



**Universidade Federal do Pará – UFPA
EMBRAPA Amazônia Oriental – EMBRAPA
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA
Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural – NCADR
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – PPGCAN**

Anna Patrycia Martins de Oliveira

Estudo morfofisiológico do epidídimo de caititus (*Pecari tajacu*) adultos

**Belém - Pará
2015**

Anna Patrycia Martins de Oliveira

Estudo morfofisiológico do epidídimo de caititus (*Pecari tajacu*) adultos

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de Concentração: Produção Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Diva Anelie de Araújo Guimarães

**Belém - Pará
2015**

Anna Patrycia Martins de Oliveira

Estudo morfofisiológico do epidídimo de caititus (*Pecari tajacu*) adultos

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de Concentração: Produção Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Diva Anelie de Araújo Guimarães

Data da defesa. Belém - PA: ____/____/____

Prof^a. Dra. Diva Anelie Guimarães – Instituto de Ciências Biológicas - UFPA

Orientadora

Prof^a. Dra. Maria Auxiliadora Pantoja Ferreira – Instituto de Ciências Biológicas– UFPA- **Membro Titular**

Prof^a. Dra. Adriana Costa Guimarães– Instituto de Ciências Biológicas- UFPA
Membro Titular

*Aos meus pais, Maria do Carmo e Antônio Fernando, pelo amor, dedicação, carinho,
cuidado e incentivo que sempre me deram.*

Aos meus amigos, pelo carinho, paciência e apoio ao longo desta jornada acadêmica.

A Rafael Leandro, pelo companheirismo, incentivo e paciência sempre.

AGRADECIMENTOS

Ao programa de pós-graduação em Ciência Animal - UFPA.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

A Embrapa- Amazônia Oriental por permitir a utilização de parte dos animais utilizados nos experimentos contidos neste estudo.

A Profa. Dra. Diva Anelie Guimarães pela oportunidade de desenvolver o trabalho no Laboratório de Reprodução Animal-ICB-UFPA.

A minha amiga e colega de laboratório Deise pela ajuda na elaboração deste estudo.

Ao professor Prof. Dr. Otávio Ohashi e Profa. Dra. Maria Auxiliadora Ferreira pelo apoio no desenvolvimento do trabalho e por ceder seus laboratórios para a realização do mesmo.

Ao Laboratório de Técnicas Histológicas e a técnica Lia pelo apoio logístico e processamento das amostras de histologia.

A todos os professores e alunos que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O presente trabalho visou estudar os aspectos histológicos epidídimo de caítilus (*Pecari tajacu*) e as patologias espermáticas associadas às diferentes regiões desse órgão. Fato que contribuirá para o melhor entendimento da biologia reprodutiva da espécie, e consequentemente para a sua conservação. Foram utilizados oito animais adultos, na faixa etária de dois a quatro anos, procedentes do criatório de pesquisas científicas da Embrapa-Amazônia Oriental, localizado em Belém, Pará, Brasil. Cada uma das quatro partes do epidídimo (cabeça proximal, cabeça distal, corpo e cauda) foi dividida em duas porções, sendo que uma das porções foi macerada, enquanto a outra permaneceu intacta. A cauda do epidídimo foi submetida à técnica de fluxo retrógrado. As amostras celulares foram armazenadas em formol salino, sendo utilizadas posteriormente para a análise de morfologia espermática. As amostras do órgão foram embaladas em gaze, identificadas e fixadas em ALFAC. Posteriormente, foram submetidas ao processamento histológico de rotina. Foram mensurados os diâmetros de até 20 túbulos e as alturas do epitélio de até 30 túbulos, de cada região do epidídimo, por animal. O teste ANOVA (One Way), apontou diferenças entre o diâmetro do túbulo da cabeça proximal e da cabeça distal ($p=0,0008$); entre a cabeça proximal e o corpo ($p=0,0009$); entre a cabeça proximal e a cauda ($p=0,0002$). Não houve diferenças significativas ($p>0,05$) entre as demais partes do epidídimo. Foi verificado que a cabeça proximal apresenta a média de diâmetro dos túbulos menor em relação às demais porções do epidídimo. O teste de Newman Keuls apontou semelhanças entre a média da altura do epitélio do corpo e da cauda ($p=0,551$). Todavia, foram observadas diferenças significativas entre a cabeça distal e a cabeça proximal ($p=0,0009$); a cabeça distal e a cauda ($p=0,0055$); cabeça distal e corpo ($p=0,0021$); cabeça proximal e corpo ($p=0,0008$); cabeça proximal e cauda ($p = 0,0055$). Em todas as regiões do epidídimo de caítilu, foi observada a presença de epitélio pseudoestratificado colunar com estereocílios. Foram observadas 13 tipos diferentes de alterações morfológicas, sendo que espermatozoides subdesenvolvidos e cabeças soltas foram as mais frequentes ao longo do epidídimo de caítilus. Não foram observadas diferenças em relação ao número de patologias nas diferentes regiões do epidídimo, (teste de Man-Whitney) (cabeça proximal: $U=19,500$; $p=0,189$; cabeça distal: $U= 31,500$; $p=0,958$; corpo: $U=27,000$; $p=0,599$ e cauda: $U=20,00$; $p=0,207$). Em muitas espécies as análises histopatológicas são frequentemente estudadas, todavia em animais silvestres, como o caítilu, ainda são pouco pesquisadas. Dessa forma, os dados deste trabalho são pioneiros, e servirão como base para futuras pesquisas comparativas sobre a biologia reprodutiva dos artiodátilos, contribuindo para a sua conservação e produção.

Palavras-chave: *Pecari tajacu*. Epidídimo. Espermatozoide. Patologias. Morfologia.

ABSTRACT

This work aimed to study the histology of epididymis peccaries (*Pecari tajacu*) and sperm pathologies associated with different regions of the organ. A fact that will contribute to a better understanding of the reproductive biology of the species, and consequently for their conservation. Eight adult animals were used, aged two to four years, coming from breeding scientific research of Embrapa Amazônia Oriental, located in Belém, Pará, Brazil. Each of the four parts of the epididymis (proximal the head and distal the head, body and tail) was divided into two portions, and one of the portions was macerated, while the other remained intact. The epididymal tail underwent retrograde flow technique. The cell samples were stored in formol saline, and then used for the analysis of sperm morphology. Samples of the body were wrapped in gauze, identified and fixed in ALFAC. Later, they were submitted to routine histological processing. Diameters were measured up to 20 tubules and the heights of up to 30 tubules epithelium, the epididymis of each region for each animal. ANOVA (One Way), pointed out differences between the diameter of the proximal tubule of the head and distal head ($p = 0.0008$); between the proximal head and the body ($p = 0.0009$); between the proximal head and the tail ($p = 0.0002$). There were no significant differences ($p > 0.05$) among the other parts of the epididymis. It was found that the proximal head has a diameter of less tubules average compared to other portions of the epididymis. The Newman Keuls test showed similarities between the average body epithelium height and tail ($p = 0.551$). However, significant differences were observed between the distal head and the proximal head ($p = 0.0009$); the distal head and the tail ($p = 0.0055$); distal head and body ($p = 0.0021$); proximal head and body ($p = 0.0008$); proximal head and tail ($p = 0.0055$). In all regions of the epididymis of peccary, it observed the presence of pseudostratified columnar epithelium with stereocilia. 13 different types of morphological changes were found, and underdeveloped sperm and loose heads were the most frequent along the epididymis of peccaries. There were no differences in the number of pathologies in different regions of the epididymis (Man-Whitney test) (proximal head: $U = 19.500$, $p = 0.189$; distal head: $U = 31.500$, $p = 0.958$; body: $U = 27,000$; $p = 0.599$ and tail: $U = 20.000$, $p = 0.207$). In many species the histopathological analysis are often studied, however in wild animals, such as peccary, are still poorly researched. Thus, this study data are pioneers, and will serve as a basis for future comparative research on the reproductive biology of artiodactyls, contributing to their conservation and production.

Keywords: *Pecari tajacu*. Epididymis. Sperm. Pathology. Morphology

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Média e desvio padrão (μm) do diâmetro dos túbulos de cada região do epidídimo de caititu.....	18
Tabela 2: Média e desvio padrão da altura do epitélio (μm) das diferentes regiões do epidídimo de caititu.....	19
Tabela 3: Espermatozoides totais e patologias associadas a cada região do epidídimo.....	24
Tabela 4: Análise morfológica de espermatozoides em relação às principais patologias encontradas nas diferentes regiões do epidídimo de caititus. Sp = espermatozoides.....	24

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura1- Caititu (*Pecari tajacu*), indivíduo adulto.....**3.**
- Figura2-Distribuição geográfica (área escura do mapa) da espécie *Pecari tajacu*.....**5.**
- Figura 3 –Epidídimo de caititu, situado na borda posterior do testículo. * Cabeça; ▼Corpo; ▲Cauda do órgão.....**7.**
- Figura 4- Fotomicrografia dos túbulos epididimários de camundongo. Lu = Lúmen; Tc = Tecido conjuntivo frouxo; Tm = Tecido muscular liso.....**9.**
- Figura5 –Desenho esquemático da morfologia do espermatozoide.....**11.**
- Quadro 1- Classificação das anomalias primárias e secundárias em espermatozoides, segundo Blom (1950).....**13.**
- Quadro 2- Classificação dos defeitos maiores e menores em espermatozoides, segundo Blom (1973).....**14.**
- Figura 6-Recintos do criatório científico de caititus na Embrapa- Amazônia Oriental.**15.**
- Figura7-Túbulos do corpo do epidídimo de caititu (detalhe do diâmetro do túbulo +).....**17.**
- Figura 8 - Média do diâmetro dos túbulos e comparação entre as diferentes regiões do epidídimo de *Pecari tajacu*. As letras A e B simbolizam as comparações através do teste de ANOVA, onde letras diferentes representam diferenças significativas entre as regiões (C1 = cabeça proximal; C2 = cabeça distal; C3 = corpo do epidídimo e C4 = cauda do epidídimo).....**18.**
- Figura 9 - Média da altura do epitélio e comparação entre as regiões do epidídimo de *Pecari tajacu*. As letras A, B e C, simbolizam as comparações através do teste de ANOVA, onde letras diferentes representam diferenças significativas entre as regiões. (C1 = cabeça proximal, C2 = cabeça distal; C3 = corpo do epidídimo e C4 = cauda do epidídimo).....**19.**
- Figura 10 - Fotomicrografia do epidídimo de *Pecari tajacu*. A- Túbulos da cabeça proximal; B- Cabeça proximal, (L o lúmen do túbulo epididimal); C-Túbulos da cabeça distal; D- Cabeça distal: detalhe dos espermatozoides (Sp) armazenados em um túbulo epididimal; E- Corpo do epidídimo mostrando o aumento do diâmetro dos túbulos, F- Corpo do epidídimo: detalhe de um túbulo cujo lúmen está totalmente preenchido por espermatozoides; G- Cauda demonstrando formato dos túbulos epididimários; H- Detalhe de um túbulo epididimal da cauda.....**22.**

Figura 11- Porcentagem de defeitos maiores e menores, segundo Blom (1973), observados nos espermatozoides epididimários de *Caititus*.....**25.**

Figura 12- Fotomicrografia de espermatozoides do epidídimo de *Pecari tajacu*. A- Espermatozoide normal B- Espermatozoide com a presença de gota proximal (detalhe da gota demarcada por círculo); C – Espermatozoide com a cabeça e cauda subdesenvolvidos (seta detalhando a cabeça piriforme dos espermatozoides); D- Espermatozoide subdesenvolvido com gota distal (detalhe da gota demarcada por círculo). Ocular 100x.....**25.**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	Erro! Indicador não definido.
2.1. ASPECTOS BIOLÓGICOS GERAIS DO <i>Pecari tajacu</i>	3
2.1.1- Aspectos reprodutivos dos machos de caititus	6
2.2. CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS DO EPIDÍDIMO.....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	145
3.1. INSTALAÇÕES E MANEJO	155
3.2. COLHEITA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	15
3.3. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	177
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	188
4.1 ANÁLISES HISTOLÓGICAS.....	188
4.2 ANÁLISES DAS PATOLOGIAS DOS ESPERMATOZOIDES.....	23
5. COSIDERAÇÕES FINAIS	27

1. INTRODUÇÃO

A criação de animais silvestres em cativeiro propicia a conservação, e em alguns casos, é mais uma opção de oferta de carne ao mercado consumidor. Além de ser fonte de renda aos produtores rurais, e permitir a utilização de áreas de terra improdutivas ou não utilizadas (NOGUEIRA-FILHO et al., 1999). Na Argentina, Peru e Paraguai existem criatórios de animais silvestres de interesse para produção, que além de beneficiar a carne, aproveitam também o couro. Como é o caso da capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) na Argentina, e do caititu (*Pecari tajacu*) no Peru, cujo couro é utilizado na confecção de bolsas, cintos e sapatos, por exemplo. O couro desses animais é diferenciado devido à maciez, durabilidade e aparência; requisitos importantes para a oferta de produtos de boa qualidade e aceitação no mercado (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2004).

