



Aspectos morfofuncionais do aparelho reprodutor feminino da anta brasileira (*Tapirus terrestris*, L.1758 - Perissodactyla, Tapiridae)

Morphofunctional aspects of the female reproductive tract of brazilian tapir (Tapirus terrestris, L.1758 Perissodactyla, Tapiridae)

André Luiz Louzada Maldonado^{1,*}, Rogério Loesch Zacariotti¹, Luciano de Moraes Pinto², Emília Patrícia Medici³, Renata Carolina Fernandes Santos³, Carolina Testa José³, Maria Angélica Miglino⁴

¹Universidade Cruzeiro do Sul – CBS, São Miguel Paulista, SP, Brasil; ²Departamento de Morfologia Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil; ³International Union for Conservation of Nature – Tapir Specialist Group, Campo Grande, MS, Brasil; ⁴Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

*E-mail: allmavet@gmail.com

A anta brasileira sofre diferentes impactos ambientais. Por isso, é classificada como vulnerável A2cde+3cde (segundo o IUCN/SSC/2010) ao longo de seu território de distribuição no Brasil, já estando em situação de perigo na Mata Atlântica e Cerrado; quase ameaçada no Pantanal e regionalmente extinta na Caatinga. Diante disto, descrever os aspectos morfofuncionais do aparelho reprodutor e conhecer a sua biologia reprodutiva constituem ferramentas primordiais para garantir o sucesso dos programas de reprodução assistida. Aspectos da genitália externa foram fotografados e observados *in situ* em uma população de 5 fêmeas do Parque Zoológico de Sorocaba-SP. O aparelho reprodutor completo foi coletado mediante necropsias realizadas em 4 fêmeas adultas vítimas de colisão automotiva na rodovia BR 267 no estado do Mato Grosso do Sul. Após fixação em solução aquosa de formaldeído a 10%, foram mensurados e dissecados. O aparelho reprodutor feminino da anta difere dos equídeos, apesar da proximidade filogenética, medindo aproximadamente 65 cm de comprimento no sentido longitudinal. A vulva situa-se caudoventralmente na região perineal e mede cerca de 9 cm. Apresenta dois lábios vulvares uniformes e bem definidos. A rima vulvar é discreta e mede 6,5 cm. O clitoris é bem desenvolvido e está alojado em uma fossa pouco profunda situada na comissura vulvar ventral. Tem formato de um tubérculo alongado e cilíndrico com 3 cm de comprimento, sem definição de uma glândula como é comum em *Perissodactyla*. A vagina é alongada e com parede provida de estriações longitudinais. O canal cervical apresenta de 6-7 pregas primárias dispostas longitudinalmente na face interna do canal cervical indicando uma estratégia anatômica auxiliar no fechamento do canal cervical durante a gestação. Os cornos uterinos são cilíndricos, flexuosos e alongados medindo cerca de 50 cm de comprimento desde o septo intercornual (que é único e bem definido) até a extremidade tubária. A margem mesometrial é contínua com o ligamento largo do útero que serve de suporte aos vasos sanguíneos direcionados aos cornos e tubas uterinas e parte dos ovários. As tubas uterinas (5-6 cm) conservam o mesmo padrão flexuoso observado nos cornos uterinos sem distinção macroscópica de região de ampola. O infundíbulo é alongado e restrito à margem mesovárica. As fímbrias projetam-se abundantemente em sua face interna. Os ovários são elípticos e fixados às extremidades dos cornos uterinos por fortes ligamentos próprios dos ovários. Apresentam superfície multi folicular indicando intensa atividade ovariana em todos os espécimes observados. A margem mesovárica é contínua com o mesosalpinge e contribui para estabilidade do infundíbulo da tuba uterina. O ligamento próprio do ovário é evidente e compõe, junto com os vasos destinados ao ovário o funículo ovariano.

Palavras-chave: tapyrus, conservação, reprodução, perissodáctilos, ovário, útero.

Keywords: tapyrus, conservations, reproduction, perissodactyla, ovary, uterus.



Aspectos ultraestruturais do aparelho reprodutor feminino da anta brasileira (*Tapirus terrestris*, L.1758 - Perissodactyla, Tapiridae)

Ultrastructural aspects of the female reproductive tract of brazilian tapir (Tapirus terrestris, L.1758 Perissodactyla, Tapiridae)

Luciano de Moraes Pinto^{1*}, Rodrigo Silva Nunes Barreto², Phelipe de Oliveira Favaron², Maria Angélica Miglino², Rose Eli Grassi Rici², Rogério Loesch Zacariotti³, André Luiz Louzada Maldonado³

¹Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil; ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, SP, Brasil; ³Universidade Cruzeiro do Sul, CBS, São Miguel Paulista, SP, Brasil.

*E-mail: Luciano.pinto@ufsm.br

A anta têm sido estudada extensivamente na natureza, mas pouco se sabe sobre a ultra estrutura do aparelho reprodutor feminino, informações consideradas relevantes para estabelecer populações auto sustentáveis em cativeiro como estratégia fundamental de conservação. Conhecer os aspectos ultra estruturais constituem ferramenta primordial para entender a complexidade da biologia reprodutiva desta espécie em face da sua alta vulnerabilidade ecológica pois seu período de gestação é longo (13-14 meses) com apenas um filhote por ciclo reprodutivo. Para tanto, coletou-se amostras segmentadas de partes de aparelhos reprodutores completos mediante necropsias realizadas em 4 fêmeas adultas vítimas de colisão automotiva na rodovia BR 267 no estado do Mato Grosso do Sul. Após coleta, as amostras foram fixadas em solução aquosa de paraformaldeído 4% tamponado, e rotineiramente processadas para histologia e microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.). O parênquima ovariano é repleto de folículos em diferentes fases de desenvolvimento distribuídos em todas as regiões do órgão. Diferente dos equídeos e semelhante aos rinocerontídeos, na anta não apresenta fossa de ovulação. As numerosas projeções do lume infundibular (fímbrias) auxiliam a condução dos oócitos até o lume tubário, padrão comumente observado em vivíparos eutérios, todavia este padrão de pregas longitudinais se conserva ao longo de todo o seu trajeto sendo mais pronunciadas na região da ampola e diminuindo progressivamente até pequenas elevações no ístimo tubário. O epitélio cilíndrico simples que reveste a tuba uterina é mais alto no infundíbulo e diminui à medida que se aproxima do útero. Dois diferentes tipos celulares constituem este epitélio: células não ciliadas (mais baixas) e células ciliadas mais proeminentes para a luz. A lâmina própria é composta por tecido conjuntivo frouxo, alguns fibroblastos, fibras colágenas e reticulares. O endométrio do corpo e cornos uterinos é composto por epitélio pavimentoso simples não ciliado e a lâmina própria abriga glândulas tubulares simples e ramificadas que se estendem até o miométrio. A camada basal do endométrio é suprida por numerosas artérias que se encontram entremeadas entre as camadas do miométrio. Existem 6-7 pregas longitudinais dispostas ao longo do canal cervical que apresentam organização em 3 a 4 ordens de lamelas de tecido conjuntivo denso modelado revestidas por epitélio colunar simples ciliado e não ciliado. Das lamelas primárias partem as lamelas secundárias e destas por sua vez as lamelas terciárias. Observa-se ainda a abertura de ductos entremeados no tecido conjuntivo frouxo da lâmina basal subjacente que provém provavelmente de glândulas produtoras do tampão mucoso. À microscopia de luz, a mucosa vaginal é composta por epitélio estratificado com células globosas de núcleos grandes e heterocromatina discretamente corada. Este epitélio repousa sobre uma lâmina própria formada por tecido conjuntivo frouxo fibroelástico contendo um rico suprimento vascular. Já o epitélio da vulva apresenta estrutura celular bastante uniforme. À M.E.V. mostra superfície celular bastante homogênea de contorno hexagonal bem definido.

