entre as áreas A e B. Não foram observados Corpúsculo de Kurloff no sangue dos animais analisados. Os valores hematológicos encontrados nesses espécimes de *Ctenomys lami* fornecem informações importantes sobre a espécie e podem ser úteis em outras pesquisas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Hematologia, roedor fossorial, tuco-tuco, *Ctenomys lami*.

INTRODUÇÃO: O gênero *Ctenomys*, pertencente à subordem *Hystricomorpha* (Woods 2005) constitui um amplo grupo de aproximadamente 56 espécies de roedores fossoriais (Reig *et al* 1990; Lacey *et al.* 2000). A espécie *Ctenomys lami* está presente em uma região arenosa chamada de Coxilha das Lombas, que se estende do norte do Rio Guaíba em direção ao noroeste dos bancos de areia da lagoa dos Barros, cercada por lagoas e banhados no sul do Brasil (Freitas 2001). Devido à topografia da região e à distribuição geográfica dos diferentes cariótipos encontrados nas populações de *C. lami*, foi proposta a separação destas em quatro blocos populacionais ao longo dos 78 km das Coxilhas das Lombas: Blocos A, B, C e D (Figura 1) (Freitas 1990). Estes animais apresentam algumas adaptações fisiológicas que são impostas em decorrência das características encontradas na vida subterrânea. A prevalência de hipóxia e hipercapnia atmosférica acaba gerando modificações fisiológicas não encontradas em outros animais (Maclean 1981), apresentando altas concentrações de hematócrito e hemoglobina quando comparados a espécies de roedores não subterrâneos (Lacey 2000). Algumas adaptações morfológicas também são encontradas, incluindo o aumento na densidade capilar do esqueleto, músculo cardíaco e tecido pulmonar, juntamente com um considerado aumento na quantidade de mitocôndrias encontradas nos músculos esqueléticos (Widmer *et al* 1997).

Em alguns roedores da subordem *Hystricomorpha* observam-se eventualmente inclusões citoplasmáticas, conhecidas como Corpúsculo de Kurloff (Jain 1986; Hawkey & Dennet 1989). Estas células são conhecidas como Células de Kurloff (KC) e são células mononucleares com propriedades de linfócitos e monócitos (Eremin *et al.*, 1980). A função destas células não está bem esclarecida, embora, em *Cavia porcellus*, possuam envolvimento na atividade imune (Dobout *et al.*, 1984) e propriedades anti cancerígenas (Dobout *et al.*, 1999). Em capivaras selvagens, existe a presença destas Células de Kurloff no sangue periférico e em alguns órgãos, como por exemplo, o baço. Em fases gestacionais

e lactacionais, as capivaras apresentam um aumento significativo na contagem de KC nos tecidos, podendo também serem vistas no sangue periférico em fêmeas prenhes (Jara *et al.*, 2005). Em *Cavia porcellus*, um aumento destas células é observada em fêmeas durante a prenhes e em ambos os sexos após a administração de estrógenos (Dean & Muir, 1970). Em espécies do gênero *Ctenomys*, não existe conhecimento sobre a presença dessas células o sangue.

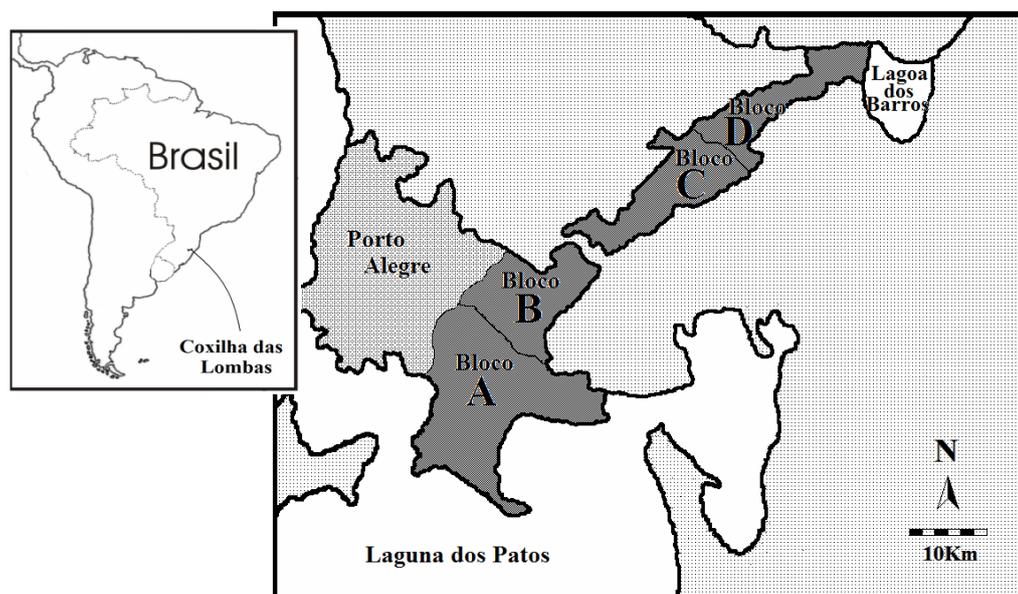


Figura 1 Distribuição geográfica dos 4 blocos populacionais de *Ctenomys lami* sob a distribuição geográfica da espécie na Coxilha das lombas, RS.

São escassos os dados que se encontram na literatura sobre parâmetros hematológicos para o gênero *Ctenomys*. Devido a essa falta de informação sobre os roedores deste gênero no Brasil, este trabalho tem por objetivo definir o perfil hematológico do roedor fossorial *Ctenomys lami* em três populações no sul do Brasil, comparando as diferenças entre as áreas de vida, sexo dos animais e verificar a possível existência de Células de Kurloff nesses animais.

MATERIAL E MÉTODOS: Os animais foram capturados em vida livre, em três regiões distintas: Área A (Distrito de Itapuã – 30°17'31,2"S 50°58'31,6"O), Área B (Município de Viamão – 30°8'0,8"S 50°54'38,2"O), ambas com impacto antrópico; e Área C (Município

de Viamão, Unidade de Conservação Refúgio de Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, distrito de Águas Claras - 30°05'31.2"S 050° 50'35.00"). A captura foi realizada durante os meses de junho a setembro do ano de 2008, com ajuda de armadilhas tipo trampa n°“0” (Oneida Victor[®], Estados Unidos) colocadas na entrada do túnel e fixadas externamente através de estacas de madeira. Os animais capturados foram pesados e anestesiados com 20 mg/kg de Cetamina (Cetamin), por via intramuscular. Exames clínicos foram realizados para avaliação da saúde geral, presença de parasitas externos, registro do sexo e seleção dos animais que apresentaram boas condições corporais. Os parasitas encontrados foram coletados, conservados em álcool 70° e encaminhados para a identificação. Não foram feitos exames para averiguação de endoparasitas. Capturou-se 23 animais na área A (11 machos e 12 fêmeas), 19 animais na área B (7 machos e 12 fêmeas), e 20 animais na área C (7 machos e 13 fêmeas), totalizando 62 espécimes de *Ctenomys lami*, todos indivíduos adultos. As amostras de sangue foram coletadas através de punção da veia cava cranial, respeitando-se o total de 10% do volume sanguíneo de cada animal. Imediatamente após a coleta, o sangue foi transferido para micro tubos (MiniCollect, Greiner Bio-One Brasil) com anticoagulante EDTA (Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético) para a realização do hemograma. As amostras foram identificadas e mantidas sob refrigeração durante o transporte até o laboratório. Observado o completo retorno anestésico, todos os animais foram liberados em seus devidos túneis.

No momento em que as amostras eram recebidas no laboratório, o esfregaço sanguíneo era realizado e as lâminas eram armazenadas em recipientes adequados, protegidas da luz e de contaminação. Para a coloração do material, foi utilizado o corante de Wright (Merck). Os esfregaços foram avaliados após a realização das outras etapas. As contagens de eritrócitos e leucócitos foram realizadas manualmente em câmara hematimétrica (Neubauer improved, Labor Optik) utilizando-se respectivamente as

soluções diluentes Hayen e Türk (Newprov). O hematócrito (Ht) foi determinado pelo método do microhematócrito (10.000 rpm ou 9.520 g por 5 minutos) em microcentrífuga (Sigma 1-15). A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e o volume corpuscular médio (VCM) foram calculados de acordo com Jain (1986). A dosagem de hemoglobina foi realizada através do método do cianeto de hemiglobina (Labtest Diagnóstica SA) e determinada por espectrofotometria (Labquest). As proteínas plasmáticas totais (PPT) foram determinadas através da refratometria (Instrutherm). A partir do esfregaço sanguíneo corado foi realizada a contagem diferencial de leucócitos, a análise da morfologia celular e a avaliação da quantidade estimada de plaquetas.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do pacote estatístico R e do programa BioStat. As variáveis foram comparadas entre os sexos com o teste T e Kolmogorov-Smirnov, conforme a normalidade ou ausência desta na distribuição dos dados, respectivamente. As variáveis contínuas foram comparadas entre as áreas com os testes de Anova de duas vias (sexo e área) ou Kruskal-Wallis. Calcularam-se os intervalos de confiança de 95% para as estimativas dos parâmetros hematológicos. Foram considerados significativos valores de $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O perfil da amostragem do estudo se encontra na Tabela 1. O exame clínico dos 62 espécimes de *Ctenomys lami* indicou uma boa condição corporal sem evidências de desidratação nos animais. Todos os animais capturados na área A estavam extremamente parasitados por pulgas do gênero *Polygenis*. Valores de referência para um perfil hematológico da espécie foram calculados e estão apresentados na Tabela 2.

Os valores encontrados para hematócrito, hemoglobina e eritrócitos nas fêmeas apresentam valores significativamente inferiores quando comparados aos valores encontrados para os machos da mesma espécie.

O transporte de oxigênio em roedores subterrâneos é distinto, pois a baixa concentração de oxigênio encontrada em seus túneis acaba levando a uma adaptação fisiológica do organismo destes animais, apresentando altas concentrações no hematócrito e hemoglobina quando comparados a espécies de roedores não subterrâneos (Lacey, 2000).

