

## Observaciones anatómicas e histológicas del sistema reproductor masculino y femenino en *Tamandua tetradactyla* (Myrmecophagidae: Xenarthra)

Anatomical and histological observations of the reproductive tract in males and females of *Tamandua tetradactyla* (Myrmecophagidae: Xenarthra)

ROSSI, LF.<sup>1</sup>; RHON CALDERÓN, E.<sup>1</sup>; ALONSO, FM.<sup>1</sup>; LUACES, JP.<sup>1</sup>; MERANI, MS.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Cromosómica, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Paraguay 2155, CP1121ABG, C.A.B.A., Argentina. Te:+54 11 59509500 int. 2153.

### RESUMEN

El oso melero (*Tamandua tetradactyla*) pertenece a la familia Myrmecophagidae del superorden Xenarthra. La fragmentación del hábitat, la caza local y el mascotismo, lo ubican en la categorización “potencialmente vulnerable” en Argentina. Para la aplicación a futuro de protocolos de biotecnología reproductiva en programas de manejo y conservación de gametos se realizaron disecciones anatómicas, estudios histológicos y de morfometría espermática (mediante microscopía óptica y electrónica) en tractos reproductores de 5 hembras y 4 machos. La diferenciación de la genitalia externa entre sexos resulta dificultosa: las hembras presentan una hendidura longitudinal y los machos presentan un orificio terminal en la punta del pene. El pene, contiguo al ano, está formado mayormente por tejido conectivo denso, el cuerpo esponjoso esta menos desarrollado en su parte superior y el extremo distal no forma un glande. Los testículos están ubicados internamente en la cavidad pélvica unidos por una capa del peritoneo visceral. Los ovarios presentan una serosa de epitelio simple cúbico y zona medular rodeada por la corteza. El útero es simple y dorso-ventralmente aplanado. Los estudios histológicos evidenciaron un seno urogenital en vez de una verdadera vagina, el cérvix fue elongado y fue denominado canal utero-vaginal. Entre este último y el seno urogenital, todas las hembras presentaron un tabique membranoso biperforado semejante a un himen.

Palabras clave: (oso melero), (tracto reproductor), (genitalia), (morfología).

Correspondencia Susana Merani mmerani@fmed.uba.ar

Recibido: 11-01-2013

Aceptado: 19-02-2014

## SUMMARY

To the Xenarthra superorder belongs the anteater (*Tamandua tetradactyla*) member of the Myrmecophagidae family. Because of the habitat fragmentation, local hunting and their usage as a pet, it's has been categorized as "potentially vulnerable" in Argentina. Anatomical dissections and morphometric studies were performed; histological and sperm morphometric were made by light and electron microscopy in reproductive tract of 5 females and 4 males. Differentiation of the external genitalia, between sexes, is difficult: females had a slit of the vulva occupying the entire body, while males had a terminal orifice near the tip of the penis. The conical penis is located adjacent to the anus and is composed mostly of dense connective tissue, the corpus spongiosum was less developed in its upper part and the distal end was not forming a glans. The testicles are located internally in the pelvic cavity and connected by a layer of visceral peritoneum. The ovaries were covered by a simple cubic epithelium and present a medulla surrounded by the cortex. The uterus was simple, pear-shaped and dorsoventrally flattened. Histological studies showed an urogenital sinus instead of a real vagina, the cervix was elongated and was called utero-vaginal canal. Between the cervix and the urogenital sinus all females showed a biperforated membranous septum, similar to an hymen.

Key words: (lesser anteater), (reproductive tract), (genitalia), (morphology).

## INTRODUCCIÓN

El superorden Xenarthra es un grupo de mamíferos que abarca 14 géneros y 31 especies<sup>17</sup>. Poseen un sistema reproductor masculino de características peculiares con testículos internos<sup>23,18</sup>, espermatozoides de morfología particular<sup>6</sup>, y variación en el tamaño testicular e inhibición testicular estacional<sup>25, 37, 26</sup>. Las hembras poseen folículos poliovulares y la mayoría de las especies tienen un seno urogenital<sup>7</sup>. Además, en armadillos del género *Dasybus*, las hembras presentan retraso de implantación<sup>15</sup>, diapausa embrionaria<sup>39, 35</sup> y poliembrionia<sup>15,16, 27, 3, 36, 24</sup>. Las especies de la familia Myrmecophagidae presentan una rápida disminución poblacional a nivel local como resultado de la fragmentación del hábitat, su caza indiscriminada y su utilización como mascota. Debido a esto, actualmente son consideradas especies prioritarias en conservación<sup>9</sup>. El oso melero (*Tamandua tetradactyla*) miembro de esta familia<sup>29</sup> se distribuye principalmente en América del Sur<sup>39,40</sup> y está categorizado como "potencialmente vulnerable" por la Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos

(S.A.R.E.M.), mientras que su pariente cercano, el oso hormiguero (*Myrmecophaga tridactyla*), esta categorizado "en peligro"<sup>9</sup>. Si bien los primeros estudios anatómicos del tracto genital, en el oso melero fueron realizados hace unos 100 años<sup>23, 18</sup>, los datos histológicos son escasos. Grassé (1955)<sup>18</sup> describió la posición de los testículos internos y encontró variaciones en el tamaño del tracto reproductor masculino que atribuyó a un periodo de celo. Las células del epitelio seminífero con su estructura fina aún no han sido estudiadas. Con respecto al espermatozoide de esta especie, sólo existe un trabajo con medidas pero sin ilustraciones morfológicas<sup>21</sup>. Ciertos rasgos importantes como la histología de glándulas accesorias, la morfología (anátomo-histología) de los órganos reproductores y la estructura funcional de los tejidos eréctiles, siguen siendo poco claros. El marco teórico de esta especie se verá incrementado al profundizar el conocimiento biológico reproductivo general siendo a su vez de importante y válida ayuda en zoológicos y lugares de reproducción, facilitando así la aplicación de protocolos de biotecnología reproductiva en programas relacionados al

manejo y conservación de gametos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvo el tracto reproductor de 9 especímenes adultos de *Tamandua tetradactyla* (5 hembras y 4 machos). Los tractos fueron obtenidos de especímenes muertos (por enfermedad o atropellados) provenientes de diferentes zoológicos y centros de reinserción de fauna. El peso de cada individuo fue obtenido en el momento mediante la utilización de una balanza o *house* de cada institución. Previo a su fijación, se realizó la disección anatómica, identificación y medición macroscópica de las distintas regiones de los tractos reproductores, los cuales fueron marcados y numerados secuencialmente. A cada macho se le midió el ancho (A) y largo (L) del testículo izquierdo con un calibre digital precisión de 0,1 mm y se estimó el volumen testicular, mediante la fórmula de Hansen [V (volumen) = L (largo) x A<sup>2</sup> (ancho) x 0,52)]<sup>20</sup>. Para la realización de los estudios histológicos, los tejidos fueron fijados en formol 10% y las diferentes regiones fueron deshidratadas e incluidas en parafina. Los preparados histológicos fueron teñidos con hematoxilina-eosina; tricrómico de Masson con el fin de distinguir fibras de tipo colágenas; y APS (ácido periódico de Schiff) para detectar la naturaleza secretora en diferentes zonas de los tractos reproductores. Se fotografiaron con un fotomicroscopio Leica con una cámara digital Leica DFC300. Las medidas morfométricas de las imágenes histológicas fueron realizadas con el programa Leica Application Suite, versión 3.6.0, Leica Microsystems (Alemania).