Palavras-chave: Tapyrus, ultraestrutura, reprodução, perissodáctilos, histologia.

Keywords: Tapyrus, ultrasturctural, reproduction, perissodactyla, histology.



Avaliação dos parâmetros seminais em onça-pintada (*Panthera onca*) durante a curva de resfriamento comparando os diluidores Tris e ACP-117c

*Evaluation of the semen parameters in jaguar (*Panthera onca*) during the cooling curve comparing the Tris and ACP-117c extenders*

Herlon Victor Rodrigues Silva^{1*}, Thalles Gothardo Pereira Nunes¹, Luana Azevedo de Freitas¹, Leandro Rodrigues Ribeiro², Alexandre Rodrigues Silva³, Lúcia Daniel Machado da Silva⁴

¹Pós-Graduandos do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil; ²Médico Veterinário autônomo, Fortaleza, CE, Brasil; ³Professor da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN, Brasil; ⁴Professora da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

*E-mail: herlonvrs@hotmail.com

A onça-pintada (*Panthera onca*) é o maior felino das Américas que está no topo da cadeia alimentar, necessitando, portanto, de grandes áreas preservadas para sobreviver. Sua presença em um determinado hábitat é um indicador de qualidade ambiental. Porém, segundo a lista vermelha da IUCN, esta espécie encontra-se vulnerável e atualmente sua população apresenta um acentuado declínio. Logo, são necessárias estratégias de conservação da espécie, onde são inseridas as biotécnicas reprodutivas, dentre as quais se destaca a conservação de sêmen. Portanto, objetivou-se avaliar a qualidade seminal de onças pintadas, durante a curva de refrigeração, comparando o uso dos diluidores Tris e ACP-117c. Foram utilizadas 3 onças-pintadas machos, com idade entre 7 e 16 anos, provenientes de 3 zoológicos em cidades do nordeste brasileiro (Fortaleza/CE, João Pessoa/PB e Recife/PE). Inicialmente os animais foram contidos com dardos contendo a associação de dexmedetomidina (Dexdomitor®, Zoetis, Campinas, Brasil) (0,08 mg/kg, im.) associada com cloridrato de cetamina (Ketalex®, Rhobifarma, Hortolândia, Brasil) (5 mg/kg, im.). Em seguida, a urina foi removida por meio de sonda uretral, sendo realizadas consecutivas lavagens da bexiga com solução fisiológica. As coletas seminais foram realizadas por eletroejaculação (Autojac V2®, Neovet, Uberaba, Brasil), utilizando-se um protocolo de 3 séries com voltagens variando de 5 a 9 V. O sêmen foi imediatamente avaliado quanto à motilidade, vigor, funcionalidade de membrana, e atividade mitocondrial por meio do marcador 3,3'-diaminobenzidina (DAB). Em seguida o sêmen foi dividido em duas alíquotas que foram centrifugadas (300g/10 min.) e diluídas (2:1), em Tris ou ACP-117c acrescidos de gema de ovo. As amostras foram armazenadas a 15°C por 30 minutos e reavaliados os parâmetros seminais. Após este período foi acrescida nova fração dos diluidores, contendo gema de ovo e glicerol, em uma diluição final de (1:1). As amostras foram armazenadas a 5°C por 30 minutos e reavaliadas. Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão, e submetidos à ANOVA seguida do teste t de Student ($P < 0,05$). Nas amostras de sêmen *in natura* foram obtidos $96,6 \pm 2,3\%$ de espermatozoides móveis com vigor 5 ± 0 ; sendo $85,6 \pm 1,2\%$ com membrana funcional e $35,3 \pm 12,4\%$ espermatozoides com atividade mitocondrial intensa, $61,3 \pm 13,6\%$ moderada e $3,3 \pm 1,8\%$ ausente. Quanto ao sêmen resfriado a 15°C os valores encontrados para o Tris / ACP-117 foram: $88,3 \pm 7,6\%$ / $86,6 \pm 5,7\%$ de espermatozoides móveis, vigor $4,5 \pm 0,5$ / $4 \pm 0,5$; sendo $79 \pm 8,1\%$ / $75,6 \pm 15,8\%$ com membrana funcional e valores de atividade mitocondrial de $32,3 \pm 17,7\%$ / $22,6 \pm 8,7\%$ intensa, $62,6 \pm 20,4\%$ / $76,3 \pm 8,5\%$ moderada e $5 \pm 2,6\%$ / $8 \pm 1,7\%$ ausente respectivamente. Já para as amostras resfriadas a 5°C os valores encontrados para o Tris / ACP-117 foram: $83,3 \pm 5,7\%$ / $76,6 \pm 15,2\%$ de espermatozoides móveis, vigor $4,1 \pm 0,2$ / $3,8 \pm 0,7$; sendo $78,6 \pm 16,1\%$ / $69,6 \pm 2,3\%$ com membrana funcional e valores de atividade mitocondrial de $56,3 \pm 3,2\%$; / $24,3 \pm 2,3$ intensa, $76,3 \pm 8,5\%$ / $70 \pm 5,1\%$ moderada e $8 \pm 3,4\%$ / $5,6 \pm 4,5\%$ ausente respectivamente. A motilidade e vigor do grupo Tris refrigerado a 5°C/30 min e a integridade de membrana do grupo ACP-117 refrigerado a 5°C foram inferiores ao sêmen *in natura*. No tocante aos demais parâmetros não foram verificadas diferenças significativas. Conclui-se que o sêmen de onças pode ser refrigerado com o ACP-117, bem como com o Tris.

Palavras-chave: refrigeração, diluidores, sêmen, felídeos selvagens.

Keywords: refrigeration, extenders semen, wildlife felids.

Avaliação histológica e metabólica do tecido somático de catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) após diferentes períodos de armazenamento

*Histological and metabolic evaluation of somatic tissue of collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) after different storage periods*

Luiza Bento de Queiroz Neta¹, Maria Bárbara Silva¹, Lhara Ricarliany Medeiros de Oliveira¹, Maria Valéria de Oliveira Santos¹, Alana Azevedo Borges¹, Alexandre Rodrigues Silva², Moacir Franco de Oliveira³, Alexsandra Fernandes Pereira^{1,*}

¹Laboratório de Biotecnologia Animal; ²Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal; ³Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN, Brasil.