No Brasil, criatórios com fins comerciais de animais silvestres de interesse zootécnico estão sendo estabelecidos, principalmente, na região sudeste do país, onde existe o mercado consumidor é mais expressivo, por exemplo, para a compra legalizada da carne dessas espécies (REDFORD; ROBINSON, 1991; MOREIRA ; MACDONALD,1997;NOGUEIRA-FILHO ; LAVORENTI, 1997; NOGUEIRA FILHO ; NOGUEIRA,2000).

Entretanto, para que se possam estabelecer sistemas produtivos mais eficientes é necessário desenvolver mais pesquisas sobre a biologia das espécies silvestres (MAYOR et al.,2005).Pesquisas relacionadas à função reprodutiva se tornam fundamentais na implantação de sistemas apropriados para o manejo e bem-estar animal. Para as espécies silvestres existem poucos estudos relacionados à reprodução, por isso, são necessárias investigações sobre as suas variações morfofisiológicas, e que dessa maneira aprimorem as técnicas de manejo animal, de coleta e conservação de material biológico.

Algumas biotécnicas da reprodução ajudam na conservação animal, entre as quais se encontra a criopreservação de gametas, que possibilita o desenvolvimento de bancos de material genético de animais, selecionados por possuírem alto padrão ou por apresentarem algum nível de ameaça ecológica na natureza (FAO, 2000; BARUSELLI et al., 2007;FICKEL et al ,2007).

Em relação à fisiologia reprodutiva dos machos de caititus, Hellgren et al.(1989), Carvalhal et al. (2000), Sonner et al.(2004), Garcia et al.(2009) e Kahwage et al. (2010), entre outros autores, observaram alguns aspectos andrológicos, tais como: os níveis de testosterona, a biometria testicular e a análise do sêmen. Porém, nenhum trabalho, até o momento, realizou estudos morfofisiológicos sobre o epidídimo dessa espécie.

O estudo dos espermatozoides epididimários e a análise de suas patologias aumenta a probabilidade de fertilidade na criação, pois, por exemplo, animais de alto valor produtivo ou ameaçados de extinção, caso venham a óbito, podem ter os seus gametas preservados para o uso futuro em técnicas de reprodução assistida.

Sobre esse assunto, foram desenvolvidos estudos relacionados aos aspectos morfológicos de espermatozoides do epidídimo em vários animais domésticos, incluído os suínos (SCHIMMING et al., 2002; JAMES, 2004; ARROTÉIA et al., 2012;), assim como, em silvestres, tais como: pacas, canguru, morcegos e macacos(AMANN et al.,1976; JONES ; CLULOW,1994; SCHIMMING et al., 2012; ABAJI,2013;). Esses estudos permitiram comparar as diferentes regiões desse órgão e entender um pouco da função de cada uma delas.

Desta forma, o presente trabalho visou estudar os aspectos histológicos das diferentes regiões do epidídimo de caititu, bem como realizar a análise morfológica dos espermatozoides presentes neste órgão; o que contribuirá para o melhor entendimento dessa espécie em termos reprodutivos, e conseqüentemente, para a sua conservação.

O estudo apresenta como hipóteses científicas : aspectos histológicos das diferentes regiões do epidídimo de caititu (Pecari tajacu) são semelhantes à dos suídeos, no que diz respeito ao tipo de tecido e a forma pela qual aparecem distribuídos no epidídimo e aspectos morfológicos dos espermatozoides, encontrados em cada região do epidídimo de caititus, são semelhantes em relação à frequência e ao tipo de patologia, se comparadas ao epidídimo de outras espécies de artiodátilos já descritos na literatura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS GERAIS DO *Pecari tajacu*

O caititu (Figura 1), cateto ou porco do mato (*Pecari tajacu*) como é conhecido em algumas regiões do Brasil, é uma espécie que está incluída na família Tayassuidae, juntamente com duas outras, o queixada (*Tayassu pecari*) e o pecari do chaco (*Catagonus Wagneri*), os quais pertencem à subordem Suiforme. A designação inglesa *pecaris* possui origem no tupi-guarani, e significa animal que faz muitos caminhos na mata (SOWLS, 1997). A subordem Suina consiste em três famílias: Suidae, Tayassuidae e Hippopotamidae (BODMER et al.,1990). Segundo SOWLS (1984), os caititus não são suínos verdadeiros, porém apresentam um ancestral comum com o suíno doméstico.

Figura1 - Caititu (*Pecari tajacu*), indivíduo adulto. Arquivos pessoais.



As principais características que distinguem os Tayassuidae dos Suidae (javalis e suínos domésticos) dizem respeito à presença de três dedos (dois funcionais); 38 dentes, onde os caninos superiores crescem reto para baixo; glândula de marcação presente na linha dorsal média do animal, ausência de vesícula biliar; estômago complexo, e cauda curta. Os Suidae possuem quatro dedos, 44 dentes, com os caninos superiores crescendo encurvados para cima e para fora da boca, não possuem glândula

de marcação, possuem vesícula biliar, estômago simples, e geralmente cauda comprida (SOWLS, 1984; MARGARIDO e MANGINI, 2001).

Os caititus são onívoros, portanto consomem vários tipos de alimentos, tais como: plantas verdes, raízes, tubérculos, frutas, castanhas, invertebrados e vertebrados de pequeno porte (KILTIE, 1981; BODMER, 1989; SANTOS et al., 2000). São animais relativamente pequenos, pesam em média 22 kg, que corresponde ao peso de um adulto, sendo que os machos geralmente são mais pesados do que as fêmeas (SOWLS, 1984). A espécie possui atividade diurna e crepuscular, alimentando-se no meio da manhã e nas últimas horas da tarde ou nas primeiras horas da noite. Porém, quando criados em cativeiro os caititus passam a ter hábitos diurnos, sendo submetidos à rotina do local (VENTURIERI e LE PENDU, 2006). Eles geralmente descansam em pequenos grupos, e muitas vezes procuram abrigo em tocas, cavernas, ou em troncos (SCHWEINSBURG, 1969).

A espécie é bastante eritrópica tendo como hábitat diferentes ambientes, que incluem desde áreas de caatinga até florestas tropicais úmidas. Os caititus possuem ampla distribuição, estando presentes no sudeste do Texas, Novo México e Arizona nos Estados Unidos da América, sendo também encontrados desde o México até o norte da Argentina (SOWLS, 1997). Algumas das maiores ilhas do Caribe, como Cozumel e Trinidad & Tobago, também possuem populações de *Pecari tajacu*. No entanto, nas ilhas mais distantes do continente não são observados, exceto onde foram introduzidas, como em Cuba (VARONA, 1973) (Figura 2).

Figura 2-Distribuição geográfica (área escura do mapa) da espécie *Pecari tajacu*. Fonte: MAYOR (2007).



São animais sociais que vivem em grupos de 6 a 30 indivíduos, possuindo hierarquia, principalmente, entre os indivíduos adultos e juvenis. O tamanho de área ideal para o uso desses animais na natureza é de 150 ha, mas sobrevivem também em um espaço entre 24 até 800 ha (SCHWEINSBURG, 1969; SOWLS, 1984). Para que os rebanhos sociais sejam mantidos juntos, são utilizados artifícios como vocalizações, além de utilizarem a secreção presente na glândula de marcação, de odor intenso, o qual é depositada em troncos de árvores, pedras e em outros indivíduos (BYERS, 1980).

Não há dimorfismo sexual aparente, sendo possível a diferenciação entre as fêmeas e os machos somente através da visualização da bolsa escrotal. Todavia, esta não é sempre aparente, sobretudo em relação aos animais juvenis (SOWLS, 1997).

Os caimitus são animais que se reproduzem ao longo de todo o ano, tanto em cativeiro quanto em meio natural (KAHWAGE et al., 2010). Porém, segundo Bissonette (1982), apenas o macho dominante tem sucesso na cópula com as fêmeas, que a partir

de, aproximadamente, um ano de vida podem gerar de um a três filhotes. Com frequência, observa-se a presença de dois filhotes por gestação, a qual dura em média de 142 a 145 dias, sendo que uma semana depois do parto, a fêmea apresenta cio fértil (GUIMARÃES et al., 2004; MAYOR et al., 2010).

2.1.1 Aspectos reprodutivos dos machos de caititus

Os caititus machos atingem a maturidade sexual a partir de, aproximadamente, um ano de idade (GUIMARÃES et al., 2013). Nesses animais, a bolsa escrotal está entre a região inguinal e perineal, sendo que os testículos têm, em média, 2,8 cm de largura, 2,6 cm de espessura, 5,4 cm de comprimento, e 22,5 cm³ de volume. São órgãos simétricos, envolvidos por uma membrana fibrosa, extremamente resistente, apresentam forma oval, com duas margens e duas extremidades, e são achatados látero-lateralmente (KAHWAGE et al., 2010).

Costa et al. (2004) e Kahwage et al. (2010) afirmaram que a espermatogênese dos caititus é considerada muito semelhante a dos suínos, por ser caracterizada pela alta eficiência na produção espermática, uma vez que os mesmos possuem um dos mais baixos números de células de Sertoli, por grama de testículo, e uma das mais altas proporções volumétricas, em que 16% do parênquima é ocupado por compartimento intertubular e 84% por túbulos seminíferos.

Lochmiller et al. (1985) encontraram os seguintes parâmetros seminais para caititus: volume 1,3±1,1 mL, concentração espermática de 354±173 x 10⁶sptz/mL, motilidade de 49,5±15,8%, espermatozoides normais 28,3±15,2%, anormalidades primárias 7,2±5,9%, anormalidades secundárias 64,4±15,2% e quantidade total de espermatozoides no ejaculado de 719±786 x 10⁶sptz/mL. Posteriormente, Hellgren et al. (1989), e mais atualmente Kahwage et al. (2010), constataram que o ejaculado dos caititus pode apresentar três frações: uma clara, constituída de secreção das glândulas acessórias e pobre em células; uma rica, onde está a maior parte das células espermáticas; e uma fração gel. Segundo Garcia et al. (2012), o sêmen desta espécie apresenta características constantes ao longo do ano, caracterizando-os como animais de reprodução não sazonal. Estes autores observaram os seguintes parâmetros seminais para esta espécie: volume 0,8 ± 0,81 mL, concentração espermática de 138,1±154,0 x

10^6 sptz/mL, motilidade de $52,8 \pm 29,1 \%$, espermatozoides normais $55,4 \pm 28,6 \%$, anormalidades primárias $22,6 \pm 13,1 \%$ e anormalidades secundárias $9,6 \pm 7,2 \%$.

