



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONSERVAÇÃO DA FAUNA

Descrição anatômica com avaliação ultrassonográfica e
histológica de testículos de *Leontopithecus chrysomelas* (Kuhl,
1820), Callitrichidae, Primates

MICHELLE NOGUEIRA LUNDSTEDT

SÃO CARLOS
2025

MICHELLE NOGUEIRA LUNDSTEDT

Descrição anatômica com avaliação ultrassonográfica e
histológica de testículos de *Leontopithecus chrysomelas* (Kuhl,
1820), Callitrichidae, Primates

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Conservação da Fauna
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Conservação da
Fauna.

Orientadora: Profa. Dra. Paloma Rocha
Arakaki Henriques

SÃO CARLOS
2025

Lundstedt, Michelle Nogueira

Descrição anatômica com avaliação ultrassonográfica e histológica de testículos de *Leontopithecus chrysomelas* (Kuhl, 1820), Callitrichidae, Primates / Michelle Nogueira Lundstedt -- 2025.
72f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos

Orientador (a): Paloma Rocha Arakaki Henriques

Banca Examinadora: Paloma Rocha Araraki Henriques, Alcides Pissinatti, Gessiane Pereira da Silva, Daniel Guimarães Ubiali, Frederico Ozanan Barros Monteiro

Bibliografia

1. Análise anatômica, ultrassonográfica e histológica dos testículos e epidídimos de *Leontopithecus chrysomelas*, visando caracterizar sua morfologia e funcionamento reprodutivo. O estudo contribui para conhecimento biológico e estratégias de conservação da espécie.. I. Lundstedt, Michelle Nogueira. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Arildo Martins - CRB/8 7180



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências da Natureza
Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Michelle Nogueira Lundstedt, realizada em 29/09/2025.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Paloma Rocha Arakaki Henriques (DBB/SEMIL)

Prof. Dr. Alcides Pissinatti (CPRJ)

Profa. Dra. Gessiane Pereira da Silva (UFOPA)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna.

AGRADECIMENTOS

Este foi um trabalho construído por muitas mãos, mentes e corações. Apesar das dificuldades, chegou ao fim, e me sinto profundamente privilegiada por ter contado com uma equipe de cientistas tão capacitada ao longo dessa trajetória.

À minha orientadora, Dra. Paloma Rocha Arakaki Henriques, minha eterna gratidão. Você foi mais do que uma guia acadêmica: foi apoio, paciência, empatia e amizade. Obrigada por cada ensinamento transmitido e por estar sempre presente, com firmeza e delicadeza.

À UFSCar, especialmente ao PPGCFau, à coordenadora Alexandra Sanches e a todo o corpo docente, meu sincero agradecimento. As disciplinas cursadas não transformaram apenas a “Michelle profissional”, mas também a “Michelle humana”. Obrigada por compreenderem minhas necessidades acadêmicas e pessoais, e por fazerem da empatia um diferencial essencial para que este projeto fosse concluído.

Agradeço também às instituições parceiras CPRJ, UFRRJ e UNIFESO. Em especial ao Dr. Alcides Pissinatti, Dra. Silvia Bahadian Moreira, Dr. Daniel Ubiali, Dra. Adriana Ventura, Dr. Fernando Luis Fernandes Mendes, Dra. Marceline Luz e suas equipes. Sem o apoio de cada um, este trabalho não teria se concretizado. Obrigada pela generosidade, pela orientação e pelo conhecimento compartilhado.

À minha mãe, Maria da A. N. Lundstedt, obrigada por acreditar em mim em cada passo, por apoiar minhas escolhas e por me incentivar mesmo nos momentos mais difíceis. Sem você, eu talvez não tivesse chegado até aqui.

Aos meus amigos, que prefiro não nomear para não ser injusta, mas que sempre estiveram presentes nas lágrimas e nos sorrisos. Tenho uma rede de apoio incrível, de pessoas que se tornaram verdadeiramente família.

À Dra. Roberia Silva, obrigada por ouvir, orientar e desatar os nós da minha mente. Sua sabedoria e profissionalismo fizeram toda a diferença.

Aos meus queridos companheiros de quatro patas — Caetano, Tadeu, Cindy Lauper, Simon e Cheetara —, que transformaram desafios aparentemente impossíveis em momentos mais leves e felizes.

E a todos os animais que passaram pela minha vida: há um pouquinho de cada um em cada conquista que realizo. Sou imensamente grata por ter o privilégio de conviver e trabalhar com seres tão extraordinários. Por fim, celebro: Viva a ciência brasileira!

Dedico o presente trabalho a todos os
animais que tive o privilégio de conviver.
Obrigada pelos ensinamentos!

RESUMO

A fragmentação do habitat limita os deslocamentos e acasalamentos do *Leontopithecus chrysomelas*, reduzindo a variabilidade genética e aumentando o risco de consanguinidade. No Estado do Rio de Janeiro, indivíduos introduzidos acidentalmente em uma área de Mata Atlântica, representam ameaça à fauna local e à saúde pública, devido ao risco de hibridismo e transmissão de patógenos desconhecidos. Nesta pesquisa foi realizado um estudo anatômico dos testículos de *L. chrysomelas* utilizando exames ultrassonográfico e histológico dos diferentes estágios de maturação por meio da identificação da linhagem espermatogênica presente no epitélio germinativo dos túbulos seminíferos. O resultado será a descrição morfológica de testículos e epidídimos para esta espécie e o conhecimento gerado poderá apoiar estudos comparativos da ecologia reprodutiva dos primatas Neotropicais, além de auxiliar o desenvolvimento de técnicas, como a criopreservação do tecido testicular.

Palavras-chave: mico-leão-de-cara-dourada, conservação, reprodução, anatomia

ABSTRACT

Habitat fragmentation limits the movement and mating of *Leontopithecus chrysomelas*, reducing genetic variability and increasing the risk of inbreeding. In Rio de Janeiro State, individuals accidentally introduced into an area of the Atlantic Forest pose a threat to local wildlife and public health due to the risk of hybridization and transmission of unknown pathogens. This research conducted an anatomical study of the testes of *L. chrysomelas* using ultrasound and histological examinations of the different stages of maturation, identifying the spermatogenic lineage present in the germinal epithelium of the seminiferous tubules. The result will be a morphological description of the testes and epididymis of this species, and the knowledge generated may support comparative studies of the reproductive ecology of neotropical primates, as well as aid in the development of techniques such as cryopreservation of testicular tissue.

Keywords: Golden-headed lion tamarin, conservation, reproduction, anatomy

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 01:** Representação do gênero *Leontopithecus* e da ocorrência geográfica de cada espécie. EN – Em Perigo, em verde Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção e em vermelho Lista Vermelha IUCN (Mittermeier, et al., 2022). -----18
- Figura 02:** Distribuição geográfica de *Leontopithecus chrysomelas* (Rylands et al., 2002).---
-----20
- Figura 03:** Órgãos externos do sistema reprodutor masculino de *Leontopithecus chrysomelas*, CP 3915. Fonte: arquivo pessoal. -----21
- Figura 04:** Fotografia de caixa transporte de madeira com visor e furos para ventilação.---30
- Figura 05:** *Leontopithecus chrysomelas* – Fotografia das fases do processo de captura e contenção manual, química além da identificação e a pesagem: 1.Contenção física utilizando puçá; 2.Contenção química com aplicação de sedativo intramuscular; 3.Indivíduo, já sedado, realizando pesagem para mensuração de peso corpóreo; 4.Leitura de microchip para identificação. Fonte: arquivo pessoal.-----30
- Figura 06:** *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia do Procedimento de tricotomia circungenital (1) e do exame ultrasonográfico em (2 , 3 A e 3B). Fonte: arquivo pessoal. --
-----31
- Figura 07:** *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia da medição da bolsa escrotal com o uso de fita métrica. Fonte: arquivo pessoal. -----33
- Figura 08:** *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia da medição testicular com o uso de paquímetro Mitutoyo. Em A – comprimento, B – largura e C – profundidade. Fonte: arquivo pessoal.----- 33
- Figura 09:** *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia do ato de aprofundamento anestésico oral com isoflurano e monitoramento de sinais vitais em (A). Em (B) Após a assepsia a montagem do campo cirúrgico. Fonte: arquivo pessoal. -----35
- Figura 10:** *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia do ato de incisão cirúrgica da bolsa escrotal para a exposição da gônada (A) e selamento vascular e secção do cordão espermático com o uso de bisturi ultrassônico (B). Fonte: arquivo pessoal.-----35