*E-mail: alexsandra.pereira@ufersa.edu.br

A preservação de tecido somático de mamíferos silvestres é uma alternativa viável para a conservação da diversidade genética. Nesse sentido, o resfriamento pode ser empregado como ferramenta para o armazenamento em curto prazo de amostras teciduais, especialmente quando se trata de animais silvestres, os quais na maioria das vezes estão em locais de difícil acesso ou distantes de laboratórios especializados. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o resfriamento em diferentes períodos do tecido somático de catetos, usando as técnicas de histologia convencional e atividade metabólica. Para tanto, amostras auriculares foram coletadas de seis animais, oriundos do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS/UFERSA). Fragmentos (9,0 mm³) foram armazenados em tubos cônicos com meio essencial mínimo modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 2,2 g/L de bicarbonato de sódio a 4–6°C em diferentes períodos de armazenamento (10D, 30D, 50D dias), totalizando três grupos experimentais e o controle (amostras não resfriadas). As amostras do grupo controle e dos grupos resfriados foram fixadas em paraformaldeído tamponado a 4%, desidratadas em etanol, diafanizadas em xilol, inclusas em parafina, seccionadas em cortes de 5,0 µm e coradas com hematoxilina-eosina. Comparações foram realizadas entre os fragmentos resfriados e não resfriados, avaliando a quantidade de fibroblastos e halos nas camadas da derme e epiderme. Ainda, esses parâmetros foram avaliados pelo software Image J, através da análise de 15 campos aleatórios a uma magnitude de 40x. Para a determinação da atividade metabólica, os fragmentos foram incubados em brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT; 2 mg/mL) durante 3 h a 38,5°C. Após esse período foi acrescido dimetilsulfóxido (DMSO) como solução de solubilização do MTT e a leitura realizada em espectrofotômetro a 595 nm. Para a histologia, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis associado com teste de Dunn. Os dados provenientes do ensaio de MTT foram transformados em arc sen e analisados por ANOVA seguido de teste Tukey. Em relação ao número de fibroblastos não houve diferença entre os períodos resfriados [10D (16,8 ± 6,8); 30D (13,6 ± 6,0); 50D (17,7 ± 57,9)]; contudo, todos diferiram do grupo controle (27,6 ± 10,0). Em relação ao número de halos todos os grupos resfriados também diferiram do controle (31,2 ± 18,3). Além disso, dentre os resfriados, o grupo 10D (46,8 ± 19,3) apresentou o melhor resultado comparado com o 30D (65,0 ± 20,2) e 50D (57,9 ± 28,3). Para o ensaio de MTT, o controle foi considerado como 100% de viabilidade. Apesar de todos os grupos diferirem do controle, o grupo 10D manteve o melhor padrão de viabilidade das amostras (10D: 57,1% ± 19,9). Não foram observadas diferenças entre os grupos de 30D (26,1% ± 14,8) e 50D (25,0% ± 8,8). Em geral, de acordo com os resultados obtidos, o armazenamento de amostras somáticas de catetos a partir de 30 dias diminui a viabilidade do tecido e aumenta a quantidade de halos, denotando que as células do tecido iniciam o processo apoptótico. Em conclusão, o resfriamento até 10 dias na presença de meio de amostras somáticas de catetos conserva as características viáveis teciduais, visando à recuperação de células para biotecnologias, como a clonagem.

Palavras-chave: conservação, resfriamento, tecido somático, animais silvestres.

Keywords: conservation, cooling, somatic tissue, wild animals.



Diferenças macroscópicas observadas no trato reprodutor masculino de veados cinzas Brasileiros (*Mazama gouazoubira* e *Mazama nemorivaga*)

*Macroscopic differences observed in the male reproductive tract of Brazilian gray deer (*Mazama gouazoubira* and *Mazama nemorivaga*)*

Marina Suzuki Cursino, Luciana Diniz Rola, Gabriela Siqueira Martins, Eveline dos Santos Zanetti, José Maurício Barbanti Duarte*

Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

*E-mail: barbanti@fcav.unesp.br

Por ser uma espécie recentemente aceita oficialmente no Brasil, o *Mazama nemorivaga* ainda é muito confundido com outras espécies de *Mazama* cinza, como o *Mazama gouazoubira*. Fenotipicamente, as espécies possuem pequenas diferenças quanto à coloração e ao tamanho, mas ainda assim são confundidas em alguns centros de triagem e instituições que recebem os animais, principalmente quando chegam mortos, vítimas de caça ou desmatamento. Com o intuito de auxiliar a diferenciação das duas espécies e corroborar com estudos relacionados com a biologia reprodutiva de veados-cinza, este trabalho apresenta uma análise comparativa anatômica do trato reprodutivo de machos de *Mazama gouazoubira* e *Mazama nemorivaga*. Para as análises foram utilizados o trato reprodutor masculino de um macho de *M. gouazoubira* e um macho de *M. nemorivaga*. Os indivíduos pertenciam ao Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE), do Departamento de Zootecnia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – UNESP/Jaboticabal, e vieram a óbito na própria instituição por patologias não relacionadas ao trato reprodutor. Os órgãos reprodutores foram dissecados e as fotos obtidas para análise. A partir das fotos foram realizadas as mensurações das glândulas sexuais anexas utilizando o programa Axio Vision 4.8.2® (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Göttingen, Alemanha). Os dados foram comparados por análise descritiva através das médias e desvios padrão. Os tratos reprodutores masculinos de ambas as espécies são muito semelhantes, sendo diferenciados apenas em relação a alguns aspectos das glândulas acessórias. Em primeiro lugar, a localização das glândulas acessórias nas duas espécies é bastante similar, sendo possível identificar a ampola dorsalmente à bexiga, a vesícula seminal ventral à ampola, abaixo do musculo uretral dorsal à uretra, e a glândula bulbouretral localizada entre o musculo isquiocavernoso e à uretra pélvica e a próstata difusa (só foi possível identificá-la após corte longitudinal) na região descrita como musculatura uretral. Não foi possível identificar a glândula bulbouretral na espécie *M. nemorivaga*. Outra importante diferença está na transição do ducto deferente para a ampola, que é evidente no *M. gouazoubira* enquanto que ocorre de forma gradual no *M. nemorivaga*. A ampola (Am) e a vesícula seminal (VS) do *M. nemorivaga* obtiveram médias de comprimento (C) e largura (L) maiores (CAM: $2,815 \pm 0,084$ cm; CVS: $3,825 \pm 0,33$ cm; LAM: $0,6 \pm 0,042$ cm; LVS: $1,6 \pm 0,091$ cm) do que as glândulas acessórias do *M. gouazoubira* (CAM: $1,92 \pm 0,084$ cm; CVS: $1,59 \pm 0,28$ cm; LAM: $0,74 \pm 0,014$ cm; LVS: $0,9 \pm 0,16$ cm). A presença de uma pigmentação escura foi observada no interior da vesícula de *M. nemorivaga* após o corte longitudinal, o que não aconteceu no *M. gouazoubira*. Há um grande indício de que a coloração avermelhada do plasma seminal descrita anteriormente nesta espécie (Peroni E et al.2010.7th Int. Deer Bio.Cong.1:78-79) tenha origem na vesícula seminal, porém outros estudos devem ser conduzidos para confirmarem esta hipótese. Este trabalho teve como intuito, apenas apresentar diferenças macroscópicas entre o trato reprodutivo das espécies de veados-cinza que ocorrem no Brasil e, com isso, fornecer mais uma ferramenta de diferenciação destas espécies. Futuros estudos de histologia e bioquímica das glândulas acessórias descritas neste trabalho, poderão nos fornecer mais dados para melhor discutir a função de cada uma delas nas espécies descritas, e assim, fornece novos dados sobre a biologia das espécies.

Palavras-chave: *Mazama gouazoubira*, *Mazama nemorivaga*, trato reprodutor masculino.

Keywords: *Mazama gouazoubira*, *Mazama nemorivaga*, male reproductive tract.