2.2 CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS DO EPIDÍDIMO

A maioria dos estudos sobre o epidídimo iniciaram no século XX. Nessa época, acreditava-se que o epidídimo fosse o responsável pela manutenção da vitalidade e motilidade espermática, e pela capacidade de iniciar a fertilidade. Em 1967, Marie Claire Orgebin-Crist, mostrou que o evento principal na maturação espermática não é o tempo de passagem pelo epidídimo, e sim a exposição dos espermatozoides ao longo das suas diferentes regiões, devido às transformações bioquímicas (trocas de íons, proteínas, etc.) que ocorrem ao longo do órgão (ORGEBIN-CRIST, 1967).

O epidídimo, *epi* (dentro) e *didymoi* (germinativo ou testículo), é uma estrutura localizada entre o ducto eferente, que consiste em um tubo alongado ligado ao testículo e o deferente, sendo, dessa forma, um órgão acessório masculino (SULLIVAN, 2004) (Figura 3). As suas principais funções são: transporte, desenvolvimento da motilidade e habilidade de fertilização dos espermatozoides, e a criação de um ambiente luminal, especializado na condução do processo de maturação e função de secreção do epitélio do epidídimo (ROBAIRE et al., 2006).

Figura 3 –Epidídimo de caititu, situado na borda posterior do testículo. * Cabeça; ▼Corpo; ▲Cauda do órgão. Arquivos pessoais.



O órgão, que mede entre 6 até 7 cm, é constituído por: segmento inicial, cabeça, corpo e cauda. A cabeça é onde o espermatozoide começa a adquirir a motilidade progressiva, ainda que muito pouca, se comparada as das demais regiões, resultando em muitos espermatozoides não móveis observados no epidídimo. Na cabeça e no corpo as alterações dos componentes dos fluidos, diferentes em cada espécie em relação ao tempo de exposição em cada região do epidídimo, também contribuem para a posterior motilidade e habilidade de fertilização dos espermatozoides (AMANN, 1988c). Ao longo do corpo e, principalmente na cauda os espermatozoides em trânsito sofrem mudanças em sua estrutura, decorrentes de mudanças ocorridas na cromatina nuclear e em algumas organelas (BEDFORD, 1963). No segmento final, a cauda do epidídimo, é o local de armazenamento temporário (TANAGHO e MCANINCH, 2010). O número de espermatozoides aumenta ao longo do epidídimo, assim, encontramos poucos no segmento inicial e uma massa condensada, armazenada na cauda (ARROTÉIA et al., 2012).

Segundo Robaire et al. (2006), os espermatozoides que entram no epidídimo são movidos pelo movimento das células cilíndricas dos ductos eferentes. Todavia, o epitélio do epidídimo é revestido por estereocílios, e a captação de fluido presente nos ductos eferentes e no segmento inicial do epidídimo reduz drasticamente este fluxo. O transporte ocorre contra um gradiente crescente de pressão hidrostática do testículo para a cauda do epidídimo, e prossegue, mesmo quando o fluxo de fluido, a partir do testículo, é impedido por ligamentos dos ductos eferentes (OLIVA et al, 2009).

Cada região do epidídimo desenvolve mecanismos primários para proteção contra patógenos, devido ao fato que cada um desses locais possui atividades metabólicas variadas, e que os espermatozoides encontrados nos distintos segmentos estão em diferentes estágios de maturação (SHIVAJI, 1988).

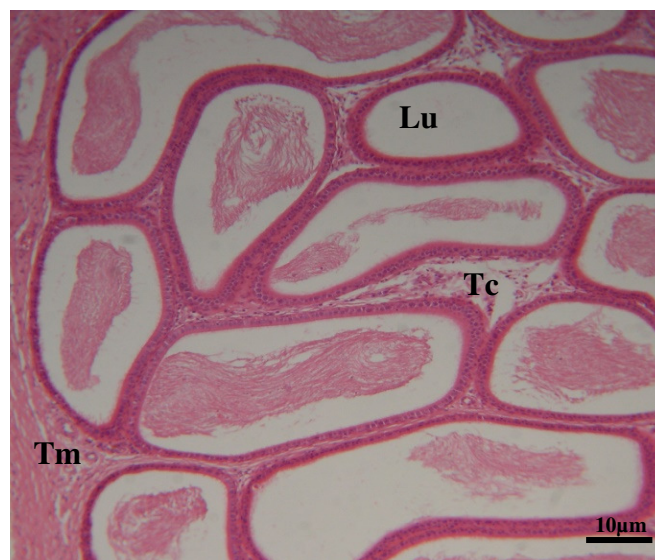
Dacheux e Paquignon (1980) observaram que as características bioquímicas são modificadas ao longo do epidídimo, por exemplo, a condensação da cromatina, as trocas de fosfolipídios e colesterol, e as modificações na composição das proteínas da superfície da membrana plasmática. A síntese de proteínas e secreções epididimárias no lúmen é regulada por andrógenos testiculares, e variam de um segmento para outro do epidídimo, resultando na coexistência de diferentes proteínas que interagem com os espermatozoides.

Histologicamente, o epidídimo (Figura 4) possui formato tortuoso, no qual os segmentos são unidos por tecido conjuntivo frouxo, uma camada de músculo liso, e é

coberto externamente pela túnica vaginal visceral. A parede interna desse ducto enovelado é revestida por epitélio cilíndrico pseudoestratificado com estereocílios (OVALLE e NAHIRNEY, 2011).

O epidídimo possui diferentes tipos de células, sendo as seguintes: 1- Células principais, que são as responsáveis por cerca de 80% da constituição do epitélio epididimal; 2- Células basais também são responsáveis pela constituição do epitélio; 3- Células apicais, que tem como função a regulação do Ph do lúmen; 4- *Narrow cells* (células estreitas), que são responsáveis pelo transporte celular dentro e fora da célula; 5- Células de limpeza, incumbidas da manutenção e limpeza de proteínas presentes no lúmen; 6- Células de halo, relacionadas ao sistema imune (APPLEGATE, 2012).

Figura 4- Fotomicrografia dos túbulos epididimários de camundongo. Lu = Lúmen; Tc = Tecido conjuntivo frouxo; Tm = Tecido muscular liso. Arquivos pessoais.



De acordo com Schimming et al. (2013), as funções de todas as células que compõem o epitélio do epidídimo ainda não estão completamente estabelecidas, tanto em seres humanos quanto em animais. Estudos recentes mostraram que as proteínas e pequenas moléculas secretadas pelo epitélio epididimal interagem com o espermatozoide em trânsito, afetando direta ou indiretamente a superfície do mesmo. As células presentes no epidídimo, quando cultivadas *in vitro*, podem prolongar a viabilidade de espermatozoides de várias espécies, por secretarem fatores benéficos aos gametas que prolongam a sua sobrevivência (Jones, 2004; Gagnon et al., 2010; Bertol, 2012).

Egbun Ke e Elemo, (1978) analisando epidídimos de suínos europeus determinaram a capacidade de estocagem de espermatozoides em cada uma das regiões que compõe o órgão. Para tanto, os autores quantificaram os espermatozoides na cabeça, no corpo e na cauda dos epidídimos coletados. Os resultados apontaram que o número de espermatozoides na cauda é maior do que nas demais regiões, e que a cauda possui mais espermatozoides estocados do que o corpo do epidídimo.

Estudos em relação à histologia de animais silvestres, ainda são incipientes, todavia, em algumas espécies já foram realizados trabalhos, sobretudo em roedores como no trabalho realizado por Nicander e Glover (1963) os quais observaram que, o segmento inicial do epidídimo do hamster dourado (*Mesocricetus auratus*) apresentava um epitélio com muitos estereocílios ao redor do lúmen. Ao passo que no corpo, o diâmetro do ducto era menor, e o epitélio diminuía em relação ao segmento inicial.

Enquanto nas porções terminais do epidídimo o epitélio era mais espesso e, geralmente, era formado por células colunares, com a presença de poucos estereocílios. Lorenzana et al.(2007) identificaram no epidídimo do rato mexicano (*Peromyscus winkelmani*) sete diferentes zonas. As zonas I, II, IV e V eram espessas e possuíam epitélios mais altos, enquanto a zona III era mais delgada. Os estereocílios na zona VI eram finos, enquanto na zona VII eram curtos e espessos. Santos (2012) constatou que em preá (*Cavia aperea*) a cabeça, o corpo e a cauda do epidídimo apresentavam tipos diferentes de células; e a cauda possuía epitélio colunar pseudoestratificado menos espesso do que nas demais regiões. Schimming et al. (2013) constataram que o ducto do epidídimo de paca (*Agouti paca*) era linear e formado por epitélio colunar pseudoestratificado com estereocílios.

As células encontradas no epitélio do epidídimo foram as seguintes: células principais, células basais e células apicais. Sendo que as células que estavam presentes em maior quantidade eram as células principais. Também observaram que o epidídimo de pacas apresentava cinco diferentes zonas. Estas possuíam características distintas entre si em relação a altura do epitélio, diâmetro do lúmen e tipos celulares.

Sobre os aspectos histológicos de primatas, Takeshita et al.(2014)observaram em macacos-da-noite, *Aotus azarai infulatus*, que o epidídimo era constituído por epitélio colunar pseudoestratificado com estereocílios, células mióides grandes e moderado tecido conjuntivo frouxo. Prakash et al.(2008) constataram que em *Macaca radiata* a região da cabeça do epidídimo possuía túbulos lineares constituídos por epitélio colunar pseudoestratificado com a presença de estereocílios, células principais, células apicais,

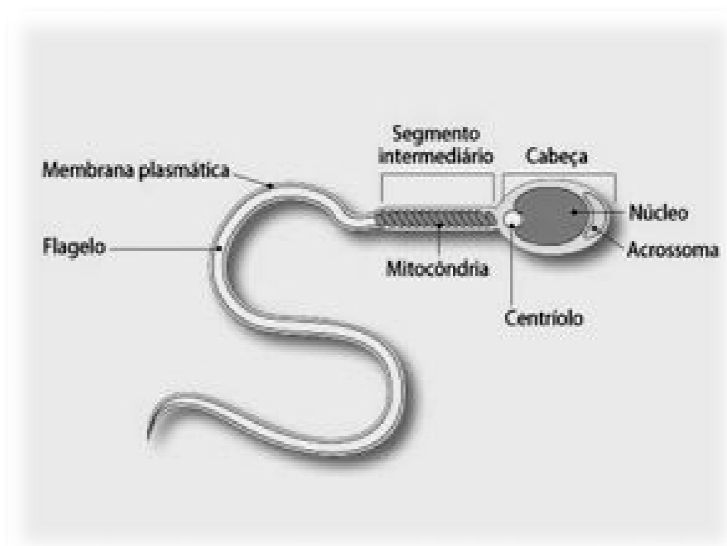
células basais e as células de limpeza. Ao passo que, na região da cauda, os túbulos possuíam uma constituição semelhante com a da cabeça, porém o epitélio era mais delgado.

Alterações sazonais também foram observadas no epidídimo de morcegos da espécie *Rousettus leschenalti*, os quais apresentaram durante o período de atividade sexual, um aumento no diâmetro dos túbulos e diminuição da área intertubular (ABAJI, 2013). Em dromedários, segundo Ibrahim e Singh (2014), o epitélio do epidídimo e as estruturas ao redor, também apresentam mudanças em sua morfologia e morfometria no período reprodutivo.

2.2.1 Espermatozoides epididimários e patologias associadas

Os espermatozoides retirados diretamente da cauda do epidídimo são morfologicamente viáveis, e mantém a capacidade de sofrer capacitação, ligar-se à zona pelúcida e fecundar o oócito (GOODROWE e HAY, 1993; TSUTSUI et al., 2003). Os espermatozoides normais são formados pelas seguintes regiões: cabeça, peça intermediária e cauda (Figura 5).