Ao contrário do esperado, apesar de possuir um modo de vida subterrâneo, *C. lami* apresenta valores de HT e Hb bastante abaixo dos valores encontrados para outras espécies com este mesmo modo de vida. (Figura 1).

Tabela 1 - Perfil da amostragem do estudo realizado com a espécie *Ctenomys lami*, em três áreas na região da Coxilha das Lombas, Rio Grande do Sul, Brasil.

Variáveis	Área A	Área B	Área C
Machos (n)	11	7	7
Fêmeas (n)	12	12	13
Massa corporal machos (g)	219,7 ± 50,7	285 ± 61,6	231,4 ± 51,5
Massa corporal fêmeas (g)	206,7 ± 27,7	193,6 ± 25,7	191,4 ± 33,1
Comprimento total ^a machos (cm)	274 ± 18,8	290,8 ± 14,9	228,4 ± 101,2
Comprimento total ^a fêmeas (cm)	257,5 ± 18	262,4 ± 11,2	258,8 ± 13,9
Estação de coleta	Inverno	Inverno	Inverno
Faixa etária	Adultos	Adultos	Adultos
Avaliação de saúde geral ^b	Saudáveis	Saudáveis	Saudáveis
Atividade reprodutiva	Sem	Sem	Sem
Grau de ectoparasitismo ^c	+++	+	+
Impacto antrópico	Presente	Presente	Ausente

^a O comprimento total do corpo compreende as medidas da ponta do focinho até ponta da cauda. ^b A saúde geral foi avaliada de acordo com o estado corporal (magro, normal, obeso), mucosas (pálidas, rosadas, hiperêmicas), lesão externa (ausente ou presente). ^c Grau de ectoparasitismo: +++ (mais de 15 pulgas/animal), ++ (entre 5 a 10 pulgas/animal), + (menos de 5 pulgas/animal). As massas corporais e comprimentos totais estão expressos em média ± desvio padrão.

Tabela 2 – Média e intervalos de confiança de 95%, do perfil hematológico do roedor fossorial *Ctenomys lami*, separado por sexo, no Rio Grande do Sul, Brasil.

Parâmetros hematológicos	Machos n=23	Fêmeas n=39
Hematócrito (%)	36,7 (35,4 – 38,0)	33,9* (32,8 – 35,0)
Hemoglobina (g/dL)	11,8 (10,9 – 12,7)	10,4* (9,9 – 10,8)
Eritrócitos (x10 ⁶ /mL)	5,7 (5,4 – 6,1)	5,1* (5,0 – 5,3)
Plaquetas (x10 ³ /mL)	477,7 (440,1 – 515,2)	456,3 (434,6 – 478,0)
VCM (fL)	64,4 (62,0 – 66,9)	66,2 (64,4 – 68,0)
CHCM (%)	32,0 (30,4 – 33,7)	30,7 (29,6 – 31,7)
Leucócitos (/μL)	8104,4 (6927 – 9281)	8261,5 (7124 – 9398)
Neutrófilos bastonados (/μL)	0	2,1 (0 – 6,2)
Neutrófilos segmentados (/μL)	4168,1 (3318,8 – 5017,4)	3471,6 (2856,7 – 4086,6)
Linfócitos (/μL)	3138,9 (2379,5 – 3898,3)	3892,9 (3050,9 – 4735,0)
Monócitos (/μL)	156,5 (97,7 – 215,2)	211,7 (156,1 – 267,4)
Basófilos (/μL)	12,6 (0 – 25,5)	22,7 (8,5 – 36,8)
Eosinófilos (/μL)	329,8 (106,4 – 553,1)	342,1 (182,1 – 501,3)

*Diferenças significativas entre os sexos (P<0,05).

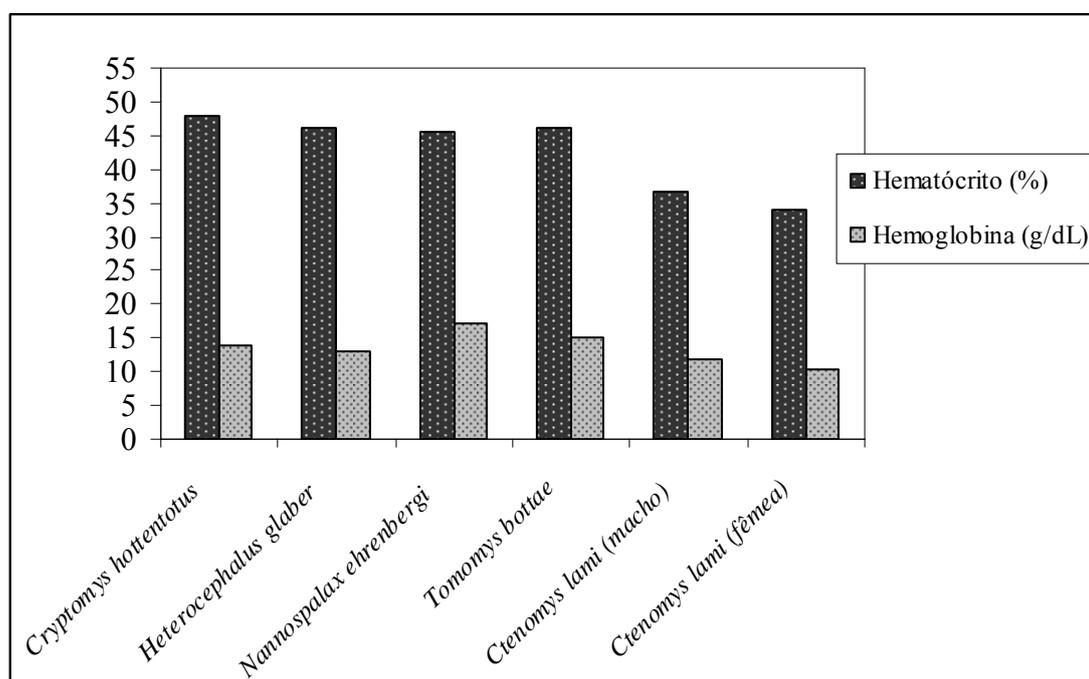


Figura 1. Comparação entre os valores médios de Hematócrito (%) e Hemoglobina (g/dL) de diferentes espécies de roedores subterrâneos com a espécie de roedor subterrâneo *Ctenomys lami*. Fontes: Buffenstein, 2000; Johansen *et al.*, 1976; Lechner, 1976; Arieli & Shkolnik, 1977.

A alimentação de espécies do gênero *Ctenomys* é composta em 97% de partes aéreas das plantas (Comparatore *et al.*, 1995). O tempo de alimentação está positivamente correlacionado com a quantidade de tempo em que estes animais despendem fora de seus túneis (Willian & Cameron 1986). Em vista disso, sugere-se que os baixos valores encontrados de hematócrito e hemoglobina podem estar relacionados a um menor tempo de exposição a baixas concentrações de oxigênio por estes animais em comparação a outros gêneros de roedores subterrâneos em que a alimentação é em maior parte constituída por raízes e dentro de seus túneis.

De acordo com Arieli (1979) as trocas gasosas entre os habitats subterrâneos e o meio externo dependerão das propriedades de difusão do solo, variando de acordo com o tipo de solo e humidade presente neste. De acordo com a literatura, ambientes xéricos (secos) possuem melhor difusão gasosa (Lacey, 2000). As propriedades do ambiente onde encontra-se as populações estudadas possuem características de ambientes xéricos, como solo arenoso e relativamente seco (Rebelato, 2006) o que pode explicar os valores encontrados.

Os outros parâmetros hematológicos não apresentaram nenhuma diferença significativa entre os sexos.

Os resultados de hemograma entre as três populações distintas se encontram na Tabela 2.

Tabela 2 – Média \pm desvio padrão dos valores de hemograma em três áreas com a presença de *Ctenomys lami* (Áreas A e B – com impacto antrópico, área C - sem impacto antrópico), no Rio Grande do Sul, Brasil.

	Área A n = 23	Área B n = 19	Área C n = 20
Eritrócitos ($\times 10^6/\text{mL}$)	5,36 \pm 0,5	5,41 \pm 0,8	5,31 \pm 0,6
Hematócrito (%)	36,35 ^a \pm 2,4	35,05 ^{a,b} \pm 4,3	33,2 ^b \pm 2,8
Hemoglobina (g/dL)	11,6 ^a \pm 1,7	11,4 ^a \pm 2,03	9,7 ^b \pm 1,1
VCM (fL)	68,1 ^a \pm 4,6	65,3 ^{a,b} \pm 6,4	62,9 ^b \pm 4,8
CHCM (%)	31,87 ^a \pm 3,6	32,40 ^a \pm 4,1	29,2 ^b \pm 1,6
Plaquetas	490,9 ^a \pm 80,3	427,1 ^b \pm 68,7	459,4 ^{a,b} \pm 49,9
Leucócitos (/ μL)	8834,8 \pm 3079,2	8531,6 \pm 3756,2	7165 \pm 2670,9
Neutrófilo Segmentado (/ μL)	4063,6 \pm 1725,6	2796,6 \pm 1891,1	4233,05 \pm 1981,1
Neutrófilo Bastonado (/ μL)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Linfócito(/ μL)	4181 ^a \pm 2202,2	4154 ^a \pm 2760,1	2446,5 ^b \pm 1597,01
Monócito (/ μL)	222,4 \pm 151,6	204,9 \pm 192,2	142,4 \pm 131,03
Basófilos (/ μL)	0 \pm 52	0 \pm 0	0 \pm 34,6
Eosinófilos (/ μL)	192 \pm 496,6	216 \pm 518,6	219 \pm 50

Os dados estão expressos em média \pm desvio padrão, sendo significâncias estatísticas com valores de $P < 0,05$. ^{a,b}Indicam diferenças significativas em cada área. A diferença estatística está indicada por letras diferentes.