Efeito do letrozol no desenvolvimento reprodutivo de preás
Effect of letrozole in reproductive development of spix's yellow-toothed cavies

**Maria Angélica Machado Arroyo^{1,*}, Felipe Venceslau Câmara², Moacir Franco de Oliveira²,
Antônio Chaves de Assis Neto¹**

¹Departamento de Cirurgia, Setor de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, Brasil; ²Departamento de Ciências, Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró/RN, Brasil.

*E-mail: arroyomam@usp.br

O letrozol é um composto com função antiestrogênica, usado como terapêutico em desordens reprodutivas provocadas pela excessiva aromatização dos andrógenos. Apesar disso, não se conhece o efeito do seu consumo em longo prazo sobre as características reprodutivas. Para tanto, utilizamos o preá, um roedor silvestre que vem sendo difundido como modelo experimental para a compreensão dos fenômenos da reprodução que acometem, inclusive, primatas humanos. Assim, consideramos o ganho de peso corporal e das gônadas, bem como a progressão morfológica da espermatogênese. Utilizamos 12 preás (*Galea spixii*) machos divididos igualmente em grupo tratado com letrozol e controle. Aos 15 dias pós-natal fizemos o manejo dos animais, que receberam a primeira dose do medicamento, continuado semanalmente até as idades de 30, 45, 90 e 120 dias. Os pesos corporal e testicular foram medidos. Secções dos testículos foram fixadas em paraformaldeído 4%, seguido de inclusão em parafina e protocolo para coloração Hematoxilina e Eosina. Fizemos o teste de correlação Bonferroni para comparar os pesos corporal e testicular entre os grupos etários, bem como entre grupos tratados e controle. O letrozol aumentou o ganho de peso corporal (30 dias: 25,07%; 45 dias: 25,05%; 90 dias: 27,07%; 120 dias: 7,12%) e testicular (30 dias: 162,22%; 45 dias: -22,01%; 90 dias: 80,72%; 120 dias: 322,72%), resultado de um possível efeito anabólico ocasionado pelo aumento prolongado dos andrógenos. Morfologicamente o letrozol causou a regressão do desenvolvimento do epitélio germinativo testicular, afetando a espermatogênese e provocando azoospermia. O uso do letrozol em longo prazo altera as características sexuais secundárias e de fertilidade de preás.

Palavras-chave: aromatase, estrógenos, histricomorfos, anabolizante, testículos.

Keywords: *aromatase, estrogens, histricomorphs, anabolic effect, testis.*



Efficiency of digital massage technique in semen collection of snakes from Boidae, Dipsadidae, Colubridae, Pythonidae and Viperidae families: Preliminary results

Eficiência da técnica de massagem digital na colheita de sêmen de serpentes das famílias Boidae, Dipsadidae, Colubridae, Pythonidae e Viperidae: Resultados preliminares

Débora Rodrigues Gonçalves^{1,*}, Paula Andrea Borges Salgado¹, Kalena Barros da Silva², Cybele Sabino Lisboa¹, Paloma Rocha Arakaki³, Patrícia Locosque Ramos¹, Ricardo José Garcia Pereira³

¹Fundação Parque Zoológico de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil; ²Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brazil; ³Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.

*E-mail: deborargon@gmail.com

Reptile reproduction *ex situ* is an important tool for conservation of threatened or endangered species. However, pairing captive individuals could be challenging and does not always imply in the success in breeding programs. Therefore, the use of biotechnologies such as semen collection, gamete cryopreservation and artificial insemination could be advantageous by increasing reproductive success of captive species, besides allowing the transport of genetic samples between *in situ* and *ex situ* population or institutions. Thus, the main objective of this work is to standardize and determine the efficiency of digital massage with local anesthesia in semen collection of snakes from families Boidae, Colubridae, Dipsadidae, Pythonidae e Viperidae. For this purpose, according to availability of males maintained at Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP), it was selected snakes of the species *Eunectes murinus* (n=1), *Boa constrictor* (n=2), *Corallus caninus* (n=2), *Epicrates crassus* (n=1), *Epicrates cenchria* (n=1), *Spilotes pullatus* (n=2), *Philodryas olfersii* (n=4), *Python bivittatus* (n=1), *Python regius* (n=1) e *Bothrops insularis* (n=2), maintained under standard management protocols of FPZSP. The snakes were physically restrained and anesthetized in the pericloacal region using lidocaine 1 % in the dosage of 15 mg/Kg and, after 10 minutes, the massage to clean the intestine was initiated. Following the complete elimination of feces, a massage on the ventrolateral region was performed towards the cloaca, directing the semen to genital papilla. Semen was collected using a capillary tube and seminal parameters (volume, pH, motility, progressive motility and vigor) were evaluated. Up to this moment, it was performed 56 attempts of semen collection and ejaculate was obtained in 71.4 % of these. When considering the technique efficiency within snakes' families, the lowest values were observed in the families Boidae (47.7%) and Pythonidae (57.1%), whilst in Colubridae, Dipsadidae and Viperidae snakes the efficiency was 71.4%, 100% and 100%, respectively. Among the studied animals, semen collection failed in every attempt only for *Boa constrictor* specimens. The low effectiveness of the technique for Boidae and Pythonidae might be attributed to the extremely developed body musculature of constrictor snakes, which may prevent that the pressure applied by massage reaches the posterior region of vas deferens. Preliminary results of this work demonstrate that digital massage could be routinely used as a technique for semen collection in snakes from different families, however, further studies should be conducted to increase semen collection efficiency in Boidae and Pythonidae snakes.

Keywords: reptile, semen collection, ventral massage, andrology, wild animal.

Palavras-chave: répteis, colheita de sêmen, massagem ventral, andrologia, animais selvagens.



Evaluation of testicular volume in Golden-headed lion tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*)

Avaliação do volume testicular em mico-leão-de-cara-dourada (Leontopithecus chrysomelas)

Paloma Rocha Arakaki^{1,*}, Paula Andrea Borges Salgado², Débora Rodrigues Gonçalves², Rodrigo del Rio do Valle³

¹Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP, Brasil;

²Departamento de Pesquisas Aplicadas, Fundação Parque Zoológico de São Paulo, SP, Brasil; ³Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Paulista, São Paulo, SP, Brasil.

*E-mail: paloma.arakaki@usp.br

According to Primate Specialist Group of International Union For Conservation of Nature (IUCN), about 37.4% of Neotropical Primates species are threatened with extinction. *Leontopithecus* genus has four species considered either endangered or critically endangered by IUCN Red List of Threatened Species. They are endemic from Atlantic Forest, occurring in the states of Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo and Paraná, a biome extremely affected by human presence. Knowledge on reproductive biology of such species helps development of assisted reproductive technologies (ARTs), aiming biodiversity conservation. We analyzed testicles from seven adult animals, held in captivity at Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Animals were physically restrained for testicles measurement, and were rewarded with banana slices during the procedure. Both testicles of each animal were evaluated. Length, width and height were measured with a pachymeter, and scrotal circumference with a measuring tape. Testicular volume was calculated by Lambert's empirical formula, "volume= length x width x height x 0.71", that offers the more accurate testicular volume in humans. Total testicular volume was obtained by the sum of the right and left testicles. The results found were (mean (minimum-maximum)): 468.60 (380.73-522.56) mm³ for right testicle; 497.88 (346.12-585.75) mm³ for left testicle; and 966.48 mm³ (758.45-1108.31) mm³ for total testicular volume. For scrotal circumference, the mean value found was 4.5 cm, with 4.3 cm minimum and 4.8 cm maximum. This is the first description of testicular morphometry in *Leontopithecus* genus, but when compared to other species from the same Family (Callitrichidae), the values found were lower than those from smaller species. Several factors may influence testicular volume, such as sazonality, male competition and sperm competition. Further studies within the genus *Leontopithecus* must be done, including measurements along the year and at *in situ* conditions.