Figura5 – Desenho esquemático da morfologia do espermatozóide. Fonte: Junqueira e Carneiro (1995).



Segundo Muradás et al. (2006) a recuperação de espermatozoides da cauda do epidídimo é uma técnica importante para preservar o material genético de animais que por algum motivo vieram a óbito. A recuperação de gametas *in vitro* do epidídimo de

animais *post mortem* é uma alternativa para a obtenção de material de animais geneticamente diferenciados ou de espécies ameaçadas de extinção.

Algumas técnicas estão sendo desenvolvidas com a finalidade de extrair espermatozoides viáveis apenas da cauda do epidídimo. Kozdrowski et al. (2011) realizaram diversas incisões na cauda do epidídimo de bisões europeus (*Bison bonasus*) *post mortem*, com a finalidade de extrair os espermatozoides, poucos minutos depois da morte do animal. Posteriormente, os mesmos foram dissecados e testados, sendo constatado, com o passar do tempo, que a motilidade de tais espermatozoides tornava-se menor que a do sêmen a fresco. Todavia, a viabilidade dos espermatozoides recém-colhidos não diferiu, significativamente, do sêmen a fresco nessa espécie.

Segundo Garde et al. (1994) a técnica de fluxo retrógrado do epidídimo consiste em promover uma corrente inversa na cauda desse órgão, aplicando pressão nos vasos deferentes, acarretando o extravasamento de espermatozoides, por meio de um corte feito na junção com o corpo. Esta pressão é obtida com o auxílio de uma seringa, na qual se injeta ar, solução salina morna ou diluente para criopreservação (WILDT et al., 1998; COMIZZOLI et al., 2001a, b). Segundo Muradás et al., (2006), nesse método de colheita, o lúmen do ducto deferente é canulado e perfundido com diluente, promovendo a lavagem da cauda do epidídimo ou o fluxo retrógrado do conteúdo da cauda. Martínez-Pastor et al. (2006) afirmaram que a técnica de coleta de espermatozoides da cauda do epidídimo, por fluxo retrógrado, resulta em amostras menos contaminadas e de melhor qualidade que os outros métodos, sendo a mais indicada.

Granemann et al. (2005) conseguiram recuperar um grande número de espermatozoides da cauda do epidídimo de garanhões, utilizando a técnica de fluxo retrógrado. Nos equinos a técnica de fluxo retrógrado também é utilizada devido à anatomia do epidídimo destes animais (MONTEIRO et al., 2009; GRANEMANN et al., 2005). Martínez-Pastor (2004) obtiveram bons resultados com a técnica de colheita de espermatozoides da cauda do epidídimo, por fluxo retrógrado, no cervo vermelho ibérico (*Cervus elaphus hispanicus*). Estes autores afirmaram que as amostras obtidas possuíam menos contaminação, e, portanto eram de melhor qualidade do que os outros métodos, sendo a mais indicada. Entretanto, as espécies diferem entre si, quanto a fatores como a quantidade de células produzidas (HERMANSSON, 2006; MOTA-FILHO e SILVA, 2012; RODRÍGUEZ, 2012).

Segundo Howard (1999) uma técnica que pode ser utilizada de forma alternativa a técnica de fluxo retrógrado é a maceração/flutuação da cauda para obtenção de gametas contidos no fluido da mesma. Olukole et.al. (2006) utilizou a técnica da maceração para obtenção de espermatozoides da cauda do epidídimo de cães domésticos, e conseguiu resultados favoráveis.

Bezerra et al. (2014) observaram amostras da cauda do epidídimo de caititus, comparando os métodos da maceração/flutuação e fluxo retrógrado. Sendo que os parâmetros de motilidade, vigor, viabilidade, integridade da membrana e morfologia não diferiram em ambos os métodos. Concluindo que os espermatozoides podem ser coletados por esses métodos, porém sem o uso de centrifugação.

A verificação de quantas e quais patologias estão presentes nos espermatozoides, permite determinar se o animal pode ser utilizado como reprodutor. Esse fato determina o sucesso reprodutivo das futuras proles destes animais, (BLOM 1950, 1973).

Blom (1950) classificou as anomalias que ocorrem frequentemente nos animais como: anomalias primárias, que incluem os defeitos espermáticos ocorridos durante a espermatogênese, e anormalidades secundárias, as quais abrangem os defeitos que ocorrem no espermatozoide depois de formado, no decorrer do trânsito dos mesmos pelo epidídimo (Quadro1).

Quadro 1- Classificação das anomalias primárias e secundárias em espermatozoides, segundo Blom (1950).

Anomalias primárias	Anomalias secundárias
Anomalias da cabeça: Cabeça piriforme Cabeça em raquete Cabeça estreita Cabeça pequena Cabeça grande Cabeça curta	Cabeça normal solta Gota citoplásmica solta Gota citoplásmica distal Cauda dobrada (<i>bent tail</i>) Capuchão (acrossomo) destacado
Outras anomalias da cabeça: Cabeça anormal solta.	
Formas abortivas: Cabeça normal com cauda muito enrolada Formas duplas Inserção abaxial Defeitos da peça intermediária	

Fonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (1998).

Posteriormente, o mesmo autor tendo posse de mais conhecimento sobre as patologias que estão presentes no epidídimo, agrupa as patologias em defeitos. Dessa forma, Blom (1973) classifica as patologias como defeitos maiores e menores, e os relaciona com a sua importância na fertilidade. Assim, são considerados defeitos maiores aquelas anormalidades que têm grande efeito na fertilidade, e os defeitos menores que são consideradas de menor importância (Quadro2).

Quadro 02- Classificação dos defeitos maiores e menores em espermatozoides, segundo Blom (1973).

Defeitos maiores	Defeitos menores
Espermatozoides subdesenvolvidos Formas duplas Acrossoma defeituoso (<i>knobbed sperm</i>) Espermatozoides decapitados (<i>guernsey</i>) Cabeça piriforme Cabeça estreita na base Cabeça de contorno anormal Cabeça pequena anormal <i>Pouch formation</i> (invaginações na membrana nuclear) Cabeça solta anormal Peça intermediária em saca rolha (<i>cork screw defect</i>) Peça intermediária com pseudogota Gota citoplasmática proximal Cauda fortemente dobrada ou enrolada (<i>dag defect</i>)	Cabeças estreitas Cabeças pequenas normais Cabeças gigante e curta, larga Cabeças soltas normais Acrossomos destacados Gota citoplasmática distal Cauda simplesmente dobrada ou enrolada Cauda enrolada na porção terminal Peça intermediária com implantação abaxial, retroaxial e oblíqua.
Outros: formação de medusa, células espermiogênicas, gigantes e prepuciais, leucócitos e hemáceas.	

Fonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (1998).

O presente estudo teve como finalidade estudar os aspectos morfofisiológicos do epidídimo de caititu, considerando as características histológicas e a determinação de possíveis patologias nos espermatozoides, presentes nas diferentes regiões desse órgão. De maneira específica, este trabalho objetivou descrever as diferenças histológicas encontradas nas quatro regiões distintas do epidídimo (cabeça proximal e distal, corpo e cauda do epidídimo) de caititus adultos bem como quantificar, descrever e comparar os aspectos morfológicos dos espermatozoides epididimários de caititus, em relação às diferentes regiões do órgão.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 INSTALAÇÕES E MANEJO

Para a realização dos experimentos foram utilizados oito animais adultos, na faixa etária de dois até quatro anos, procedentes do criatório de pesquisas científicas da Embrapa-Amazônia Oriental, (IBAMA 1501.5219/2011-PA), localizado em Belém, Pará, Brasil (01°24'S;48°20'W).O criatório científico era constituído de baias coletivas de alvenaria, com uma área de 36 m² (Figura 6). Cada baia continha comedouros e bebedouros; alojando grupos familiares de no máximo dez animais.

O clima da região é equatorial, com temperatura anual média de 26⁰C, e a média de umidade relativa do ar 82,8% (JÚNIOR *et al.*,2009).

Os animais utilizados neste experimento nasceram em cativeiro. Os mesmos foram alimentados uma vez ao dia, com a dieta a base de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) e ração comercial para suínos (2.500 kcal e 14 % PB).

Figura 6-Recintos do criatório científico de caititus na Embrapa- Amazônia Oriental. Arquivo pessoal.



3.2 COLHEITA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Os oito animais utilizados foram submetidos ao procedimento cirúrgico de orquiectomia, e os epidídimos subtraídos foram doados para os experimentos realizados neste trabalho, o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação da UFPA (CEPAE 184-13).

Logo após a cirurgia, houve a coleta dos epidídimos e o transporte imediato ao Laboratório de Reprodução Animal-ICB da Universidade Federal do Pará, em meio PBS sob refrigeração.

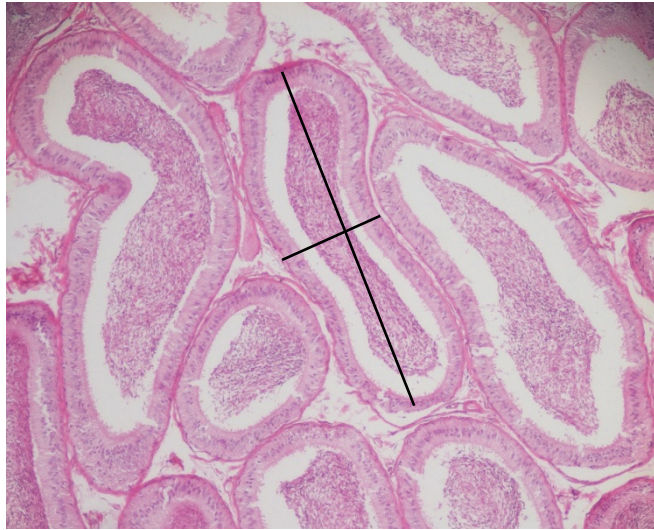
Cada uma das quatro partes do epidídimo (cabeça proximal, cabeça distal, corpo e cauda) foi dividida em duas porções. Sendo que uma das porções foi macerada, enquanto a outra permaneceu intacta. A cauda do epidídimo não sofreu maceração, devido ao fato da mesma ter sido submetida à técnica de fluxo retrógrado.

As porções maceradas e as amostras celulares da cauda foram colocadas em tubos plásticos (5ml), contendo formol salino (96 ml de citrato de sódio 2,9%, e 4 ml de formol 4%), e em seguida foram armazenadas a uma temperatura de 5°C. Essas amostras foram utilizadas para a análise da morfologia espermática. Para isso, foram contadas 200 células por lâmina, em um aumento de 1000X em microscópio óptico, com preparação de lâminas em gota úmida, e análise em microscópio com contraste de fase.

As porções intactas foram embaladas em gaze, identificadas e colocadas em recipientes de vidro (150 ml), contendo fixador ALFAC (85 ml de álcool 80%, 10 ml de formaldeído e 5 ml de ácido acético). As amostras foram armazenadas a uma temperatura de 5°C, durante 24 horas, e após esse período foram submetidas ao processamento no Laboratório de Técnicas Histológicas-ICB-UFPA no qual as amostras foram colocadas em frascos contendo álcool 70%, seguindo a sequência: álcool 70%, álcool 80%, álcool 90%, álcool 95%, álcool 100% 1 e 2. Após passar pela bateria de desidratação, cada amostra foi colocada em xilol 1 e 2. Em seguida, as amostras passaram pelo processo de inclusão em parafina.

Posteriormente, foram feitos cortes histológicos de 5 µm de espessura os quais foram em seguida corados em Hematoxilina-Eosina. As lâminas, depois de coradas e montadas, foram analisadas em microscopia óptica com objetiva de 40x. Para comparar as regiões que compõem o epidídimo foram mensurados o diâmetro de até 20 túbulos (Figura 7) de cada segmento do epidídimo/ animal, bem como a altura do epitélio de até 30 túbulos por cada região /animal.

