



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

ANA CAROLINA LINHARES SOARES

**BIOMETRIA TESTICULAR E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS
ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE MACACO-PREGO (*Sapajus libidinosus*
e *Sapajus flavius*)**

**AREIA
2024**

ANA CAROLINA LINHARES SOARES

**BIOMETRIA TESTICULAR E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS
ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE MACACO-PREGO (*Sapajus
libidinosus* e *Sapajus flavius*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária pela
Universidade Federal da Paraíba.

Orientador: Profa. Dra. Norma Lúcia de
Souza Araújo

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S676b Soares, Ana Carolina Linhares.

Biometria testicular e avaliação da qualidade dos espermatozoides epididimários de macaco-prego (*Sapajus libidinosus* e *Sapajus flavius*) / Ana Carolina Linhares Soares. - Areia, 2024.

34 f. : il.

Orientação: Norma Lúcia de Souza Araújo Araújo.
TCC (Graduação) - UFPB/CCA-AREIA.

1. Medicina Veterinária. 2. Epidídimo. 3. Reprodução. 4. Primatas neotropicais. I. Araújo, Norma Lúcia de Souza Araújo. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09 (02)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE
CIÊNCIAS AGRÁRIAS COORDENAÇÃO DE MEDICINA
VETERINÁRIA CAMPUS II – AREIA - PB**

DEFESA DO TRABALHO DE GRADUAÇÃO

Aprovada em 02/10/2024.

**“BIOMETRIA TESTICULAR E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ESPERMATOZOIDES
EPIDIDIMÁRIOS DE MACACO-PREGO (*Sapajus libidinosus* e
Sapajus flavius)”**

Autor: ANA CAROLINA LINHARES SOARES

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Norma Lúcia de Souza Araújo (Orientador) Universidade Federal
da Paraíba (UFPB)

Prof. Dr. Jeann Leal de Araújo (Examinador) Universidade Federal
da Paraíba (UFPB)



Documento assinado digitalmente
RAFAEL LIMA DE OLIVEIRA
Data: 30/10/2024 02:11:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

M.V Rafael Lima de Oliveira (Examinador) Universidade Federal
da Paraíba (UFPB)

Dedico esta, bem como todas as minhas conquistas, à
minha mãe, minha primeira professora, que me
ensinou que o conhecimento é o caminho para a
liberdade.

AGRADECIMENTOS

- À minha mãe por ter feito de tudo por mim, por abdicar dos seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus e por me apoiar dentro e fora do ambiente acadêmico.
- À minha família, por todo apoio, amor e por se manterem presentes mesmo distantes fisicamente.
- Ao meu pai (*in memoriam*) e minha prima Micherline (*in memoriam*), que partiram precocemente e não puderam acompanhar a realização desse sonho.
- À minha orientadora, Profa. Dra. Norma Lúcia de Souza Araújo, por aceitar esse desafio, acreditar em mim e na realização desse estudo, por ter ascendido a chama da reprodução de animais silvestres e por todo apoio durante essa fase tão importante.
- Ao Me. Rafael Lima de Oliveira, por todas oportunidades, conselhos, puxões de orelha, risadas e trocas de conhecimento. Além ter sido um ótimo orientador e ter se tornado um grande amigo para a vida, serei eternamente grata.
- Ao Prof. Dr. Jeann Leal de Araújo, por ter me dado a primeira oportunidade com os animais silvestres, pelos conselhos e por todos os ensinamentos dados, serei eternamente grata.
- Ao Prof. MSc. Marquiliano Farias de Moura, por ter abraçado esse desafio, pelos ensinamentos e por me auxiliar durante todo o processo.
- À Ma. Natália Cristina de Medeiros, por ter aceitado contribuir para o trabalho, pelo cuidado e zelo para com os animais e por todos os conhecimentos trocados.
- À todos profissionais que me deram oportunidade de estágio, em especial, Roberto Citelli, Rodolfo Monteiro e Ricardo Torres, por me ensinarem com muita paciência e por confiarem em mim, serei eternamente grata.
- À minha amiga Nayanne Espínola, pela amizade, pelo companheirismo nas madrugadas de estudo, por dividir as tristezas e alegrias comigo.
- À Thiago Zanetti por nunca me deixar desamparada, pela companhia nas madrugadas durante o experimento, por acreditar em mim e por todo apoio em todas as áreas da vida, serei eternamente grata.
- Aos meus amigos de curso, em especial, Jéssica Camila, Amanda Menezes, Elissandra, Paulo Machado, Lívia, Tobias e Wellington, pela amizade, por compartilharem comigo esses anos de graduação e pela ajuda dentro e fora da universidade.
- Aos amigos do Gronete Muniz e agregados, pela amizade, companheirismo e por tornarem a vida em Areia mais leve.
- Aos meus amigos, em especial, Milene, Laura e Louise, que mesmo distantes se fazem presentes e por acreditarem em mim.
- Aos amigos do Medicina de animais silvestres e pets não convencionais e Medicina da conservação, por compartilharem da mesma paixão pelos animais silvestres, por todas as trocas de conhecimento e por todo apoio.
- Aos membros do LECAS, em especial Matheus Henrique, por me ajudarem na realização do trabalho e pelas trocas de conhecimento.
- Aos professores, técnicos e residentes do Hospital Veterinário de Areia-PB por contribuírem de forma ímpar na minha formação acadêmica.
- Aos meus animais de estimação, Nick (*in memoriam*) que foi meu melhor amigo por 6 anos e que me fez me apaixonar pela veterinária, Cenourinha (*in memoriam*) e todos animais considerados diferentes.

-Há uma beleza em não saber o que o futuro trará, pois a jornada é o que faz a vida valer a pena.

Julia Quinn

RESUMO

A coleta de gametas de boa qualidade representa um papel fundamental nos procedimentos de reprodução assistida. A recuperação de espermatozoides epididimários representa uma importante alternativa em casos de animais que precisam ser esterilizados ou nos casos de óbito recente, uma vez que as células espermáticas obtidas por esta técnica são morfolologicamente viáveis e podem ser armazenados para posterior utilização para fins de estudos ou de fertilização. A partir desses aspectos, o objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação da biometria testicular da qualidade dos espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo de macaco prego prego (*Sapajus libidinosus* e *Sapajus flavius*), a fim de ampliar o conhecimento acerca dos aspectos reprodutivos dessa espécie. As médias das medidas de comprimento dos testículos obtidas no estudo foram de 21,55mm (testículo esquerdo) e 21,30mm (testículo direito). As médias da largura foram 14,52mm e 14,15mm, para o testículo esquerdo e direito, respectivamente. Na morfologia dos espermatozoides analisados, a maioria apresentou percentual de defeitos totais de menos que 5%. O diluidor Tris-gema foi mais eficiente quando comparado ao Leite UHT desnatado na conservação dos espermatozoides epididimários. No geral, esse trabalho reforçou a necessidade de mais estudos sobre a reprodução de primatas, visto o baixo número de trabalhos produzidos a cerca de um grupo de interesse para a conservação.

Palavras-chave: epidídimo; reprodução; primatas neotropicais.

ABSTRACT

The collection of high-quality gametes plays a fundamental role in assisted reproduction procedures. The recovery of epididymal spermatozoa representing an important alternative in cases of animals that need to be sterilized or in cases of recent death, as the sperm cells obtained by this technique are morphologically viable and can be stored for future use in research or fertilization. Based on these aspects, the objective of this study was to evaluate testicular biometry and the quality of refrigerated epididymal spermatozoa diluted in skim UHT milk and Tris-egg yolk extender from capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus* and *Sapajus flavius*), in order to broaden the knowledge regarding the reproductive aspects of this species. The average testicular length measurements obtained in the study were 21.55mm (left testicle) and 21.30mm (right testicle). The average width was 14.52mm and 14.15mm for the left and right testicles, respectively. Regarding the morphology of the sperm analyzed, the majority showed a total defect percentage of less than 5%. The Tris-egg yolk extender was more effective compared to skim UHT milk in preserving epididymal spermatozoa. Overall, this study reinforced the need for further research on primate reproduction, given the low number of studies produced on a group of interest for conservation purposes.