Keywords: Neotropical primates, testicle morphometry, conservation.

Palavras-chave: primatas neotropicais, morfometria testicular, conservação.



Influência dos parâmetros ambientais sobre a cinética espermática de catetos (*Pecari tajacu*) criados no semiárido nordestino brasileiro

*Influence of environmental parameters on the sperm kinetics of collared peccaries (*Pecari tajacu*) bred in Brazilian Northeast semiarid*

Keilla Moreira Maia, Ana Liza Paz Souza, Andréia Maria da Silva, Livia Batista Campos, Erica Camila Gurgel Praxedes, Samara Sandy Jeronimo Moreira, Luana Grazielle Pereira Bezerra, Carlos Alexandre Apolinário, Moacir Franco de Oliveira, Alexandre Rodrigues Silva*

Laboratory of Animal Germplasm Conservation, UFERSA, Mossoró, RN, Brazil.

*E-mail: legio2000@yahoo.com

Na Caatinga, um dos principais habitats naturais para os catetos (*Pecari tajacu*), predomina o clima semiárido caracterizado por uma longa estação seca e um curto período chuvoso, onde a temperatura é fator determinante do ritmo de vida, limitando a eficiência reprodutiva dos animais que ali habitam. Nesse contexto, objetivou-se avaliar a existência de um possível efeito dos parâmetros ambientais sobre a cinética espermática do sêmen fresco e descongelado de catetos criados no bioma Caatinga. Foram utilizados os ejaculados de cinco catetos coletados por eletroejaculação em dois períodos distintos: o pico do período seco (Outubro – dezembro/ 2015) e o pico do período chuvoso (Março – Maio/ 2016). As amostras foram avaliadas a fresco quanto aos parâmetros cinéticos da motilidade por meio de análise computadorizada (Hamilton Thorne IVOS 5.0, Beverly, MA, EUA). Em seguida, foram diluídas em Tris com *Aloe vera* 20% e glicerol 3%, congeladas a -196 °C, descongeladas após uma semana em banho maria (37°C/1min) e reavaliadas. As variáveis ambientais observadas foram: temperatura do ar, umidade relativa e índice pluviométrico, obtidas por meio de um termo-higrômetro-anemômetro (INSTRUTEMP-HT300, São Paulo, Brasil). Os dados foram expressos em média \pm erro padrão, sendo comparados pela ANOVA seguida do teste t de Student ($P < 0,05$), e por suas assimetrias e curtoses, por meio do procedimento UNIVARIATE (SAS 8.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA), ($P < 0,05$). Não foi verificada influência do período chuvoso ou seco no que se refere ao sêmen fresco quanto a nenhum dos parâmetros cinéticos, tendo sido verificada motilidade total de $86,2 \pm 4,7\%$ e $79 \pm 7,3\%$, respectivamente. Por outro lado, após a descongelação, verificou-se uma melhor qualidade do ejaculado criopreservado quando coletado no período chuvoso com motilidade total de $34,1 \pm 9,7\%$, do que no período seco, $20,1 \pm 5,4\%$ ($P > 0,05$). Além disso, os dados relativos a amplitude lateral da cabeça – ALH (μm), frequência de batimento flagelar cruzado – BCF (Hz) e índice de linearidade – LIN (%) foram significativamente melhores quando a coleta foi realizada no período chuvoso ($P < 0,05$). Necessário salientar que não se observou diferença quanto a temperatura do ar, cuja máxima foi de 36 °C no período seco e 37,2 °C no período chuvoso. Ainda, a precipitação pluviométrica foi abaixo da média tanto para o período seco ($13,6 \text{ mm}^3$) como para o chuvoso ($73,2 \text{ mm}^3$) ($P > 0,05$), tendo sido observada diferença significativa apenas entre a umidade máxima observada no período seco, 66,8% e período chuvoso de 74,6% ($P < 0,05$). É possível que a influência da estação seca ou chuvosa apenas tenha se manifestado após a descongelação devido a alterações específicas nas proteínas do plasma seminal ou da membrana espermática, as quais são suscetíveis à influência estacional, conforme já demonstrado em suínos domésticos, e as quais poderiam ter efeito direto sobre a congelabilidade do sêmen desses animais. Com base nos resultados, sugere-se que, para um melhor manejo dos catetos em cativeiro, o sêmen destes animais seja coletado com fins de criopreservação, preferencialmente, durante o período chuvoso no bioma Caatinga.

Palavras-chave: criopreservação, temperatura do ar, umidade relativa, índice pluviométrico.

Keywords: cryopreservation, air temperature, relative humidity, rainfall index.

Financiamento: CAPES, CNPq.



Maternal concentration of testosterone and estradiol and potential sources of androgens and estrogens in the placenta, ovaries and testes of conceptus of cavies (*Galea spixii*)

Concentração materna de testosterona e estradiol e as potenciais fontes de andrógenos e estrógenos na placenta, ovários e testículos de conceptos de preás (Galea spixii)

**Amilton Cesar dos Santos¹, Diego Carvalho Viana¹, Antônio Francisco da Silva Lisboa Neto¹,
Moacir Franco de Oliveira^{2*}, Antônio Chaves de Assis Neto¹**

¹Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; ²Departamento de Ciência Animal. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN, Brasil.

*E-mail: amiltonsantoss@usp.br

Intersexuality has been subject of extensive discussions in recent years. In this sense, research groups have used animal species with peculiar anatomical characteristics to carry out studies on sexual differentiation throughout the gestation. These studies are mainly based on fetal steroidogenesis and the maternal-fetal exchanges. In the present research, we present the Spix's Yellow-toothed cavy (*Galea spixii*) as a promising species for studies on sexual dimorphism. Female present virilized clitoris trespassed by urethra with urethral glands and presence of the vaginal closure membrane, which makes the external vaginal ostium imperceptible throughout much of the female reproductive life. The aims of this research was to evaluate hormonal levels of testosterone and estradiol in pregnant and relate these hormones with presence of steroidogenic enzymes in placentas of both sexes and in the ovaries and testicles of the conceptus throughout the gestation. Placenta, ovaries and testicles of conceptus at 25, 30, 40 and >50 days of gestation (DG) (Full term) (n=3 males and 3 females at each period) were analyzed through immunohistochemistry and immunoblot for enzymes 3- β -HSD, 17- β -HSD, cytochrome P450c17, P450aromatase and 5- α reductase. Maternal concentration (pg/mL) of testosterone and 17- β -estradiol was determined through Radioimmunoassay (RIA) at 25, 30, 40 and >50 DG (n=5 at each period of gestation). Comparison of hormonal concentration between different ages was determined through analysis of variance using the GraphPad InStat program to obtain the mean and standard deviation. Cramer-von Mises test for normality checked homoscedasticity between the variables; Tukey comparison average test provided concentration rates. Variables were unstable ($CV \leq 15\%$), at significance concentration $p < 0.05$. Here, it has been shown that there is an increase in testosterone concentration in the maternal circulation from 25DG (122.44 \pm 65.79 pg/mL) until the end of gestation (>50DG) (718.55 \pm 67.40 pg/mL) ($p < 0.05$) with statistical differences between all ages analyzed. Estradiol has lower levels than testosterone (5.45 \pm 1.59 pg/mL at 25 DG and 132.19 \pm 15.96 pg/mL at >50DG) and also presented statistical differences ($p < 0.05$) between different ages. 3- β -HSD, 17- β -HSD and cytochrome P450c17 enzymes are present in the placenta throughout gestation and could participate in the production of androgen hormones, especially 17- β -HSD, which is responsible for testosterone producing. On the other hand, the presence of cytochrome P450 enzyme in placenta has not been verified and this absence may prevent the placenta from converting androgens to estrogens, which would help to explain the increase in maternal testosterone concentration. In the fetal gonads, 17- β -HSD and 3- β -HSD enzymes are present, which may be possible sources of androgens, especially androstenedione and testosterone. Ovaries and testicles also have the enzyme cytochrome P450aromatase, which may contribute to the production of estradiol. Finally, the enzyme 5- α -reductase producing dihydrotestosterone (2-3 times more potent than testosterone) in the testes may stimulate testicular development and virilization of the external genitalia of males. Further studies are necessary to explain the process involved in the virilization of female genitalia.