Figura 7: Túbulos do corpo do epidídimo de caítitu (detalhe do diâmetro do túbulo +).



3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados no programa estatístico Statística®, utilizando para tanto, parâmetros de estatística descritiva como: média e desvio padrão. Além do teste de análise de variância ANOVA (one way) e ANOVA não paramétrica de Kruskal Wallis, estabelecendo 5% como nível de confiança. Para a realização das análises múltiplas foram utilizados os testes de Newman Keuls, que permite analisar e comparar amostras com distribuição normal e identificar as suas correlações. E o teste não paramétrico de Mann-Whitney, usado para comparar duas categorias: defeito maior e menor, em cada região do epidídimo. Os testes contemplam quantificação e tipificação de patologias epididimárias, ocorridas em cada região do epidídimo. Assim como a comparação morfométrica entre o diâmetro dos túbulos epididimários, de acordo com cada região do mesmo e a altura do epitélio.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE HISTOLÓGICA

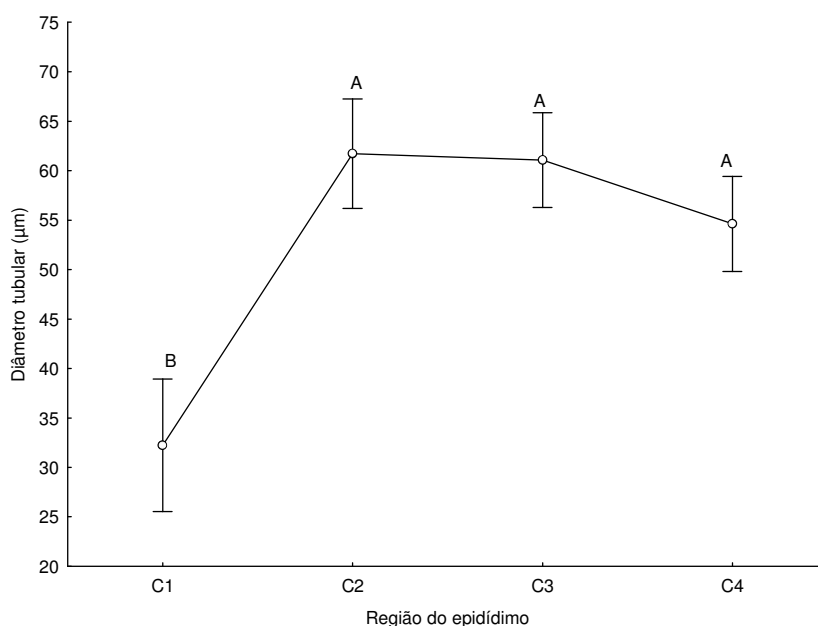
Comparando o diâmetro dos túbulos, entre as diferentes regiões do epidídimo (Tabela 1), foram verificadas diferenças significativas através do teste ANOVA (one way)(F= 18,886; p=0,000). As comparações a posteriori (teste de Newman Keuls) apontaram diferenças no diâmetro dos túbulos entre a cabeça proximal e a cabeça distal (p= 0,000008); entre a cabeça proximal e o corpo (p=0,000009); entre a cabeça proximal e a cauda (p=0,000022). No entanto, não houveram diferenças significativas (p >0,05) entre o diâmetro do túbulo em relação as demais partes do epidídimo (Figura 8).

Tabela 1: Média e desvio padrão (μm) do diâmetro dos túbulos de cada região do epidídimo de caititu.

Regiões do Epidídimo	Média \pm DP (μm)	Total de túbulos analisados
Cabeça proximal	32,23 \pm 17,54 ^a	41
Cabeça distal	61,72 \pm 26,57 ^b	60
Corpo	61,07 \pm 23,78 ^b	80
Cauda	54,61 \pm 16,64 ^b	80

^{a,b} letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa (P<0,05).

Figura 8 - Média do diâmetro dos túbulos e comparação entre as diferentes regiões do epidídimo de *Pecari tajacu*. As letras A e B simbolizam as comparações através do teste de ANOVA, onde letras diferentes representam diferenças significativas entre as regiões (C1 = cabeça proximal; C2 = cabeça distal; C3 = corpo do epidídimo e C4 = cauda do epidídimo).



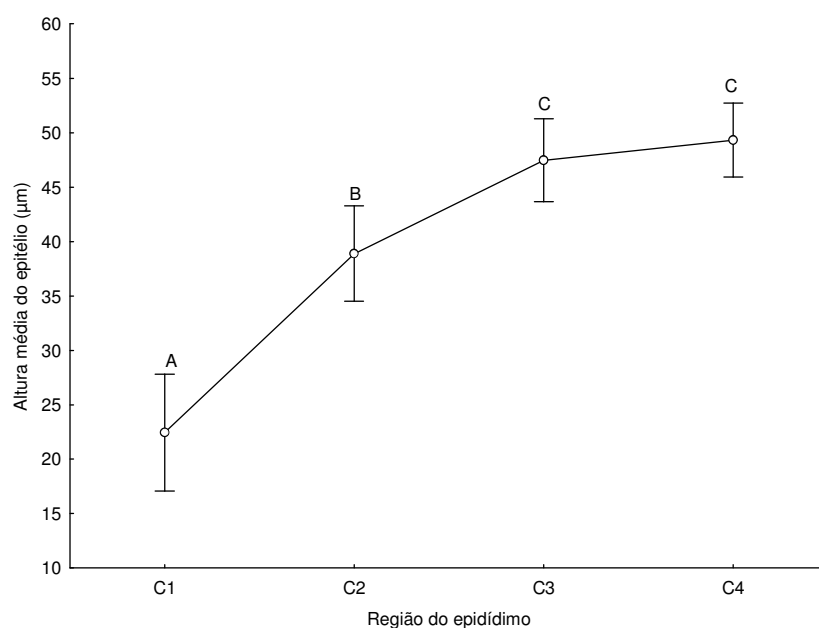
Em relação às comparações da altura do epitélio dos túbulos epididimários (Tabela 2), através do teste ANOVA (one way), foram verificadas diferenças significativas entre as regiões ($F=26,199$; $p=0,000$). As comparações a posteriori (teste de Newman Keuls) apontaram diferenças significativas entre a cabeça proximal e corpo ($p=0,000008$); cabeça proximal e cauda ($p=0,005588$), cabeça distal e a cabeça proximal ($p=0,000009$); cabeça distal e corpo ($p=0,002197$); cabeça distal e cauda ($p=0,005588$) (Figura 9). Semelhanças significativas foram observadas entre a altura do epitélio do corpo e da cauda ($p=0,551$).

Tabela 2: Média e desvio padrão da altura do epitélio (μm) das diferentes regiões do epidídimo de *caititu*.

Regiões do epidídimo	Média \pm DP (μm)	Total de túbulos analisados
Cabeça proximal	22,45 \pm 12,15 ^a	60
Cabeça distal	38,88 \pm 18,40 ^b	90
Corpo	49,32 \pm 24,95 ^c	150
Cauda	47,47 \pm 21,12 ^c	119

^{a,b,c} letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa ($P<0,05$).

Figura 9 - Média da altura do epitélio e comparação entre as regiões do epidídimo de *Pecari tajacu*. As letras A, B e C, simbolizam as comparações através do teste de ANOVA, onde letras diferentes representam diferenças significativas entre as regiões. (C1 = cabeça proximal, C2 = cabeça distal; C3 = corpo do epidídimo e C4 = cauda do epidídimo).



Em todas as regiões do epidídimo de caititu, foi observada a presença de epitélio pseudoestratificado colunar com estereocílios. No espaço intertubular foi observado músculo liso e tecido conjuntivo frouxo. Todavia, foram verificadas diferenças histológicas, entre as regiões, as quais serão descritas a seguir (Figura 10).

O formato dos túbulos sofreu alterações ao longo do epidídimo. Na cabeça proximal os túbulos, além de possuírem o diâmetro e a altura epitelial menores, apresentaram o lúmen estreito e com poucos espermatozoides (Figura 10), em relação às demais regiões. Enquanto, na cabeça distal e no corpo, os túbulos epididimários possuíam o diâmetro maior e o formato alongado (Figura 10C e 10E). Na cauda o formato do túbulo tornou-se mais arredondado ou oval (Figura 10G), a área do lúmen estava mais ampla e bem delimitada, com a presença de grande quantidade de espermatozoides, quando comparado às demais regiões.

Na cabeça proximal (Figura 10B mais próximos a lamina basal na cabeça proximal, e nas demais regiões o núcleo encontrava-se na região apical (Figuras 10D, 10F e 10H). As fibras musculares, presentes no espaço intertubular, foram encontradas em pouca quantidade na cabeça proximal. Contudo, houve um aumento progressivo dessas fibras ao longo de cada região do órgão, sendo visualizadas em grande quantidade na cauda.

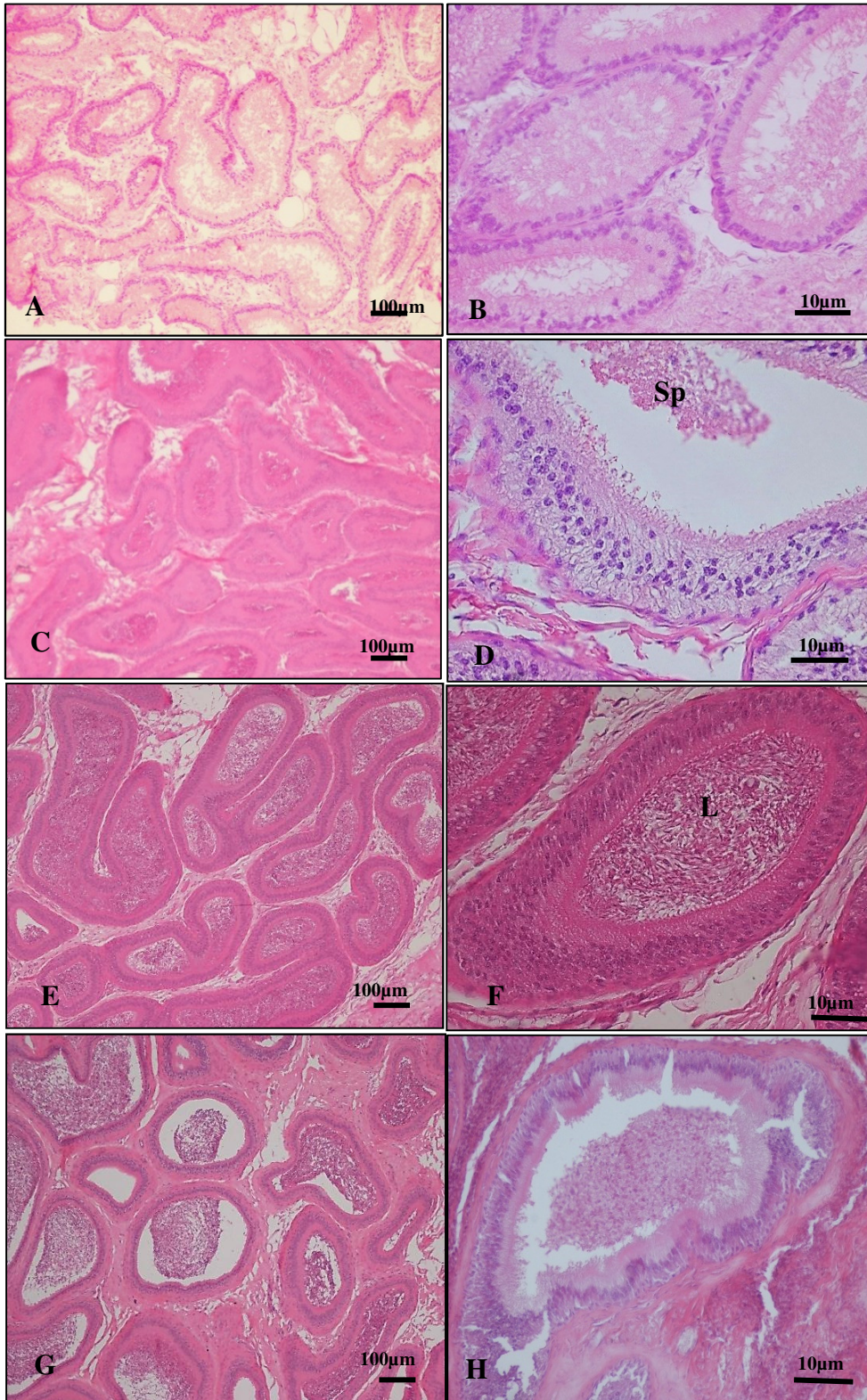
A cabeça proximal foi à região que apresentou menor altura do epitélio nos epidídimos de caititus. Estes dados são diferentes dos encontrados por Ibrahim e Singh (2014) em camelos e dromedários, nos quais a cabeça era a região com epitélio mais alto, e o corpo e a cauda eram as que apresentavam a menor altura. Briz et al. (1993) observaram em suínos que a cabeça proximal também possuía as maiores médias de altura do epitélio e diâmetro luminal. Estes autores inferiram que o tamanho maior da altura do epitélio na cabeça proximal facilitaria a passagem dos espermatozoides para as demais regiões do epidídimo, visto que a cabeça proximal é a mais próxima ao testículo.