Keywords: epididymis; reproduction; reotropical primates.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mensuração testicular em macaco-prego (<i>Sapajus libidinosus</i>).....	18
Figura 2 – Aspecto de espermatozoides epididimários de macaco-prego (<i>Sapajus libidinosus</i>) em microscópio óptico, aumento de 10x.....	19
Figura 3 – Valores da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 1 nos diferentes tempos de avaliação.....	23
Figura 4 – Valores da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 2 nos diferentes tempos de avaliação.....	24
Figura 5 – Valores da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 3 nos diferentes tempos de avaliação.....	24
Figura 6 – Valores da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 4 nos diferentes tempos de avaliação.....	25
Figura 7 – Valores da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 5 nos diferentes tempos de avaliação.....	25
Figura 8 – Valores do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 1 nos diferentes tempos de avaliação.....	26
Figura 9 – Valores do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 2 nos diferentes tempos de avaliação.....	27
Figura 10 – Valores do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 3 nos diferentes tempos de avaliação.....	27
Figura 11 – Valores do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 4 nos diferentes tempos de avaliação.....	28
Figura 12 – Valores do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos	

	em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 5 nos diferentes tempos de avaliação.....	28
Figura 13 –	Valores médios da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo nos diferentes tempos de avaliação em macacos-pregos <i>Sapajus</i> <i>libidinosus</i> e <i>Sapajus flavius</i>	29
Figura 14 –	Valores médios do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo nos diferentes tempos de avaliação em macacos-pregos <i>Sapajus libidinosus</i> e <i>Sapajus</i> <i>flavius</i>	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valore do comprimento e largura testiculares de macaco-prego (<i>Sapajus libidinosus</i>)	20
Tabela 2 -	Morfologia espermática observada nos espermatozóides epididimários de macaco-prego (<i>Sapajus libidinosus</i> e <i>Sapajus flavius</i>)	22

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	ASPECTOS DA FISIOLOGIA REPRODUTIVA DOS PRIMATAS DO GÊNERO <i>SAPAJUS</i>	14
2.2	CARACTERÍSTICAS DO SÊMEN DE MACACO-PREGO	14
2.3	O PAPEL DOS MEIOS DILUIDORES NA CRIOPRESERVAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS.....	15
2.4	DIMENSÕES TESTICULARES E SUA IMPORTÂNCIA NA REPRODUÇÃO DE PRIMATAS.....	16
2.5	RECUPERAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES EPIDIMÁRIOS	16
3	METODOLOGIA.....	17
3.1	ANIMAIS E LOCAL DO EXPERIMENTO	17
3.2	PROTOCOLO ANESTÉSICO.....	17
3.3	AVALIAÇÃO DAS MEDIDAS TESTICULARES	17
3.4	REALIZAÇÃO DA EPIDIDIMECTOMIA	17
3.5	COLHEITA E DILUIÇÃO DO MATERIAL ESPERMÁTICO EPIDIDIMÁRIO	18
3.6	RESFRIAMENTO E AVALIAÇÃO DOS ESPERMATOZOIDES EPIDIMÁRIOS	19
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5	CONCLUSÃO.....	31
	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior diversidade de macacos do mundo e na lista dos 25 primatas mais ameaçados do planeta, estão quatro espécies brasileiras, sendo elas o bugio-ruivo (*Alouatta guariba*), o zogue-zogue (*Plecturocebus grovesi*), o sagui-da-serra (*Callithrix flaviceps*) e o caiarara (*Cebus kaapori*).

Os primatas do gênero *Sapajus*, como a espécie de macaco-prego *Sapajus libidinosus* são animais de porte médio, de hábitos arborícolas, corpo mais pesado e cauda preênsil. São muito adaptáveis à sobrevivência em diversos tipos de ambientes, possuem mecanismos de controle populacional e hábitos sociais complexos.

O *Sapajus libidinosus*, ocorre em locais onde a Caatinga e o Cerrado predominam, como na região Nordeste do Brasil, próximo ao rio São Francisco e na região central do Brasil, indo até algumas regiões da Bolívia. Em razão de sua ampla distribuição geográfica, é uma espécie listada como "pouco preocupante" pela União Internacional para a Conservação da Natureza (UICN), no entanto, diante dos altos índices de degradação dos biomas em questão, existe a necessidade de monitoramento mais adequado das populações dessa espécie de primatas.

Diante do cenário de ameaça, a preservação do habitat da espécie em questão é a forma mais eficaz de conservação. A criação e propagação de espécies individuais *ex situ*, bem como a aplicação de técnicas de reprodução assistida que possam contribuir com a manutenção e expansão dessa biodiversidade.

Dentre as técnicas de reprodução assistida, as técnicas de armazenamento de células espermáticas são de grande relevância para a manutenção e disseminação de material genético, especialmente na formação de bancos de germoplasma, a ser utilizado na difusão de material genético de indivíduos nas gerações futuras.

Nesse contexto, a coleta de gametas de boa qualidade representa um papel fundamental nos procedimentos de reprodução assistida, com a recuperação de espermatozoides epididimários representando uma importante alternativa em casos de animais que precisam ser esterilizados ou nos casos de óbito recente, uma vez que as células espermáticas obtidas por esta técnica são morfolologicamente viáveis e podem ser armazenados para posterior utilização para fins de estudos ou de fertilização.

A partir desses aspectos, o objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação da biometria testicular e da qualidade dos espermatozóides coletados do epidídimo de macacos-prego (*Sapajus libidinosus* e *Sapajus flavius*) oriundos do centro de triagem de animais silvestres do

estado da Paraíba (CETAS-PB), a fim de ampliar o conhecimento acerca dos aspectos reprodutivos dessa espécie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ASPECTOS DA FISIOLOGIA REPRODUTIVA DOS PRIMATAS DO GÊNERO *SAPAJUS*

A puberdade para os animais do gênero *Sapajus* geralmente ocorre por volta dos 20 meses de idade, quando há uma ampliação nos avanços sexuais ou no comportamento ligado à cópula. Também há um aumento na produção de espermatozoides, com um acréscimo no número de espermatócitos primários e espermátides nos túbulos seminíferos (REY, 1993). O início da erupção dos dentes caninos e o desenvolvimento dos tufo da cabeça indicam a maturidade sexual (FRAGAZY; ADAM-CURTIS, 1998; CAROSI *et al.*, 2005).

A morfologia do sistema genital masculino desses indivíduos foi detalhada por Teixeira e colaboradores (2015). Segundo esses autores, os testículos são pendentes e o escroto apresenta-se como uma bolsa bem desenvolvida, com um formato bilobado. Esses animais, quando reprodutivamente maduros apresentam os testículos com volumes médios de 3,2 cm³ e 3,3 cm³. O pênis é truncado, cilíndrico e alongado, com osso peniano de quantidade reduzida, uma glândula bem desenvolvida, com cerca de 14 mm de comprimento e em formato semelhante a cogumelo. A uretra apresenta fibras musculares estriadas esqueléticas na camada membranosa, sendo bastante alongada e com uma abertura delimitada por dois lábios.

2.2 CARACTERÍSTICAS DO SÊMEN DE MACACO-PREGO

Os espermatozoides das espécies pertencentes ao gênero *Sapajus* apresentam uma coloração que varia de esbranquiçado a amarelado, com a opacidade variando de transparente a opaco (LEÃO *et al.*, 2015), apresentando volume ejaculado entre 0,6 mL e 1,9 mL (BARNABE *et al.*, 2002), com concentração variando entre 161,1x10⁶/mL (ROUSSEL; AUSTIN, 1968) e 255x10⁶/ml (BUSH *et al.*, 1975).

O Sêmen dos primatas dessa espécie apresenta um plug copulatório, resultante da imediata coagulação após a ejaculação, com o sêmen assumindo uma consistência sólida. Essa característica se deve ao regime poligâmico de acasalamento da espécie, onde o coágulo representa uma barreira que inviabiliza a fecundação por outros machos, em um importante mecanismo de seleção sexual. Por ser a fração rica em células espermáticas, o coágulo ainda atua como um carreador dos espermatozoides para o interior da cérvix da fêmea, constituindo uma barreira físicoquímica (DIXSON; ANDERSON, 2002).

2.3 O PAPEL DOS MEIOS DILUIDORES NA CRIOPRESERVAÇÃO DAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS

A criopreservação de espermatozoides é um processo crítico para garantir a sobrevivência e a viabilidade celular. Para isso, é fundamental utilizar meios diluidores que atendam a várias necessidades:

1. **Baixo custo e fácil preparo:** Meios diluidores como o Citrato de Sódio e o Dextrose são frequentemente utilizados, pois são acessíveis e simples de preparar.
2. **Prevenção do crescimento de microrganismos:** A adição de antibióticos, como a penicilina e a estreptomicina, ajuda a evitar contaminações bacterianas.
3. **Fornecimento de energia:** A glicose e a frutose são fontes de energia essenciais para manter a motilidade espermática durante a preservação.
4. **Manutenção do pH e osmolaridade:** É importante que o meio mantenha um pH próximo ao fisiológico (cerca de 7,2 a 7,4) e uma osmolaridade adequada para evitar estresse osmótico.
5. **Proteção da integridade do acrossomo e membrana plasmática:** Compostos como o glicerol são frequentemente utilizados para proteger as células durante a congelação e descongelação, reduzindo o risco de danos.
6. **Diminuição do metabolismo dos espermatozoides:** O resfriamento gradual, junto com a composição do meio, ajuda a reduzir a atividade metabólica, minimizando o consumo de energia.
7. **Proteção contra choque térmico:** A utilização de crioprotetores, como o glicerol ou o dimetilsulfóxido (DMSO), é crucial para proteger as células durante a transição de temperaturas elevadas para baixas.

Esses fatores são essenciais para garantir a eficácia da criopreservação, permitindo que os espermatozoides mantenham sua viabilidade e funcionalidade após o descongelamento (AMANN e PICKET, 1987; ROTA, STRÖM e LINDE-FORSBERG, 1995; SANTOS, ALMEIDA e QUEIROZ, 2002; ALVARENGA et al., 2013).