Figura 11: *Leontopithecus chrysomelas*. Fotografia da identificação de cada testículo e epidídimo após a remoção cirúrgica. Fonte: arquivo pessoal.-----35

Figura 12: *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia sobre a pesagem e a distribuição do material no líquido fixador de Bouin. Fonte: arquivo pessoal. -----36

Figura 13: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4014. Indivíduo juvenil, sem posição hierárquica definida no grupo. Fotografia do exame ultrassonográfico evidenciando arquitetura testicular direita sem alteração e esquerda com alterações compatíveis com degeneração testicular. Fonte: Dra Marcelline Luz -----38

Figura 14: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4005. Indivíduo juvenil, sem posição hierárquica definida no grupo. Fotografia do exame ultrassonográfico evidenciando arquitetura testicular direita e esquerda sem alteração na imagem ultrassonográfica. Fonte: Dra Marcelline Luz ---
-----38

Figura 15: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4010. Indivíduo adulto, dominante. Fotografia do exame ultrassonográfico evidenciando arquitetura testicular direita e esquerda sem alteração na imagem ultrassonográfica. Fonte: Dra Marcelline Luz----- 38

Figura 16: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4009. Indivíduo adulto, satélite. Fotografia do exame ultrassonográfico evidenciando arquitetura testicular direita e esquerda sem alteração na imagem ultrassonográfica. Fonte: Dra Marcelline Luz -----39

Figura 17: Regressão linear entre o peso corpóreo (kg) e peso testicular total (g) de 11 indivíduos de *Leontopithecus chrysomelas*. O coeficiente de regressão mostrou que, para cada aumento de 1 kg no peso corporal, o peso testicular total aumentou, em média, 2,274 g. ---45-45

Figura 18: Análise de Bland-Altman, comparando as diferenças entre os métodos de aferição de massa testicular (pesagem na balança e estimativa pelas fórmulas a partir da morfometria testicular) de 11 indivíduos de *Leontopithecus chrysomelas*. Quando avaliados pelo método da balança os valores encontrados foram, em média, 0,206 unidades maiores do que a massa testicular estimada pelas fórmulas. -----46

Figura 19: *Leontopithecus chrysomelas*, CP 4110 macho. Testículo e epidídimo de animais juvenis (pré-pubere). **Fotomicrografia** do testículo e do epidídimo de pré puber: (*) Túbulos seminíferos com ausência de lúmen e (**) Ductos epididimários com diâmetro reduzido; Epidídimo apresentando diferenças morfológicas em relação ao diâmetro dos segmentos do ducto epididimário e epitélio de revestimento em área medial da fotomicrografia. HE. Barra de 500 µm. -----47

Figura 20: *Leontopithecus chrysomelas*. Testículo de animal pré-pubere (CP 4110). **Fotomicrografia** do Testículo e Epidídimo esquerdo em corte transversal (A - D); Testículo esquerdo em corte transversal (A e B); Epidídimo direito em corte transversal (C e D). Segmentos dos túbulos seminíferos com células de Sertoli, espermatogônias e a presença de poucos espermátócitos (representados pelas células em divisão celular). Em maior aumento, observa-se o surgimento de pequenos espaços na região central de vários segmentos dos túbulos seminíferos, que tem em média 8,56 mm de diâmetro. Os segmentos do ducto epididimário são revestidos por epitélio pseudoestratificado cilíndrico (ou colunar) com estereocílios. As células mioides encontram-se ao redor do ducto. São observados poucos segmentos do ducto epididimário, esses se mostram envoltos por uma quantidade moderada de estroma. São observados segmentos do ducto epididimário em diferentes diâmetros (os ductos da área mais desenvolvida mediram em média 15,9mm de diâmetro). Te: testículo; Ep: Epidídimo; TuSem_j: túbulo seminífero juvenil; Esp_c: espermátócitos; Esp_g: espermatogônias; I: interstício; C_I: células intersticiais; C_M: células mioides; L: Lúmen; Estr: Estroma; Cél_d: células em divisão celular (espermátócitos em divisão celular); Ep_g: Epitélio Germinativo; Duc_Ep: Ducto Epididimário; Duc_Ep: Epitélio Pseudoestratificado do Ducto Epididimário; Célula de Sertoli. Bar: 500 µm. HE ----- 48

Figura 21: *Leontopithecus chrysomelas*. A - D. Testículo pré-pubere (CP 3939). Epidídimo e testículo em corte transversal. A: Os segmentos do ducto epididimário apresentam lúmen (L) e revestimento por epitélio pseudoestratificado cilíndrico ou colunar com estereocílios, mostrando diferenças no diâmetro dos segmentos (em média 6,1 mm a 15,9 mm de diâmetro). Os segmentos do ducto (Duc) mostram-se envoltos por uma quantidade moderada de estroma (Estr). B: Testículo em menor aumento, com túbulos seminíferos juvenis (TuSem_j) apresentando poucas células formando o epitélio germinativo e aparente ausência de lúmen. O interstício (I) contém apenas células intersticiais. C e D: Testículo em maior aumento, com observação da túnica albugínea (Tun_A); Segmentos dos túbulos seminíferos juvenis (TuSem_j) mostrando pequenas aberturas na região central que dão início a formação do lúmen (L). Na periferia dos túbulos, são observadas espermatogônias (Esp_g), células de Sertoli (Cél_Ser) e espermátócitos (Sp_c) representados pelas células em divisão celular (Cél_D) na região central dos túbulos. -----50

Figura 22: *Leontopithecus chrysomelas*. Fotomicrografia de Testículo e epidídimo de animal adulto (CP 3994): *Túbulos seminíferos com lúmen definido, ** Assim como no epidídimo dos animais pré-puberes, os ductos epididimários apresentam diâmetro reduzido; Epidídimo.apresentando com diferenças morfológicas em relação ao diâmetro dos segmentos do ducto epididimário e epitélio de revestimento em área medial* da fotomicrografia. HE. Barra de 500 µm.-----51

Figura 23: *Leontopithecus chrysomelas*. Fotomicrografia de Indivíduo Adulto (CP 3934). Testículo e epidídimo em corte transversal. A e B: Observam-se segmentos dos túbulos seminíferos adultos (TuSem_a) com epitélio germinativo (Ep_G) espesso com alta

celularidade. As espermatogônias (Esp_g) e células de Sertoli (Cél_Ser) estão localizadas na periferia dos túbulos; Os espermatócitos são representados pelas células em divisão celular (Cel_d), visíveis da segunda camada epitelial até a região adluminal; O lúmen (L) é evidente; São observadas espermátides (Esp_t) com núcleos ovais inseridos no epitélio e flagelos voltados para o lúmen. O tamanho médio dos túbulos seminíferos foi de 20,28 mm de diâmetro. No interstício (Ic), células intersticiais, estroma e células de Leydig (Cél_L). C e D: No epidídimo, observa-se ainda heterogeneidade no diâmetro dos segmentos do ducto (Duc_Epi) e no revestimento. Lúmen (L) bem definido contendo espermatozoides. Algumas regiões contêm segmentos com diâmetro menores, revestidos por epitélio simples variando de cúbico a cilíndrico (ou colunar) (diâmetro médio de 7,77 mm); outras regiões mais desenvolvidas apresentam segmentos revestidos por epitélio pseudoestratificado cilíndrico (colunar) com estereocílios (Ep_Epi) (diâmetro médio de 17,43 mm). Nas regiões com ductos menores (menos desenvolvidos), há uma quantidade maior de estroma (Estr) em relação a regiões mais desenvolvidas. Bar: 500 µm. HE -----52