Para el estudio de la estructura fina del epitelio seminífero, se fijaron pequeños trozos de parénquima testicular en glutaraldehído 2,5% según Luaces *et al.*<sup>25</sup>. Las micrografías electrónicas se obtuvieron con un microscopio electrónico Siemens Elmiskop (Siemens AG, Berlin, Alemania).

La morfología espermática fue estudiada a partir de muestras obtenidas en buffer fosfato salino de la cola del epidídimo de los machos 3 y 4. En fotografías de 150 espermatozoides teñidos

con nitrato de plata<sup>22</sup>, se midió el ancho de la cabeza (en la porción más ancha), la longitud de cola, la longitud de la pieza intermedia y la longitud total. Para calcular el volumen de la cromatina se utilizaron 5 fotografías de espermatozoides obtenidas por Microscopía Electrónica de Transmisión (M.E.T.). Se multiplicó el promedio del espesor nuclear, obtenido en 30 puntos diferentes (10 en región acrosomal, 10 en segmento ecuatorial y 10 en región post-acrosomal), por el promedio de la superficie de la cabeza del espermatozoide<sup>4,5</sup>. En fotografías de microscopía óptica, se realizaron las mediciones del área de la cabeza del espermatozoide con un software de aplicación de edición de imágenes<sup>4,5</sup>.

Para la ubicación y medidas de las gónadas se realizó una ecografía utilizando un ecógrafo Medison SA 600 (7,5 MHz convexa) en 3 animales vivos (1 hembra y 2 machos) pertenecientes al Bioparque Temaikén. Asimismo se fotografió la genitalia externa.

## RESULTADOS

Externamente, no se observa una diferencia notable entre la genitalia de ambos sexos (Fig. 1a, b). Estas se distinguen de una manera más clara al ser abiertos manualmente: las hembras presentan una hendidura de la vulva que se extiende caudalmente en toda la longitud del órgano, mientras que los machos sólo tienen un orificio terminal (orificio externo de la uretra) de aproximadamente 0,8 cm de longitud en la punta del pene (Fig. 1a, b).

Los testículos son ovoides, y están ubicados internamente en la cavidad pélvica, posteriores a los riñones entre la vejiga y el recto (Fig. 1c). Están unidos entre sí por una fina capa de peritoneo visceral. El tamaño testicular resultó variable entre los individuos, siendo considerablemente menor en dos (individuo 1 y 2) de los seis ejemplares estudiados (Tabla I).

El epidídimo se continúa en un conducto deferente que desemboca en la uretra, a la altura de las glándulas anexas de la próstata y de las vesículas seminales. Las vesículas seminales (1,8 a 2,3 cm de longitud) son glándulas alargadas

**Tabla I.** Morfometría del tracto reproductor de machos de *T. tetradactyla*. Los valores están expresados en cm. S/d: sin datos

| Individuo<br>Nº | Peso<br>(kg) | Estación                  | Testículos    |               |                 |                               | Epidídimos | Pene  | Espermatozoide |
|-----------------|--------------|---------------------------|---------------|---------------|-----------------|-------------------------------|------------|-------|----------------|
|                 |              |                           | Largo<br>(cm) | Ancho<br>(cm) | Espesor<br>(cm) | Volumen<br>(cm <sup>3</sup> ) | Diámetro   | Largo |                |
| 1               | 4.1          | Verano<br>(12/02/1999)†   | 2.0           | 1.0           | 0.8             | 1.0                           | 0.4        | 2.0   | No             |
| 2               | 4.0          | Invierno<br>(01/08/1999)† | 2.0           | 1.3           | 0.8             | 1.8                           | 0.4        | 2.6   | No             |
| 3               | 5.2          | Invierno<br>(21/07/1999)† | 3.5           | 2.0           | 1.5             | 7.3                           | 0.6        | S/d   | Si             |
| 4               | 4.0          | Otoño<br>(04/04/2009)†    | 2.7           | 1.8           | 1.3             | 4.5                           | 0.6        | 3.6   | Si             |
| 5               | 4.5          | Verano<br>(18/02/2010)    | 3.1           | 1.9           | S/d             | 5.8                           | S/d        | 3.3   | S/d            |
| 6               | 4.5          | Verano<br>(18/02/2010)    | 3.6           | 2.4           | S/d             | 10.8                          | S/d        | 3.5   | S/d            |