Um dos principais desafios na criopreservação de espermatozoides dos primatas neotropicais é encontrar um diluidor que não apenas dissolva o coágulo seminal, mas também mantenha a viabilidade dos espermatozoides, assim, estratégias para abordar esse desafio incluem: A utilização de enzimas como a tripsina e hialuronidase pode ajudar a degradar as proteínas do coágulo seminal, facilitando a liquefação (PAZ *et al.*, 2006). A utilização dessas enzimas, contudo, ocasionam uma redução da motilidade e do vigor espermático, além da dissolução incompleta do coágulo. Estudos indicam que os melhores resultados foram alcançados sem o uso de enzimas proteolíticas, utilizando soluções como salina a 0,9%,

diluidores à base de água de coco in natura, em pó (ACP-118®) e TES-TRIS. A fragmentação do coágulo com pipeta e a incubação em banho-maria também foram citadas como práticas eficazes nesse processo (OLIVEIRA *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

2.4 DIMENSÕES TESTICULARES E SUA IMPORTÂNCIA NA REPRODUÇÃO DE PRIMATAS

A seleção sexual pós-copulatória nos primatas, especialmente em relação à competição espermática, está fortemente ligada ao sistema de acasalamento. Quando fêmeas copulam com múltiplos machos, a competição entre os espermatozoides se intensifica, levando a adaptações morfológicas nos machos, como testículos proporcionalmente maiores. Isso permite uma produção maior de espermatozoides, aumentando as chances de sucesso reprodutivo (LEÃO, *et al.*, 2023). Além do aumento do volume dos túbulos seminíferos, essa adaptação também favorece um ciclo mais curto do epitélio seminífero. Com um ciclo mais eficiente, a espermatogênese ocorre em taxas mais rápidas, garantindo que os machos possam competir efetivamente no cenário de acasalamento onde a fertilização depende da quantidade e qualidade dos espermatozoides disponíveis (KAPPELER, 1997).

2.5 RECUPERAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS

A coleta de espermatozoides epididimários é uma prática que permite obter espermatozoides de machos que não estão em condições de ejacular, seja por problemas de saúde, por serem jovens ou por estarem mortos, podendo ainda ser utilizada em estudos sobre fertilidade e na investigação de doenças reprodutivas (LOPES *et al.*, 2020).

A obtenção de espermatozoides epididimários pode variar entre as espécies devido a diferenças na anatomia, em geral, os métodos mais comuns incluem a lavagem retrógrada e a flutuação. A lavagem retrógrada envolve a aplicação de pressão no ducto deferente, utilizando uma seringa com diluente, até que o conteúdo da cauda do epidídimo seja expelido por uma incisão na junção da cauda com o corpo do epidídimo (SILVA *et al.*, 2011). Essa abordagem é preferida para espécimes como catetos, cutias e preás, pois resulta em uma menor contaminação por hemácias, embora produza um menor número de espermatozoides em comparação com a flutuação. Na técnica de flutuação, a cauda do epidídimo é fatiada e imersa em um meio tamponado, onde os fragmentos permanecem por alguns minutos, permitindo a liberação dos espermatozoides diretamente no meio. Essa abordagem, embora possa resultar em maior contaminação, geralmente fornece uma quantidade maior de células (SILVA *et al.*, 2016).

3 METODOLOGIA

3.1 ANIMAIS E LOCAL DO EXPERIMENTO

Neste estudo, foram utilizados cinco macacos-pregos do sexo masculino, adultos, sendo quatro da espécie *Sapajus libidinosus* e um da espécie *Sapajus Flavius*, oriundos do Centro de Triagem de Animais Silvestres da Paraíba (CETAS PB), atendidos pelo serviço de animais silvestres do Hospital Universitário Veterinário (HUV) da Universidade Federal da Paraíba que foram submetidos a epididectomia para fins de controle populacional em cativeiro.

3.2 PROTOCOLO ANESTÉSICO

Previamente ao procedimento cirúrgico, os macacos foram submetidos a um jejum hídrico e alimentar de 12 horas, para, em seguida, realizar-se o procedimento de epidectomia. No primeiro momento os animais receberam a Medicação pré-anestésica (MPA) por via intramuscular, composta por Dexmedetomidina, 30 mg/kg + Butorfanol, 0,4 mg/kg e Cetamina, 3 mg/kg - 10% (100 mg/mL). Para indução foi utilizado Propofol, 1 mg/kg). Para manutenção, foi utilizado o método inalatório com Isoflurano 1,5V%. Para a anestesia locorregional foi utilizada lidocaína 3mg/kg na linha de incisão. Para Analgesia pós-operatória, foi utilizado meloxicam, 0,1 mg/kg a cada 24h, durante três dias e Dipirona 25mg/kg a cada 24 horas, durante cinco dias.

3.3 AVALIAÇÃO DAS MEDIDAS TESTICULARES

Logo após a MPA iniciou-se a avaliação das medidas testiculares. Com essa finalidade, os animais foram mantidos em decúbito dorsal e os testículos esquerdo (TE) e direito (TD) foram individualmente inspecionados e mensurados quanto à sua largura (L) e comprimento (C), com o auxílio de um paquímetro (Figura 1).

3.4 REALIZAÇÃO DE EPIDIDIMECTOMIA

O paciente foi posicionado em decúbito dorsal para realização da tricotomia escrotal e antisepsia com álcool 70 e solução aquosa de PVPI (polivinilpirrolidona-iodo). Realizou-se o isolamento do campo cirúrgico com panos de campo estéreis. Foram realizadas duas incisões escrotais: uma sobre cada testículo em posição que favoreceu a drenagem por gravidade da ferida cirúrgica. As incisões seccionaram inicialmente pele e tecido subcutâneo, seguindo pela fáscia espermática até a exposição do testículo. Digitalmente, a túnica vaginal foi separada do ligamento da cauda do epidídimo. As estruturas do cordão espermático (plexo pampiniforme e

ducto deferente) foram identificadas e isoladas rompendo a membrana entre elas (mesórquio). Após, realizou-se a separação e ligadura do epidídimo, seguida pela sua secção. Em seguida, foi feita a sutura da túnica vaginal com padrão de sutura separado simples e a rafia da incisão escrotal no mesmo padrão. Todas as suturas foram realizadas com poliglecaprone monofilamentado, calibre 4-0.



Figura 1- Mensuração testicular em macaco-prego (*Sapajus libidinosus*).

3.5 COLHEITA E DILUIÇÃO DO MATERIAL ESPERMÁTICO EPIDIDIMÁRIO

Após a retirada dos epidídimos, o material foi conduzido imediatamente ao Laboratório de Reprodução Animal do HV, onde os epidídimos foram dissecados, com um auxílio de uma lâmina de bisturi sobre uma placa de Petri, para a retirada dos vasos sanguíneos presentes para não haver contaminação da amostra com sangue. Em seguida foi realizada uma lavagem externa com solução fisiológica pré-aquecida (37°C), para limpeza.

Após a dissecação e limpeza dos epidídimos, para a obtenção das amostras de espermatozoides epididimários foi empregada a técnica de flutuação por meio de fatiamento, de acordo com os critérios a seguir: o epidídimo de um dos lados foi colocado sobre uma placa de Petri contendo 500µL de diluidor à base de leite UHT desnatado aquecido a uma temperatura de 37°C. O epidídimo contralateral foi colocado sobre outra placa de Petri contendo 500µL de diluidor à base de Tris-gema de ovo também aquecido a uma temperatura de 37°C. O tecido então recebeu uma série de cortes longitudinais e transversais sendo pressionado em seguida

para liberar os espermatozoides nos respectivos meios diluidores. Todo esse procedimento foi efetuado sobre uma mesa aquecida a uma temperatura de 37°C.

3.6 RESFRIAMENTO E AVALIAÇÃO DOS ESPERMATOZÓIDES EPIDIDIMÁRIOS

Após o procedimento de fatiamento dos epidídimos, as placas de Petri contendo as amostras foram mantidas em geladeira a uma temperatura de 5°C, para análise microscópica da motilidade e vigor espermático a intervalos de 60 minutos nas primeiras 18 horas, após esse período, houve aumento no intervalo de observação e as avaliações foram realizadas até não haver detecção de motilidade espermática na amostra avaliada.

Para a análise microscópica, uma alíquota contendo 10 microlitros de material espermático diluído foi colocada em lâmina de microscopia, sob lamínula, previamente aquecidas e assim prosseguiu a avaliação quanto à motilidade progressiva (em uma escala de 0 a 100%) e vigor (em uma escala de 0 a 5), em microscopia óptica, com objetiva de 10x (figura 2). As alterações morfológicas foram avaliadas, em preparação úmida, em lâmina sob lamínula, como o auxílio de microscopia de contraste de fase, em aumento de 100x com imersão, contando-se 400 células, sendo divididas em 200 do epidídimo esquerdo e 200 do epidídimo direito.