Os animais capturados na área A apresentavam-se bastante parasitados por pulgas em comparação as outras duas áreas do estudo. Infestações parasitárias podem gerar uma eosinofilia em um organismo animal, em resposta a ectoparasitas e endoparasitas (Feldman *et al.*, 2000). Em comparação aos animais das áreas B e C, os quais não apresentavam afecções maciças a ectoparasitas, os roedores parasitados da área A não obtiveram elevações na contagem diferencial de eosinófilos. Neste estudo, não foram realizados outros exames para a detecção de endoparasitas. Embora muitos estudos têm sido feitos em roedores domésticos, não existem muitos estudos em roedores de vida livre com o objetivo de tentar entender os mecanismos de defesa destes contra ataques parasitários. Os ectoparasitas utilizam uma estratégia de diminuir a resposta imune de defesa do hospedeiro a um nível que facilite a sua alimentação, mas que não promova a mortalidade do mesmo. Sinais clínicos de animais doentes não têm sido vistos em resposta a infestação parasitária em pequenos mamíferos silvestres. A manifestação destes sinais pode ser considerada

como uma resposta não adaptativa a infecções parasitárias crônicas (Morandi *et al.*, 2006). Severas infestações por pulgas podem levar os animais a quadros de anemia e debilitação (Patton, 2000). Nenhum dos animais parasitados demonstrava sinais de debilidade ao exame clínico e tampouco anemia ao se avaliar o exame sanguíneo, acreditando-se que estes animais possuam na sua história evolutiva uma resposta adaptativa, dessa forma, não manifestando sinais clínicos.

Ao analisarem-se os leucócitos totais entre as populações A e B, nota-se uma contagem mais elevada nestas áreas em comparação à área C, porém não estatisticamente significativa. Junto a isto, observa-se uma linfocitose acentuada nestas mesmas áreas, A e B, estatisticamente significativas em comparação a área C. Em cães, existem relatos de linfocitoses ligadas a estimulações antigênicas crônicas por fungos, hemoparasitas, protozoários e bactérias (Feldman *et al.*, 2000). A relação entre parasita e hospedeiro em animais selvagens ainda não é bem elucidada, o que leva a pensar que possa existir alguma relação entre populações muito parasitadas e a estimulação crônica do sistema imune desses animais, fazendo com que variações no leucograma possam diferir daquelas conhecidas para animais domésticos.

Linfocitoses são observadas em respostas a excitação e estresse devido à liberação de epinefrina em respostas a “fuga e luta” nos animais. Dessa forma o leucograma demonstra aumentos significativos de leucócitos totais causados pela elevação de neutrófilos e linfócitos, ou somente uma dessas linhagens de células (Thrall, 2004). Nenhum dos procedimentos de captura, contenção e coleta diferiram entre as áreas, porém, não se descarta a possibilidade dos indivíduos da população A e B terem manifestado maior excitação durante estes procedimentos, fato este, de difícil mensuração. Os valores de leucócitos totais também não apresentam diferenças significativas entre as três áreas, no entanto, os valores mais elevados são encontrados nas áreas A e B. Dessa forma, uma

leucocitose com linfocitose, faz pensar que possa existir uma relação maior de resposta celular ao estresse nessas áreas. Analisando as três áreas, percebe-se que a área C não apresenta nenhuma ação antrópica em comparação as outras duas áreas, o que leva a acreditar que o pisoteio do gado, juntamente com atividades de manejo de pastagens e do solo possam estar causando algum tipo de impacto estressante sobre as áreas A e B.

Variações significativas de Hb e CHCM foram detectadas nas áreas A e B em relação à área C. Estudos feitos em humanos comprovam que a Hb é um eficiente indicador para avaliação da resposta do organismo à suplementação de ferro na dieta (Mei *et al.*, 2005). Isto sugere que as áreas com pastagem cultivada podem conter uma maior quantidade de Fe na alimentação dos animais se comparados com a pastagem nativa, fazendo com que ocorram variações na quantidade de Hb nas populações dessas áreas. Sendo o CHCM o índice que indica a concentração de hemoglobina nos eritrócitos, este também apresenta aumentos nos animais das áreas A e B em comparação à área C.

A média do hematócrito encontrado nos animais das áreas A e B foi mais elevada em relação à área C, porém somente a área A demonstrou diferenças significativas em relação a área C. A compactação dos solos causada pelo pisoteio do gado ou o tráfego de máquinas agrícolas aumenta a densidade e reduz a porosidade do solo. A alteração destas características pode determinar mudanças na condutividade interna, na permeabilidade e na difusão da água e do ar através do sistema poroso (Carrasco, 1989). Em vista disto, as áreas impactadas podem ter uma maior densidade do solo e menor porosidade deste devido à compactação dos solos, o que poderia causar um aumento da pressão de CO₂ nos túneis e conseqüentemente um aumento no hematócrito e na hemoglobina dessas populações.

Variações significativas no VCM foram encontradas entre as áreas A e C, e também nas plaquetas entre as áreas A e B. Não se encontrou justificativas para tal variação.

Na contagem diferencial de leucócitos não foram constatados Corpúsculo de Kurloff. Acredita-se que esta ausência pode estar relacionada com a possível ausência de fêmeas prenhes entre os animais analisados ou com o fato desses animais realmente não apresentem esses corpúsculos em nenhuma fase da vida.

CONCLUSÃO: Os valores de hematócrito e hemoglobina encontrados para a espécie de roedor subterrâneo *Ctenomys lami* possuem diferenças entre os sexos e também diferenças em comparação a outros roedores com o mesmo hábito de vida. Diferenças também foram encontradas em outros parâmetros entre as populações das três áreas estudadas. Parece haver, de maneira geral, um conjunto de alterações metabólicas presente nas áreas impactadas pelo ser humano, onde a presença de gado e manejo dos solos alteram as propriedades físicas do solo, ambiente intimamente ligado ao modo de vida da espécie estudada. Devido a não se encontrarem dados na literatura sobre parâmetros hematológicos de animais do gênero *Ctenomys*, este trabalho é de fundamental importância para estudos futuros sobre a fisiologia sanguínea nesses roedores subterrâneos.

REFERÊNCIAS:

- Arieli, R., Ar, A., Shkolnik, A. 1977. Metabolic responses of a fossorial rodent (*Spalax ehrenbergi*) to simulated burrow conditions. *Physiological Zoology*, 50:61-75.
- Buffenstein, R. 2000. Ecophysiological Responses of subterranean Rodents to Underground habitats, p. 62-110. In: Lacey, E.A., Patton, J.P., Cameron, G.N. (ed), *Life Underground: The Biology of Subterranean Rodents*. University of Chicago Press, Chicago.
- Comparatore, V.M., Cid, M.S., Bush, C. 1995. Dietary preferences of two sympatric subterranean rodent population in Argentina. *Revista Chilena Historia Natural*, 68:197-206.
- Dean, M.F., Muir, H. 1970. The Characterization of a Protein-Polysaccharide Isolated from Kurloff Cells of the Guinea Pig. *Biochemical Journal*. 118:783-790.
- Debout, C., Quillet, M., Izard, J. 1984. Natural killer activity of Kurloff cells: A direct demonstration on purified Kurloff cell suspensions. *Cellular Immunology* 87: 674–677.
- Debout, C., Quillet, M., Izard, J. 1999. New data on the cytolytic effects of natural killer cells (Kurloff cells) on a leukemic cell line (guinea pig L2C). *Leukemia Research* 23(2): 137–147.
- Eremin, O., Wilson, A.B., Coombs, R.R., Plumb, D., Ashby, J. 1980. Antibody-dependent cellular cytotoxicity in the guinea pig: The role of the Kurloff cells. *Cellular Immunology* 55: 312–327.
- Freitas, T.R.O. 1990. Estudos citogenéticos e craniométricos em três espécies do gênero *Ctenomys*. Tese (Doutorado) Curso de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular-UFRGS, Porto Alegre, RS.

- Freitas, T.R.O. “tuco-tucos” (Rodentia-Octodontidae) in southern Brazil: *Ctenomys lami* spec. nov. separated from *C. minutus* Nehring 1887. 2001. Studies on Neotropical Fauna and Environment, 36:1-8.
- Hawkey, C.M., Dennet, T.B. 1989. Comparative veterinary haematology. Ipswich: W.S. Cowell, 192p.
- Jain, N.C. 1986. Shalm’s veterinary hematology. 4 ed. Lea ; Febiger, Philadelphia, 1221p.
- Jara, L.F., Sanchez, J.M., Alvarado, H., Nassar-Montoya, F. 2005. Kurloff Cells in Peripheral Blood and Organs of Wild Capybaras. Journal of Wildlife Diseases, 41(2): 431–434.
- Johansen, K., Lykkeboe, G., Weber, R.E., Maloiy, G.M. 1976. Blood respiratory properties in the naked mole-rat, *Heterocephalus glaber*, a mammal of low body temperature. Respiratory Physiology. 28:303-314.
- Lacey, E.A., Patton, J.P., Cameron, G.N. 2000. Life Underground: The Biology of Subterranean Rodents. University of Chicago Press, Chicago, 449 p.
- Lechner, A.J. 1976. Respiratory adaptation in burrowing pocket gophers from sea level and high altitude. Journal of Applied Physiology, 41:168-173.
- Maclean, G.S. 1981. Factors influencing the composition of respiratory gases in mammal burrows. Comparative biochemistry and Physiology, 69:373-83.
- Mei, Z., Cogswell, M.E., Paryanta, I., Lynch, S., Bear, J.L. 2005. Hemoglobin and Ferritin Are Currently the Most Efficient Indicators of Population Response to Iron Interventions: an Analysis of Nine Randomized Controlled Trials. Journal of Nutrition 135:1974–1980.
- Patton, S. 2000. Rabbit and Ferret Parasite Testing. p. 258-365. In: Fudge AM (ed) Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets. Saunders, Pennsylvania.
- Rebelato, G.S. 2006. Análise ecomorfológica de quatro espécies de *Ctenomys* do sul do Brasil (Ctenomyidae – Rodentia). Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação, Ecologia UFRGS.