Figura 24: *Leontopithecus chrysomelas*. Testículo na macro. É possível ver que o testículo direito é maior que o testículo esquerdo. Fonte: arquivo pessoal. -----53

Figura 25: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4014, macho. Fotomicrografia de Testículo e epidídimo direito em corte transversal. A e B: Observam-se segmentos de túbulos seminíferos revestidos por epitélio germinativo (Ep_G). Esse epitélio é constituído por diferentes tipos celulares: células de Sertoli (Cél_Ser) e células da linhagem germinativa, incluindo espermatogônias (Sp_g), localizadas na região basal; espermatócitos (Sp_c), identificados como células em divisão; e espermátides (Sp_t), posicionadas com seus flagelos voltados para o lúmen (L). No interstício (I), destacam-se as células de Leydig (Cél_L) ou intersticiais (IC). Bar: 500 µm. HE -----54

Figura 26: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4014, macho. Fotomicrografia de Testículo e epidídimo esquerdo em corte transversal. A e B: Observam-se túbulos seminíferos com acentuado processo degenerativo, caracterizados por desorganização do epitélio germinativo (Ep_G), rarefação ou ausência de células da linhagem espermatogênica e aumento do lúmen tubular (L). O interstício apresenta relativa preservação, com presença de células de Leydig (Cél_L) dispersas. Bar: 500 µm. HE -----54

Figura 27: *Leontopithecus chrysomelas*. Indivíduo pré-pubere (CP 4093). Testículo esquerdo em corte transversal. A e B: Observa-se hipoplasia testicular, caracterizada por túbulos seminíferos de formato irregular, com ausência parcial de estratificação do epitélio germinativo. com predomínio de células de Sertoli e presença reduzida de espermatogônias. Ausência de espermatócitos I, II, espermátides e espermatogônias. Bar 500 µm. -----55

LISTA DE TABELA

- Quadro 01:** *Leontopithecus chrysomelas* – Relação dos indivíduos que participam do estudo, suas origens, faixa etária-----29
- Quadro 2:** *Leontopithecus chrysomelas*. Relação dos dados dos animais com a morfometria visualizada no exame de ultrassonografia, correlacionando origem, faixa etária, posição hierárquica e peso corpóreo de cada indivíduo. -----41
- Quadro 3:** *Leontopithecus chrysomelas*. Dados da morfometria testicular. TD – testículo direito; TE – testículo esquerdo.-----43
- Quadro 04:** *Leontopithecus chrysomelas*. Correlação das características de cada indivíduo, com dados coletados na ultrassonografia e valores dos cálculos de volume testicular total inferido pela fórmula, o peso testicular total aferido pela pesagem na balança, e valores calculados da massa testicular total e tamanho relativo dos testículos.-----44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 PRIMATAS NEOTROPICAIS	14
1.2 GÊNERO <i>LEONTOPITHECUS</i> (HERSHKOVITZ, 1977)	14
1.3 <i>LEONTOPITHECUS CHRYSOMELAS</i> (KUHL, 1820)	16
1.4 SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO	17
1.4.1 Testículos	18
1.4.2 Epidídimos	19
1.5 ULTRASSONOGRAFIA	20
1.6 HISTOLOGIA	21
1.7 CASTRAÇÃO: INDICAÇÃO E EFEITOS	22
2. JUSTIFICATIVA	23
3. OBJETIVO GERAL	23
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4. METODOLOGIA	24
4.1 ANIMAIS	24
4.2 CONTENÇÃO QUÍMICA	25
4.3 ULTRASSONOGRAFIA DE BOLSA ESCROTAL	26
4.4 MORFOMETRIA TESTICULAR	27
4.5 ORQUIECTOMIA	29
4.6 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO E ANÁLISE MICROSCÓPICAS	31
4.6.1 Amostras de Tecidos	31
4.6.2 Processamento Histológico	31
4.6.3 Análise Microscópica	31
5. RESULTADOS	32
5.1 ULTRASSONOGRAFIA	32
5.2 MORFOMETRIA TESTICULAR	35

5.2.1 Exame Histológico Dos Testículos De Indivíduos Juvenis (N=6)-39	
5.2.2 Exame Histológico Dos Ductos Epididimários De Indivíduos juvenis (N=6) 42	
5.2.3 Análise dos Testículos de Indivíduos Adultos (N=8) -----43	
5.2.4 Análise do Ducto Epididimário de Indivíduos Adultos (N=8)- 44	
5.2.5 Achados da Ultrassonografia, Histologia e Fenótipo ----- 46	
6. DISCUSSÃO-----48	
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS-----51	
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA-----54	
ANEXO I-----60	
ANEXO II-----61	
ANEXO III-----62	

1. Introdução

1.1 Primatas Neotropicais

Os primatas Neotropicais, também conhecidos como Platyrrhini ou Plátirinos, são um grupo diversificado de primatas encontrados nas florestas tropicais da América Central e do Sul. Este grupo se distingue dos primatas do Velho Mundo (Catarrhini) por várias características anatômicas e comportamentais. Morfologicamente, os plátirinos apresentam narinas separadas por uma faixa de pele longa e narinas voltadas para as laterais. A cauda pode ter característica preênsil, o que permite utilizá-la na locomoção, alimentação e manipulação de objetos. A dentição também é uma característica que difere esse grupo, geralmente eles possuem 3 pré-molares em cada quadrante (Hershkovitz, 1977).

Esses primatas estão divididos em cinco famílias principais. Os Callitrichidae abrangem espécies de saguis e micos, como os *Leontopithecus* e os *Callithrix*; Cebidae é a família onde encontramos os *Cebus*, *Sapajus* e os *Saimiri*; Atelidae é formada por *Ateles*, *Brachyteles* e *Alouatta* (Rylands & Mittermeier, 2024; Ford & Davis, 1992); Pitheciidae, constituída por duas subfamílias, Callicebinae (gêneros *Callicebus*, *Cheracebus*, *Plecturocebus*, *Callicebus*) e Pitheciinae (gêneros *Pithecia*, *Chiropotes*, *Cacajao*); Aotidae representada pelo gênero *Aotus*.