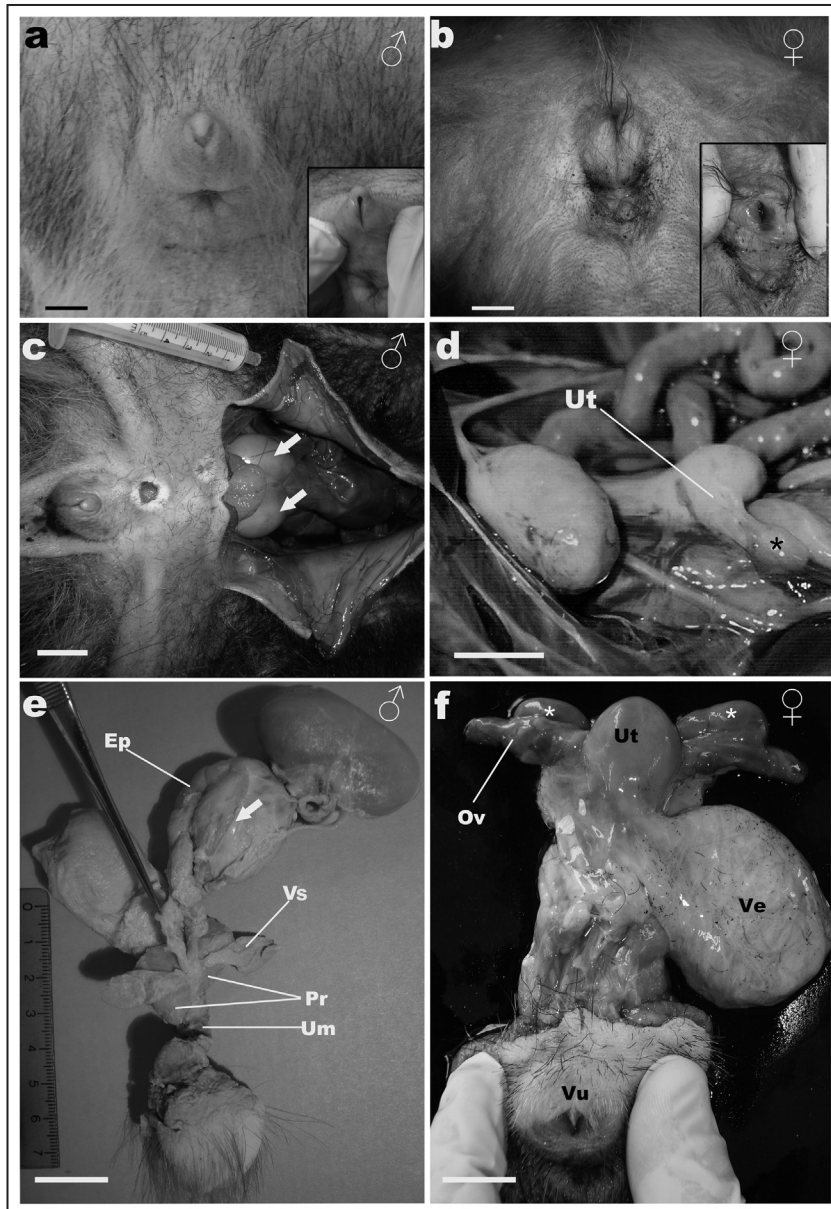
ubicadas dorsalmente a la próstata. La próstata de forma bilobulada está situada dorsalmente a la uretra membranosa y se compone de alvéolos que están alineados formando un conducto colector. Este conducto atraviesa el tejido uretral y luego se une en el lado opuesto para formar un conducto común, que termina en la uretra membranosa (Fig. 1e).

En cortes transversales de testículos se observaron túbulos seminíferos con reiteradas indentaciones de la membrana basal (Fig. 2a). Las células de Sertoli, que se encontraron muy cerca de la membrana basal, tienen un núcleo ovoide y presentan invaginaciones que se extienden dentro del nucleoplasma a lo largo de todo el eje de la célula (Fig. 2 b). La cromatina dentro del núcleo se encontró dispersa y presentó pequeños ‘grumos’ de heterocromatina unidos a la envoltura nuclear, observándose gotas lipídicas en el citoplasma (Fig. 2b). Al lado de las células de Sertoli, sobre la membrana basal hay espermatogonias tipo B, éstas se reconocieron por poseer un núcleo redondo con grumos de cromatina oscura localizados alrededor de la membrana nuclear (Fig. 2b). Fueron observados espermatocitos en diferentes etapas de maduración, identificándose claramente la etapa de paquitene por la presencia de complejos sinaptonémicos bien definidos. En

el compartimiento adluminal, se encontraron espermátidas redondas con un gránulo cerca del núcleo indicando el comienzo de la fase de Golgi del desarrollo del acrosoma (Fig. 2c).

Los espermatozoides presentan un cabeza de forma oval, siendo la inserción de la cola central a esta (Fig. 2d). Las medias y desviaciones obtenidas para la longitud y el ancho de las cabezas de los espermatozoides fue de  $9,50 \pm 0,66 \mu\text{m}$  y  $4,65 \pm 0,34 \mu\text{m}$ , respectivamente (Fig. 2e). El acrosoma cubre una gran parte de la cabeza, lo que representó el 70,3% de la cabeza (Fig. 2d). La longitud de la cola fue de  $59,18 \pm 1,78 \mu\text{m}$  y el de la pieza intermedia de  $14,67 \pm 0,76 \mu\text{m}$  (Fig. 3d). El promedio de la longitud total fue de  $67,33 \pm 1,60 \mu\text{m}$ . El estudio de MET mostró que el espesor de la cabeza de los espermatozoides en promedio fue de  $0,23 \pm 0,07 \mu\text{m}$ , con un gradual aumento hacia la base de la cabeza (Fig. 2e). El volumen nuclear de los espermatozoides se estimó en  $9,98 \pm 0,63 \mu\text{m}^3$ .

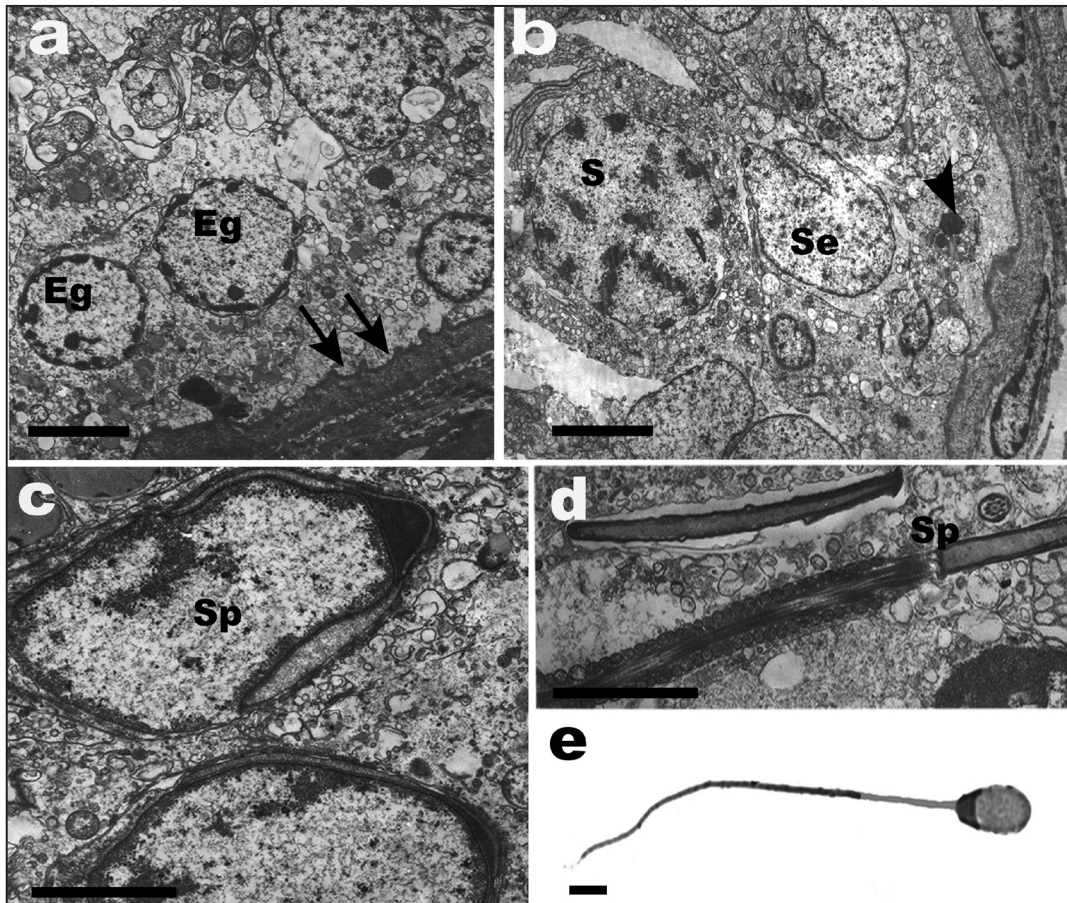
El pene de forma cónica y dirigido hacia atrás, está situado contiguo al ano (Fig. 1a; Fig. 3a). Posee un pliegue central que termina en el orificio externo de la uretra. En cortes histológicos transversales, está formado mayormente por tejido conectivo denso. Los tejidos eréctiles (cuerpo cavernoso y esponjoso) se encontraron de manera central en la base del