No entanto, as mudanças relacionadas ao diâmetro do túbulo e a altura do epitélio estão relacionadas com o potencial de maturação celular e armazenamento durante o transporte dos espermatozoides ao longo do órgão. Este fato é decorrente ao período no qual os espermatozoides estão em trânsito, onde ocorrem modificações no fluido tissular, acarretando a absorção, e ativação de funções das células epiteliais (DACHEUX et al., 2003; SRIVASTAV et al., 2004; TULSIANI, 2006). Assim, como o observado no presente trabalho, é esperado que os menores diâmetros tubulares sejam verificados nos ductos que formam a cabeça proximal do epidídimo, os quais se unem

para originar posteriormente um único ducto. A presença de túbulos maiores, com lúmen amplo e epitélio mais alto na cauda, sugere que essa região contribuiria potencialmente para a maturação e o armazenamento de espermatozoides no epidídimo de caítitus.

Segundo Crabo (1965), as atividades diversas que ocorrem no epidídimo promovem a maturação dos espermatozoides, e o ambiente da porção da cauda pode favorecer o tempo máximo de sobrevivência do espermatozoide.

Figura 10 - Fotomicrografia do epidídimo de *Pecari tajacu*. A- Túbulos da cabeça proximal; B- Cabeça proximal, (L o lúmen do túbulo epididimal); C-Túbulos da cabeça distal; D- Cabeça distal: detalhe dos espermatozoides (Sp) armazenados em um túbulo epididimal; E- Corpo do epidídimo mostrando o aumento do diâmetro dos túbulos, F- Corpo do epidídimo: detalhe de um túbulo cujo lúmen está totalmente preenchido por espermatozoides; G- Cauda demonstrando formato dos túbulos epididimários; H- Detalhe de um túbulo epididimal da cauda.



4.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA DOS ESPERMATOZOIDES

Não foram observadas diferenças significativas em relação à morfologia espermática nas diferentes regiões do epidídimo (Anova- one way) e teste de Newman-Keuls) (defeitos menores: $p=0,791$; defeitos maiores: $p=0,796$) (Tabela 3 e 4; Figura 11).

Foram observadas 13 tipos diferentes de alterações morfológicas (Tabela 4; Figura 12) nos espermatozoides epididimários analisados ($n=10.920$), sendo: defeitos menores (18,40%) e defeitos maiores (23,20%).

Dessas, 18,71% estão relacionadas às anomalias primárias (espermatozoides subdesenvolvidos e cabeça grande); 21,45% relacionadas a anomalias secundárias (espermatozoides decapitados, gota distal, gota proximal, cabeça solta, pseudogota, cauda dobrada e cauda dobrada com gota) e 1,44% a formas abortivas (inserção anormal da peça intermediária, cauda enrolada, forma teratológica e peça intermediária desnuda fibrilada). Dessa forma, não há diferença estatística entre anomalias primárias e secundárias, entretanto, formas abortivas, possuem índices quantitativos menores que as demais patologias.

Tabela 3: Espermatozoides totais e patologias associadas a cada região do epidídimo.

Regiões	Total celular analisado	Total de células patológicas (%)	
		Regional	Órgão
Cabeça Proximal	2662	1178(44,25%)	10,79%
Cabeça Distal	2314	1153 (49,82%)	10,56%
Corpo	2774	1087 (39,18%)	9,95%
Cauda	3200	1126 (34,18%)	10,31%
Total Geral	10920	4544 (41,6%)	

Tabela 4: Análise morfológica de espermatozoides em relação às principais patologias encontradas nas diferentes regiões do epidídimo de caititus. Sp = espermatozoides.

<i>Patologias</i>	Cabeça proximal	Cabeça distal	Corpo	Cauda
<i>Defeitos Menores</i>				
<i>Cabeças solta</i>	207 (7,77%)	489 (21,13%)	276 (10,05%)	202 (6,31%)
<i>Gota citoplasmática distal</i>	126 (4,73%)	80 (3,45%)	135 (4,91%)	215 (6,71%)
<i>Cauda enrolada</i>	39 (1,46%)	12 (0,51%)	21 (0,65%)	31 (1,12%)
<i>Cabeça grande</i>	58 (2,17%)	32 (1,38%)	44 (1,60%)	30 (0,93%)
<i>Cauda dobrada com gota</i>	6 (0,22%)	0 (0%)	0 (0%)	7 (0,21%)
<i>Defeitos Maiores</i>				
<i>Spsubdesenvolvidos</i>	519 (19,49%)	417 (18,02%)	487 (17,74%)	456 (14,25%)
<i>Gota citoplasmática proximal</i>	168 (6,31%)	69 (2,98%)	105 (3,82%)	156 (4,8%)
<i>Inserção anormal da peça intermediária</i>	16 (0,60%)	2 (0,08%)	1 (0,03%)	5 (0,18%)
<i>Forma teratológica</i>	15 (0,56%)	9 (0,38%)	3 (0,10%)	3 (0,09%)
<i>Cauda fortemente dobrada</i>	14 (0,52%)	28 (1,21%)	0 (0%)	5 (0,18%)
<i>Pseudo gota</i>	6 (0,22%)	15 (0,64%)	5 (0,18%)	8 (0,25%)
<i>Sp decapitado</i>	3 (0,11%)	0 (0%)	0 (0%)	18 (0,56%)
<i>Peça intermediária desnuda fibrilada</i>	1 (0,03%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Total de Sp analisados</i>	2662	2314	2744	3200

Figura 11- Porcentagem de defeitos maiores e menores, segundo Blom (1973), observados nos espermatozoides epididimários de caítilus.

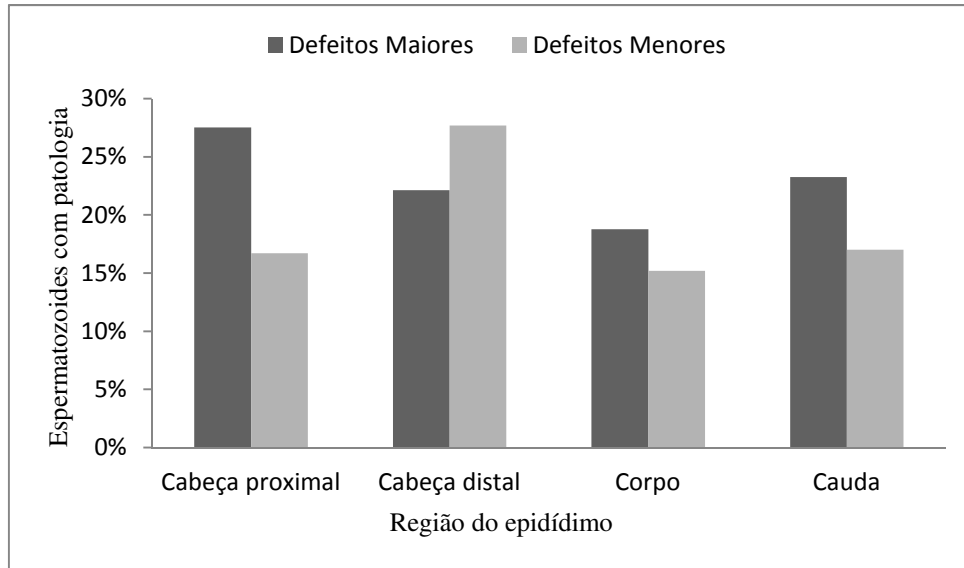
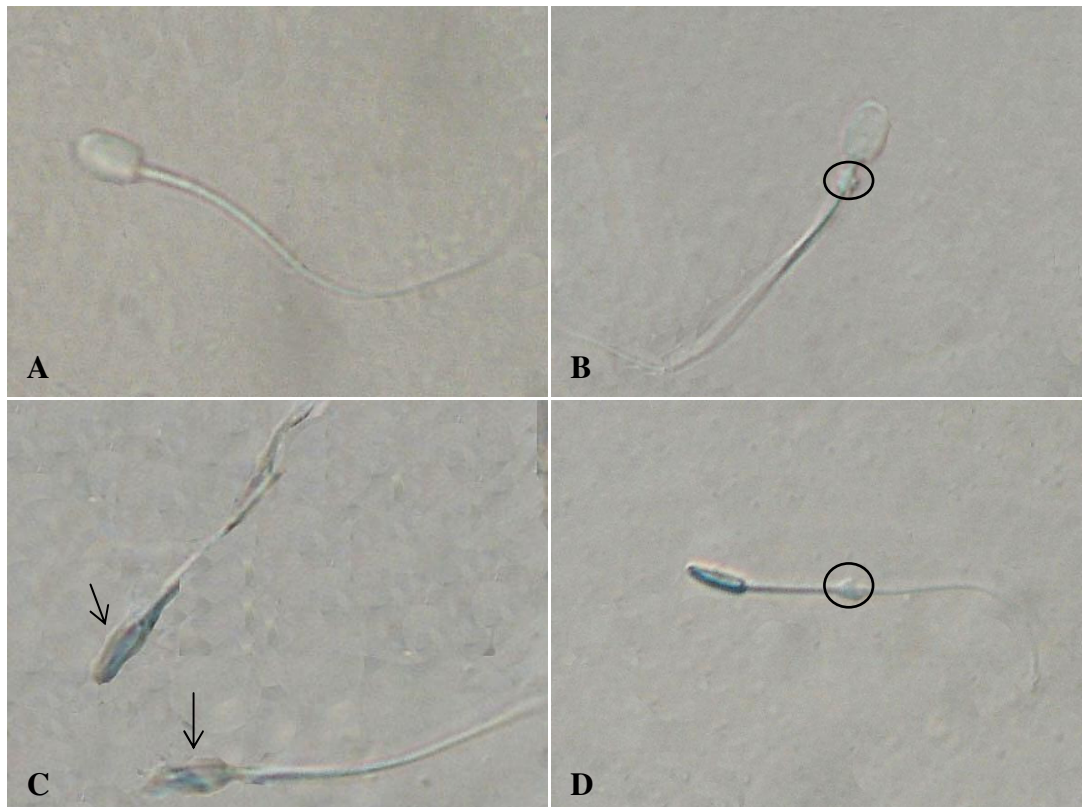


Figura 12- Fotomicrografia de espermatozoides do epidídimo de *Pecari tajacu*. A-Espermatozoide normal B- Espermatozoide com a presença de gota proximal (detalhe da gota demarcada por círculo); C – Espermatozoide com a cabeça e cauda subdesenvolvidos (seta detalhando a cabeça piriforme dos espermatozoides); D- Espermatozoide subdesenvolvido com gota distal (detalhe da gota demarcada por círculo).Ocular 100x.