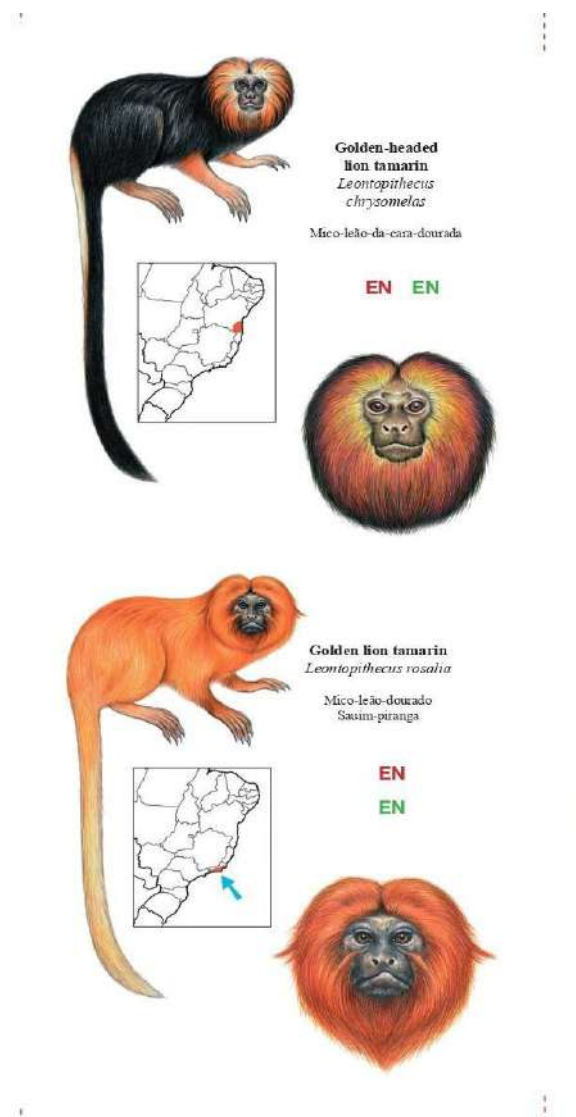
Os primatas Platyrrhini apresentam comportamentos sociais e ecológicos muito diferenciados entre si. A dieta pode incluir frutas, folhas, insetos e pequenos vertebrados. Na locomoção, os *Ateles* usam a braquiação, os *Callithrix* se movem por saltos e os *Cebus* por quadrupedalismo. Também apresentam organização social com hierarquia bem definida, podem variar de pequenos grupos familiares ou não (Callitrichidae) a grandes grupos complexos (Atelidae) (Rylands et al., 2000). Os *Aotus* são primatas noturnos, diferenciando dos hábitos das outras famílias apresentadas, são popularmente conhecidos como macaco-coruja por conta da anatomia de seus olhos adaptados para visão noturna. Já os animais pertencentes da família Pitheciinae, apresentam dieta especializada em sementes, com dentição robusta e músculos mandibulares bem desenvolvidos para consumir sementes duras (Carneiro, 2015).

Esses grupos habitam florestas tropicais e subtropicais na América Central e América do Sul. São predominantemente arborícolas e desempenham papel ecológico vital na dispersão de sementes. Muitas espécies estão ameaçadas de extinção devido sua distribuição geográfica conflitante com áreas urbanas, caça e tráfico ilegal. Esforços de conservação têm sido empregados ao longo dos anos, os quais incluem a criação de áreas protegidas, programas de

reprodução em cativeiro e iniciativas de educação e conscientização ambiental (Rylands & Mittermeier, 1995).

1.2 Gênero *Leontopithecus* (Hershkovitz, 1977)

Popularmente chamados de micos-leões, o gênero *Leontopithecus* é um grupo de pequenos primatas endêmicos da Mata Atlântica do Brasil, e apresentam pelagem que se assemelha à juba de um leão. Eles pertencem à Ordem dos Primatas, Família Callitrichidae. As espécies que contemplam esse gênero são *Leontopithecus rosalia* (mico-leão-dourado) (Linnaeus, 1766), *Leontopithecus chrysomelas* (mico-leão-de-cara-dourada) (Kuhl, 1820), *Leontopithecus chrysopygus* (mico-leão-preto) (Mikan, 1823) e *Leontopithecus caissara* (mico-leão-da-cara-preta) (Kleiman & Rylands, 2002) (Figura 01).



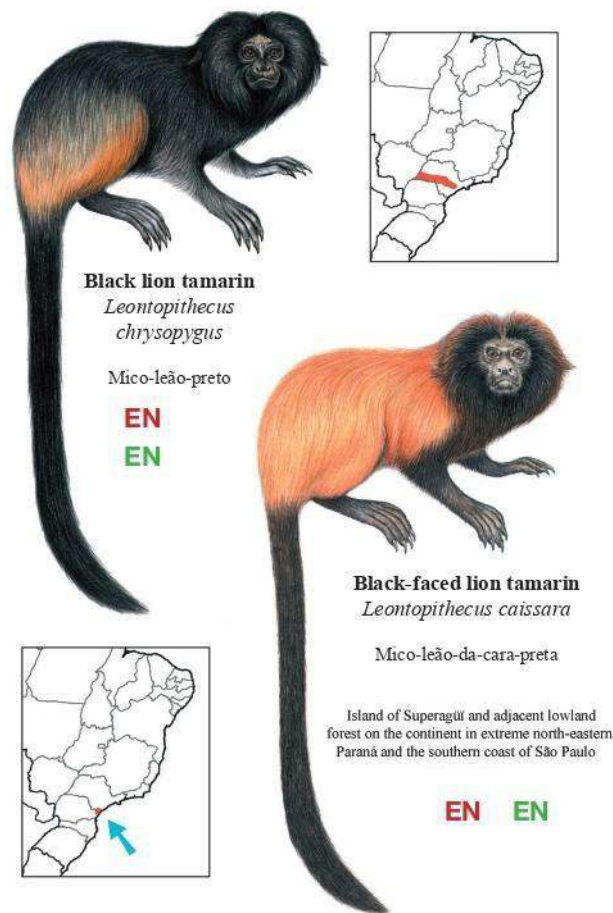


Figura 01: Representação do gênero *Leontopithecus* e da ocorrência geográfica de cada espécie. EN – Em Perigo, em verde Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção e em vermelho Lista Vermelha IUCN (Mittermeier, et al., 2022).

Os micos-leões habitam principalmente áreas de Mata Atlântica. Esses habitats incluem florestas primárias e secundárias, que são áreas críticas para a sua sobrevivência devido aos conflitos com a urbanização crescente (Coimbra Filho, 1976). São animais com hábitos diurnos e altamente sociais. Apresentam uma dieta diversa, e consomem frutas, insetos, pequenos vertebrados e néctar. Possuem comunicação vocal elaborada e comportamentos complexos de forrageamento (Rylands *et al.*, 1993).

Todas as espécies desse gênero estão classificadas como ameaçadas de extinção pela União Internacional para a Conservação da Natureza (*International Union for Conservation of Nature* - IUCN) e pela Portaria MMA nº 148 (MMA, 2022), sendo a maior causa a destruição do habitat, fragmentação florestal e tráfico. São diversos os esforços implementados para conservação

desses grupos, incluindo programas de manejo *ex situ*, banco genético de germoplasma, restauração de habitats e conexão de fragmentos de florestas através de corredores ecológicos. Primatas Neotropicais são foco de pesquisas sobre sua ecologia reprodutiva devido à falta de dados disponíveis, oscilações e declinações das populações de espécies desse grupo (Arakaki, 2017).

1.3 *Leontopithecus chrysomelas* (Kuhl, 1820)

O mico-leão-de-cara-dourada apresenta pelagem preta no corpo, uma densa juba dourada ao redor da face e membros também dourados (Figura 02). O comprimento do corpo varia de 25 a 33 cm e sua cauda pode chegar a 40 cm. Apresenta peso corporal médio entre 500 e 700 gramas, também possui cauda longa e não preênsil. Esta espécie demonstra comportamento sociável, sua principal atividade é a catação, que além de realizar a higiene do grupo, estabelece e fortalece os laços. Apenas as fêmeas e machos dominantes do grupo são quem se reproduzem, porém, todos os integrantes têm responsabilidades nos cuidados com os filhotes. São arborícolas, têm preferência pela copa das árvores, alternam a locomoção entre saltos e deslocamento quadrúpede (Oliveira et al, 2021).

O *Leontopithecus chrysomelas* pode ser encontrado na Mata Atlântica, tem preferência por locais quentes e úmidos. Endêmico do Sudeste da Bahia, onde está localizada a Reserva Biológica de Una (Figura 02). Tem preferência por florestas primárias, mas devido às pressões antrópicas e desmatamentos, também é visto em florestas secundárias, fragmentos de mata e áreas de reflorestamento (Kleiman & Rylands, 2002). Atualmente observa-se muitos fragmentos de florestas isolados por cidades, plantações e estradas, restringindo deslocamentos e acasalamentos com outros grupos e diminuindo a variabilidade genética dessa espécie, levando a preocupação com a consanguinidade (Pereira, 2010).