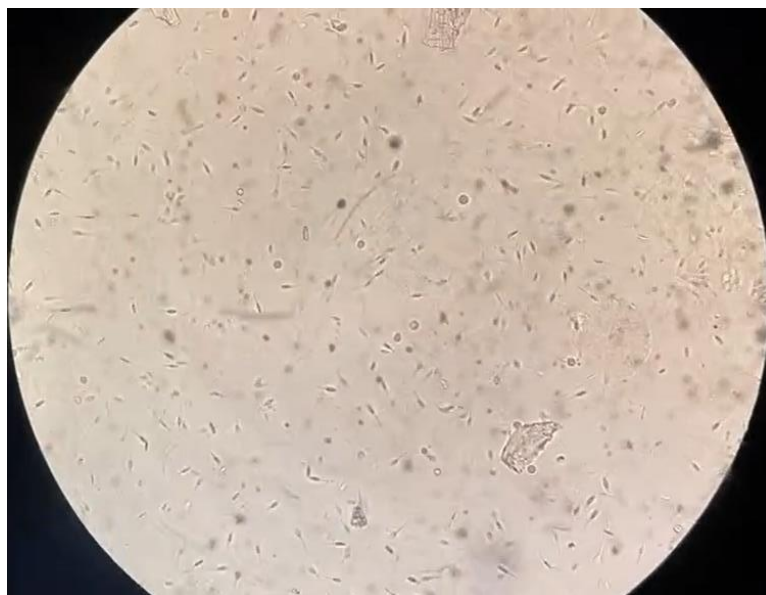


Figura 2- Aspecto de espermatozoides epididimários de macaco-prego (*Sapajus libidinosus*) em microscópio óptico, aumento de 10x.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores das médias do comprimento dos testículos esquerdo (TE) e direito (TD) dos indivíduos da espécie *sapajus libidinosus* foram, respectivamente, 21,55 mm e 21,30 mm, e da largura, 14,52 mm e 14,15 mm. Esses resultados estão demonstrados na tabela 1.

Tabela 1- Valores do comprimento e largura testiculares de macaco-prego (*Sapajus libidinosus*).

Parâmetros	Testículo	Animal				Média
		1	2	3	4	
Comprimento (mm)	Esquerdo	18,70	21,30	29,10	17,10	21,55
	Direito	19,27	17,96	28,91	19,30	21,30
Largura (mm)	Esquerdo	15,23	12,75	18,20	11,90	14,52
	Direito	14,04	12,08	17,30	13,20	14,15

Mediante os dados dispostos na tabela 1 nota-se que não houve grandes variações entre o comprimento e largura dos testículos esquerdo e direito nos animais avaliados. Os valores estão numericamente superiores aos descritos por Araújo (2012), que descreveu uma média comprimento de $18,23 \pm 6,28$ mm para o TE e $18,22 \pm 6,22$ para o TD. Já para a largura testicular, o mesmo autor obteve médias de $11,35 \pm 5,00$ mm e $10,74 \pm 5,09$ mm, para os testículos direito e esquerdo, respectivamente. Assim, a largura também segue dentro dos parâmetros, sendo novamente o animal 3 com maior valor observado, superando mais do que 1 mm da largura em ambos os testículos examinados por Araújo (2012). O animal 3 do atual estudo apresentou maior porte corporal em relação aos outros indivíduos analisados, dessa maneira, pode-se relacionar o seu tamanho aos parâmetros testiculares acima da média, especialmente em relação ao comprimento.

Para o indivíduo da espécie *Sapajus flavius*, utilizado neste estudo, os valores do comprimento dos testículos foram de 24,8 mm (TE) e 24,3 mm (TD) e a largura 18mm (TE) e 16,3 mm (TD), não sendo possível realizar a média pois só havia um exemplar da espécie. Em comparação com as médias dos testículos da espécie *Sapajus flavius* observadas por Araújo (2012), que obteve a médias do comprimento dos testículos esquerdo (TE) e direito (TD) respectivamente, $18,18 \pm 8,32$ mm e $20,13 \pm 11,11$ mm, os valores atuais se assemelham

numericamente. A largura neste estudo foi superior à descrita pelo estudo ($11,35 \pm 5,00$ mm (TE) e $10,74 \pm 5,09$ mm (TD)), onde os resultados ultrapassaram 1mm em ambos os testículos. Para uma comparação mais precisa, é necessário analisar um maior número de indivíduos da espécie estudada.

O estudo das características testiculares é crucial para entender a reprodução nos machos. Os testículos desempenham um papel vital na produção de hormônios esteroides, como a testosterona, que são fundamentais para manter a libido e regular processos como a gametogênese, a maturação e a estocagem dos espermatozoides. Analisar aspectos como tamanho, volume e saúde testicular pode fornecer informações importantes sobre a fertilidade e a capacidade reprodutiva dos machos (VALE-FILHO, 2001). Por meio da análise das dimensões testiculares, é possível identificar também, condições patológicas, como atrofia testicular ou inflamações, que podem comprometer a produção espermática e, conseqüentemente, a fertilidade (PACHECO *et al.*, 2010).

Na tabela 2 estão descritos os resultados referentes à avaliação da morfologia espermática nos quatro indivíduos da espécie *Sapajus libidinosus* e no indivíduo da espécie *Sapajus flavius* utilizados neste estudo.

Os resultados da morfologia espermática foram relacionados às anormalidades presentes nos espermatozoides e foram categorizadas em defeitos maiores e menores, segundo os critérios propostos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). Os defeitos maiores, ocorrem durante a espermatogênese, enquanto os defeitos menores podem ocorrer durante a passagem dos espermatozoides pelos ductos ou como resultado da manipulação (GALVÃO; CARVALHO, 2022).

Os defeitos espermáticos totais apresentaram valores numericamente próximos entre os indivíduos 1, 2, 4 e 5. Contudo, o animal 3 exibiu resultado numericamente superior aos demais indivíduos avaliados, o que pode ser explicado como sendo uma característica reprodutiva inerente ao animal em questão, não havendo informações sobre o histórico reprodutivo que justifique tal diferença. Em relação às patologias espermáticas observadas, notou-se uma frequência numericamente maior nos defeitos menores, destacando-se, principalmente, a gota citoplasmática proximal e a cauda dobrada. Essa ocorrência era esperada, devido os defeitos originarem-se pela passagem dos espermatozoides nos ductos epididimários (PAZ, 2013).

Tabela 2 - Morfologia espermática observada nos espermatozóides epididimários de macaco-prego (*Sapajus libidinosus* e *Sapaus flavius*).

		Morfologia espermática	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5
DEFEITOS	Cabeça	Cabeça pequena	1	1	0	0	0
		Cabeça destacada	0	0	5	0	0
		Cabeça globosa	1	0	0	0	0
		Cabeça gigante	0	0	0	1	0
	Peça intermediária	Peça intermediária curvada	3	1	0	0	1
		Gota citoplasmática proximal	0	0	49	9	0
		Gota citoplasmática distal	0	0	0	1	0
	Cauda	Cauda dobrada	13	5	1	1	2
		Cauda enrolada na cabeça	1	0	0	0	0
		Cauda fortemente enrolada	0	0	0	0	2
		Total	19	7	55	12	5
		%	4,75%	1,75%	13,75%	3,0%	1,25%

Em contraste com os resultados obtidos nos estudos de Barnabe e colaboradores, (2002) e Paz e colaboradores (2006), o percentual de anormalidades espermáticas totais avaliados no presente estudo, foi significativamente menor. Esses autores encontraram valores superiores a 30% de defeitos espermáticos totais nas amostras avaliadas, contrastando com os valores encontrados nos indivíduos ora avaliados, onde, em sua maioria, apresentaram valores de total de defeitos menores do que 5%. Entretanto, nos estudos supracitados a metodologia de coleta difere da empregada neste trabalho, em ambos a recuperação espermática deu-se por meio de eletroejaculação.

Os resultados quanto à motilidade progressiva dos espermatoóides epididimários utilizando os diluidores à base de leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo, em espermatozóides refrigerados dos 5 animais, individualmente, utilizados neste trabalho, em diferentes tempos de avaliação, estão demonstrados nas figuras de 3 a 7, respectivamente.

Como pode ser observado nas figuras 3, 4, 5, 6 e 7, a motilidade dos espermatozoides, com exceção do animal 1, segue uma tendência, alcançando em sua maioria valores acima de 60% de motilidade na primeira aferição realizada aos 60 minutos após o resfriamento a 5°C (T0) em ambos os diluidores utilizados. Os valores obtidos na primeira avaliação corroboram com os percentuais de motilidade progressiva de amostras de sêmen de macacos-pregos, coletadas através de eletroejaculação, os quais obtiveram valores de 68,4% e 62% (BUSH *et al.*, 1975; BARNABE *et al.*, 2002), entretanto não há estudos que descrevam características de espermatozoides epididimários de macaco-prego.

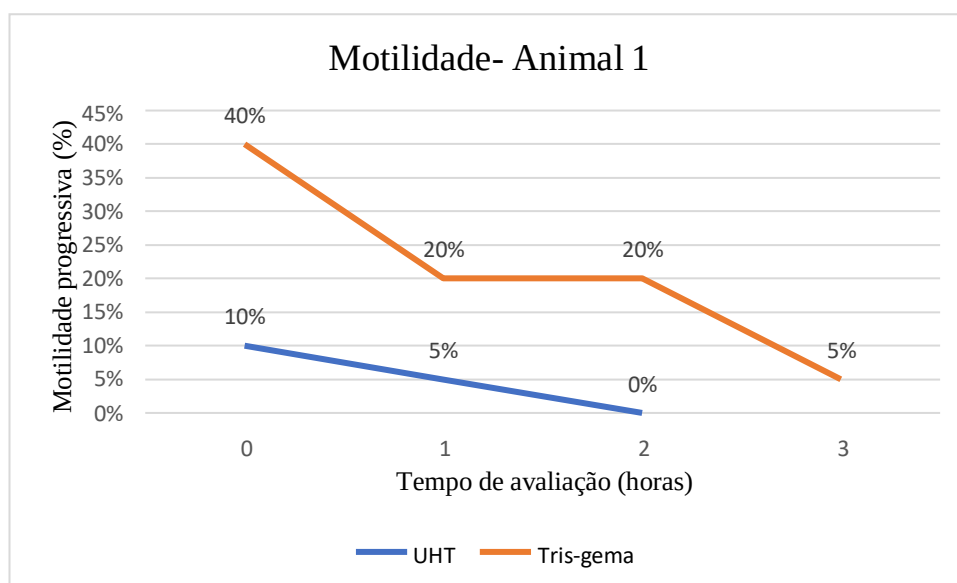


Figura 3- Valores da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 1 nos diferentes tempos de avaliação.