Keywords: experimental models, gonads, rodents, steroidogenesis, steroidogenic enzymes.

Palavras-chave: *enzimas esteroidogênicas, esteroidogênese, gônadas, modelos experimentais, roedores.*



Morfometria espermática do sagui-da-serra-escuro (*Callithrix aurita*) mantido em cativeiro

Sperm morphometry of captive Buffy-tufted-ear marmoset (Callithrix aurita)

Andressa Esteves da Cruz Gonçalves^{1,*}, André Luís Rios Rodrigues^{1,2}, Daniel Gomes Pereira¹, Carolina Cerqueira Sarmiento Olivares¹, Vivian Angélico Pereira Alfradique¹, Alcides Pissinatti³, Silvia Bahadian Moreira³, Ana Maria Reis Ferreira^{1,2,*}

¹Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Clínica e Reprodução Animal), Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ²Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ³Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ), Guapimirim, RJ, Brasil.

*E-mail: andressacruz.vet@hotmail.com; ana_ferreira@id.uff.br

O conhecimento dos aspectos reprodutivos do Sagui-da-serra-escuro (*Callithrix aurita*) é de extrema importância na contribuição para a conservação da espécie. No entanto, informações básicas e necessárias para o entendimento desses aspectos ainda são escassas. No presente estudo apresenta-se dados de três *Callithrix aurita* clinicamente saudáveis mantidos em cativeiro no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro, Brasil. Estes foram submetidos a colheita de sêmen e avaliação da morfometria espermática através da análise computadorizada pelo sistema Sperm-class Analyzer® (SCA). As amostras seminais foram colhidas por um vibroestimulador peniano (FertiCare Personal; Multicept ApS, Rungsted, Denmark) de acordo com um protocolo estabelecido. Para as análises morfométricas, 1 ejaculado de cada um dos 3 machos *Callithrix aurita* foi estudado. As amostras foram preparadas, secas em temperatura ambiente e coradas com Sperm Blue (kit padronizado, Merck, Darmstadt, Germany) e observadas em microscopia de campo claro utilizando objetiva de 100x em óleo de imersão. Foram analisadas 300 células consideradas normais de cada amostra seminal. A média das mensurações morfométricas para todos os animais foi $15,95 \pm 1,67 \mu\text{m}$ (área), $15,38 \pm 1,07 \mu\text{m}$ (perímetro), $5,55 \pm 0,35 \mu\text{m}$ (comprimento), $3,49 \pm 0,24 \mu\text{m}$ (largura). Assim como foi observado em outras espécies do gênero *Callithrix*, como em *C. jacchus*, foi observada uma variação da morfometria espermática entre *C. aurita* estudados neste trabalho. Esse estudo é o primeiro a realizar a morfometria espermática em machos *Callithrix aurita*. Os resultados indicam que a morfometria da cabeça espermática de *Callithrix aurita* pode ser precisamente analisada utilizando os procedimentos padronizados da tecnologia CASA (Computer aided semen analysis) com o software SCA. Os resultados obtidos podem ser usados como ferramenta em futuras pesquisas desta espécie ameaçada.

Palavras-chave: *Callithrix aurita*, sêmen, morfometria, CASA.

Keywords: *Callithrix aurita*, semen, morphometry, CASA.



Órgãos genitais femininos do gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*): da arquitetura à ultraestrutura

Jaguarundi (Puma yagouaroundi) female genital organs: from architecture to the ultrastructure

Patricia Romagnoli^{1*}, Rodrigo da Silva Nunes Barreto¹, Jéssica Jesus dos Santos², Patrícia Maria Oliveira Rodrigues², Gentil Ferreira Gonçalves³, Maria Angelica Miglino¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; ²Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Santo Amaro; ³Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, PR, Brasil.

*E-mail: romagnp@usp.br

O gato-mourisco, que ocorre em quase toda extensão da América Latina, está listada entre as espécies ameaçadas no México e Argentina, e vulnerável no Brasil. Sua população vem diminuindo devido ao avanço da agropecuária e casos de atropelamentos. A preservação impera e, diante da escassez de informações a respeito da espécie, visamos fornecer informações sobre os órgãos da reprodução do *Puma yagouaroundi*. Foram recolhidos três cadáveres de fêmeas adultas de gatos-mourisco, após atropelamentos em rodovias do Sudoeste do Estado do Paraná, Brasil. Foi realizada a fixação tecidual em formol 10%, e o órgãos genitais foram dissecados para investigação anatômica e subsequente análises histológicas rotineiras. Resultados parciais mostraram que o ovário do *Puma Yagouaroundi* é revestido pela túnica albugínea e está inserido na bolsa ovárica. Os ligamentos ovarianos, suspensório e próprio são espessos, e pelo mesovário transita artéria ovárica, um ramo aórtico, e veia ovárica, que ora segue para a veia cava caudal, ora à veia renal. A córtex ovariana, delimitada por epitélio cúbico, contém folículos em diferentes fases de desenvolvimento, mergulhados em um estroma conjuntivo denso não modelado. A camada medular tem sua matriz de tecido conjuntivo frouxa entremeada por vasos e nervos. A tuba uterina, vascularizada por ramos dos vasos ovarianos, mantém seu infundíbulo na bolsa ovárica, estendendo seu corpo sinuosamente pela mesossalpinge, inserindo-se no corno uterino ipsilateral. Em sua extensão, a tuba uterina é formada por epitélio colunar, apoiado em tecido conjuntivo denso não modelado, revestido por túnica muscular lisa e com uma túnica serosa. Os cornos uterinos, assim como toda extensão tubular genital são marcadamente alongados. Os cornos se fundem caudalmente formando o véu uterino, na cavidade uterina. Um ramo uterino da artéria ovárica irriga a extremidade cranial do corno uterino, e as demais porções do útero são supridas pela artéria uterina, um ramo da pudenda interna. As veias são satélites das artérias, porém, a veia uterina pode confluir para as veias vaginal ou veia ilíaca interna. O epitélio endometrial é cúbico, e apoiado sobre uma espessa lâmina própria rica em glândulas ramificadas. Subjacente, o miométrio abriga elementos vasculares e nervosos entre suas fibras musculares longitudinais (externas) e circulares (internas). É notado externamente o espessamento parietal uterino que forma a cérvix, na qual a submucosa é rica em glândulas tubulares simples. A projeção da cérvix na cavidade da vagina origina o fórnix vaginal. Na região do óstio vaginal, a ocorrência do hímen (incompleto) determina a transição com o vestíbulo, em cujo assoalho se eleva o tubérculo uretral, contendo o óstio externo da uretra. Na extremidade caudal do assoalho vestibular o clitóris está alojado no interior da fossa homônima. A mucosa vaginal é constituída por epitélio estratificado pavimentoso, sua túnica muscular é longitudinal e o revestimento externo cranial é seroso, porém, representado por tecido conjuntivo frouxo em sua parte retroperitoneal. A submucosa do vestíbulo da vagina é destacadamente rica em glândulas. A vascularização da porção tubular caudal dos órgãos genitais femininos é feita por ramos da artéria e veia pudendas internas. De modo geral, os órgãos genitais femininos do *Puma yagouaroundi* se assemelham, ao do gato doméstico, entretanto, outras análises histológicas e ultraestruturais ainda estão em andamento.