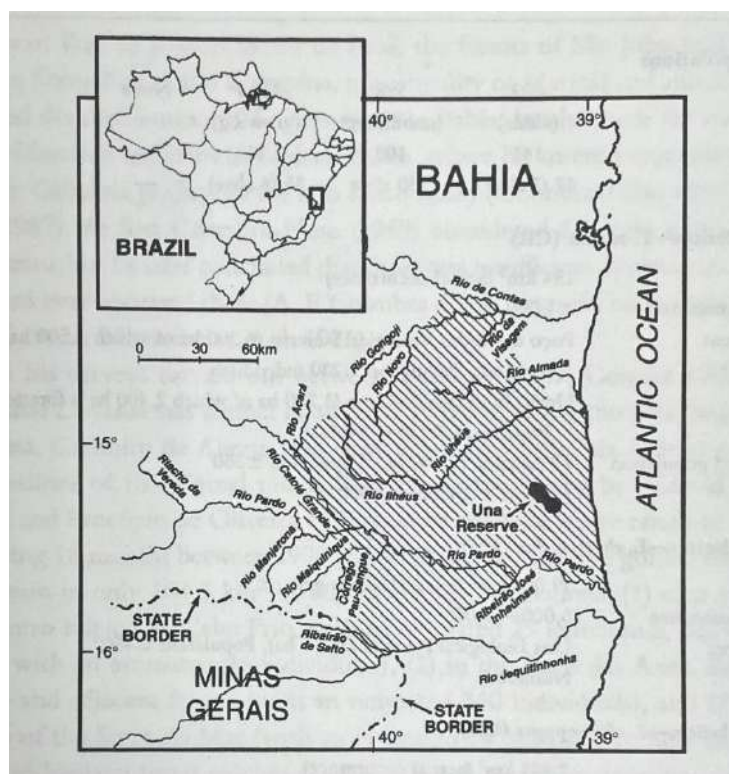


Figura 02: Distribuição geográfica de *Leontopithecus chrysomelas* (Rylands et al., 2002).

No Estado do Rio de Janeiro são encontrados exemplares de *L. chrysomelas* que foram introduzidos, tornando-se uma ameaça à sobrevivência do *Leontopithecus rosalia* (Linnaeus, 1766), uma vez que estes são endêmicos da Matas Atlântica do Norte Fluminense e apresentam grande vulnerabilidade quando entram em conflito com o *L. chrysomelas* (Machado, 2013). Essas espécies competem pelos mesmos alimentos e território, além da ocorrência de hibridização (Rego, 2017). De acordo com a Portaria ICMBIO nº 134 de dezembro de 2012, o manejo adequado de táxons *in situ* e *ex situ* visa promover sua conservação a longo prazo. Conjuntamente, devem ser implementadas medidas mitigadoras para os riscos decorrentes das populações alóctones de espécies com potencial invasor. Dessa forma, a disseminação de conhecimentos essenciais à conservação serão gerados, constituindo instrumentos fundamentais para formulação de estratégias e a tomada de decisões na gestão conservacionista. Dito isso, a recomendação é a remoção dos *L. chrysomelas*, pois os mesmos conferem riscos aos *L. rosalia* (Machado, 2013).

Além dos prejuízos à fauna local, a introdução de espécies exóticas é uma importante questão de saúde pública, por apresentar alto risco de transmissão de agentes patogênicos

desconhecidos, inclusive zoonoses (Andrade, 2025). Por serem animais cativantes, não é difícil a aproximação dos humanos que ofertam alimentos para esses indivíduos, facilitando a mobilidade de possíveis patógenos, uma das problemáticas do conflito humano-fauna (Gonçalves et al., 2025). Muitas vezes o manejo *ex situ* é necessário para o mico-leão-da-cara-dourada, devido a diminuição do seu local de origem, altos custos para programas de reintrodução da espécie e, em determinados casos, alterações em sua integridade física que impossibilitam a soltura (Moraes, 2011).

1.4 Sistema reprodutor masculino

O sistema reprodutor masculino de muitos mamíferos é composto pelos testículos, epidídimos, ductos genitais (ducto deferente, ducto ejaculatório e uretra) e pênis (Figura 03). Além disso, inclui glândulas acessórias, como a próstata, as vesículas seminais e as glândulas bulbouretrais (Ferraz, 2015). Neste trabalho, será foco de pesquisa os testículos e epidídimos.



Figura 03: Órgãos externos do sistema reprodutor masculino de *Leontopithecus chrysomelas*, CP 3915. Fonte: arquivo pessoal.

1.4.1 Testículos

Os testículos são os principais órgãos sexuais masculinos, também denominados como gônadas, e exercem duas funções principais: a função exócrina, relacionada à produção e liberação de espermatozoides, e a função endócrina, voltada para a secreção de hormônios sexuais masculinos, fundamentais para a manutenção das características sexuais secundárias e do funcionamento do sistema reprodutor. Formam-se na cavidade abdominal e migram para o interior do saco escrotal. Durante esse deslocamento, seu tecido conjuntivo passa por

significativas transformações estruturais, tornando-se predominantemente fibroso, rico em fibras colágenas e elásticas (Chaves, 2006).

Cada testículo é quase totalmente revestido por uma dupla camada de peritônio, denominada túnica vaginal, adquirida na cavidade abdominal durante sua descida para o escroto. Assim como ocorre em membranas serosas, essa túnica apresenta uma camada parietal externa e uma camada visceral interna, que recobrem a túnica albugínea nas regiões laterais e anterior do testículo (Junqueira & Carneiro, 2013). Logo abaixo da túnica vaginal, encontra-se uma cápsula fibrosa resistente, denominada túnica albugínea, que se torna mais espessa na superfície dorsal dos testículos para formar o mediastino. Abaixo da túnica albugínea, há uma camada de tecido conjuntivo frouxo e vascularizado, conhecida como túnica vasculosa. Prolongamentos fibrosos dessa camada formam septos que segmentam cada testículo em múltiplos lóbulos. Cada lóbulo testicular contém, em média, quatro túbulos seminíferos (Junqueira & Carneiro, 2013).

O interior do testículo é composto por túbulos seminíferos e células intersticiais de Leydig, responsáveis pela produção de testosterona, distribuídas no tecido conjuntivo vascularizado (derivado da túnica vasculosa) entre os túbulos. Cada túbulo seminífero possui uma delgada camada de tecido conjuntivo, chamada túnica própria, além do epitélio germinativo (ou seminífero), relativamente espesso e sustentado por uma lâmina basal (Junqueira & Carneiro, 2013). Os túbulos seminíferos são enovelados, originam-se em fundo cego e terminam em curtos ductos denominados túbulos retos, que os conectam a uma rede de canais interligados conhecida como *rete testis*. Essa rede, localizada em um espessamento da túnica albugínea, é revestida por epitélio cúbico simples, cujas células possuem microvilosidades e um único cílio. A movimentação dos espermatozoides ao longo do túbulo ocorre devido à contração das células mioídes adjacentes e à ação ciliar. As células mioídes contráteis estão presentes na túnica própria de algumas espécies, mas ausentes em humanos (Chaves, 2006).

O epitélio seminífero é composto por múltiplas camadas de células espermatogênicas em diferentes estágios de meiose, processo pelo qual ocorre a redução do número diploide de cromossomos para a condição haploide, essencial à formação dos gametas (Guyton & Hall, 2021). Além disso, há células especializadas conhecidas como células de Sertoli, que fornecem suporte e nutrientes às células germinativas. As células de Sertoli regulam a espermatogênese quando estimuladas pelo hormônio folículo-estimulante (FSH) secretado pela adeno-hipófise. Os túbulos seminíferos desembocam na *rete testis*, uma rede de ductos que conduzem os espermatozoides até os ductos eferentes. Esses ductos recebem os gametas da *rete testis* e os

transportam ao epidídimo, onde amadurecem e adquirem motilidade. Os ductos eferentes são revestidos por epitélio cilíndrico simples ciliado ou cúbico simples não ciliado (Guyton & Hall, 2021).