**Figura 1.** Vista externa y disecciones de tractos genitales de machos (a, c, e) y hembras (b, d, f). a- vista externa de la genitalia de un individuo macho; apertura manual mostrando orificio uretral (recuadro). b- vista externa de la genitalia de un individuo hembra; apertura manual de la vulva (recuadro). c- ubicación de los testículos (flechas) en cavidad pélvica. d- ubicación del útero (Ut) y de los ovarios (asterisco). e- disección del tracto reproductor de un individuo macho; flechas: testículos, epidídimo (Ep), vesícula seminal (Vs), próstata (Pr), uretra membranosa (Um). f- disección del tracto reproductor de un individuo hembra; asteriscos: ovarios, oviductos (Ov), útero (Ut), vejiga (Ve), vulva (Vu). Escalas=2cm.

pene y dorsalmente en la parte media. El cuerpo cavernoso tiene forma de herradura y rodea el cuerpo esponjoso, excepto en una pequeña porción en su zona ventral (Fig. 3 b, c). La túnica albugínea que rodea el cuerpo cavernoso es continua, sin presentar un límite claro con el tejido conectivo denso circundante. El cuerpo

esponjoso rodea la uretra y estuvo presente a lo largo de la longitud del pene, estando cada vez menos desarrollado en la parte superior del mismo (Fig. 3c). El cuerpo esponjoso no se expande en el extremo distal del pene para formar un glande verdadero (Fig. 3e) y por consiguiente no fue observado ningún tipo de



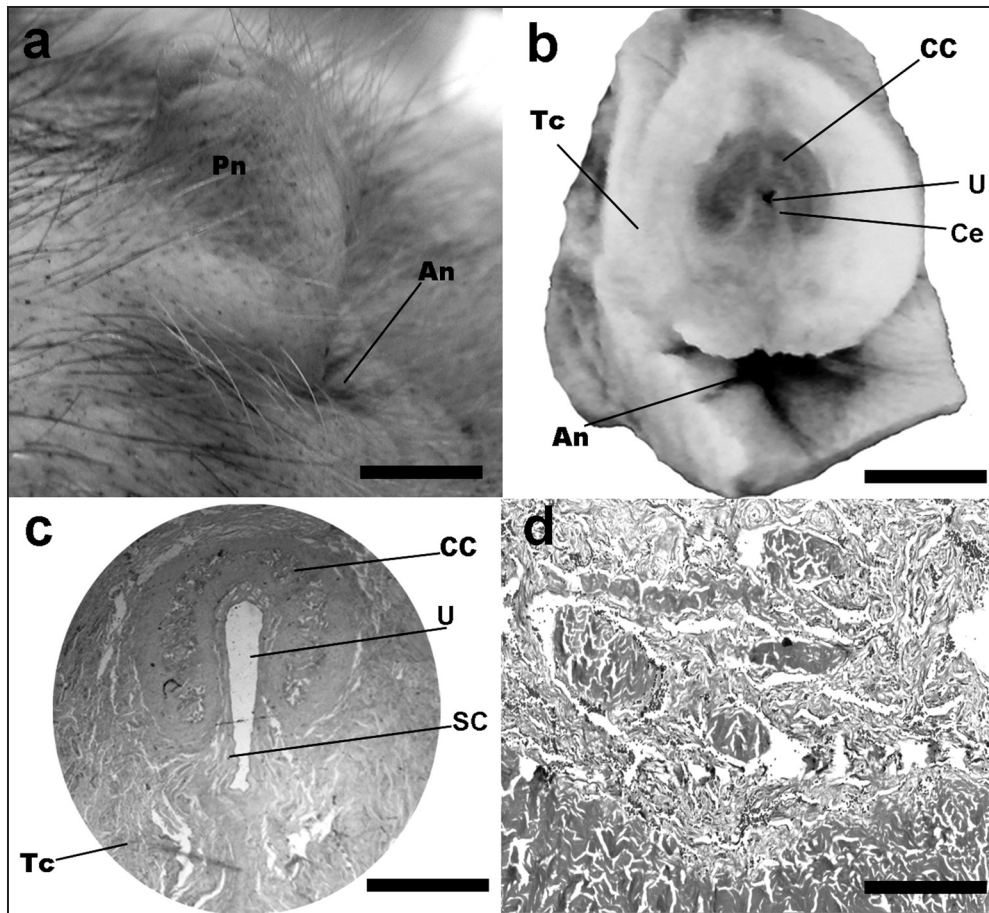
**Figura 2.** Células del epitelio seminífero con MET y espermatozoide. a- espermatogonias grumosas (Eg) e indentaciones de la membrana basal (flechas). b- células de Sertoli con indentaciones nucleares (Se), gota lipídica (cabeza de flecha) y espermatozoides (S). c- espermátidas (Sp) con núcleo de forma ovalada y material denso proacrosómico que se extiende lateralmente formando el saco acrosómico. d- espermátida elongada (Sp). e- espermatozoide teñido con tinción argéntica. Escalas=5µm.

receptáculo de piel formando un prepucio (Fig. 3e). Los tejidos eréctiles están revestidos por endotelio y rodeado por tejido conectivo denso irregular con escasas fibras musculares lisas.