- Reig O.A., Busch, C., Ortells, M.O., Contreras, J.R. 1990. An overview of evolution, systematics, population and speciation in *Ctenomys*, p. 71-96 In: Evolution of Subterranean Mammals at the Organismal and molecular Levels. Nevo, E., Reig, O. A. (ed). Liss, New York.
- Widmer, H.R., Hopperler, H., Nevo, E., Taylor, C.R., Weibel, E.R. 1997. Working Undergroun: respiratory adaptations in the blind mole rat. Proceedings of the National Academy of Science, 94:2062-2067.
- Williams, L.R., Cameron, G.N. 1986. Food habits and dietary preferences of Attwater's pocket gopher, *Geomys attwateri*. Journal of Mammalogy, 67:216-24.
- Woods, C.A., Kilpatrick, C.W. 2005. Hystricognathi, 2:1538-1600. In: Wilson, D. E., Reeder, D. M. (eds). Mammal Species of the World a Taxonomic and Geographic Reference. Johns Hopkins University Press, Baltimore.

Valores bioquímicos sorológicos em populações de tuco-tucos (*Ctenomys lami*) com e sem impacto antrópico, no Rio Grande do Sul, Brasil

Serum biochemical values in tuco-tuco's populations (*Ctenomys lami*) with and without anthropic impact in Rio Grande do Sul, Brazil

Gisele G. Stein¹, Luciana A. Lacerda², Nicole Hlavac², José F. B. Stolz³, Marina Estrázulas¹, Thales R. O. Freitas³, André S. Carissimi¹

Department of Animal Medicine¹, Laboratory of Veterinary Clinical Analysis², Department of Genetic³, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

Key Words Biochemistry, blood, rodent, tuco-tuco, *Ctenomys lami*

Correspondence Gisele G. Stein, Department of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9090, CEP: 91540.000, Bairro Agronomia, Porto Alegre, RS, Brazil

E-mail: gisele.stein@ufrgs.br

Abstract

Objectives: Determine biochemical parameters in three populations of *Ctenomys lami* from different areas in Rio Grande do Sul (South of Brazil) denominated A and B, impacted areas by extensive beef cattle production, and C, without anthropic impact.

Methods: Blood samples from forty five animals were collected, fifteen from each area, grouped in serum pools of five animals for the analyses, at the same season of the year. The biochemical parameters analyzed were aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), creatinine, potassium, cholesterol, triglycerides, urea, albumin, total proteins, calcium and phosphorus.

Results: Significant statistic difference was found in ALP activity between areas A and B (P<0,05). Also significant differences were found in cholesterol levels, area B presented

higher values when compared to the others, and in potassium levels between areas A and C ($P < 0,05$).

Conclusions: The use of serum pools demonstrated to be a useful tool to evaluate populations, the results showed differences for some metabolites which suggest possible alterations on the diet of the populations that inhabit those areas with the presence of exotic grasslands introduced by man.

Introdução

Ctenomys lami se distribui em uma região arenosa, denominada de Coxilha das Lombas, estendendo-se do norte do Rio Guaíba, em direção a noroeste dos bancos de areia da lagoa dos Barros, cercada por lagoas e banhados, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil (Freitas 2001). Atualmente, estas áreas são caracterizadas por apresentarem pastagens e vegetações introduzidas, juntamente com criação extensiva de bovinos. A exploração inadequada dos recursos naturais tem causado a extinção de inúmeras espécies da fauna brasileira. A espécie *Ctenomys lami* é uma, dentre inúmeras, que sofre com a supressão de seu habitat no estado do Rio Grande do Sul. Este roedor fossorial herbívoro alimenta-se basicamente da vegetação ao redor das aberturas dos seus sistemas de túneis e das raízes no interior dos mesmos. Poucos estudos têm sido feitos até o presente momento para tentar entender o impacto sobre a fisiologia destes animais em decorrência da ação antrópica sobre suas áreas de vida.

O presente estudo visa conhecer e comparar alguns parâmetros bioquímicos sanguíneos encontrados em três populações de *C. lami*, sendo duas dessas áreas impactadas pela influência da criação extensiva bovina e uma área que não possui impacto antrópico algum. Com isto, tentou-se avaliar as relações existentes entre diferentes condições de habitat e a bioquímica sanguínea desses animais. Em adição, os resultados servem de parâmetros para avaliação da saúde geral das populações de *Ctenomys lami*, sendo os

dados encontrados de extrema importância, pois não existem referências sobre análises bioquímicas para este gênero.

Materiais e métodos

Devido à topografia da região e à distribuição geográfica dos diferentes cariótipos encontrados nas populações de *C. lami*, foi proposta a separação destas em quatro blocos populacionais ao longo dos 78 km das Coxilhas das Lombas: Bloco A, B, C e D, sendo o estudo conduzido nas três primeiras regiões (Figura 1). As regiões A, Município de Viamão (30°17'31,2"S 50°58'31,6"O), e B, Município de Viamão (30°8'0,8"S 50°54'38,2"O), são regiões onde se pode encontrar um alto grau de interferência humana, como a criação bovina extensiva e o cultivo de pastagens. A terceira população foi coletada na região C, na Unidade de Conservação Refúgio de Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, região de Águas Claras - Município de Viamão (30° 05' 31,2"S 50° 50'35,00"), a qual não sofreu impacto antrópico algum em decorrência de ser uma área de proteção ambiental, tendo os animais como fonte alimentar somente a pastagem nativa da região. Desta maneira, foi considerada como o grupo controle do estudo. As coletas realizaram-se durante o mesmo período do ano, entre os meses de junho a setembro de 2008. Em cada área foram coletados 15 animais adultos, clinicamente saudáveis. A captura foi realizada com armadilhas Oneida Victor nº "0" (Oneida Victor Inc., EUA) colocadas na entrada dos túneis e fixadas externamente através de estacas de madeira. Revisões destas realizavam-se a cada quinze minutos para evitar o mal estar dos animais capturados. Logo após a captura, os animais foram pesados e anestesiados com 20 mg/kg de cetamina (Cetamin[®], Rhobifarma, BR), por via intramuscular, e procedendo-se a coleta sanguínea por punção da veia cava cranial imediatamente após a indução anestésica. O volume sanguíneo coletado foi correspondente a 1% do peso de cada indivíduo. O sangue foi transferido para

microtubos (MiniCollect, Greiner Bio-One, BR) sem anticoagulante. Observado o completo retorno anestésico, todos os animais foram soltos em seus devidos túneis.

Após a retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas (1050G por 15 minutos) para obtenção de soro. As amostras foram reunidas em três *pools*, com cinco animais (sendo um macho e quatro fêmeas por *pool*), por área de estudo, mesclando volumes iguais de soro (100 μ L) de cada um destes indivíduos, obtendo-se assim, representatividade de toda a população.

As determinações bioquímicas para as enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT), o metabólito creatinina e o mineral potássio (K) foram determinadas por métodos em analisador automático Reflotron Plus por fotometria de reflectância (Roche Diagnóstica). Já a enzima fosfatase alcalina (FA), colesterol, triglicerídeos, uréia, albumina, proteínas totais (PT), cálcio (Ca) e fósforo (P) foram analisados através de um espectrofotômetro semi-automático Labquest (Bioplus).

Os resultados estatísticos foram analisados com auxílio do programa SPSS 15.0. As variáveis foram comparadas entre as áreas, com os testes de ANOVA ou Kruskal-Wallis. Significâncias estatísticas foram estabelecidas com valores de $P < 0,05$.

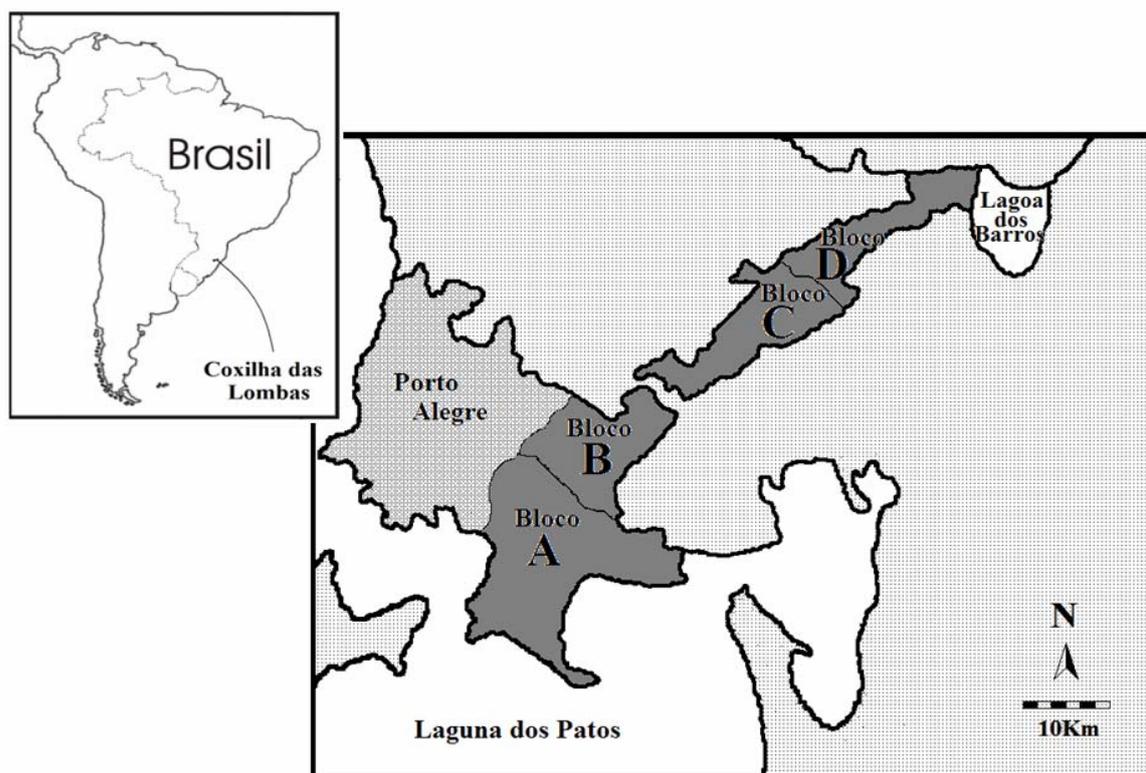


Figura 1 Distribuição geográfica dos 4 blocos populacionais de *Ctenomys lami* sob a distribuição geográfica da espécie na Coxilha das lombas, RS.