As espermátides haploides, então, atravessam o processo de espermiogênese, subdividido em três fases: a fase do complexo de Golgi, a fase acrossômica e a fase de maturação. Durante esse processo, as espermátides se transformam em espermatozoides maduros, que podem ser facilmente reconhecidos por seu núcleo pequeno e alongado, bem como por sua localização ao longo da superfície luminal (Chaves, 2006).

As células intersticiais do testículo, conhecidas como células de Leydig, apresentam núcleo arredondado, cromatina dispersa, um ou dois nucléolos e citoplasma acidófilo com vacúolos lipídicos. Elas ocupam o espaço entre os túbulos seminíferos e são circundadas por numerosos capilares, através dos quais secretam testosterona, o principal hormônio sexual masculino. A testosterona é essencial para o desenvolvimento embrionário masculino, a formação das características sexuais secundárias e a espermatogênese normal. A atividade das células de Leydig é regulada pelo hormônio luteinizante (LH), produzido na adeno-hipófise (Guyton & Hall, 2021; Abrahamsohn, 2016).

1.4.2 Epidídimos

O epidídimo é uma estrutura essencial do sistema reprodutor masculino, responsável pelo armazenamento, maturação e transporte dos espermatozoides. Ele é um ducto longo e altamente enovelado localizado na região posterior dos testículos, desempenhando um papel crucial na capacitação espermática antes da fertilização (Chaves, 2006). Ele se divide em três segmentos: a cabeça (Caput) localizada na extremidade superior do testículo, onde os ductos eferentes desembocam. Possui um epitélio mais espesso e uma rede abundante de microvilosidades, que proporcionam a absorção e modificação do fluido testicular; o corpo (Corpus) encontrado na região intermediária onde ocorre a maturação progressiva dos espermatozoides; e a cauda posicionada na extremidade inferior do testículo, atua como principal local de armazenamento dos espermatozoides antes da ejaculação (Junqueira & Carneiro, 2013). A organização anatômica é semelhante em primatas humanos e não humanos (Chaves, 2006).

A principal função dos epidídimos é o armazenamento, transporte e a maturação final dos espermatozoides, processo que inclui o desenvolvimento da motilidade. Também desempenha função imunológica, protegendo os espermatozoides contra agentes patogênicos ou reações

autoimunes. Durante a passagem pelo epidídimo, os espermatozoides sofrem alterações bioquímicas que permitem a aquisição da capacidade de fertilização, como a modificação da composição lipídica da membrana plasmática, desenvolvimento da motilidade progressiva, essencial para a locomoção no trato reprodutivo feminino e remoção de proteínas citoplasmáticas com remodelação estrutural da cauda do espermatozoide (Chaves, 2006).

Os ductos epididimários são revestidos por epitélio pseudoestratificado, mais espesso na região da cabeça em comparação à cauda. Esse epitélio contém estereocílios, prolongamentos longos e imóveis que, na realidade, são microvilosidades ramificadas, cuja função é ampliar a área de superfície e facilitar o intercâmbio de moléculas com as células. Além disso, a musculatura lisa se torna progressivamente mais espessa, partindo de uma única camada circular na cabeça até atingir três camadas na cauda, estrutura semelhante à do ducto deferente. Os espermatozoides são armazenados na cauda do epidídimo até a ejaculação. A contração das células mioídes e do músculo liso epididimário empurra os espermatozoides em direção ao ducto deferente. O fluido epididimário contém proteínas antioxidantes e enzimas que protegem os espermatozoides contra danos oxidativos e agentes externos (França & Avellar, 2025; Abrahamsohn, 2016).

1.5 Ultrassonografia

A ultrassonografia é um exame de imagem não invasivo que utiliza ondas sonoras de alta frequência para visualizar estruturas internas do corpo em tempo real. Esse método é amplamente utilizado na medicina para diagnóstico e acompanhamento de diversas condições (Peixoto et al., 2010).

O exame é baseado no envio e recebimento de ondas ultrassônicas. O processo ocorre em três etapas principais: 1) Emissão de Ondas Sonoras – o transdutor do aparelho de ultrassom emite ondas sonoras de alta frequência (geralmente entre 2 e 18 MHz) para o interior do corpo; 2) Reflexão das Ondas – as ondas sonoras interagem com os tecidos, sendo refletidas de maneira diferente conforme a densidade e composição das estruturas internas; e 3) Formação da Imagem – as ondas refletidas retornam ao transdutor, que converte esses sinais em impulsos elétricos. O computador do aparelho processa esses sinais e cria uma imagem em tempo real (Ma, 2015).

Estão disponíveis quatro tipos de técnica ultrassonográfica que ajudam a mapear e classificar os órgãos alvos de estudo. O Modo B (Brilho - *Brightness Mode*) que gera imagens bidimensionais em tons de cinza, sendo a técnica mais amplamente utilizada (Brito, 2015). O

Doppler avalia o fluxo dos vasos e artérias, útil para visualizações de trombozes e doenças vasculares (Carvalho, 2008). Muito usadas na obstetrícia, as imagens 3D e 4D são imagens tridimensionais e em tempo real, respectivamente (Werner Júnior, 2016). A ultrassonografia com contraste é a técnica que utiliza agentes de contraste para ajudar na visualização de órgãos e tecidos (Stanzani, 2010).

1.6 Histologia

A histologia é a ciência que estuda a estrutura microscópica dos tecidos biológicos e sua organização dentro dos órgãos e sistemas. Seu papel é essencial para diversas áreas da biologia e da medicina, pois fornece conhecimento detalhado sobre a estrutura, função e alterações patológicas dos tecidos. O avanço das técnicas histológicas, como colorações específicas e microscopia eletrônica, tem permitido uma compreensão mais profunda da organização celular e suas interações, contribuindo para o diagnóstico de doenças, a pesquisa biomédica e o desenvolvimento de novas terapias (Junqueira & Carneiro, 2013).

São quatro os principais tipos de tecidos que compõem os organismos multicelulares: epitelial (responsável pelo revestimento de superfícies e pela absorção, secreção e proteção contra agentes externos), conjuntivo (proporciona suporte estrutural e metabólico, além de participar da defesa imunológica), muscular (permite a contração e a movimentação do organismo, além de atuar na regulação do fluxo sanguíneo) e nervoso (atua na recepção, processamento e transmissão de sinais elétricos para coordenação das funções corporais). Cada um desses tecidos apresenta funções específicas essenciais para o funcionamento e homeostase dos sistemas. A análise histológica possibilita a identificação de variações estruturais entre diferentes órgãos e organismos, sendo um dos principais métodos para a caracterização das adaptações fisiológicas e evolutivas (Gartner & Hiatt, 2019).

Considerada um dos pilares da patologia, a histologia auxilia no diagnóstico de doenças por meio da análise de amostras de tecidos. A avaliação histopatológica é crucial para a identificação de doenças inflamatórias, degenerativas e neoplásicas. Além disso, é de extrema importância na embriologia, pois permite compreender o desenvolvimento dos tecidos e órgãos durante a gestação, auxiliando na identificação de anomalias congênitas e no estudo da biologia do desenvolvimento. No desenvolvimento de novos fármacos, permite testar a ação de

medicamentos sobre células e tecidos, garantindo sua eficácia e segurança antes da aplicação clínica. A histologia é um componente essencial na formação de profissionais da saúde, o conhecimento detalhado da organização tecidual permite a interpretação correta de exames laboratoriais e a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos das doenças. A evolução das técnicas histológicas, como microscopia confocal e imunohistoquímica, tem aprimorado a capacidade diagnóstica e a pesquisa na área biomédica, tornando a histologia uma ciência indispensável para o progresso da medicina e das ciências biológicas (Junqueira & Carneiro, 2013).