Palavras-chave: fauna silvestre, reprodução, morfologia, anatomia, histologia.

Keywords: *wildlife, reproduction, morphology, anatomy, histology.*



Órgãos genitais masculinos do gato-mourisco (*Puma Yagouaroundi*): da arquitetura à ultraestrutura

Jaguarundi (Puma yagouaroundi) male genital organs: from Architecture to the ultrastructure

Rodrigo da Silva Nunes Barreto^{1*}, Patricia Romagnolli¹, Jéssica Jesus dos Santos², Patrícia Maria Oliveira Rodrigues², Gentil Ferreira Gonçalves³, Maria Angelica Miglino¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, SP, Brasil; ²Graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro, SP, Brasil; ³Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Realeza, PR, Brasil.

*E-mail: rodrigobarreto@usp.br

A população de gato-mourisco se estende do sul do Estados Unidos até o centro da Argentina. Entretanto no Brasil, seu estado de conservação é considerado vulnerável. Ainda, pouco se sabe sobre o gato-mourisco além dos seus hábitos alimentares e de locomoção. Entretanto, quando se pensa em conservação de uma espécie, é necessário o conhecimento a cerca da reprodução, tanto em parâmetros fisiológicos como morfológicos. Portanto este trabalho visa estudar as características estruturais do aparelho genital de gatos mouriscos machos. Dois cadáveres de gato-mourisco machos foram recolhidos em rodovias do Sudoeste do Estado do Paraná, logo após óbito decorrente de atropelamento, e fixados em solução de formol 10%. Através de dissecação, procedeu-se a análise dos aspectos anatômicos dos seus órgãos genitais, que posteriormente foram segmentados para processamento histológico de rotina. Como resultados parciais, pôde-se observar um testículo ovoide, revestido externamente pela sua túnica albugínea, que emite septos para dividir o parênquima em lóbulos testiculares bem delimitados. No parênquima, uma matriz conjuntiva abriga células intersticiais e túbulos seminíferos, contorcidos e retos, os quais se orientam para um mediastino testicular axial. No epidídimo se destaca uma desenvolvida cabeça, ajustada sobre a extremidade capitata do testículo, e da qual seu corpo se prolonga, percorrendo a margem dorsal do testículo, terminando em uma reduzida cauda. O ducto deferente emerge da cauda do epidídimo, constituído de epitélio cuboide, apoiado numa submucosa de tecido conjuntivo denso não modelado e fibras musculares lisas. É revestido ora por serosa (intraperitoneal), ora por adventícia (retroperitoneal), e desemboca na uretra pélvica, sem a presença de ampola deferente, assim como os demais felídeos. Um longo funículo espermático abriga os elementos vasculares testiculares e epididimários, bem como o ducto deferente em sua passagem para a cavidade abdominal. Nossos estudos preliminares mostraram ainda, a próstata restrita à face dorsal da uretra pélvica, a certa distância do colo da vesícula urinária, sem a presença de lobos, como usual para o felino doméstico. O parênquima, contudo, é composto por músculo (longitudinal) e ductulos prostáticos orientados para a uretra, revestido por uma cápsula. Contudo, as glândulas bulbouretrais são sobremaneira desenvolvidas. Localizadas dorsal e lateralmente à porção caudal uretra pélvica, onde seus ductos excretores desembocam previamente ao istmo uretral. O pênis do gato-mourisco é curto, contendo osso peniano. Caracteristicamente vascular, é composto por um corpo cavernoso e esponjoso contendo numerosas cavernas, para o interior das quais as artérias helicíneas, ramos terminais da artéria profunda do pênis, se abrem, por ocasião da ereção peniana. Veias cavernosas são visíveis ainda, para drenagem sanguínea durante a quiescência testicular. A túnica albugínea é espessa sobre o corpo cavernoso e esponjoso, projetando-se internamente como trabéculas, e formando o septo peniano. Sem a sua presença, é formada a glândula, que no mourisco, assim como nos felinos domésticos, é toda a parte livre do pênis, e concede abertura para o óstio uretral externo. O prepúcio é formado por uma lâmina externa, que se reflete para formar a lâmina prepucial interna. Este ponto de reflexão forma o óstio prepucial, ao redor do qual estão numerosas glândulas prepuciais, para a produção do esmegma. O escroto do mourisco, em localização perineal, é composto por pele apoiada em uma tela subcutânea onde estão as fibras musculares lisas que compõem a túnica dartos. De certa forma, as características anatômicas dos órgãos genitais masculinos do *Puma yagouaroundi* são semelhantes ao do gato doméstico, contudo análises histológicas e ultraestruturais ainda estão em andamento.

Palavras-chave: felino silvestre, reprodução, aparelho urogenital.

Keywords: *wild felid, reproduction, urogenital apparatus.*



Validação de *primers* para amplificação de genes de referência por PCR em tempo real em ovários de cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758)

Validation of primers for reference gene amplification by Real-Time PCR in collared peccary (Pecari tajacu Linnaeus, 1758) ovaries

Ana Clara Negreiros Parente Capela Sampaio Viana^{1*}, Jeferson Lucas Sousa Freitas¹, Lívia Batista Campos², Alexandre Rodrigues Silva², Moacir Franco de Oliveira², Vicente José de Figueirêdo Freitas¹, Dárcio Ítalo Alves Teixeira¹, Luciana Magalhães Melo¹

¹Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução, UECE, Fortaleza, CE, Brasil; ²Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil.