En hembras de *T. tetradactyla* los ovarios son ovoides (Fig. 1d, f), con una serosa ovárica con epitelio simple cúbico y una zona medular rodeada por la corteza (Fig. 4a, b). Los grandes vasos y nervios penetran en el ovario de forma centralizada desde el mesovario y se ramifican hacia la periferia en las proximidades de los folículos (Fig. 4a). En la corteza se observaron folículos ováricos en diferentes etapas de desarrollo (Fig. 4b). Siempre se observó un solo oocito, rodeado por una capa simple de

células escamosas o una capa estratificada de células cúbicas. Los oviductos de forma filiforme presentan: infundíbulo, ampulla e istmo y se insertan en cada lado de la porción fúndica del útero (Fig. 1f). El útero es simple, dorsalmente aplanado y con forma de pera; posee una superficie convexa sin ningún tabique medial (septum) en la zona del fundus (Fig. 1d, f).

El útero en su región más amplia mide de 10 a 24 mm, reduciéndose de 5 a 20 mm en la región caudal. La longitud del cuerpo uterino es aproximadamente de 19 a 32 mm. El endometrio presenta un epitelio cilíndrico simple con glándulas típicas tubulares mucosas (Fig. 4d). El miometrio se encuentra constituido



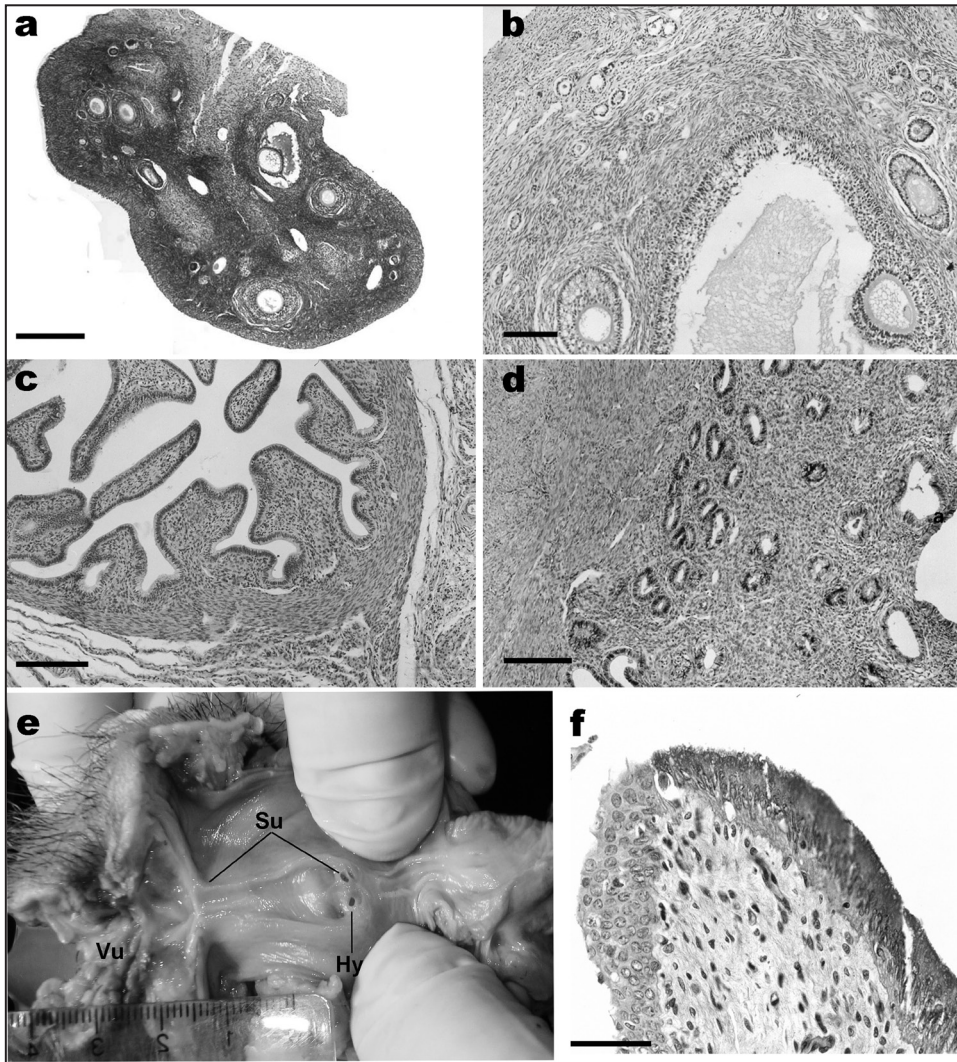
**Figura 3.** a- vista lateral del pene (Pn), ano (An). b- corte transversal del pene evidenciando cuerpo cavernoso (Cc), cuerpo esponjoso (Ce) y uretra (U); ano (An), tejido conectivo (Tc). c- corte transversal en la punta del pene, cuerpo cavernoso (Cc), senos cavernosos (Sc) y uretra (U), Tejido conectivo (Tc); tinción HE. d- senos cavernosos rodeando la uretra en parte distal de la punta del pene; tinción tricrómico de Masson. Escalas: 2cm (a, b, c); 5µm.

por músculo liso en capas de haces de fibras entretreídas en varias direcciones.

El sistema urogenital, desde el orificio externo, está constituido por un seno urogenital que ensambla cranealmente dos tubos: la uretra, de ubicación ventral; y el canal útero-vaginal, de ubicación dorsal. El canal útero-vaginal, de 43 a 67 mm de largo, es un tubo muscular ligeramente arqueado con pliegues internos longitudinales que conecta el cuerpo del útero con el seno urogenital (Fig. 4e), comparado con el cuerpo del útero posee mayor cantidad de tejido conectivo y menor proporción de músculo liso. La mucosa está caracterizada por un epitelio de revestimiento columnar simple con una franja PAS-positiva. En el límite entre

el canal útero-vaginal y el seno urogenital, se encuentra un tabique membranoso biperforado, que se asemeja a un himen (Fig. 4e). Este consiste en un grueso pliegue de mucosa de forma redondeada con dos pequeñas aberturas (Fig. 4e); el mismo, se encontró intacto en todas los tractos estudiados. El epitelio columnar simple del canal utero-vaginal termina abruptamente en el himen donde aparece el epitelio de transición correspondiente a un seno urogenital (Fig. 4f).