Resultados

Os valores médios dos parâmetros bioquímicos estão expressos na Tabela 1. Os resultados encontrados na comparação das análises bioquímicas entre as áreas estão apresentados na Tabela 2.

Diferenças significativas foram encontradas na enzima fosfatase alcalina entre os animais das áreas A e B, sendo que os animais da área B apresentaram maior atividade enzimática em comparação aos da área A. Também se encontrou diferenças significativas nos valores de colesterol para as três populações distintas, sendo que os animais da área B apresentaram valores maiores em relação aos da área A e C. Dentre os minerais, apenas o potássio teve alteração significativa, sendo esta encontrada entre a área A e área C. Em

contrapartida, as demais análises bioquímicas aferidas neste trabalho não apresentaram diferenças significativas entre as populações do estudo.

Tabela 1. Média, desvio padrão e intervalos de confiança de 95%, do perfil bioquímico do roedor fossorial *Ctenomys lami*, no Rio Grande do Sul, Brasil.

Parâmetros bioquímicos	Média ± D.P. (IC)
FA (U/L)	51 ± 34,78 (24,27 – 77,73)
AST (UI/L)	158,11 ± 44,47 (123,93 – 192,3)
ALT (UI/L)	80,09 ± 32,68 (54,97 – 105,21)
GGT (UI/L)	< 5
Creatinina (mg/dl)	0,46 ± 0,07 (0,4 – 0,51)
Colesterol (g/dl)	59,89 ± 26,84 (39,25 – 80,52)
Triglicerídeos (mg/dl)	98,67 ± 36,18 (70,86 – 126,48)
Uréia (mg/dl)	66,39 ± 12,72 (56,62 – 76,17)
Albumina (g/L)	34,39 ± 2,87 (32,18 – 36,60)
Proteína total (g/L)	53,22 ± 3,38 (50,62 – 55,82)
Potássio (mmol/L)	4,91 ± 0,32 (4,67 – 5,15)
Cálcio (mg/dl)	9,7 ± 0,65 (9,2 – 10,2)
Fósforo (mg/dl)	5,75 ± 0,52 (5,35 – 6,16)

Tabela 2. Comparação das análises bioquímicas em *pools* de soro entre duas áreas (Área A – Município de Itapuã; Área B – Município de Viamão) com impacto antrópico e uma (Área C - Unidade de Conservação Refúgio de Vida Silvestre Banhado dos Pachecos) sem nenhum impacto antrópico para a espécie *Ctenomys lami*.

Parâmetros Bioquímicos	Área A n = 15 (3 pools)	Área B n = 15 (3 pools)	Área C n = 15 (3 pools)
FA (U/L)	24,33 ^a ± 8,5	88,00 ^b ± 25,5	40,67 ^{a,b} ± 28,8
AST (UI/L)	160,33 ± 46,76	173,33 ± 64,6	140,67 ± 27,6
ALT (UI/L)	81,37 ± 37,5	91,60 ± 48,9	67,30 ± 5,2
GGT (UI/L)	<5	<5	<5
Creatinina (mg/dl)	0,45 ± 0,03	0,43 ± 0,08	0,49 ± 0,1
Colesterol (g/dl)	55,00 ^a ± 5,6	90,67 ^b ± 18,4	34,00 ^a ± 7,0
Triglicerídeos (mg/dl)	66,67 ± 12,6	124,67 ± 23,3	104,67 ± 43,9
Uréia (mg/dl)	70,59 ± 14,8	69,52 ± 17,2	59,08 ± 3,1
Albumina (g/L)	36,10 ± 3,6	34,60 ± 2,3	32,47 ± 2,2
Proteína total (g/L)	54,67 ± 4,0	54,67 ± 1,5	50,33 ± 2,9
Potássio (mmol/L)	5,26 ^a ± 0,6	4,82 ^{a,b} ± 0,3	4,66 ^b ± 0,2
Cálcio (mg/dl)	10,15 ± 0,9	9,34 ± 0,6	9,63 ± 0,2
Fósforo (mg/dl)	6,07 ± 0,4	5,47 ± 0,5	5,73 ± 0,6

Os dados estão expressos em média ± desvio padrão, sendo significâncias estatísticas com valores de $P < 0,05$. ^{a,b,c} Indicam diferenças significativas em cada área. Letras iguais não diferem entre si.

Discussão

Nenhum estudo até o presente momento foi realizado sobre o perfil bioquímico de espécies do gênero *Ctenomys*. Devido à pequena quantidade de soro obtida pelo volume de sangue coletado em decorrência do tamanho da espécie do roedor fossorial *Ctenomys lami*, as amostras foram reunidas em três *pools* de cinco animais por área. O agrupamento de animais através de *pools*, para avaliação de perfis metabólicos sanguíneos de uma população, tem sido utilizado em criação de grandes ruminantes (Van Saun 2004; Campos *et al.* 2005). Este é capaz de minimizar variações existentes de origem não nutricional, como idade, estado de lactação e hora de coleta da amostra em relação à alimentação (Campos *et al.* 2005). Em virtude disso, o *pool* se torna uma ferramenta útil para diminuir algumas variações que poderiam ser encontradas, porém, dificilmente diagnosticadas a campo somente com o exame clínico, como por exemplo, as fêmeas em lactação. Além disso, de maneira geral, o volume máximo de soro que pode ser coletado com segurança em mamíferos é de aproximadamente 10% do volume total de sangue, que corresponde a aproximadamente 1% do peso do animal (Campbell & Ellis, 2007). Individualmente, esse volume acaba muitas vezes sendo insuficiente para a realização de todas as análises bioquímicas em animais de pequeno porte. Em contrapartida, não obtendo valores individuais, podem os *pools* conter alguns espécimes com alterações significativas em determinados metabólitos, fazendo com que esta alteração reflita sobre toda a população e não apenas ao indivíduo.

Em alguns roedores o fígado é o órgão primário de produção de colesterol. A hipercolesterolemia geralmente está associada à infiltração de gordura em diversos tecidos (Campbell 2004). A concentração desse metabólito está estritamente relacionada com as mudanças na dieta dos animais (Bartley 1980; Kolb *et al.* 1995). Uma dieta protéica pode induzir a diferentes níveis de lipídeos nos soro, porém esse mecanismo não é plenamente

conhecido (Jonhson 1986). Vários estudos indicam que a composição dos aminoácidos nas proteínas está envolvida com seus efeitos sob o colesterol (Huff & Carrol, 1980; Nagata *et al.*, 1981). Dietas alimentares contendo diferentes proteínas, mas com o mesmo universo de aminoácidos resultam em variações nos valores de colesterol encontrados (Hermus *et al.*, 1979).

Uma nutrição rica em carboidratos ou gorduras é capaz de levar a um aumento nos níveis sanguíneos do colesterol (González & Silva 2006). Os valores encontrados no presente estudo indicam maiores concentrações de colesterol nas áreas A e B, onde existe a presença de pastagens cultivadas, obtendo diferenças significativas entre estas duas áreas. Na área C, a alimentação destes animais é baseada em pastagens nativas, tendo esta área somente diferença significativa em relação à área B. Essas alterações sugerem que diferenças na nutrição possam afetar a concentração de colesterol no soro sanguíneo. Os níveis sanguíneos de colesterol têm valores máximos durante a gestação, em função do aumento da síntese de esteróides gonadais nessa fase (González & Silva 2006). Em *Ctenomys lami*, o ciclo reprodutivo é bem marcado, com o período de cópulas e início da prenhez no inverno (Jundi & Freitas 2004). A hipótese de desvio no padrão dos valores de colesterol, devido a mudanças fisiológicas associadas durante o período reprodutivo, não é fortemente sustentada, uma vez que o período de amostragem representaria o início das atividades copulatórias e de prenhez.

A enzima fosfatase alcalina encontra-se presente em maior quantidade em células do epitélio intestinal, ossos, fígado, túbulos renais e placenta (Jenkins 2000, Thrall 2004). O aumento da atividade plasmática da enzima fosfatase alcalina durante a gravidez, em humanos, não é típica para muitos outros mamíferos, assim como no soro (Rosenquistj 1973; Healy 1971; Boles 1972). Esse metabólito demonstrou alterações significativas entre as áreas A e B, sendo que estas áreas não apresentam valores significativos em

relação à área C, considerada neste trabalho como sendo o grupo controle. Portanto, percebe-se uma maior atividade enzimática na área B, que poderia estar relacionado com um maior número de fêmeas em estado inicial de prenhez, coletadas ao acaso dentro da população total de fêmeas. Porém, o aumento desta enzima não foi constatado em outros roedores em associação com o período gestacional.

Diferenças significativas de potássio foram encontradas entre a área A e área C, sendo que a área A apresenta uma hipercalemia em relação a C. Aumentos séricos de potássio são geralmente observados em casos de falhas na excreção, por lesão renal, obstrução ou ruptura do trato urinário (Campbell 2004). Os metabólitos uréia, creatinina e fósforo também são indicativos de algum dano renal, podendo estes estar aumentados juntamente com o potássio, caso essa população apresentasse dano nesse órgão. Como esses exames bioquímicos não apresentaram diferenças significativas, acredita-se que essa não seria a causa do aumento nos níveis de potássio no soro. Logo após a ingestão de potássio, obtém-se um aumento significativo desse mineral no líquido extracelular (DiBartola & Moraes 2006). Porém, hipercalemias não são normalmente encontradas em animais que tenham uma dieta rica em potássio juntamente com uma função renal normal (Carlson 1989). Acredita-se que o aumento de potássio, neste estudo, não esteja relacionado a um aumento deste mineral na alimentação, visto que a funcionalidade renal é capaz de manter seus níveis dentro de limites considerados normais. Pseudohipercalemias, provocadas por artefatos de coleta, são relatadas em decorrência da hemólise dos eritrócitos durante a coleta e transporte do sangue, em função da presença do potássio ser mais elevada intracelular do que no fluido extracelular (French *et al* 1999; Campbell 2004). O aumento deste metabólito pode estar relacionado a hemólises durante o transporte das amostras, porém, hemólises não foram detectadas a olho nu no soro destes animais.