*E-mail: anaclarasampaio@hotmail.com

A espécie *Pecari tajacu*, popularmente conhecida como cateto, vem despertando interesse comercial devido à sua carne palatável e sua pele utilizada em artigos de vestuário. O conhecimento da fisiologia reprodutiva da espécie é necessário para auxiliar o manejo em cativeiro e a conservação da biodiversidade. Para viabilizar estudos de expressão gênica ovariana nessa espécie através de PCR em tempo real, a validação de *primers* capazes de amplificar genes de referência é um passo primordial. Assim, no presente estudo, foram selecionados os genes que codificam a gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*), a histona 2^a (*H2A*) e a proteína de transcrição ubiquitinamente expressa (*UXT*). Fragmentos de córtex ovariano foram coletados de espécime do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Os fragmentos foram armazenados em nitrogênio líquido durante o transporte até o laboratório, onde permaneceram em freezer -80°C. O RNA total das amostras foi extraído com o *kit ReliaPrep RNA Tissue MiniPrep System* de acordo com as instruções do fabricante. A transcrição reversa foi realizada com *primers* randômicos para obter cDNA. Para a realização do PCR, foram utilizados pares de *primers* previamente desenhados com base na sequência gênica da espécie bovina (*bGAPDH*), da espécie caprina (*gGAPDH*) e de ambas as espécies (*gbH2A* e *gbUXT*). Inicialmente, ensaios preliminares foram realizados para testar a especificidade de amplificação dos *primers* na espécie *P. tajacu*, através de curvas de *melting* dos produtos gerados. As concentrações de 0,1, 0,3, 0,6 e 0,8 µM dos pares de *primers* foram também testadas em reações de PCR. Em seguida, curvas padrão foram construídas por diluição seriada de cDNA, em triplicata, para avaliar a eficiência de amplificação dos *primers* usando a melhor concentração dos mesmos. A concentração ótima dos *primers* analisados foi 0,6 µM para *bGAPDH*, 0,3 µM para *gGAPDH*, 0,8 µM para *gbH2A* e 0,3 µM para *gbUXT*. Em relação às curvas padrão, os *primers* desenhados para amplificação do gene *GAPDH* obtiveram eficiência de 0.90 para o par *bGAPDH* (com Ct variando de 15,31 a 29,85) e 0.94 para o par *gGAPDH* (com Ct variando de 15,05 a 28,94). Quanto ao gene *UXT*, a eficiência da curva para o par de *primer gbUXT* foi de 0.90 com Ct variando de 21,28 a 31,94. Em relação ao gene *H2A*, a eficiência do par de *primer gbH2A* foi de 1.01 com variação de Ct de 19,09 a 34,03. Todos os pares de *primers* analisados geraram produtos de amplificação específicos na presença de cDNA de ovário de cateto, demonstrado através de um único pico na curva de *melting*, cujas temperaturas de *melting* (tm) foram 84,25±0,28, 84,27±0,25, 83,73±0,24 e 83,43±0,32, respectivamente para *bGAPDH*, *gGAPDH*, *gbUXT* e *gbH2A*. Dessa forma, conclui-se que, apesar de amplificarem de forma específica, os pares de *primer bGAPDH*, *gGAPDH* e *gbUXT* apresentaram baixa eficiência, não sendo indicados para análises quantitativas de expressão gênica por PCR em tempo real na espécie cateto. O par de *primers gbH2A*, por outro lado, além da especificidade, apresentou eficiência adequada, mostrando-se apropriado para análises quantitativas por PCR em tempo real do córtex ovariano de cateto.

Palavras-chave: qPCR, gene constitutivo, folículo ovariano, *Tayassu tajacu*.

Keywords: qPCR, housekeeping gene, ovarian follicle, *Tayassu tajacu*.



Vitrificação de tecido ovariano de catetos (*Pecari tajacu*) utilizando o Ovarian Tissue Cryosystem (OTC)

Vitrification of collared peccaries (Pecari tajacu) ovarian tissue using Ovarian Tissue Cryosystem (OTC)

Lívia Batista Campos*, Andréia Maria da Silva, Erica Camila Gurgel Praxedes, Samara Sandy Jeronimo Moreira, Luana Grazielle Pereira Bezerra, Carlos Alexandre de Carvalho Apolinário, Keilla Moreira Maia, Thibério Souza Castelo, Alexandre Rodrigues Silva

Laboratório de Conservação Germoplasma Animal, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil.

*E-mail: livia_campos86@hotmail.com

A criação de catetos (*Pecari tajacu*) em cativeiro tem sido estimulada devido à apreciação internacional da sua pele e carne. Além disso, essa espécie pode servir de modelo experimental para outros taiassuídeos ameaçados de extinção. Diante disso, faz-se necessário o desenvolvimento de protocolos visando a conservação de seus gametas femininos, para a qual se propõe o uso do Ovarian Tissue Cryosystem (OTC) que permite a preservação da morfologia e da viabilidade folicular em baixas temperaturas. Para seu sucesso, é indispensável o uso de agentes crioprotetores, os quais têm mecanismos próprios de ação e diferentes velocidades de penetração nas células. Assim, avaliou-se o uso de diferentes agentes crioprotetores associados ao OTC visando a conservação de folículos pré-antrais (FOPAs) de catetos. Os ovários de seis fêmeas (~2 anos) foram coletados após eutanásia, e divididos em fragmentos, os quais foram destinados à análise a fresco e após vitrificação. Para a vitrificação, os fragmentos (2/tratamento) foram expostos às soluções contendo Meio Essencial Mínimo (MEM) com 10 mg/mL de soro fetal bovino (SFB), 0,25M de sacarose e acrescido de 3M de etilenoglicol (EG), 3M de dimetilsulfóxido (DMSO) ou 1,5M etilenoglicol + 1,5M de dimetilsulfóxido dentro do dispositivo OTC, por 5 min. Posteriormente, a solução foi removida, o dispositivo foi fechado e armazenado em nitrogênio líquido. Para o aquecimento, o dispositivo foi exposto à temperatura ambiente por 1 min, e mergulhado em banho-maria (37°C/30 s) e os fragmentos foram lavados em 5 mL de MEM com 3 mg/mL de SFB e soluções decrescentes de sacarose (0,5 M, 0,25 M e 0 M). Para a análise morfológica, os fragmentos foram fixados em Carnoy (12 h), corados em eosina-hematoxilina e classificados como normais ou degenerados. Na análise da viabilidade, 90µL de suspensão de FOPAs foi adicionado a 10µL de azul de trypan e avaliados sob microscopia invertida. Os dados (média ± erro padrão) referentes a morfologia foram avaliados por ANOVA seguida do teste Tukey, e os de viabilidade pelo teste do Qui-quadrado ($P < 0,05$). Verificou-se 75,6±8,6% de FOPAs morfológicamente normais no grupo controle, não tendo sido evidenciada diferença estatística em relação aos grupos vitrificados ($P > 0,05$), nos quais obtiveram-se 67,8±6,8% de FOPAs morfológicamente normais no uso do EG, 58,3±8,7% com o DMSO e 64,5±7,7% na associação dos crioprotetores, os quais não diferiram entre si ($P > 0,05$). Ainda, obteve-se 74,7±7,2% de folículos viáveis no grupo controle, não diferindo dos demais tratamentos ($P > 0,05$), os quais também não diferiram entre si ($P > 0,05$), sendo obtidos os valores de 79,0±4,3%, 78,0±2,1% e 71,7±3,5% de FOPAs viáveis no uso do EG, DMSO e sua associação, respectivamente. Conclui-se que a morfologia e a viabilidade dos FOPAs de catetos podem ser eficientemente conservadas utilizando-se o OTC associado ao uso dos crioprotetores EG e DMSO isolados (3M) ou em associação (1,5 M).

Palavras-chaves: *Pecari tajacu*, criopreservação, banco de germoplasma.

Keywords: *Pecari tajacu*, cryopreservation, biobanking.

Financiamento: CAPES, CNPq.