La uretra (de 14 a 19 mm de longitud) presenta un epitelio de transición típico y una lámina propia compuesta por tejido laxo y abundantes células, rodeada por músculo estriado. El seno urogenital (31 a 21 mm de longitud) es una cavidad flácida y distensible,



**Figura 4.** a- vista panorámica de ovario; tinción HE. b- folículos ováricos en diferentes estadios. c- corte transversal de la ampulla mostrando los pliegues y el corion muy celular; tinción HE. d- mucosa uterina evidenciando típicas glándulas tubulares del endometrio; tinción PAS. e- disección anatómica donde se evidencia el senourogenital (Su) y el tabique que forma el himen (Hi) el cual divide el seno urogenital del canal útero-vaginal, vulva (Vu). f- transición entre el epitelio columnar del canal útero-vaginal y el epitelio de transición del seno urogenital.

con un lumen amplio y pliegues longitudinales cubiertos por un epitelio de transición. La lámina propia contiene tejido conectivo denso con escasas fibras de colágeno elásticas. También tiene un tejido eréctil altamente vascular que rodea parcialmente a la uretra. El seno urogenital se continúa al exterior a través de la hendidura labial. Cerca del orificio externo, el epitelio del seno urogenital cambia gradualmente a un estratificado queratinizado. En la hembra estudiada *in vivo*, la apertura de la vulva midió

15 mm de largo.

## DISCUSIÓN

Eisenberg y Redford (1999)<sup>12</sup> señalan, que tanto en los osos meleros como en los osos hormigueros no hay diferencias evidentes en la genitalia externa entre sexos. La ubicación interna de los testículos, un perineo casi inexistente y el reducido tamaño del pene dificulta diferenciar el sexo por los genitales. Del mismo modo es también difícil distinguirlos



por un patrón de dimorfismo sexual, ya que ninguna de las especies presenta diferencias de tamaño corporal o de pelaje<sup>30,41</sup>. En este trabajo se establecen criterios para realizar un correcto sexado en *T. tetradactyla* dada la presencia de un orificio uretral exclusivo de los machos, claramente distinguible de la hendidura vulvar de las hembras.

El reducido tamaño del pene en esta especie es coincidente con descripciones de especies emparentadas como el oso hormiguero<sup>1</sup> y los perezosos<sup>10</sup>. En el oso hormiguero, trabajos anteriores sugieren que la cópula podría ser poco profunda<sup>1</sup>. El análisis histológico de los tractos reproductivos y de las estructuras eréctiles aquí descritas, nos permite inferir con mayor precisión el mecanismo eréctil en machos de esta especie. El tejido eréctil del pene, específicamente las células de músculo liso, desempeña un papel clave en el proceso de erección<sup>8,30</sup>: la escasa presencia de músculos liso del pene en esta especie podría estar indicando una débil erección<sup>33</sup>. Según Wrobel y Bergmann (2006)<sup>42</sup>, basados en el predominio de tejido eréctil, los penes se clasifican en: el tipo vascular, donde predominan las cavernas; el tipo fibroelástico, donde prevalece el tejido conectivo; y el tipo intermedio, que está entre los dos tipos anteriores. El pene del oso melero, debido al gran desarrollo del tejido conectivo denso, que ocupa la mayor parte del órgano, sería considerado del tipo fibroelástico. Esta abundancia de tejido conectivo denso también estaría limitando el proceso eréctil. La disposición de estructuras eréctiles, cuerpo cavernoso y cuerpo esponjoso, dentro del pene puede variar según la especie. En el oso melero, el cuerpo cavernoso forma una unidad que se encuentra más desarrollada en la zona proximal y se extiende lateralmente cubriendo casi toda la uretra, mientras que el cuerpo esponjoso está poco desarrollado. Esta disposición de las estructuras eréctiles sugiere en esta especie una funcionalidad de protección de la uretra y la apertura el mantenimiento de la luz de ésta, durante la intromisión del pene en la cópula. A pesar de esto, el proceso eréctil del pene sólo puede ser demostrado en animales

vivos y sería necesario realizar mayor número de estudios en esta línea que permitan aclarar la estrategia para la transferencia de gametos en esta especie.

En concordancia con Graseé<sup>18</sup> hemos podido apreciar la variación de tamaño testicular en los genitales de machos, evento que también fue descrito en el oso hormiguero<sup>1</sup>. Asimismo las variaciones de tamaño y del peso testicular no solo son representativas de las especies de esta familia (Myrmecophagidae), ya que también fueron encontradas en otras especies de Xenarthra como los armadillos<sup>25, 26</sup>; donde ha sido demostrada una estacionalidad reproductiva e inhibición testicular en machos<sup>25, 26</sup>. Posiblemente para esta especie también puede existir un tipo de estacionalidad reproductiva en machos.

En Xenarthra, la estructura fina de las células del epitelio seminífero ha sido solo descrita para el armadillo *Dasybus novemcinctus*<sup>11, 38</sup> y recientemente en el armadillo *Ch. villosus*<sup>25</sup>. Las espermatogonias por nosotros encontradas son similares a las espermatogonias B descritas por Weaker<sup>38</sup> para *D. novemcinctus*. La presencia de indentaciones de la lámina basal se describió en casos de condiciones patológicas en humanos<sup>19</sup>.

El largo total de los espermatozoides ( $67,00 \pm 1,60 \mu\text{m}$ ) fue similar a la media de los espermatozoides euterios ( $69,23 \pm 4,13 \mu\text{m}$ )<sup>31</sup> y alejado de la media para los roedores ( $101,00 \pm 245,3,17 \mu\text{m}$ )<sup>32</sup>. La forma de los espermatozoides es coincidente a la descrita por Hay *et al.*<sup>22</sup> para la especie, sin embargo nuestros resultados no concuerdan con el tamaño que ellos estipularon (ampliamente mayor al nuestro y al resto de los euterios). La forma de los espermatozoides en *T. tetradactyla* es similar a la encontrada en el perezoso *Bradypus tridactylus*, sin embargo el tamaño por ellos descrito es muy inferior ( $33,20 \pm 0,75 \mu\text{m}$ )<sup>29</sup>. La longitud total de los mismos fue compartida con otros Xenarthra como los armadillos, siendo la forma y el tamaño de las cabezas similares a las de las especies filogenéticamente basales (género *Dasybus*)<sup>6</sup>, y difiriendo a la de las especies más derivadas (*Priodontes maximus*, *Cabassous unicinctus*, *Ch. vellerosus*, *Ch. villosus*, *Zaedyus pichiy*,

*Euphractus sexcinctus*) las cuales presentan cabezas de espermatozoides extremadamente grandes y aplanadas<sup>4, 5, 6</sup>. El análisis de las características anatómicas e histológicas del tracto genital femenino del oso melero muestra diferencias con respecto a otras especies de Xenarthra. Los ovarios en su forma ovoide y organización típica contrasta con las descripciones morfológicas de otras especies de Xenarthra como los armadillos: *Ch. vellerosus*, *Ch. villosus*, *Zaedyus pichiy*, *Tolypeutes matacus*, *Cabassous chacoensis*, y *Chlamyphorus truncatus*, que poseen una polarización longitudinal de la corteza y de la médula<sup>7</sup> con folículos que contienen grupos de ovocitos<sup>7</sup>.