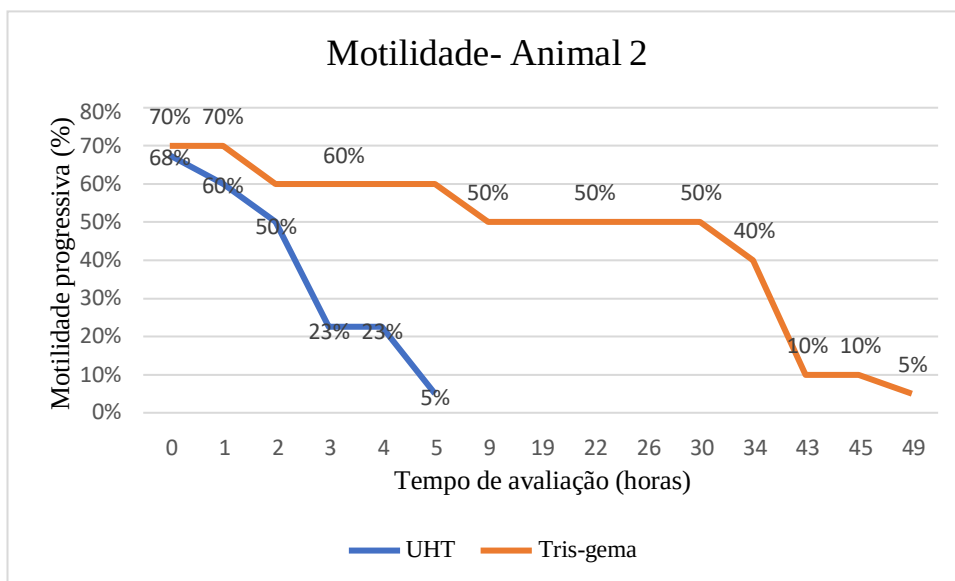


Figura 4- Valores da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 2 nos diferentes tempos de avaliação.

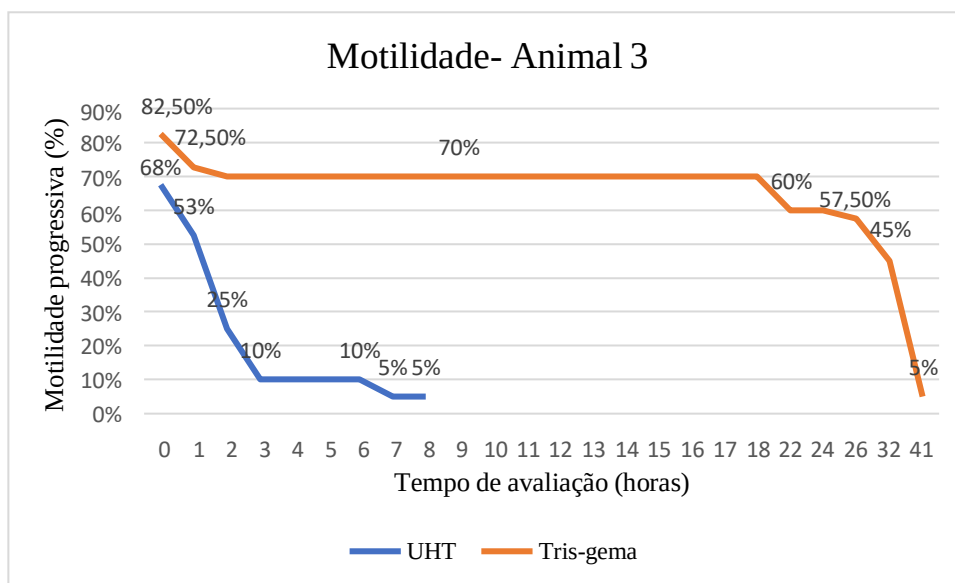


Figura 5- Valores da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 3 nos diferentes tempos de avaliação.

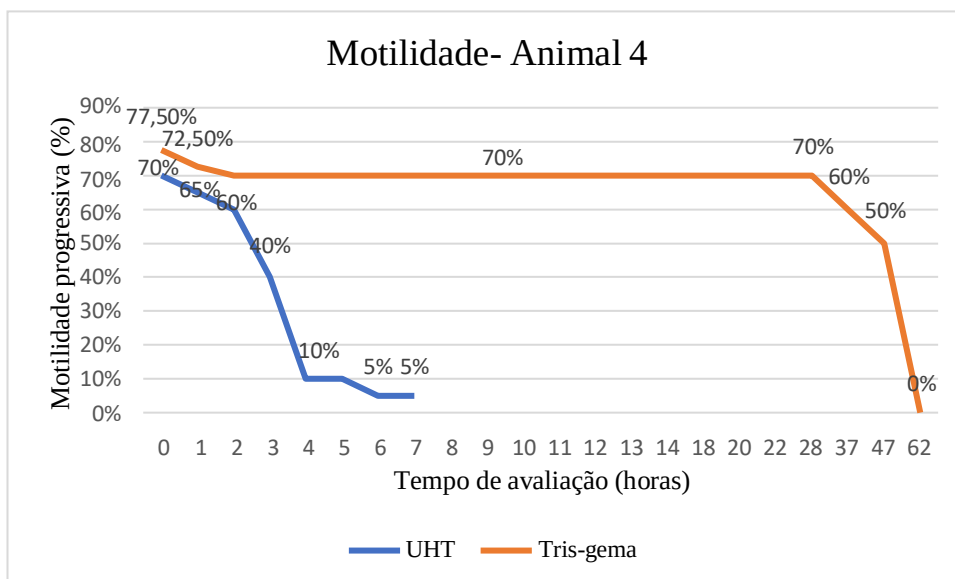


Figura 6- Valores da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 4 nos diferentes tempos de avaliação.

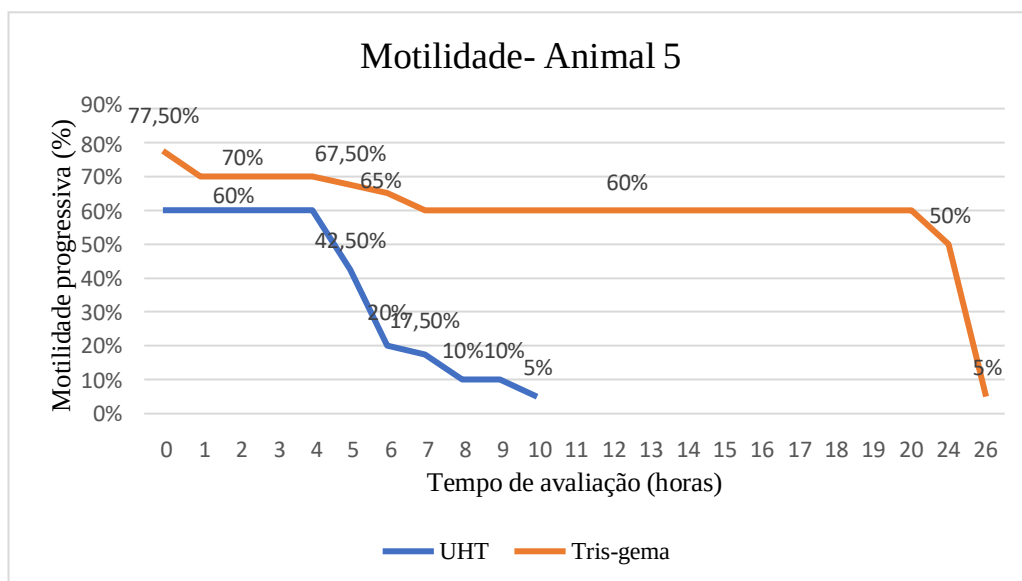


Figura 7- Valores da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 5 nos diferentes tempos de avaliação.

Ainda de acordo com os dados observados nas figuras 3, 4, 5, 6 e 7, pode-se observar que utilizando o diluidor à base de Leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo os resultados

apresentaram-se semelhantes na preservação dos espermatozoides nas primeiras duas horas de avaliação, quando passa a haver uma pequena diminuição na motilidade espermática.

No processo de resfriamento de espermatozoides é esperado uma queda da motilidade inicial, podendo haver diminuição de 50% do valor primário. Entretanto, para que um sêmen seja considerado viável para a inseminação artificial com sêmen resfriado ele deve estar entre 40% Linde-Forsberg, Holst e Govette (1999). Importante considerar que esses valores são estabelecidos para animais domésticos, não havendo estudos que determinem a porcentagem de motilidade progressiva ideal para a inseminação em primatas neotropicais.

Os resultados relativos ao vigor espermático obtidos na avaliação da eficiência dos diluidores à base de leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo, em espermatozoides epididimários refrigerados dos cinco animais, individualmente, avaliados neste estudo estão demonstrados nas figuras 9, 10, 11 e 12.