Analisando as patologias associadas às regiões do epidídimo, segundo o teste de Mann-whitney, constatou-se que não há diferença estatística em relação aos defeitos menores e maiores (cabeça proximal: $U=19,500$; $p=0,189$; cabeça distal: $U= 31,500$; $p=0,958$; corpo: $U=27,000$; $p=0,599$ e cauda: $U=20,000$; $p=0,207$).

Apesar de não haver diferença estatística entre os defeitos maiores e menores, em todas as regiões do epidídimo, os espermatozoides subdesenvolvidos se destacam por serem observados em números elevados, em relação às demais patologias. Sendo esta uma anomalia primária, relacionada à espermatogênese. É possível que problemas nutricionais ou hormonais, ligados ou não aos fatores relacionados a estresse comportamental, devido aos animais provavelmente pertencerem a posição hierárquica mais baixas na estrutura social, estejam interferindo nesse processo. No entanto, é sugerido que outros estudos reprodutivos e comportamentais investiguem mais detalhadamente o problema.

A cabeça proximal, a cabeça distal e o corpo apresentaram grande quantidade de espermatozoides com cabeças soltas, o que poderia ser artefato da técnica de maceração utilizada. Olugbenga e Oniovosa (2005) utilizaram o método de maceração nas mesmas regiões e fluxo retrogrado na cauda do epidídimo de javali (*Sus scrofa scrofa*), e observaram as seguintes patologias: cabeça solta e cauda dobrada, na cabeça e no corpo; cabeça solta e cauda enrolada, na região da cauda.

Segundo Briz et al. (1993), em suínos (*Sus domesticus*), a região da cabeça do epidídimo é caracterizada pela presença de espermatozoides maduros e imaturos com gota citoplasmática proximal, o corpo é caracterizado pela presença de gota citoplasmática distal e por espermatozoides maduros, e a cauda por espermatozoides maduros.

No presente trabalho, na região da cauda foram observadas gotas citoplasmáticas distais. Esta patologia frequentemente é associada à essa região (BEDFORD, 1963). Bezerra et al.(2014) observaram em espermatozoides coletados na cauda do epidídimo de caítilus, que as gotas citoplasmáticas distais representavam 29,6% do total de patologias analisadas. Número bem mais elevado do que o verificado neste trabalho (6,71%). Porém, quando as amostras foram submetidas à centrifugação esse valor diminuiu para 7,8%, segundo os autores supracitados, esse processo levaria ao rompimento da membrana citoplasmática da gota e a liberação do seu conteúdo.

5. COSIDERAÇÕES FINAIS

Os aspectos histológicos das diferentes regiões do epidídimo de caititu (*Pecari tajacu*) são semelhantes à dos suídeos, no que diz respeito ao tipo de tecido e a forma pela qual aparecem distribuídos no epidídimo. Todavia como foi abordado neste trabalho, particularidades foram encontradas ao longo do órgão.

As patologias encontradas nos espermatozoides, presentes em cada região do epidídimo de caititus, são semelhantes em relação à morfologia e a quantidade, se comparadas ao epidídimo de outras espécies de artiodátilos já descritos na literatura.

Os dados deste trabalho são pioneiros, e servirão como base para futuras pesquisas comparativas sobre a biologia reprodutiva dos artiodátilos, contribuindo para a sua conservação e produção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAJI, S.V. Alteration of caput epididymis of bat, *Taphozous longimanus* during reproductive cycle: a microscopic study. **World Journal of Zoology**, v. 8, n.4, p. 392-396, 2013.

AMANN, R. P.A critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. **Journal Andrology**, v.2, p. 37-58, 1981.

AMANN, R. P. Maturation of spermatozoa. **Animal Reproduction**, n.5, p. 320-328, 1988c.

AMANN, R. P et al .Daily spermatozoal production, epididimal spermatozoal reserves and transit time of spermatozoa through the epididimal of the rhesus monkey. **Biology of reproduction**, v. 15, p. 586-592, 1976.

APPLEGATE, E. **Anatomia e fisiologia**. Elsevier , Brasil ,2012.

ARROTÉIA, Kélen Fabíola et al. The epididymis: embryology, structure, function and its role in fertilization and infertility. Embryology-updates and highlights on classic topics. **State University of Campinas (UNICAMP) Brazil**, p.41-63, 2012.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U. ; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.31, n.2, p.205-211, 2007.

BEDFORD, J. M. Morphological changes in rabbit spermatozoa during passage through the epididymis. **Journal Reproduction Fertilization**, v.5, n.169, 1963.

BERTOL, M.A.F. **Viabilidade de espermatozoides bovinos colhidos de epidídimos mantidos em temperatura ambiente de 18-20°C**. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2012.

BEZERRA, José Antônio et al. Influence of recovery method and centrifugation on epididimal sperm from collared peccaries (*Pecari tajacu*, Linnaeus, 1758). **Zoological Science**, v.31, n.5, p.338-342, 2014.

BISSONETTE, J.A. Ecology and Social Behavior of the Collared Peccary in Big Bend National Park. **Scientific Monograph Series**, v.16, 1982.

BLOM, E. Interpretation of spermatic cytology in bulls. **Fertility and Sterility**, Birmingham, , v. 1, p. 223-238, 1950.

BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nordican Veterinarer Medicine**, v. 25, n. 7-8, p. 383-391, 1973.

BODMER, R.E. Ungulate biomass in relation to feeding strategy within Amazonian forest. **Oecologia**, v.81, p.547-550, 1989.

BODMER, R.E. Fruit patch size and frugivory in the lowland tapir (*Tapirus terrestris*). **Journal Zoological**, v.22, p. 121-128, 1990.

BRIZ, M.; BONET, S.; FRADERA, A.A morphologic study of the ductus of the epididymis of *Sus domesticus*. **Journal of Morphology**, v.2,n. 215,p. 183-193, 1993.

BYERS, J.A. **Social behavior and its development in the collared peccary**.(Unpubl.) Ph.D. (Thesis), University of Colorado, Boulder, p.185, 1980.

CARVALHAL, R.; CAGNOTO, D.G; DANIEL, R.J. Aspectos morfológicos dos testículos e funículos espermáticos de catetos. **Brazilian Journal of Morphology Science**, v.17, p.178, 2000.

COSTA, D.S., HENRY, M. & PAULA, T.A.R. Espermatogênese de Catetos (*Tayassu tajacu*). **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.56 p.46-51. 2004.

CRABO, B. Studies on the composition of epididymal content in bulls and boars. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.5, n.6, p.1-94, 1965.

COMIZZOLI Pierre, et al. Successful *in vitro* production of embryos in the red deer (*Cervu selaphus*) and the sika deer (*Cervus nippon*). **Theriogenology**,v.55,p.649–6,2001a.

COMIZZOLI P, MAUGET R, MERMILLOD P. Assessment on *in vitro* fertility of deer spermatozoa by heterologous IVF with zona-free bovine oocytes. **Theriogenology**, v.56, p.261–274,2001b.

DACHEUX, J.L.; GATTI, J.L.; DACHEUX, F. Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. **Microscopy research and technique**, v. 61, n. 1, p. 7-17, 2003.

DACHEUX,J.L.; PAQUIGNON,M. Relation between the fertilizing ability, motility and metabolism of epididymal spermatozoa. **Reproduction Nutritional Development**, v.20, p.1085-109, 1980.

EGBUN KE, G. N.; ELEMOMO, A. O. Testicular and epididymal sperm reserves of crossbred European boars raised and maintained in the humid tropics. **Journal Reproduction Fertilization**, v.54, p. 245-248, 1978.

FAO. **The state of the world's animal genetic resources for food and agriculture**, Rome. 2007.

FICKEL, J.; WAGENER, A.; LUDWIG, A. Semen cryopreservation and the conservation of endangered species. **European Journal Wildlife Resource**, v.53, p. 81–89, 2007.

FILHO, A.C.M.; SILVA, L.D.M. Recuperação e conservação de espermatozoides epididimários de mamíferos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.1, p.1-8, 2012.

GARCIA, Alexandre Rossetto et al. Chilled Semen of Captive Collared Peccaries (*Pecari tajacu*): Effects of Preservation at 17°C on Semen Quality. **Journal of agricultural science and technology**, v.2, p. 921-929, 2012.

GAGNON, A.; SULLIVAN, R.; SIRARD, M.A. Epididymal epithelial cells cultured *in vitro* prolong the motility of bovine sperm. **Journal of Andrology**, v.21, n.6, p.842-847, 2000.

GARCIA, S.K.; BARBOSA, A.S. Características etiológicas, biométricas e seminais de varrões da raça Piau. **Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia**, v.46, n.3, p.279-289, 1994.

GARCIA, A.R.; KAHWAGE, P.R.; OHASHI, O.M. Aspectos reprodutivos de caimitos (*Tayassu tajacu*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, p.71-81, 2009.

GARDE, J et al. Physiological characteristics of epididymal spermatozoa from *post-mortem* rams. **Theriogenology**, v.41, p.2003, 1994.

GOODROWE KL, HAY M. Characteristics and zona binding ability of freshand cooled domestic cat epididymal spermatozoa. **Theriogenology**, v.40, p.967-975, 1993.

GRANEMANN, Luciano et al. Número total de espermatozoides de garanhões obtidos através da colheita com vagina artificial e por fluxo retrógrado da cauda do epidídimo. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.1, p.73-77, 2005.

GUIMARÃES, Diva Anelie et al. Reproductive biology of female collared peccaries (*Tayassu tajacu*) raised in captivity in Amazon region. **VI Symposium Sur l'Utilisation De La Faune Sauvage- VI International Wildlife Ranching Symposium**, Paris, França, p.136-137, 2004.

GUIMARÃES, A.A. **Avaliação de diferentes diluentes na criopreservação de sêmen ovino (*Ovis aries*)**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, 2010.

GUIMARÃES, D.A.A. **Determinação do ciclo estral em catetos *Pecari tajacu*: aspectos colpocitológicos e clínicos**, Acta Amazonica, v. 41, n.4, p.583-588. 2011.

GUIMARAES, Diva Anelie et al. Puberty in male collared peccary (*Pecari tajacu*) determined by quantitative analysis of spermatogenic cells. **Acta amazonica**, v. 43, n.1, p. 99 – 104, 2013.

HELLGREN, Eric et al. Seasonal variation in serum testosterone testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v.85, p.677-686, 1989.

HELLGREN, Eric et al. Demography of a collared peccary population in South Texas. **Journal Wild Management**, v.59, p.153-163, 1995.

HERMANSSON, U. **Studies of canine and feline sperm viability under different storage procedures with special reference to chilling, freezing, and use of zona**

pellucida binding assays. Thesis (Doctoral Veterinary Medicine and Animal Science), Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2006.

HOWARD, J. G. Assisted reproductive techniques in nondomestic carnivores. **Zoo & Wild Animal Medicine**, v. 4, p. 449–457, 1999.

IBRAHIM, Z. H.; SINGH, S. K. Histological and morphometric studies on the dromedary camel epididymis in relation to reproductive activity. **Animal Reproduction Science**, v.149, p. 212–217, 2014.

JAMES, A.N. **Preservation of sperm harvested from the rat, caprine, equine and bovine epididymis**. Dissertation (Program of Animal and Dairy Sciences) Faculty of the Louisiana State University, Louisiana, 2004.