El útero simple y con forma de pera, fue observado también en otro miembro de la familia (*M. tridactyla*) por Schauerte (2005)<sup>33</sup> y también ha sido descrito en algunas especies de armadillos como *Dasyopus novemcinctus*, *Dasyopus hybridus*, *Tolypeutes matacus*, y *Tolypeutes tricinctus*<sup>7, 13, 15</sup>. Esto difiere del típico útero bicorne encontrado en *C. vellerosus*, *C. villosus*, *Z. pichiy*, *C. chacoensis* y *C. truncatus*<sup>7</sup>, y del útero unicornio descrito en perezosos de la familia Bradypodidae y Megalonychidae<sup>2</sup>.

En este trabajo se describió un canal uterovaginal conformado por una cavidad distensible recubierta por un epitelio columnar alto. Debido a la naturaleza de su epitelio, esta estructura puede ser también llamado cuello uterino<sup>14</sup>. Teniendo en cuenta esta observación, conjuntamente al hecho de que esta estructura está limitada en su extremo caudal por un tabique que se asemeja a un himen y que *T. tetradactyla* no presenta un epitelio estratificado representativo de una verdadera vagina como en la mayoría de los mamíferos<sup>27</sup>, se sugiere que este tubo es la zona donde se esperaría anatómicamente esté la vagina. Debido a esto y a que no se observó un segmento anatómico (entre el cuerpo uterino y el canal útero-vaginal) que actúe como restricción a la expansión que puede servir adecuadamente como un cuello uterino, se prefiere usar el término canal uterovaginal<sup>14</sup>. Queda por precisar como es el mecanismo de transferencia de gametos en esta especie, dado el tamaño del pene, y a que el himen se encontraba

íntegro en todas las muestras estudiadas.

## CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se caracterizó morfológicamente el tracto genital masculino y femenino del oso melero. Se observó que el tracto reproductor femenino contiene una combinación de características arcaicas (presencia de un seno urogenital) y de características derivadas (útero simple). En machos se describió la ubicación de los testículos, se efectuó la descripción espermática y se observó una variación en el tamaño testicular. Como sucede en la mayoría de las especies autóctonas, es escasa la información disponible. Dada la peculiaridad reproductiva de los Xenarthra, aún menos estudiados, estos resultados establecen un conocimiento primordial para desarrollar técnicas de reproducción asistida de aplicar para la conservación en esta familia (Myrmecophagidae).

## AGRADECIMIENTOS

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 1198) y CONICET (PIP 0204), con cuyos fondos se financió parcialmente este trabajo. En forma especial los Lic. Romero, Lic. Meyer y Lic. Baldomá por su colaboración desinteresada.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bartmann, C.; Beyer, C.; Wissdorf, H. Topography of the organs pelvic cavity and histologic finding of the sex organs of a male giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) with regard to fertility. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 1991; 104:41-46.
2. Benirschke, K.; Powell, H.C. On the placentation of sloths. En Montgomery GG. (ed.). *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas*. Washington Smithsonian Institution, USA, 1985: 237-241
3. Birabén, M. Semblanza de Miguel Fernández descubridor de la poliembrionía en los mamíferos. *Ciencia e Investigación* 1951; 7:224-229.
4. Cetica, P.; Sassaroli, J.; Merani, M.S.; Solari, A. Comparative spermatology in *Dasyopodidae* (*Priodontes*