1.7 Castração: indicação e efeitos

São inúmeros os benefícios da castração, porém seus efeitos podem variar de acordo com idade, espécie e condição de saúde do indivíduo. É observado aumento da expectativa de vida de animais castrados devido à redução de doenças de cunho reprodutivo ou hormonais e diminuição de comportamento de risco, como agressividade e territorialismo, fator importante para manutenção de animais silvestres mantidos *ex-situ*. (Hoffman et al., 2013).

Alguns efeitos adversos da esterilização podem ocorrer. Alterações como obesidade e alterações metabólicas estão mais propícias devido à redução dos hormônios sexuais (German, 2006). Estudos sugerem que a castração precoce pode aumentar o risco de desenvolvimento de tumores malignos, como por exemplo osteossarcoma em cães de grande porte (De la Riva et al., 2013). Em fêmeas já foi observado que a musculatura do trato urinário pode sofrer com a redução do suporte hormonal, causando problemas de controle da micção (Pegram et al., 2019).

Mesmo com efeitos adversos, os benefícios da castração são significativos e se sobrepõem aos malefícios, sendo uma técnica altamente recomendada. Como por exemplo, nas fêmeas de cães e gatos domésticos, a ovariosalpingohisterectomia (OSH) reduz significativamente o risco de câncer de mama, especialmente se realizada antes do primeiro cio (Kustritz, 2007). Além disso, previne infecções uterinas graves, como a piometra, que pode levar o animal a óbito. Em machos, a orquiectomia reduz o risco de neoplasias testiculares, orquites, doenças prostáticas, trauma, abscessos e controle de alterações endócrinas (Oliveira et al., 2010). Como já relatado, temos também o aumento da expectativa de vida e alterações benéficas no comportamento. A redução hormonal causa uma queda em comportamentos agressivos e territorialistas (Neilson et al., 1997).

A utilização de técnicas de contracepção cirúrgica ou hormonal tem sido importante na

gestão de populações de animais silvestres, seja *in situ* ou *ex situ* (Asa & Moresco, 2019). Para animais mantidos fora do seu habitat natural, como zoológicos e mantenedores de fauna, é necessário um controle populacional eficaz, bem como uma boa administração para evitar a endogamia. Para espécies com potencial risco de extinção, o planejamento da reprodução é essencial para programas de manejo populacional (Asa & Moresco, 2019).

Em espécies de vida livre, alguns métodos contraceptivos, alternativos a castração, podem ser utilizados, como vasectomia para os machos e ligadura tubária para as fêmeas. Essa metodologia é recomendada para manter o comportamento social regido por hormônios produzidos pelas gônadas, como dominância por exemplo, porém realizando o controle populacional e conseqüentemente risco de hibridismo e perda do equilíbrio ecológico.

Em suma, o controle reprodutivo através da castração cirúrgica é uma estratégia comprovadamente eficaz para o manejo de animais silvestres mantidos sob cuidados humanos, com isso evita-se o sofrimento por superpopulação, hibridismo com perda da integridade genética da espécie e transmissão de genes indesejáveis através da endogamia (Wallace et al., 2016).

2. Justificativa

O gênero *Leontopithecus* abrange espécies de grande importância para o estudo de conservação de fauna, devido ao seu histórico de declínio populacional. O estudo anatômico dos órgãos externos do sistema reprodutor masculino desta espécie se mostra de grande valia, tendo em vista que além de não haver outros relatos, a elucidação dessas estruturas contribuirão para projetos futuros de colheitas de amostras para banco genético e projetos de conservação. As técnicas empregadas são seguras para os animais, livres de dor ou sofrimento. Os animais utilizados são mantidos pelo Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ), os mesmos encontravam-se na condição de espécie invasora, em Niterói-RJ, quando capturados e não poderão retornar para vida livre. Para melhor manejo em cativeiro, a castração dos machos foi eleita a manobra mais segura e eficaz para controle de natalidade e brigas territoriais.

3. Objetivo geral

O intuito deste projeto é descrever, com riqueza de detalhes, o sistema reprodutor masculino de *Leontopithecus chrysomelas*, traçando uma análise morfológica das estruturas do parênquima testicular e epididimário de cada indivíduo estudado. Foram combinadas as técnicas de

ultrassonografia e histologia com o propósito de aprimorar a caracterização morfológica, visando aprofundar o conhecimento da fisiologia reprodutiva desses primatas e, assim, contribuir para futuros projetos de pesquisa em conservação.

3.1 Objetivos específicos

- Realizar a descrição anatômica detalhada do sistema reprodutor masculino do *L. chrysomelas*, com foco nos testículos e epidídimos;
- Aplicar a técnica de ultrassonografia para análise estrutural dos testículos e epidídimos;
- Realizar análises histológicas para caracterizar as células da linhagem espermatogênica e intersticiais, e a partir desses resultados o determinar a maturidade sexual da espécie;
- Comparar as características macroscópicas e microscópicas dos testículos e epidídimos do *L. chrysomelas* com dados disponíveis de espécies de Primatas Neotropicais;
- Integrar os resultados obtidos por ultrassonografia e histologia para uma descrição detalhada da gônada masculina da espécie, visando fornecer subsídios para projetos de conservação.

4. Metodologia

4.1 Animais

Neste estudo, foram utilizados 14 machos da espécie *Leontopithecus chrysomelas*, mantidos sob cuidados humanos no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro - CPRJ (22°29'18.0"S 42°54'48.4"W) (Tabela 01), provenientes de Niterói-RJ. Estes animais foram resgatados e transferidos para o CPRJ no contexto do não poderem ser conduzidos novamente ao seu local de origem, além de estarem sob condição de espécie invasora, colocando em risco outras espécies endêmicas do local de captura.

Controle de indivíduos utilizados no estudo

Nº de controle interno CP	Nº do microchip	Origem	Data de chegada / nascimento	Posição hierárquica	Categoria	Procriação em cativeiro?
3914	(934)000.011.427.935	Vida livre	10/02/2021	dominante	Adulto	sim
3915	(934)000.011.428.183	Vida livre	10/02/2021	satélite	Adulto	não
3934	(934)000.011.428.139	Vida livre	25/04/2021	satélite	Adulto	não
3939	(934)000.011.428.126	Vida livre	25/04/2021	Não determinado	Juvenil	não
3991	(934)000.011.428.076	Vida livre	10/05/2022	Não determinado	Juvenil	não
3994	(934)000.011.428.077	Vida livre	10/05/2022	dominate	Adulto	sim
4005	(934)000.011.428.087	Vida livre	12/07/2022	Não determinado	Juvenil	não
4007	(934)000.011.428.102	Vida livre	12/07/2022	dominante	Adulto	não
4009	Não informado	Vida livre	Não informado	satélite	Adulto	não
4010	(934)000.011.428.061	Vida livre	08/08/2022	dominante	Adulto	sim
4014	(934)000.011.428.063	Vida livre	08/08/2022	dominante	Adulto	sim
4093	Não informado	Cativeiro	Não informado	Não determinado	Juvenil	não
4100	(934)000.011.428.019	Cativeiro	27/12/2023	Não determinado	Juvenil	não
4124	(934)000.011.428.199	Cativeiro	Não informado	Não determinado	Juvenil	não

Quadro 01: *Leontopithecus chrysomelas* – Relação dos indivíduos que participam do estudo, suas origens, faixa etária, posição hierárquica e tempo de permanência sob cuidados humanos.

A coleta do material foi realizada no Hospital Veterinário do Centro Universitário serra dos Órgãos (UNIFESO), Campus Quinta do Paraíso, Teresópolis - RJ, por meio de procedimentos de castração sob sedação conduzidos sob autorização da CEUA UNIFESO nº 1212.2342.034/2023 (Anexo I). Este trabalho teve autorização SISBIO nº 95827-1 (Anexo II).