JONES, R. C.; CLULOW, J. Interactions of sperm and the reproductive ducts of the male *Tammar wallaby*, *Macropuseugenii* (Macropodidae: Marsupialia). **Reproduction, Fertility and Development**, v.6, n.4, p.437 – 444, 1994.

LEMOS JÚNIOR, João Bosco et al. **Sistema silvipastoril na produção sustentável de búfalos para carne na pequena propriedade da Amazônia Oriental**. Embrapa, Brasil, 2006.

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 8ª Edição. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 1995.

KAHWAGE, Priscila Reis et al. Biometria testicular, eletroejaculação e características seminais de caititus, *Tayassu tajacu* Linnaeus, 1758 (Mammalia, Artiodactyla, Tayassuidae) mantidos em cativeiro na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, v. 40, n.4, p.771-778, 2010.

KILTIE, R.A. Stomach contents of rain forest peccaries (*Tayassu tajacu* and *T. pecari*). **Biotropica**, v.13, n.3, p.234-236, 1981.

KOZDROWSKI, Roland et al. Possibilities of using the European bison (*Bison bonasus*) epididymal spermatozoa collected post-mortem for cryopreservation and artificial insemination: a pilot study. **Reproductive biology and endocrinology**, v.9, n.31, 2011.

LORENZANA, María Guadalupe.; et al Light and Scanning Electron Microscopic Study of the Epididymis Active State of the Endemic Mexican Rodent *Peromyscus winkelmani* (Carleton) (Rodentia: Muridae) **Anatomy Histology Embryology**, v.36, p. 230–240, 2007.

LOCHMILLER, R.L.; HELLGREN, E.C.; GRANT, W.E. Selected aspects of collared peccary (*Dicotyles tajacu*) reproductive biology. **Zoology Biology**, v.3, p.9-145, 1985.

MARGARIDO, T. C. C.; MANGINI, P. R. **Order Artiodactyla, Family Tayassuidae (Peccaries): Biology and Medicine.** Medicine, and Surgery of South American Wild Animals Biology. Iowa University Press, p.377-391, 2001.

MARTÍNEZ-PASTOR, F. **Obtención post mortem y calidad de los espermatozoides de la cola del epidídimo del ciervo rojo ibérico (*Cervuselaphushispanicus*).** Tesis (Doctorado en Biología Celular y Anatomía), Universidad de León, León, 2004.

MARTÍNEZ-PASTOR, Felipe et al. Comparasion of two methods for obtaining spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian red deer. **Theriogenology**, v.65, p.471-485, 2006.

MAYOR, Pedro, et al .Serum estradiol-17, vaginal cytology and vulval appearance as predictors of estrus cyclicity in the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the eastern Amazon region. **Animal Reproduction Science**, v.97, p.165-174, 2007.

MAYOR, P.G.; BODMER, R.E.; BEJAR, M.L. Reproductive performance of the wild collared peccary (*Tayassu tajacu*) female in the Peruvian Amazon. **Springer**, v.56, p.681-684, 2010.

MAYOR, Pedro, et al. A health evaluation in a colony of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the eastern Amazon.**Research in Veterinary Science**, v.81, p. 246-253, 2006.

MAYOR, P.; LÓPEZ-GATIUS, F.; LÓPEZ-BÉJAR, M. Integrating ultrasonography within the reproductive management of the collared peccary (*Tayassu tajacu*).**Theriogenology**, v.63, p.1832-1843, 2005.

MAYOR, P.; GUIMARAES, D.A.; LÓPEZ-BÉJAR, M. Progesterone and estradiol-17b as a potential method for pregnancy diagnosis in the collared peccary (*Pecari tajacu*).**Research in Veterinary Science**, v.93, p.1413-1417, 2004.

MOREIRA, J.R.; MACDONALD, D.W. **Técnicas de manejo de capivaras e outros grandes roedores na Amazônia.** In **Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil** (C. Valladares-Pádua & R.E. Bodmer, orgs).Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico ,Brasília, 1997.

MONTEIRO, G.A.; GUAISTI, P.N.; PAPA, F.O. Colheita e preservação de células espermáticas de garanhões recuperadas da cauda do epidídimo. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.3, p.448-458,2009.

MOTA FILHO, A.C.; SILVA, L.D.M. Recuperação e conservação de espermatozoides epididimários de mamíferos. **Acta Veterinária Brasileira**, v.6, n.1, p.1-8, 2012.

MURADÁS, Priscilla Ricabone et al .Alguns parâmetros de viabilidade de espermatozoides equinos colhidos por vagina artificial e por lavagem da cauda do epidídimo. **Archives of Veterinary Science**, v.11, p.69-74, 2006.

NICANDER, L; GLOVER, T. D. Regional histology and fine structure of the epididymal duct in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). **Journal Anatomy**, v.114, n.3, p. 347-364 347, 1973.

NOGUEIRA-FILHO, S.L.G.; LAVORENTI, A. O manejo do catetu (*Tayassu tajacu*) e do queixada (*Tayassu pecari*) em cativeiro. **Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil**. Belém, Brasil-Mamirauá-CNPq, p. 106-115, 1997.

NOGUEIRA FILHO, S. L. G.; NOGUEIRA, S. S. C.; SATO, T. A estrutura social de pecaris (Mammalia, Tayassuidae) em cativeiro. **Revista de Etologia**, v. 1, n.2, p. 89-98, 1999.

NOGUEIRA- FILHO, S. L. G; NOGUEIRA, S.S.C. Criação comercial de animais silvestres: produção e comercialização da carne e de subprodutos na região sudeste do Brasil. **Revista Econômica do Nordeste**, v.31, n. 2, p.188-195, 2000.

NOGUEIRA- FILHO, S. L. G; NOGUEIRA, S. S. C. Captive breeding programs as alternative for wild life conservation in Brazil. **People in nature: wildlife management and conservation in Latin America**, 2004.

OLIVA. S. U. ; RINALDO, P. A. STUMPP, T. Biologia epididimária: maturação espermática e expressão gênica. **O Mundo da Saúde**, v.33, n.4, p.419-425, 2009.

ORGBIN-CRIST, M.C. Sperm maturation in rabbit epididymis. **Nature**, v. 216, n.5117, p. 816-818, 1967.

OLUGBENGA, O.M.; ONIOVOSA, U.O. Spermogram and morphological characteristics in testicular and epididimal spermatozoa of large white boar in Nigeria. **International Journal Morphology**, v.23, n.3, p.235-239, 2005.

OLUKOLE, S. G.; OYEYEMI, M. O.; OKE, B. O. Semen characteristics and spermogram of the African greater cane rat (*Thryonomys swinderianus*, Temminick) **Slovak Journal Animal Science**, v. 47, n.3, p.125-131, 2014.

OVALLE, W.K.; NAHIRNEY, P.C. **Novas bases da histologia**. Elsevier, Brasil, 2011.

PRAKASH, S.; PRITHIVIRAS, E.; SURESH, S. Developmental changes of seminiferous tubule in prenatal, postnatal and adult testis of bonnet monkeys (*Macaca radiata*). **Anatomy histological embryology**, v. 37, p. 19-23, 2008.

ROBAIRE, B.; HINTON, B.T.; ORGBIN-CRIST, M. The Epididymis. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**, Third Edition, 2006.

ROBINSON, J.G.; BENNETT, E.L. **Hunting for sustainability in tropical forests**. Columbia university press, 1999.

REDFORD, K. H ;ROBINSON, J. G. **Neotropical wildlife and conservation**. University of Chicago Press, Chicago, USA. p, 520, 1991.

RODRÍGUEZ, D.M.A. **Mejora y evolución de los protocolos de congelación de eyaculados de oso pardo (*Ursus arctos*)**. Tesis (Doctorado el Licenciado en Biología) Universidad de León, León, 2012.

SANTOS, T.C. Morfologia dos ovários, tubas uterinas e útero em catetos (*Tayassu tajacu*, Linnaeus, 1758) e queixadas (*Tayassu pecari*, Link, 1795). **Brazil Journal Veterinary Animal Science**, v.37, n.3, 2000.

SANTOS, P.R.S. **Estudo ultraestrutural do desenvolvimento da espermatogenese e da via espermática de preás (*Galea spixii*; Wagler, 1831) criados em cativeiro**. Dissertação de mestrado. (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia). USP, 2012.

SCHIMMING, Bruno Cesar et al. Observações morfológicas no ducto epididimário do cão. **Brazil journal veterinary research, Animal Science**, v. 39, n. 2, p. 61-65, 2002.

SCHIMMING, Bruno Cesar et al. Light microscope observations on the epididymis of paca (*Agouti paca*). **Italian Journal of Anatomy and Embryology**, v. 118, n. 1, 119-127, 2013.

SCHIMMING, Bruno Cesar et al. Ultrastructure of the epithelium lining of cauda epididymidis in mongrel dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, p, 32-36, 2012.

SCHIMMING, Bruno Cesar ,et al. Light microscope observations on the epididymis of paca (*Agouti paca*). **Histology and Cell Biology**, v .118,n .1, p.119-127, 2013.

SCHWEINSBURG, R.E. **Social behavior of the collared peccary (*Pecari tajacu*) in the Tucson Mountains**.(Unpubl.).Thesis (Ph.D. Biological Sciences) University of Arizona, Tucson, 1969.

SILVA, T.F.P.; ACKERMANN, C. L.; SILVA, L.D.M. Desafios para o desenvolvimento da tecnologia da criopreservação de sêmen felino. **Ciência Animal**. Edição Especial, v.22, n.1, p.143-160, 2012.

SHIVAJI, S. Seminal plasmin: a protein with many biological properties. **Bioscience and Reproduction**, v.8, p.609-618, 1988.

SRIVASTAV, A.; et al. Partial characterization, sperm association and significance of N- and O-linked glycol proteins in epididymal fluid of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Reproduction**, v.127, p. 343-357, 2004.

SONNER, Jussara Barreira, et al. Aspectos macroscópicos e morfométricos dos testículos em catetos e queixadas. **Biota Neotropica**, v.4,n.2, p.1-12, 2004.

SOWLS, L. K. **The peccaries**. The University of Arizona Press, Tuscan, Arizona, 1984.

SOWLS, L.K. **Javelines and other peccaries: their biology, management and use**. College Station: Texas A & M. University Press, 1997.

SULLIVAN, R. Male fertility markers, myth or reality. **Animal Reproduction Science**, v.82- 83, p.341- 347, 2004.

- TANAGHO, E. A.; MCANINCH, J.W. **Urologia Geral de Smith**. Artmed, 2001.
- TAKESHITA, Rafaela Sayuri Cicalise et al. **Aspectos histológicos dos ovários e testículos de macacos-da-noite, *Aotus azarai infulatus* (Kuhl, 1820)**. A primatologia no Brasil, p. 13, 2014.
- TSUTSUI, Tau, et al. Artificial insemination with frozen epididimal sperm in cats. **Journal Veterinary Medical Science**, v.65, p.397-399, 2003.
- TULSIANI, D.R.P. Glycan-modifying enzymes in luminal fluid of the mammalian epididymis: an overview of their potential role in sperm maturation. **Molecular Cellular Endocrinology**, v. 250, p. 58-65, 2006.
- VARONA, L.S. **Catalogo de 10s mamiferos vivientes y extinguidos de las Antillas**. Havana: Academia de Ciencias de Cuba, 1973.
- VENTURIERI, B.; LE PENDU, Y. Padrões de atividades de caíto (*Tayassu tajacu*) em cativeiro. **Revista de Etologia**, v.8, n.1, p.35-43, 2006.
- WILDT, D.E.; BROWN, J.L.; SWANSON, W.F. **Reproduction in cats. Encyclopedia of Reproduction**. Academic Press, p. 497–510, 1998.