- maximus*, *Chaetophractus villous* y *Dasypus hybridus*). *Biocell*. 1993; 18:89-103.
5. Cetica, P.; Rahn, I.M.; Merani, M.S.; Solari, A. Comparative spermatology in Dasypodidae II (*Chaetophractus vellerosus*, *Zaedyus pichiy*, *Euphractus sexcinctus*, *Tolypeutes matacus*, *Dasypus septemcinctus* y *Dasypus* 314 novemcinctus). *Biocell*. 1997; 21:195-204.
  6. Cetica, P.D.; Solari, A.J.; Merani, M.S.; De Rosas, J.C.; Burgos, M.H. Evolutionary sperm morphology and morphometry in armadillos. *J Submicrosc Cytol and Pathol*. 1998; 30:309-314.
  7. Cetica, P.; Aldana Marcos, H.J.; Merani, M.S. Morphology of female genital tracts in Dasypodidae (Xenarthra, Mammalia), a comparative survey. *Zoomorphology*. 2005; 124(2):57-65
  8. Dean, R.C.; Lue, T.F. Physiology of Penile Erection and Pathophysiology of Erectile Dysfunction. *Urol Clin North Am*. 2005; 32(4):379-395.
  9. Diaz, G.B.; Ojeda, R.A. *Libro Rojo Mamíferos Amenazados de la Argentina*. Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos. Buenos Aires, Argentina, 2000.
  10. Dos Santos Martins, D. Morfologia do sistema reprodutor masculino da preguiça-de-coleira (*Bradypus torquatus*, Illiger, 1811). En: [http://www.fvet.uba.ar/publicaciones/archivos/vol\\_12n22010/Instrucciones\\_para\\_los\\_autores.pdf](http://www.fvet.uba.ar/publicaciones/archivos/vol_12n22010/Instrucciones_para_los_autores.pdf), consultado 15 diciembre 2012
  11. Edmonds, R.H.; Nagy, F. Crystalloid inclusion bodies in the epididymis of the Nine-banded Armadillo. *J Ultra Res*. 1973; 42:82-6.
  12. Eisenberg, J.F.; Rerford, K.H. *Mammals of the Neotropics. The Central Neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil*. University of Chicago Press. Chicago, USA, 1999.
  13. Enders, A.C.; Buchanan, G.D. The reproductive tract of the female nine-banded armadillo. *Texas Rep Bio Med*. 1959; 17(3):323-340.
  14. Fawcett, D.W. *Tratado de Histología*. Bloom Fawcett, 12ª Edición, Mc Graw Hill Interamericana. Nueva York, USA, 2002.
  15. Fernández, M. Beiträge zur Embriologie der Gürteltiere. Zur Keimblü inversion und spezifischen Polyembryonie der Mulita (*Tatusia hybrida Desm*). *Gegenbaurs Morphol Jahrb*. 1909; 39:302-333.
  16. Galbreath, G.J. *The evolution of monozygotic polyembryony in Dasypus*. En GG. Montgomery (ed). The evolution and ecology of armadillos, sloths, and vermilinguas. Smithsonian Institution Press. Washington DC, USA, 1985: 243-246
  17. Gardner, A.L. Order Cingulata and order Pilosa. En Wilson and DM Reeder (eds). *Mammal species of the world*. Johns Hopkins University Press, Baltimor. 2005: Vol 1 pp 94-103.
  18. Grassé, P.P. Ordre des Édentés. Formes actuelles. Sousordre des Xénarthres. En: PP Grassé (ed). *Traité de Zoologie, Mammifères Les Ordres: Anatomie, Éthologie, Systématique*. Masson and Cie Press, Paris, 1955: 1182-1266.
  19. Haider, S. G.; Passia, D.; Servos, G.; Hettwer, H. Electron microscopic evidence for deep invaginations of the lamina propria towards the seminiferous tubule lumen in a patient with varicocele. *Int. J. Androl*. 1986; 9, 27-37.
  20. Hansen, P. F., and T. K. With, 1952: Clinical measurements of the testes in boys and men. *Acta Med Scand*. 142: 457-465.
  21. Hay, M.A.; Bellem, A.C.; Brown, J.L.; Goodrowe, K.L. Reproductive Patterns in Tamandua (*Tamandua tetradactyla*). *J Zoo Wildl Med*. 1994; 25(2): 248-258.
  22. Howell, W.M.; Black, D. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 1980; 36:1014-1015.
  23. Kaudern, W. Studien über die männlichen Geschlechtsorgane von Edentaten. I. Xenarthra. *Arkiv for zoology*. 1914; 9:1-53.
  24. Loughry, W.J.; Prodohl, C.M.; Mc Donought, J.C.; Avise, J.C. Polyembryony in armadillos: an unusual feature of the female nine banded

- armadillo's reproductive tract may explain why her litters consist of four genetically identical offspring. *Am Sci.* 1998; 86: 274-279.
25. Luaces, J.P.; Rossi, L.F.; Merico, V.; *et al.* Spermatogenesis is seasonal in the large hairy armadillo, *Chaetophractus villosus* (Dasypodidae, Xenarthra, Mammalia). *Reprod Fertil Dev.* 2012; 25(3):547-57
  26. Mc Cusker, G.J. Testicular cycles in the common long-nosed armadillo *Dasybus novemcinctus*, in North Central Texas. En: Montgomery GG (ed). *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Smithsonian Institution Press. Washington DC, USA, 1985: 255-60.
  27. McDonald, L.E.; Pineda, M.H. *Veterinary endocrinology and reproduction*. Lea & Febiger. Philadelphia, USA, 1989.
  28. Moller-Krull, M.; Delsuc, F; Churakov, G.; *et al.* Retroposed elements and their flanking regions resolve the evolutionary history of xenarthran mammals (armadillos, anteaters, and sloths). *Mol Biol Evol.* 2007; 24: 2573-2582.
  29. Peres, M.A.; Benettiv, E.J.; Milazzotto, M.P.; Visitin, J.A.; Miglino, M.A.; Assumpção, M.E. Collection and evaluation of semen from the three-toed sloth (*Bradypus tridactylus*). *Tissue Cell.* 2008; 40: 325-331.
  30. Ralls, K. Sexual dimorphism in mammals: avian models and unanswered questions. *Amer Nat.* 1977; 111: 917-938.
  31. Ribeiro, M.G.; Nogueira, J.C. The penis morphology of the four-eyed opossum *Philander opossum*. *Anat Anz.* 1990; 171:65-72.
  32. Roldan, E.R.S.; Gomendio, M.; Vitullo, A.D. The evolution of eutherian spermatozoa and underlying selective forces: female's selection and sperm competition. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 1992; 67:551-593.
  33. Schauerte, N. Untersuchungen zur Zyklus und Graviditätsdiagnostik beim Grossen Ameisenbären (*Myrmecophaga tridactyla*). *Doctoral Thesis*, 2005. Liebig: Justus Liebig Universität.
  34. Stanley, H.P.; Hillemann, H.H. Histology of the reproductive organs of nutria, *Myocastor coypus* (molina). *J Morphol.* 1960; 106: 277-299.
  35. Storrs, E.E. Reproduction delay in the common long-nosed armadillo, *Dasybus novemcinctus*. En Redford LKH, Eisenberg JF. (eds). *Advances in Neotropical Mammalogy*. Sandhill Crane Press. Gainesville, Florida, USA, 381 1989: 535-548.
  36. Talmage, R.V.; Buchanan, G.D. The armadillo (*Dasybus novemcinctus*). A review of its natural history, ecology, anatomy and reproductive physiology. *Rice Institute Pamphlet.* 1954; 41:1-135
  37. Torres, C.N.; Godinho, H.P.; Machado, A.B.M. Seasonal variation in spermatogenesis in the nine-banded armadillo from southeastern Brazil. *Anim Reprod Sci.* 1983; 6:135-141.
  38. Weaker, F.J. Spermatogonia and the cycle of the seminiferous epithelium in the nine-banded armadillo. *Cell Tissue Res.* 1977; 179, 97-109.
  39. Wetzel, R.M. The identification and distribution of recent Xenarthra (=Edentata). En Montgomery GG. (ed.). *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas*. Smithsonian Institution Press. Washington DC, USA, 1985: 5-21.
  40. Wetzel, R.M. Taxonomy and distribution of armadillos. En Montgomery GG. (ed.). *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas*. Smithsonian Institution Press, Washington DC, USA, 1985: 23-46.
  41. Wiig, O.; Andersen, T. Sexual size dimorphism in the skull of Norwegian lynx. *Acta Theriol.* 1986; 31(12): 147-394 155.
  42. Wrobel, K.H.; Bergmann, M. Male Reproductive System. *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. Blackwell Publishing. Iowa, USA, 2006; 233-255.