Os demais metabólitos não apresentaram diferenças significativas entre as áreas. É possível também a utilização de outras metodologias alternativas que podem ser empregadas na avaliação de cada indivíduo, como sistemas “point-of-care” (Ericson & Wilding 1993) nos quais a quantidade de amostra é mínima para um número grande de análises, aumentando assim a resolução de respostas metabólicas para os indivíduos analisados.

De maneira geral, parece haver indícios de que as duas áreas modificadas pela presença do homem influenciam na biologia da espécie em questão, principalmente no que diz respeito às modificações na cobertura vegetal dos campos, tendo sido estes substituídos por pastagens exóticas, causando alterações na dieta de *C. lami*. Estudos mais aprofundados sobre a fisiologia alimentar e valores nutricionais dos alimentos consumidos devem ser realizados para um melhor esclarecimento das alterações bioquímicas nestes roedores.

Referencias

1. Bartley JC. Lipid metabolism and its diseases. In: Kaneko JJ, ed. Clinical biochemistry of domestic animals. New York: Academic Press; 1980:106–141.
2. Boles J, Leroux ML, Perry WF. Investigation of alkaline phosphatase activity in the serum of pregnant rats. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1972;261:197-204.
3. Campbell TW. Clinical Chemistry of Mammals: Laboratory Animals and Miscellaneous Species In. Thrall MA, Campbell TW, DeNicola D, Feetman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G, eds. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2004: 463 - 479.
4. Campos R, Coldebella A, Gonzáles F, Lacerda L. Perfil metabólico obtenido de *pool* de sueros o de muestras individuales. *Archivos de Zootecnia*. 2005;54: 113-116.
5. Carlson GP. Fluid, Eletrolyte, and Acid-Base Balance. In: Kaneko JJ, ed. Clinical biochemistry of domestic animals. New York: Academic Press; 1989:543-573.
6. DiBartola SP, Morais HA. Disorders of Potassium: Hypokalemia and Hyperkalemia. In: DiBartola SP, ed. *Fluid, eletrolyte, and Acid-base Disorders in Small Animal Practice*. Missouri:Saunders; 2006: 91-121.
7. Freitas TRO. “tucu-tucos” (Rodentia-Octodontidae) in southern Brazil: *Ctenomys lami* spec. nov. separated from *C. minutus* Nehring 1887. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. 2001;36: 1-8, 2001.
8. González FHD, Silva SC. *Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária*. Rio Grande do Sul: Editora UFRGS; 2006:360.
9. Healy PJ. Serum alkaline phosphatase in sheep. *Clinica Chimica Acta*. 1971;33: 431-446.
10. Hermus RJJ, Terpstra AHM, Dalunga-Tha GM. apud Remi de Schrijver Cholesterol Metabolism in Mature and Immature Rats Fed Animal and Plant Protein. *Journal of Nutrition*, 1990. 1979;120: 1624-1632.
11. Huff MW, Carrol KK. Effects of dietary proteins and amino acid mixtures on plasma cholesterol levels in rabbits. *Nutrition*. 1980;110: 1676-1685.
12. Jenkins JR. Rabbit and Ferret Liver and Gastrintestinal Testing. In: Fudge AM, ed. *Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets*. Pennsylvania:Saunders; 2000:291-304.
13. Johnson JA, Beitz DC, Jacobson L. Effects of dietary beef and soy protein on tissue composition and low density lipoprotein uptake in young pigs. *Nutrition*. 1989;119: 696-705.

14. Jundi TAR, Freitas TRO. Genetic and demographic structure in a population of *Ctenomys lami* (Rodentia-Ctenomyidae). *Hereditas*. 2004;140: 18- 23.
15. Erickson KA, Wilding P. Evaluation of a Novel Point-of-Care System, the i-STAT Portable Clinical Analyzer. *Clinical Chemistry*. 1993;39: 283-287.
16. Kolb E, Lippmann R, Alawad A, Eichler S, Leo M, Wahren M. Untersuchungen beim Damwild (*Dama dama* L). I. Mitteilung: Der Gehalt an Glukose, Cholesterol, Gesamtprotein, Harnstoff, Ascorbinsäure und Vitamin E im Blutplasma von Hirschkälbern, Wildkälbern, Muchsen, Kastraten und Alttieren. *Tierärztliche Umschau*. 1995;50:490–494.
17. Nagata Y, Tanaka K, Sugano M. Further studies on the hypocholesterolaemic effect of soya-bean protein in rats. *British Journal of Nutrition*. 1981;45: 233-241.
18. Rosenquist J. Effects of supply and withdrawal of fluoride: Experimental studies on growing and adult rabbits. 4. Serum alkaline phosphatase isozymes. *Acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica. Section A, Pathology*. 1973;81: 645-650.
19. Thrall MA, Campbell TW, DeNicola D, Feetman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2004:355-375.
20. Van Saun RJ. Using a pooled sample technique for herd metabolic profile screening. In: *Proceedings 12th International Conference on Production Diseases in Farm Animals, ICPD, East Lansing, Michigan; 2004*.

CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados nos valores de hematócrito e hemoglobina para este roedor, quando comparados a outras espécies subterrâneas, nos fazem pensar no porquê desta espécie responder de maneira distinta em relação as suas adaptações fisiológicas ao meio subterrâneo. As hipóteses levantadas poderão ser testadas no futuro, através de estudos mais detalhados e complementares, sobre a concentração de oxigênio e gás carbônico nos túneis subterrâneos, juntamente com pesquisas sobre os hábitos de vida, elucidando melhor as diferenças encontradas. Juntamente a isto, investigações sobre interações entre parasitas e pequenos mamíferos de vida livre também deveriam ser mais aprofundados para uma melhor compreensão dessas interações e da resposta imune do hospedeiro. Além disso, hoje em dia, ainda são escassos os estudos sobre o impacto antrópico nas populações de pequenos roedores subterrâneos silvestres, existindo uma dificuldade na interpretação da fisiologia destes quando sofrem fatores estressantes.

De maneira geral, no presente trabalho, existem fortes indícios de que o habitat subterrâneo nas duas áreas modificadas pela presença do homem influencia na biologia da espécie em questão, principalmente no que diz respeito às modificações na cobertura vegetal dos campos, possivelmente causando estas alterações na dieta de *C. lami*. Estudos mais aprofundados sobre a fisiologia alimentar e valores nutricionais dos alimentos consumidos também devem ser realizados para um melhor esclarecimento das alterações bioquímicas encontradas nestes roedores.

A escassez de informação sobre a fisiologia, parâmetros bioquímicos e hematológicos das espécies de roedores subterrâneos do gênero *Ctenomys* no Brasil reflete a necessidade de mais estudos sobre estes assuntos no país. Conclui-se que este trabalho é de grande importância para iniciar-se na compreensão da fisiologia desta espécie e suas adaptações aos diferentes habitats e hábitos alimentares.

REFERÊNCIAS

- ALTUNA, A. C.; FRANCESCOLO, G.; TASSINO, B.; IZQUIERDO, G. E. Ecoetología y conservación de mamíferos subteraneos de distribución restringida: El caso de *Ctenomys pearsoni* (Rodentia, Octodontinae) en el Uruguay. **Etologia**, v. 7, p.47-54, 1999.
- ALTUNA, C.A.; BACIGALUPE, L.D.; CORTE, S. Food handling and feces reingestion in *Ctenomys pearsoni* (Rodentia: Ctenomidae). **Acta Theriologica**, v. 43, p. 433-437, 1998.
- ARCHER, R.K.; JEFFCOTT, L.B. **Comparative clinical hematology**. Austrália: Blackwell Scientific Publications, 737p, 1977.
- AR, A. Physiological adaptations to underground life in mammals. **Comparative Physiology of Environmental Adaptation**, p. 208-211. DEJOURS, P. (Ed), Karger, 1986.
- ARIELI, R. The atmospheric environment of a fossorial mole rat (*Spalax ehrenbergi*): Effect of season, soil texture, rain, temperature and activity. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 63A, p.569-575, 1979.
- ARIELI, R.; HETH, G.; NEVO, E.; ZAMIR, Y.; NEUTRA, O. Adaptive heart and breathing frequencies in 4 ecologically differentiating chromosomal species of mole-rats in Israel. **Experientia**, v. 42, p. 131-133, 1986.
- ARIELI, R.; AR, A.; SHKOLNIK, A. Metabolic responses of a fossorial rodent (*Spalax ehrenbergi*) to simulated burrow conditions. **Physiological Zoology**, v. 50, p. 61-75, 1977.
- BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. 2 ed: Robe editorial. 583p., 2003.
- BARTLEY, J.C. Lipid metabolism and its diseases. In: KANEKO, J.J. (ed). **Clinical Biochemistry of domestic animals**. New York: Academic Press, 1980, p 106 –141.
- BOGGS, D.F.; KILGORE, D.L.; BICHARD, G.F. Respiratory physiology of burrowing mammals and birds. **Comparative biochemistry and physiology**, v. 77A, p.1-7, 1984.
- BOLES, J.; LEROUX, M.L.; PERRY, W.F. Investigation of alkaline phosphatase activity in the serum of pregnant rats. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 261, p.197-204, 1972.
- BUFFENSTEIN, R. Ecophysiological responses of subterranean rodents to underground habitats, p. 62-110. In: LACEY, E.A., PATTON, J.P., CAMERON, G.N. (ed), **Life Underground: The Biology of Subterranean Rodents**. Chicago: University of Chicago Press, 2000.
- BUFFENSTEIN, R.; YAHAV, S. Fibre utilization by Kalahari dwelling subterranean Damara mole-rats (*Cryptomys damarensis*) when fed their natural diet of gemsbok cucumber tubers (*Acanthosicyos nuadinianus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 109A, p. 431-436, 1994.