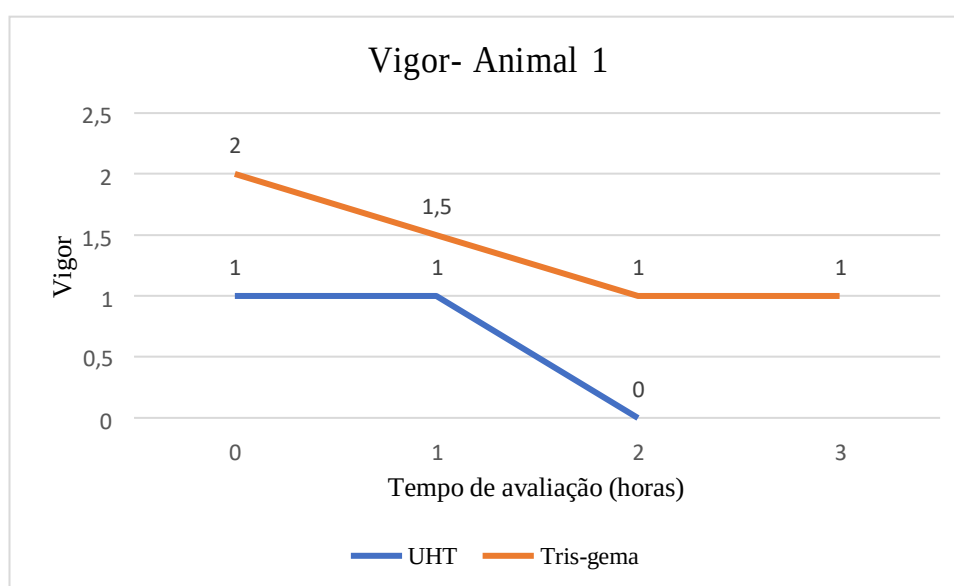


Figura 8- Valores do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema do macaco-prego 1 nos diferentes tempos de avaliação.

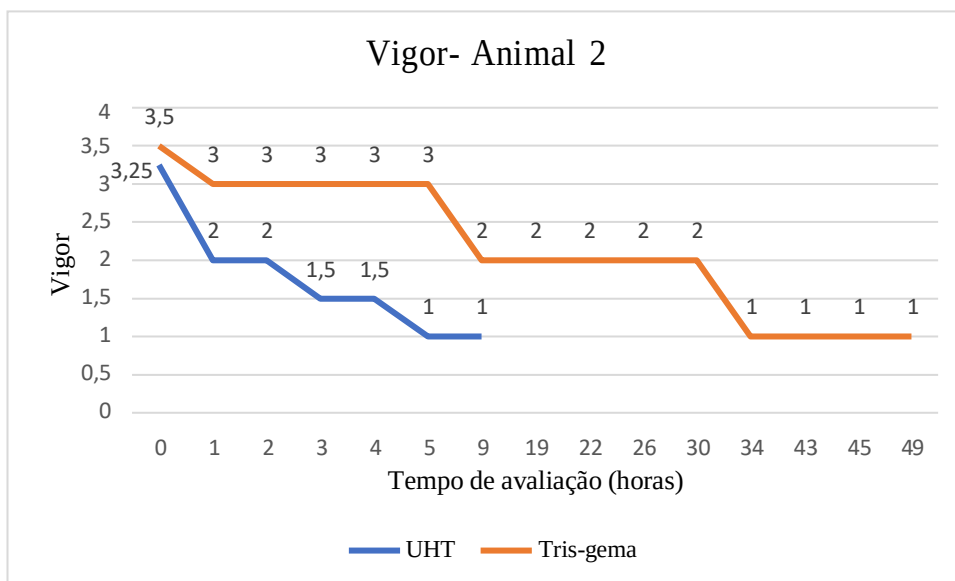


Figura 9- Valores do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema do macaco-prego 2 nos diferentes tempos de avaliação.

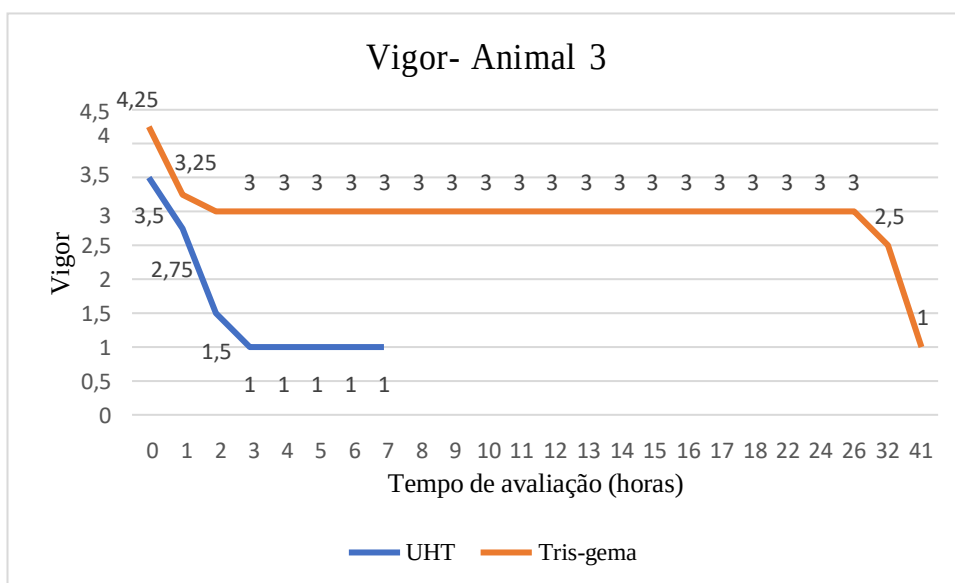


Figura 10- Valores do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema do macaco-prego 3 nos diferentes tempos de avaliação.

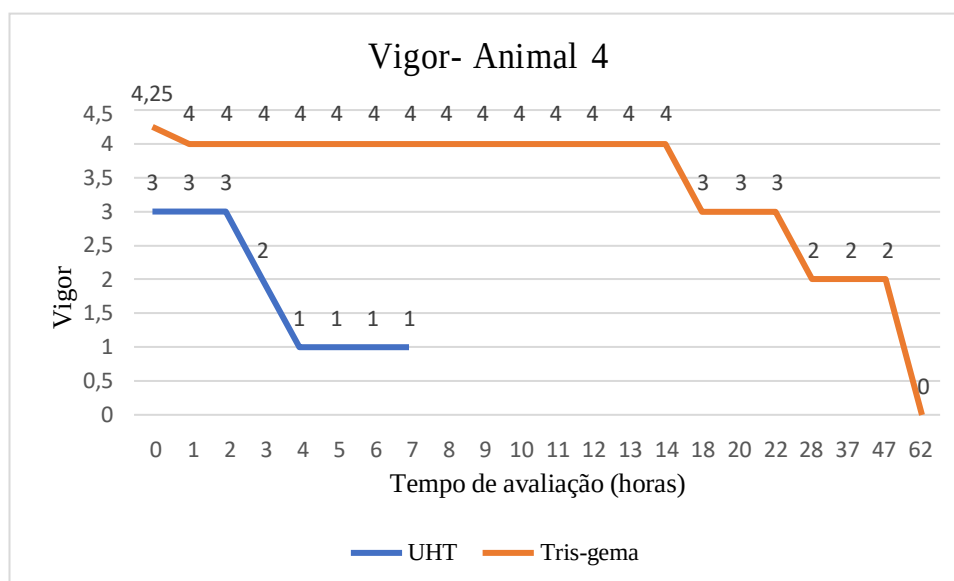


Figura 11- Valores do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 4 nos diferentes tempos de avaliação.

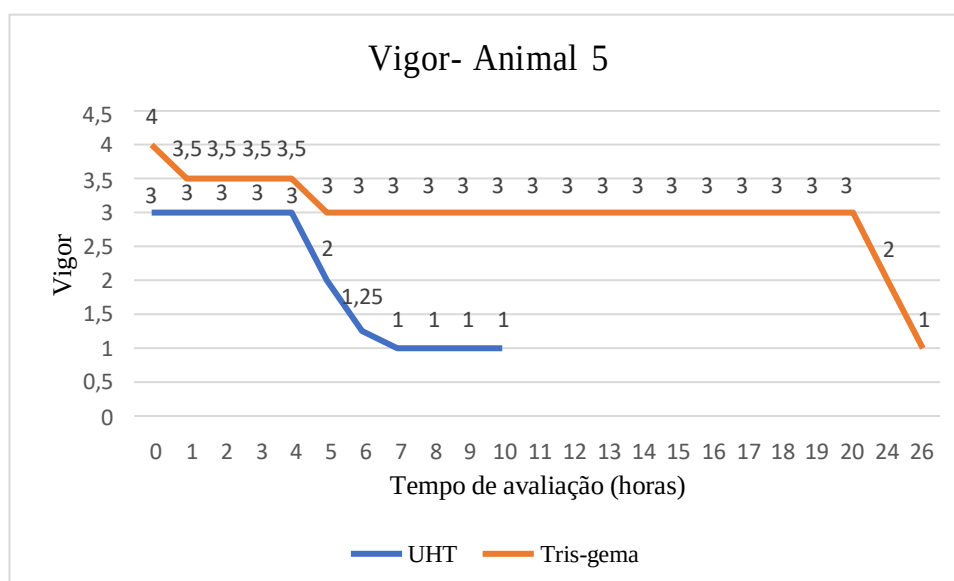


Figura 12- Valores do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo do macaco-prego 5 nos diferentes tempos de avaliação.

Em sua maioria as amostras apresentaram vigor igual ou maior que 3, superando os valores encontrados por Barnabe e colaboradores (2002). Tal qual os valores obtidos para a motilidade espermática, as amostras espermáticas do animal 1 apresentaram os menores resultados de vigor em comparação às amostras dos demais indivíduos.

Nas primeiras avaliações após o resfriamento, observou-se que, diferentemente dos resultados obtidos para a motilidade, que até 2 horas, os diluidores apresentaram resultado semelhantes para o vigor espermático. Foi possível observar também que na primeira avaliação (T0), as amostras diluídas com o meio Tris-gema apresentaram valores de vigor numericamente superiores às diluídas em meio à base de Leite UHT desnatado, sendo os valores de 2,0; 3,5; 4,25; 4,25 e 4,0 nas amostras de espermatozoides diluídas em meio Tris-gema e 1,0; 3,25; 3,5; 3 e 3,0 nas amostras diluídas em Leite UHT desnatado nos animais 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente, conforme demonstrado nas figuras 8, 9, 10, 11 e 12.

Semelhantemente ao que ocorreu com a motilidade progressiva, não houve uma mudança nesse padrão, e o diluidor Tris-gema demonstrou melhor resultado em relação à manutenção do vigor espermático nos cinco animais avaliados nesse estudo.

Os resultados relativos às médias da motilidade progressiva e vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema nos diferentes tempos de avaliação nos macacos pregos *Sapajus libidinosus* e *Sapaus flavius* avaliados neste estudo estão demonstrados nas figuras 13 e 14.

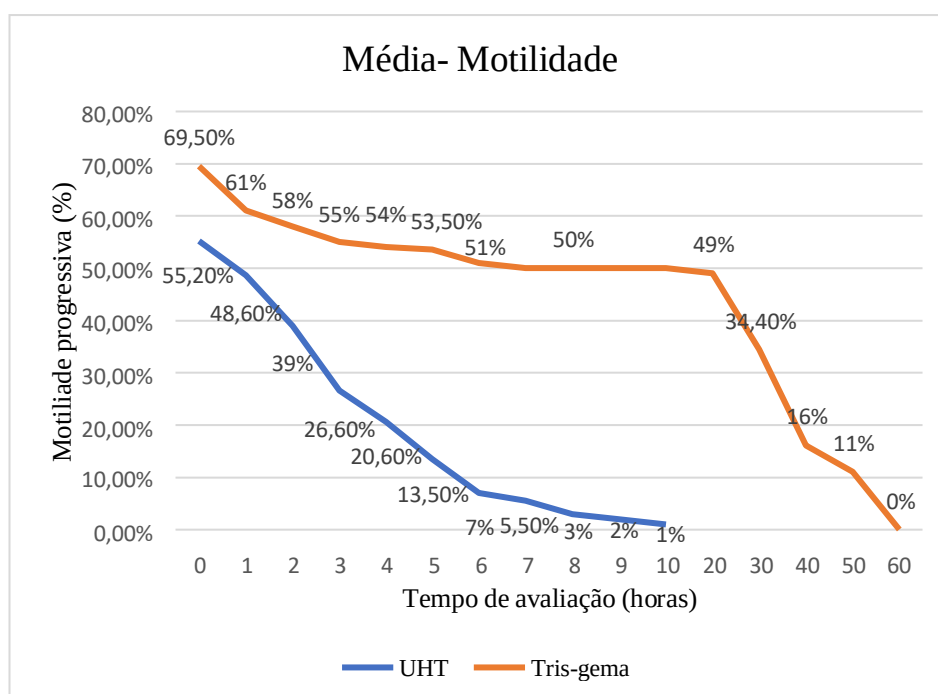


Figura 13- Valores médios da motilidade progressiva de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema nos diferentes tempos de avaliação em macacos-pregos *Sapajus libidinosus* e *Sapaus flavius*.

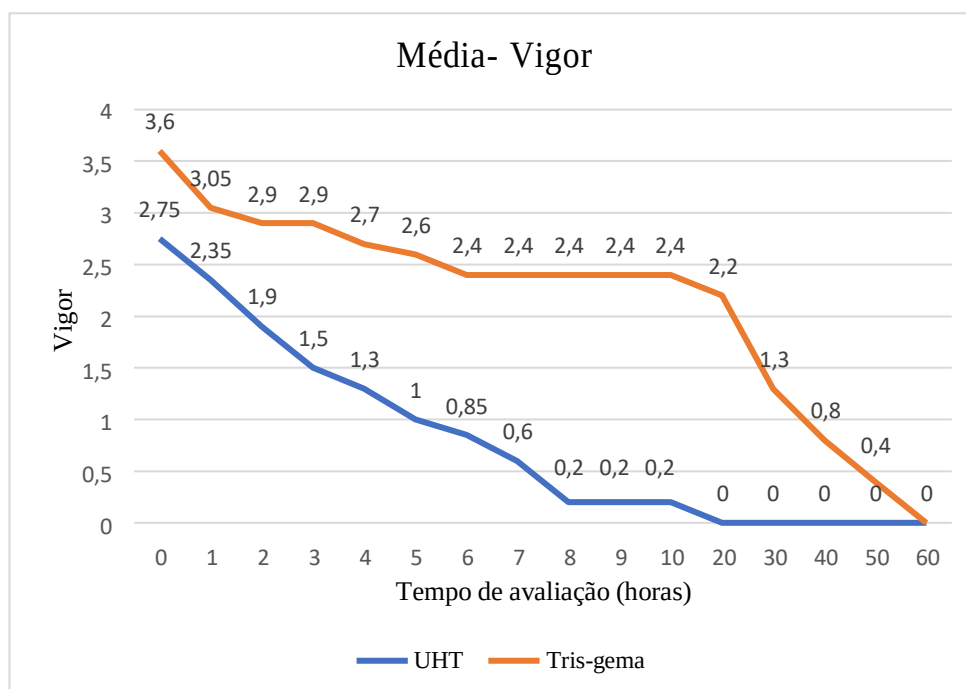


Figura 14- Valores médios do vigor de espermatozoides epididimários refrigerados, diluídos em leite UHT desnatado e Tris-gema de ovo nos diferentes tempos de avaliação em macacos-pregos *Sapajus libidinosus* e *Sapaus flavius*.

Pugliesi, 2009 defende que a tecnologia de resfriamento do sêmen é importante por sua capacidade fertilizante ser preservada por um a dois dias. No presente estudo, foi observado que, utilizando o diluidor Tris-gema, a maioria das amostras espermáticas apresentaram motilidade por um tempo mais prolongado. Onde, a exceção do animal 1, todas as amostras tiveram motilidade progressiva em torno de 40% por um pouco mais que 24 horas.

Oliveira *et al.*, (2011) obtiveram valores semelhantes ao utilizar a água de coco em pó (ACP-118®), onde o diluidor mostrou-se eficiente na manutenção da integridade espermática a 33, 35 e 37°C até 24 horas após a eletroejaculação de macacos-prego. Apesar disso, é importante ressaltar que nem sempre os mesmos protocolos de criopreservação adotados para a coleta de amostras ejaculadas, podem ser utilizados para espermatozoides epididimários.

Bezerra *et al.*, 2018 constataram que os diluentes utilizados para criopreservação de espermatozoides epididimários possuem efeitos contrários aos observados para amostras de espermatozoides ejaculados de catetos. Em geral, o Tris foi o diluidor mais eficiente do que o diluidor a base de água de coco em pó (ACP-116c) para criopreservação de espermatozoides epididimários (Bezerra *et al.*, 2018), porém em amostras ejaculadas, Silva e colaboradores, (2012) encontraram 48,3% e 30,4% de espermatozoides móveis para amostras diluídas em ACP-116c e Tris,

respectivamente, após o descongelamento. Dessa forma, é indicado a utilização de ACP-116c para a criopreservação de sêmen e Tris para a criopreservação de espermatozoides epididimários de catetos, corroborando com o presente estudo que demonstra uma maior eficiência do Tris-gema em relação ao Leite UHT. Apesar dos resultados discutidos, vale salientar que dentre as plataformas pesquisadas, não foi obtido informações acerca do uso de diluidor a base de leite UHT desnatado em macaco-prego (*Sapajus libidinosus*).

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e de acordo com as condições deste estudo pode-se concluir que:

A técnica de fatiamento do epidídimo foi eficiente para a obtenção de espermatozoides epididimários.

No que se refere à manutenção da motilidade progressiva e vigor espermáticos, o diluidor Tris-gema foi um mais eficiente que o Leite UHT desnatado para a refrigeração de espermatozoides epididimários de macacos-prego a uma temperatura de 5°C, mantendo a motilidade e vigor da amostra por um tempo médio de 24 horas.

Os resultados aqui obtidos indicam a necessidade de novas pesquisas que utilizem diferentes diluidores e avaliem o impacto do resfriamento sobre a qualidade espermática epididimária de primatas neotropicais.