BUSCH, C.; ANTINUCCI, C. D.; VALLE, J. C.; KITLEIN, N. J.; MALIZIA, A. I.; VASSALO, A. I.; ZENUTO, R. R. Population ecology of subterranean rodents. In: LACEY, E.A., PATTON, J.P., CAMERON, G.N. (ed) **Life underground: the biology of subterranean rodents**. Chicago: The University of Chicago Press, 2000, 449p.

CAMPBELL, T.W. Clinical chemistry of mammals: laboratory animals and miscellaneous species. In: THRALL, M.A.; CAMPBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FEETMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. (eds) **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 2004, p 463 - 479.

CAMPBELL, T.W.; ELLIS, C.K. **Avian & Exotic Animal Hematology & Citology**. Iowa: Blackwell Publishing, 287p., 2007.

CAMPOS, R.; COLDEBELLA, A.; GONZÁLES, F.; LACERDA, L. Perfil metabólico obtenido *de* pool de sueros *o de* muestras individuales. **Archivos de zootecnia**, v. 54, p.113-116, 2005.

CARLSON, G.P. Fluid, Eletrolyte, and Acid-Base Balance. In: KANEKO, J.J. (ed) **Clinical biochemistry of domestic animals**. New York: Academic Press, 1989, p. 543-573.

COMPARATORE, V. M.; CID, M. S.; BUSH, C. Dietary preferences of two sympatric subterranean rodent population in Argentina. **Revista Chilena Historia Natural**, v. 68, p.197-206, 1995.

CONTRERAS, J. R. El tuco-tuco y sus relaciones con los problemas del suelo en Argentina. **Idia**, v. 24, p. 14-36, 1973.

DEAN, M.F.; MUIR, H. The characterization of a protein-polysaccharide isolated from Kurloff cells of the guinea pig. **Biochemical Journal**, v. 118, p. 783-790, 1970.

DEBOUT, C.; QUILLET, M.; IZARD, J. Natural killer activity of Kurloff cells: A direct demonstration on purified Kurloff cell suspensions. **Cellular immunology**, v.87, p. 674–677, 1984.

DEBOUT, C.; QUILLEC, M.; IZARD, J. New data on the cytolytic effects of natural killer cells (Kurloff cells) on a leukemic cell line (guinea pig L2C). **Leukemia Research**, v. 23, n. 2, p.137–147, 1999.

DIBARTOLA, S.P.; MORAIS, H.A. Disorders of potassium: hypokalemia and hyperkalemia. In: DIBARTOLA, S.P. (Ed) **Fluid, eletrolyte, and acid-base disorders in small animal practice**. Missouri: Saunders, 2006, p. 91-121.

EREMIN, O.; WILSON, A. B.; COOMBS R. R. Antibody-dependent cellular citotoxicity in the guinea pig. **Cellular Immunology**, v. 55, p. 312-327, 1980.

FREYGANG, C.C.; MARINHO, J.R.; FREITAS, T.R.O. New karyotypes and some considerations about the chromosomal diversification of *Ctenomys minutus* (Rodentia:

Ctenomyidae) on the coastal plain of the Brazilian state of Rio Grande do Sul. **Genetica**, v. 121, p. 125-132, 2004.

FREITAS, T.R.O.; LESSA, E.P. Cytogenetics and morphology of *Ctenomys torquatus* (Rodentia: Octodontidae). **Journal of Mammalogy**, v. 65, p. 637-642, 1984.

FREITAS, T.R.O. 1990. **Estudos citogenéticos e craniométricos em três espécies do gênero *Ctenomys***. Tese (Doutorado em Curso de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular), UFRGS, Porto Alegre, RS. **PAGINAS**

FREITAS, T.R.O. Geographical variation of heterocromatin in *Ctenomys flamarioni* (Rodentia-Octodontidae) and its cytogenetic relationship with other species of the genus. **Cytogenetics and Cell Genetics**, v. 67, p. 193-198, 1994.

FREITAS, T.R.O. Geographic distribution and conservation of four species of the genus *Ctenomys* in southern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 30, n. 1, p. 53-59, 1995

FREITAS, T.R.O. Geographical distribution of patterns of sperms in the genus *Ctenomys* (Rodentia-Octodontidae). **Revista Brasileira de Genética**, v. 18, n. 1, p. 43-46, 1995.

FREITAS, T.R.O. Chromosome polymorphism in *Ctenomys minutus* (Rodentia-Octodontidae). **Revista Brasileira de Genética**, v. 20, n. 1, p. 1-7, 1997.

FREITAS, T.R.O. “tuco-tucos” (Rodentia-Octodontidae) in southern Brazil: *Ctenomys lami* spec. nov. separated from *C. minutus* Nehring 1887. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 36, p. 1-8, 2001.

FREITAS, T.R.O. Cytogenetics status of four *Ctenomys* species in the south of Brazil. **Genetica**, v.126, p. 227- 235, 2006.

FRENCH, T.W.; BLUE, J.T.; STOKOL, T. Disponível em: <<http://diaglab.vet.cornell.edu/clinpath/modules/chem/chempanl.htm>> Acessado em 05/02/2009.

GARCIA-NAVARO, C.E.K.; PACHALY, J.R. **Manual de hematologia veterinária**. São Paulo: Varela, 1994.

GARCIA, L.; PONSÁ, M.; EGOZCUE, J.; GARCIA, M. Cytogenetic variation in *Ctenomys perrensi* (Rodentia-Octodontidae). **Biological Journal of Linnean Society**, v. 71, p. 615-624, 2000.

GALLARDO, M. H. Las especies chilenas de *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae). estabilidad cariotípica. **Archivos de Biología y Medicina Experimental**, v. 12, p. 71-81, 1979.

GALLARDO, M.H.; ANRIQUE, J.A. Populational parameters and burrow systems in *Ctenomys maulinus brunneus* (Rodentia: Ctenomyidea). **Medio Ambiente**, v. 11, p. 48-53, 1991.

GASTAL, M. L. Sistema ydade túneis e área de vida de *Ctenomys minutus* Nehring, 1887 (Rodentia, Caviomorpha, Ctenomyidae) Inheringia, Porto Alegre. **Ser. Zool.** v. 77, p. 35-44, 1994.

GAVA, A.; FREITAS, T.R.O. Characterization of a hybrid zone between chromosomally divergent populations of *Ctenomys minutus* (Rodentia: Octodontidae). **Journal of Mammalogy**, v. 83, p. 843-851, 2002.

GAVA, A.; FREITAS, T.R.O. Inter and intra-specific hybridization in “tuco-tucos” (*Ctenomys*) from Brazilian Coastal Plains (Rodentia: Ctenomyidae) inter and intra-specific. **Genetica**, v. 119, p. 11-17, 2003

GIMÉNEZ, M.D.; CONTRERAS, J.R.; BIDAU, C.J. Chromosomal variation in *Ctenomys pilarensis*, a recently described species from easter Paraguay (Rodentia: Ctenomidae). **Mammalia**, v. 61, p. 385-398, 1997.

GONZÁLEZ, F.H.D.; CONCEIÇÃO, T.R.; SIQUEIRA, A.J.S.; LA ROSA, V.L. Variações sangüneas de urêia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**. v. 117, p. 59-62, 2000.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Editora UFRGS, Rio Grande do Sul, 2nd ed., 2006, 360p.

HANDELMAN, C.T.; BLUE, J. Laboratory data: read beyond the numbers. In: **Veterinary Laboratory Medicine: In Practice**. Trenton, Veterinary Learning Systems, 1993.

HAWKEY, C.M.; DENNET, T.B. **Comparative veterinary hematology**. Ipswich: W.S. Cowell, 192p., 1989.

HEALY, P.J. Serum alkaline phosphatase in sheep. **Clinica Chimica Acta**, v. 33, p. 431-446, 1971.

HERMUS, R.J.J.; TERPSTRA, A.H.M.; DALUNGA-THA, G.M. (1979) apud SCHRIJVER, R. Cholesterol metabolism in mature and immature rats fed animal and plant protein **Journal of Nutrition**, v. 120, p. 1624-1632, 1990.

HUFF, M.W.; CARROL, K.K. Effects of dietary proteins and amino acid mixtures on plasma cholesterol levels in rabbits. **Nutrition**. v. 110, p. 1676-1685, 1980.

Small mammal hematology: leukocyte identification in rabbits and guinea pigs. Disponível em: <<http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/lester/index.php>>. Acesso em: 20 de novembro, 2008.

IZZARD, J.; BARRELIER, M. T.; QUILLEC, M. The Kurloff cell-its differentiation in the blood and lymphatic system. **Cell and Tissue Research**, v.173, p. 237-259, 1976.

JAIN, C.N. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia, Lea ; Febiger, 417p, 1993.

JAIN, N.C. **Shalm's veterinary hematology**. 4 ed. Philadelphia: Lea ; Febiger, 1986. 1221p.

JARA, L.F.; SANCHEZ, J.M.; ALVARADO, H.; NASSAR-MONTOYA F. Kurloff cells in peripheral blood and organs of wild capybaras. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 2, p. 431–434, 2005.

JARVIS, J.U.M.; BENNET, N.C. Ecology and behaviour of the family Bathyergidae. In: **The biology of the naked mole-rat**. SHERMAN, P.W.; JARVIS, J.U.M.; ALEXANDER, R.D. (Eds). NJ: Princeton University Press, 1991, p. 66-97.

JENKINS, JR. Rabbit and ferret liver and gastrointestinal testing. In: FUDGE, A.M. (ed) **Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets**. Pennsylvania: Saunders, 2000, pp 291-304.