Este estudo apresenta caráter inédito, pois não foram encontrados trabalhos específicos nesta área nas principais plataformas e bases de dados, ressaltando sua importância para o campo da reprodução de primatas.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, M, SANTIAGO, BVL, CHIRINÉA, VH, BITTENCOURT, RF, LOPES, MD, **Suplementação do meio de refrigeração espermática com vitamina C e catalase em sêmen obtido de cães jovens e idosos.** Veterinária e Zootecnia, p. 673-682, 2013.
- AMANN RP, PICKETT BW. **Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa.** J Equine Vet Sci, v.7, p.145-173, 1987.
- ARAÚJO, A.M. **Biometria testicular de macacos-pregos mantidos em cativeiro.** 2012. 32f. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia), Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil, 2012. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/26758>
- BARNABE, R.C., GUIMARÃES, M.A.B.V., OLIVEIRA, C.A., BARNABE, A.H. **Analysis of some normal parameters of the spermiogram of captive capuchin monkeys (Cebus apella Linnaeus, 1758).** Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science, São Paulo, v.39, n.6, p.331-333, 11 jun. 2002. Trimestral. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-95962002000600010>. Acesso em: 31 abr. 2024.
- BEZERRA J.A.B., SILVA A.M., SOUSA P., CAMPOS L., PRAXEDES E., BEZERRA L., SILVA, A.R. **Cryopreservation of collared peccary (Pecari tajacu L., 1758) epididymal sperm using extenders based on Tris and powdered coconut water (ACP®-116c).** Zygote, v.26, n.4, p.301-307, 2018.
- BUSH, D.E. et al. **Semen evaluation in capuchin monkeys (Cebus apella).** Laboratory Animal Science, v.25, p. 588-93, 1975.
- CAROSI, M., LINN, G.S., VISALBERG, E., 2005. **The sexual behavior and breeding system of tufted capuchin monkeys (Cebus apella).** Adv. Stud. Behav. 35, 105–149. [https://doi.org/10.1016/S0065-3454\(05\)35003-0](https://doi.org/10.1016/S0065-3454(05)35003-0).
- CBRA, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico avaliação de sêmen animal.** 2ed, Belo Horizonte, CBRA, 1998. 50p.
- DIXSON, A.F.; ANDERSON, M.J. **Sexual selection, seminal coagulation and copulatory plugformation in primates.** Folia Primatologica, v.73, n.2/3, p.63–69, 2002.
- FRAGAZY, D.M., ADAM-CURTIS, L.E., 1998. **Growth and reproduction in captive tufted capuchins (Cebus apella).** Am. J. Primatol. 44, 197–203. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(1998\)](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(1998)).
- GALVÃO, W.R.S.; CARVALHO, L.R.R.A. **Exame andrológico.** In: CAMPOS, B.A., RODRIGUES, B.F.C., LIMA, I.R.F.; CARVALHO, L.R.R.A.; ARAÚJO, N.L.S.; MOURA, M.F., GALVÃO, W.R.S. Bases da Reprodução Animal. João Pessoa: Editora Ufpb, 2022. Cap. 14. p. 1-263. Disponível em: <https://www.editora.ufpb.br/sistema/press5/index.php/UFPB/catalog/view/853/1027/1118>. Acesso em: 31 ago. 2024.
- KAPPELER, P.M. **Intra-sexual selection and testis size in strepsirrhine primates.** Behavioral Ecology, v.8, n.1, p.10–19, 1997.
- LEÃO, Danuza Leite et al. **Criopreservação do sêmen de macaco-prego (Sapajus apella Linnaeus, 1758): avaliação de diferentes diluidores, concentração de glicerol e antioxidante catalase.** 2015.
- LEÃO, D. L.; SAMPAIO, W. V.; DOMINGUES, S. F. S.; QUEIROZ, H. L. de. **Bioteχνologias da reprodução sob a perspectiva dos machos de primatas neotropicais: contribuições para a**

conservação de espécies ameaçadas de extinção. *Ciência Animal*, [S. l.], v. 30, n. 4, p. 10–22, 2023.

LINDE-FORSBERG, C; HOLST, B. S; GOVETTE, G. **Comparison of fertility data from vaginal vs intrauterine insemination of frozen-thawed dog semen: a retrospective study.** *Theriogenology*, v. 52, n. 1, p. 11-23, 1999.

LOPES, S.T.P., SOUSA-FILHO, M.A.C., SILVA, J.H.L., BARROS, F.N., CASTELO-BRANCO M.A., EVANGELISTA, L.S.M., SOUZA J.A.T. **Eficiência de duas técnicas de recuperação de espermatozoides epididimários de cães e avaliação seminal pós-criopreservação.** *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.72, n.5, p.1758-1766, 2020.

OLIVEIRA KG, CASTRO PHG, MUNIZ JAPC, DOMINGUES SFS. **Conservação do sêmen e liquefação do coágulo seminal macaco-prego (*Cebus apella*) em água de coco em pó (ACP-118®), em diferentes temperaturas.** *Ciência Rural*, v.4, p.617-621, 2010.

OLIVEIRA, K. G.; MIRANDA, S. A.; LEÃO, D. L.; BRITO, A. B.; SANTOS, R. R.; DOMINGUES, S. F. S. **Semen coagulum liquefaction, sperm activation and cryopreservation of capuchin monkey (*Cebus apella*) semen in coconut water solution (CWS) and TES-TRIS.** *Animal Reproduction Science*, v. 123, p. 75-80, 2011.

PACHECO, A.; MADELLA-OLIVEIRA, A.F.; QUIRINO, C. R. **Biometria e formas dos testículos em cordeiros da raça Santa Inês explorados em regime de manejo intensivo.** *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.5, n.1, p. 123- 128, 2010.

PAZ, R.C.R. **Reprodução de Felinos Domésticos e Selvagens.** Cuiabá: EdUFMT, 2013.

PAZ, R.C.R.; TEIXEIRA, R.H.F.; GUIMARÃES, M.A.B.V. **Avaliação das características seminais de macacos pregos (*Cebus apella*) mantidos em cativeiro, antes e após vasectomia bilateral.** *Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science*. v.43, p.561-567, 2006.

PAZ, R.C.R., TEIXEIRA, R.H.F. e GUIMARÃES, M.A.B.V. **Avaliação das características seminais de macacos pregos (*Cebus apella*) mantidos em cativeiro, antes e após vasectomia bilateral.** *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 43, n. 4, p. 561-567, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2006.26473>. Acesso em: 31 ago. 2024.

PAZ, R. C. R.; ZACARIOTTI, R. L.; TEIXEIRA, R. H.; GUIMARAES, M. A. B. V. **O efeito das enzimas hialuronidase e tripsina na liquefação do sêmen de macacos pregos (*Cebus apella*).** *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 43, n. 4, p. 196-201, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2006.26473>. Acesso em: 31 ago. 2024.

PUGLIESI, G. **Viabilidade e fertilidade do sêmen equino resfriado a 5 C por 24 horas com dois diluidores.** Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado em Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. p.103, 2009.

REY, A.R., CAMPO, S.M., BEDECARRA, S.P., NAGLE, C.A., CHEMES, H.E., 1993. **Is infancy a quiescent period of testicular development? Histological, morphometric, and functional study of the seminiferous tubules of the Cebus monkey from birth to the end of puberty.** *J. Clin. Endocr. Metabol.* 76, 1325–1331. <https://doi.org/10.1210/jcem.76.5.8496325>.

ROTA, A.; STRÖM, B.; LINDE-FORSBERG, C. **Effects of seminal plasma and three**

extenders on canine semen stored at 4 C. Theriogenology, v. 44, n. 6, p. 885-900, 1995.

ROUSSEL, J.D.; AUSTIN, C.R. **Improved electro-ejaculation of primates.** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, v.19, p.22-32, 1968.

SANTOS, M. R. C.; ALMEIDA, L. E. F.; QUEIROZ, F. J. R. **Meio extensor® para manutenção de sêmen canino resfriado em contêiner para transporte a longa distância.** Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v. 9, n. 2, 2002.

SILVA AM, BEZERRA JAB, CAMPOS LB, PRAXEDES ÉCG, LIMA GL, SILVA AR. **Characterization of epididymal sperm from Spix's yellow-toothed caviar (Galea spixii Wagler, 1831) recovered by different methods.** Acta Zoologica. v.98, n.3, p.285–291, 2016.

SILVA MA, PEIXOTO GCX, SANTOS EAA, CASTELO TS, OLIVEIRA MF, SILVA AR. **Recovery and cryopreservation of epididymal sperm from agouti (Dasyprocta aguti) using powdered coconut water (ACP-109c) and Tris extenders.** Theriogenology, v.76, n.6, p. 1084–1089, 2011

SILVA, M.A., PEIXOTO, G.C.X., LIMA, G.L., BEZERRA, J.A.B., CAMPOS, L.B., PAIVA, A.L.C., PAULA, V.V., SILVA, A.R. **Criopreservação de sêmen de catetos (Tayassu tajacu) usando um diluente à base de água de coco em pó (ACP-116c) mais várias concentrações de gemada ovo e glicerol.** Theriogenology 78, 605–611, 2012

TEIXEIRA D.G., HAMLETT W.C., GUIMARÃES M.A., MORINI A.C., ARAÚJO K.P., CURY F.S., SOUZA A.F., VIDANE A.S., AMBRÓSIO C.E. & MIGLINO M.A. 2015. **Morphological Tools for Describing the Male External Genitalia of Sapajus apella.** Zoolog. Sci. 32(1):97-104.

VALE FILHO, V.R. **A evolução da Andrologia Veterinária no Brasil e no mundo.** Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia- UFMG, n.35, p.07-14, 2001.