JOHANSEN, K.; LYKKEBOE, G.; WEBER, R.E.; MALOIJ, G.M. Blood respiratory properties in the naked mole-rat, *Heterocephalus glaber*, a mammal of low body temperature. **Respiratory Physiology**, v. 28, p. 303-314, 1976.

JOHNSON, J.A.; BEITZ, D.C.; JACOBSON, L. Effects of dietary beef and soy protein on tissue composition and low density lipoprotein uptake in young pigs. **Nutrition**, v. 119, p. 696-705, 1989.

JUNDI, T.A.R.; FREITAS, T.R.O. Genetic and demographic structure in a population of *Ctenomys lami* (Rodentia-Ctenomyidae). *Hereditas*, 140, p. 18- 23, 2004.

KANEKO, J.J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 4 ed. California, Academic Press, 1989, 932 p.

KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th ed. New York, Academic Press, 1997.

KATHERINE, A.; WILDING, E.; WILDING, P. Evaluation of a novel point-of-care system, the i-STAT portable clinical analyzer. **Clinical Chemistry**, v. 39, n. 2, p. 283-287, 1993.

KIBLISKY, P., BRUM-ZORILLA, N., PÉREZ, G., SÁEZ, F. A. Variabilidad cromosómica entre diversas poblaciones del roedor cavador del género *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae). **Mendeliana**, v. 2, p. 85-93, 1977.

KOLB, E.; LIPPMANN, R.; ALAWAD, A.; EICHLER, S., LEO, M.; WAHREN, M. Untersuchungen beim Damwild (*Dama dama L*). I. mitteilung: der gehalt an glukose, cholesterol, gesamtprotein, harnstoff, askorbinsaure und vitamin E im blutplasma von hirschkälbern, wildkälbern, muchsen, kastraten und alttieren. **Tieraerztliche Umschau**, v. 50, p. 490–494, 1995.

LACEY, E.A.; BRAUDE, S.H.; WIEZORECK, J.R. Solitary burrow use by adult patagonian “tuco-tucos”. **Journal of Mammalogy**, v. 78, p. 986-991, 1998.

LACEY, E.A.; PATTON, J. P.; CAMERON, G. N. **Life underground: the biology of subterranean rodents**. Chicago: **University of Chicago Press**, 2000, 449 p.

LECHNER, A.J. Respiratory adaptation in burrowing pocket gophers from sea level and high altitude. **Journal of Applied Physiology**, v. 41, p.168-173, 1976.

LEE, W.B.; HOUSTON, D.C. The role of coprophagy in digestion in voles (*Microtus agrestis* and *Clethrionomys glareolus*). **Functional Ecology**, v. 7, p.168-73, 1993.

LESSA, E.P.; COOK, J.A. The molecular phylogenetics of tuco-tuco (genus *Ctenomys*, Rodentia: Octodontidae) suggests an early burst of speciation. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 9, p. 88-99, 1998.

LOEB, S.C.; SCHWAB, R.G.; DEMMENT, M.W. Responses of pocket gophers (*Thomomys bottae*) to change in diet quality. **Oecologia**, v. 86, p. 542-51, 1991.

LOPES, R.S.; SILVEIRA, J.M.; CASTRO, K.G. Valores sangüíneos de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) criadas em semi-cativeiro no Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.10, n.1, p.6-8, 1988.

MACLEAN, G.S. Factors influencing the composition of respiratory gases in mammal burrows. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 69, p. 373-83, 1981.

MACNAB, B.K. The metabolism of fossorial rodents: a study of convergence. **Ecology**, v. 45, p. 712- 713, 1966.

MALIZIA, A.I.; ZENUTO, R.R.; BUSCH, C. Demographic and reproductive attributes of disperser in two populations of the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (Tuco-Tuco). **Canadian Journal of Zoology-Revue**, v. 73-4, p. 732-738, 1995.

MALIZIA, A.I.; BUSCH, C. Breeding biology of the fossorial rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia, Octodontidae). **Journal of Zoology**, v. 242, p. 463-471, 1997.

MARINHO, J.R.; FREITAS, T.R.O. Intraspecific craniometric variation in chromosomal hybrid zone of *Ctenomys minutus* (Rodentia, Hystricognathi). **Z Saugetierkunde**, v. 65, p. 226-231, 2000.

MASSARINI, A.I.; BARROS, M.A.; ROIG, V.; REIG, O.A. Banded karyotypes of *Ctenomys mendocinus* from Mendonza, Argentina. **Journal Mammalogy**, v. 72, p. 194-197, 1991.

MEI, Z.; COGSWELL, M.E.; PARYANTA, I.; LYNCH, S.; BEAR, J.L. Hemoglobin and ferritin are currently the most efficient indicators of population response to iron interventions: an analysis of nine randomized controlled trials. **Journal of Nutrition**, 135:1974–1980, 2005.

MOORE, D.M.: Hematology of rabbits and hematology of the guinea pig. *In*: FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. (eds) **Schlam's Veterinary Hematology**, 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, pp.1100-1110.

NAGATA, Y.; TANAKA, K.; SUGANO, M. Further studies on the hypocholesterolaemic effect of soya-bean protein in rats. **British Journal of Nutrition**, v.45, p. 233-241, 1981.

NEVO, E. Mammalian evolution underground: the ecological-genetic-phenetic inter faces. **Acta Theriologica**, Supplement, v. 3, p. 39-31, 1995.

NOWAK, R.M. **Walker's Mammals of the World**. 5th Edition. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, 1991, 1629 p.

ORTELS, M.O.; CONTRERAS, J.R.; REIG, O.A. New *Ctenomys* karyotypes (Rodentia: Octodontidae) from North-eastern Argentina and from Paraguay confirm the extreme chromosomal multiformity of the genus. **Genetica**, v. 82, p. 189-291, 1990.

PAYNE, J.M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. New York: Oxford University Press, 1987, 179p.

PATTON, S. Rabbit and ferret parasite testing. In: Fudge AM (ed) **Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets**. Pennsylvania, Saunders, 2000, p. 258-365.

PATTON, J.L.; SHERWOOD, S.W. Chromosome evolution and speciation in rodents. **Annual Review of Systematics**, v. 14, p. 139-581, 1983.

PEARSON, O. Biology of subterranean rodents, *Ctenomys*, in Peru. **Memorias Museo Natural "Javier Prado"**, v. 9, p.1-56, 1959.

REBELATO, G.S. **Análise ecomorfológica de quatro espécies de *Ctenomys* do sul do Brasil (Ctenomyidae – Rodentia)**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação, Ecologia UFRGS, 2006.

REIG, O.A.; BUSCH, C.; ORTELS, M.O.; CONTRERAS, J.R.; An overview of evolution, systematics, population and speciation in *Ctenomys*, In: NEVO, E.; REIG, O.A.; AR. R. **Evolution of subterranean mammals at the organismal and molecular levels**. New York: Liss., 1990, p. 71-96.

REIG, O. A.; KIBLISKY, P. Chromosome multiformity in the genus *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae). **Chromosoma**, v. 28, p. 211-244, 1969.

REIG, O.A. Karyotypic repatterning as one triggering factor in case of explosive speciation. In: **Evolutionary biology of transient unstable population**. Germany, Fontdevila, 1989, p. 246-298.

REIG, O.A. Ecological notes on the fossorial octodont rodent *Spalocopus cyanus* (Molina). **Journal of Mammology**, v. 51, p. 592-601, 1970.

ROSENQUIST, J. Effects of supply and withdrawal of fluoride: experimental studies on growing and adult rabbits. 4. Serum alkaline phosphatase isozymes. **Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica. Section A, Pathology**, v. 81, p. 645-650, 1973.

ROSI, M.I.; PUIG, S.; VIDELA, F.; MADOERY, L.; ROIG, V.G. Estudio ecológico del roedor subterráneo *Ctenomys mendocinus* en la precordillera de Mendoza, Argentina: Ciclo reproductivo y estructura etária. **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 65, p. 221-33, 1992.

STOLZ, J. F. B. **Dinâmica populacional e relações espaciais do tuco-tuco-das-dunas (*Ctenomys flamarioni* – rodentia – ctenomyidae) na estação ecológica do taim-RS/Brasil**. Dissertação-mestrado, UFRGS, Porto Alegre, RS, 2006, 71p.

THRALL, M.; CAMPBELL, T.; DENICOLA, D.; FEETMAN, M.; LASSEN, E.; REBAR, A.; WEISER G. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia, 518p, 2004.

TRAVI, V.H. **Etologia de *C. torquatus* Lichtenstein, 1830. (Rodentia, Ctenomidae) na Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil**, Dissertação-Mestrado, UFRGS, Porto Alegre, RS, 1983, 75p.

WIDMER, H.R.; HOPPELER, H.; NEVO, E.; TAYLOR, C.R.; WEIBEL, E.R.. Working underground: respiratory adaptations in the blind mole rat. USA, **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 94, p. 2062-67, 1997.

WILLIAMS, L.; CAMERON, G. Food habits and dietary preferences of attwater's pocket gopher, *Geomys attwateri*. **Journal of Mammalogy**, v. 67, p. 216-24, 1986.

WOODS, C.A.; KILPATRICK, C.W. Hystricognathi. In: WILSON, D.E.; REEDER, D.M. (eds). **Mammal species of the world a taxonomic and geographic reference**. 3th ed. Baltimore, Johns Hopkins University Press, 2005, vol. 2, pp. 1538-1600.

VAN SAUN, R.J. Using a pooled sample technique for herd metabolic profile screening. In: **Proceedings 12th International Conference on Production Diseases in Farm Animals, ICPD**, East Lansing, Michigan, 2004.

VAN SOEST, P.G. Gastrointestinal fermentation. In: CORVALLIS, O.R. (Ed). **Nutritional Ecology of Ruminants**. O&B Books, 1982, p.152-229.

ZENUTO, R.; BUSCH, C.; LACEY, A.E. DNA fingerprint reveals polygyny in the subterranean rodents *Ctenomys talarum*. **Molecular Ecology**, v. 8, p.1529-1532, 1999.