4.2 Contenção química

Os animais foram submetidos à jejum por aproximadamente 6 horas, sendo transportados

em caixas de madeira próprias para a espécie (Figura 04). Os indivíduos foram contidos fisicamente com o auxílio de luva de raspa de couro e puçá, e foram aplicados Cetamina (10 mg/kg) e Midazolam (0,3 mg/kg), ambos em via intramuscular (IM), para a contenção química. Foi realizado teste de reflexo palpebral para avaliar nível de sedação, bem como avaliada a perda de reflexos de retirada e a incapacidade de se manter em estação, permanecendo em decúbito lateral. Com o animal sedado foi verificado o peso corpóreo utilizando balança digital (Balmak, modelo ELP25BB) e identificação com leitura do microchip, localizado entre as escápulas, no subcutâneo (Figura 05).



Figura 04: Fotografia de caixa transporte de madeira com visor e furos para ventilação.

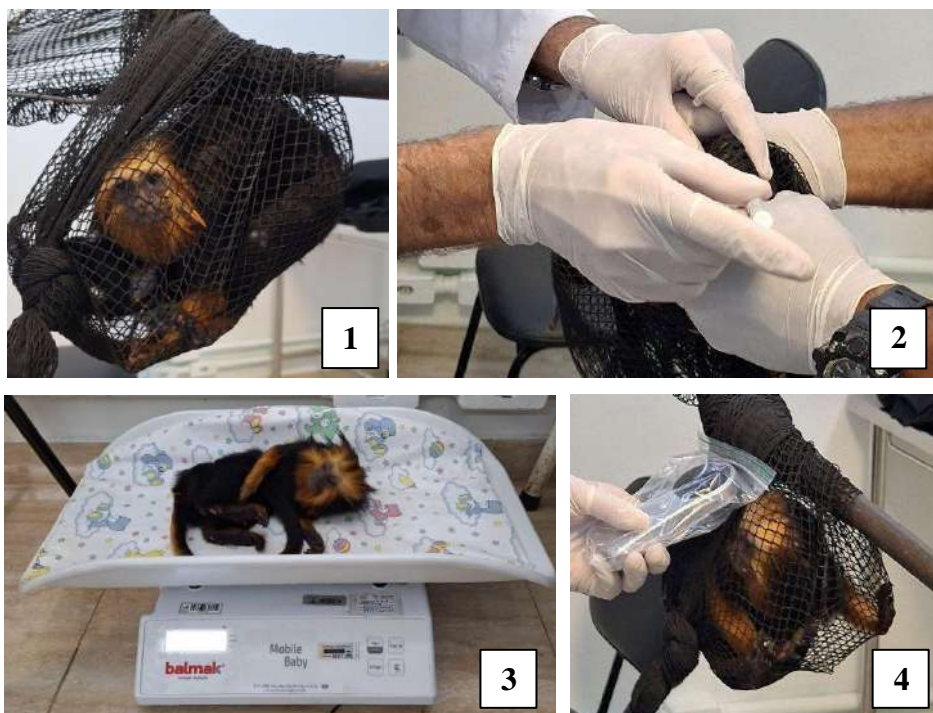


Figura 05: *Leontopithecus chrysomelas* – Fotografia das fases do processo de captura e contenções manual e química, além da identificação e pesagem: 1.Contenção física utilizando puçá; 2.Contenção química com aplicação de sedativo intramuscular; 3.Indivíduo, já sedado,

realizando pesagem para mensuração de peso corpóreo; 4.Leitura de microchip para identificação.
Fonte: arquivo pessoal.

4.3 Ultrassonografia de bolsa escrotal

O exame ultrassonográfico foi realizado com o aparelho Esaote Mylab 5, utilizando-se a probe linear 10mhz. Foi realizada tricotomia de toda a área a ser analisada e aplicado gel condutor para melhor visualização das estruturas com a probe. Os animais foram identificados por seus números de cadastro do CPRJ (CP) e nº da amostra (NA) , e cada indivíduo teve três imagens capturadas em corte transversal e longitudinal. Tanto os testículos quanto os epidídimos foram analisados com sucesso (Figura 06).



Figura 06: *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia do procedimento de tricotomia circunscrotal (1) e do exame

4.4 Morfometria testicular

Após exame ultrassonográfico, ainda com o animal sedado, foi realizada a mensuração de testículos em bolsa escrotal com fita métrica e paquímetro digital (BOMDER®, modelo BOM-6502). Com a fita métrica mediu-se a circunferência total da bolsa escrotal (Figura 07). O paquímetro foi utilizado para medir, em cada testículo, comprimento, largura e profundidade (Figura 08). Os dados foram anotados em ficha elaborada para esse fim (Anexo III).

O volume testicular de cada testículo (direito e esquerdo) foi determinado pela fórmula empírica de Lambert: volume = comprimento x largura x espessura x 0,71 (Hsieh et al., 2009). O volume testicular total foi calculado pela somatória dos volumes dos testículos direito e esquerdo (Arakaki et al., 2019, 2020). Na sequência, o volume testicular total (cm³) foi convertido em massa testicular total (g) multiplicando o volume testicular com um fator de conversão aproximado de 1,1 (Moller 1991; Harcourt et al., 1995), e o tamanho relativo dos testículos foi calculado ao dividir a massa testicular total (g) pelo peso corpóreo (kg) (Moller, 1991). Ainda, após a castração, o peso de cada testículo foi mensurado com auxílio da balança semi-analítica Shimadzu, modelo BL3200H.

Foi conduzida uma análise de regressão linear com o objetivo de verificar a relação entre o peso corpóreo (kg) e o peso testicular total (g). Foram calculados o coeficiente de correlação (R), o coeficiente de determinação (R²), os parâmetros do modelo (intercepto e inclinação), bem como os valores de **t** e **p** para testar a significância estatística da associação. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$).

Para avaliar a concordância entre os métodos de mensuração do peso testicular (o peso dos testículos aferido pela pesagem na balança e a massa testicular estimada pelas fórmulas) foi calculado o Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC), para verificar a confiabilidade ou concordância entre dois métodos quantitativos. Foram também determinados os intervalos de confiança de 95% para o ICC, além da estatística F, os graus de liberdade e o valor-p associado. Também foi realizada uma análise de Bland-Altman, que permite verificar o viés médio entre dois métodos de medida, bem como os limites de concordância, indicando a variação esperada entre as duas abordagens. Foram calculados o viés e os limites de concordância, acompanhados de seus respectivos intervalos de confiança de 95%.



Figura 07: *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia da medição da bolsa escrotal com o uso de fita métrica. Fonte: arquivo pessoal.

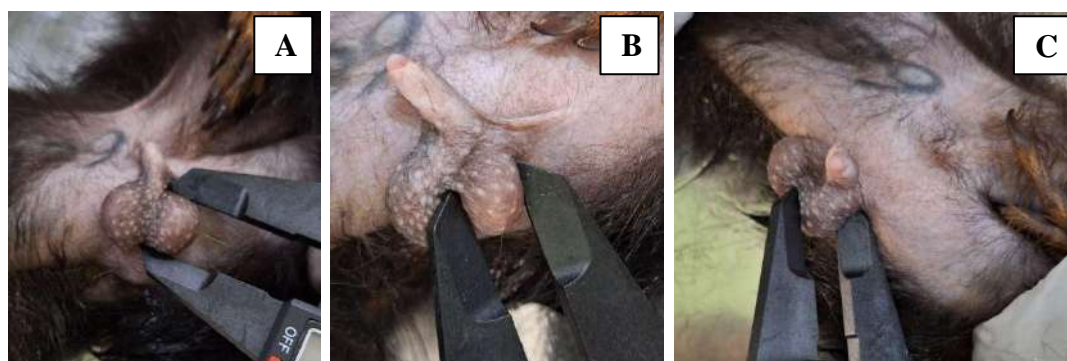


Figura 08: *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia da medição testicular com o uso de paquímetro Mitutoyo. Em A – comprimento, B – largura e C – profundidade. Fonte: arquivo pessoal.

4.5 Orquiectomia

Após a finalização das etapas anteriores, cada indivíduo foi aprofundado em plano anestésico utilizando isoflurano, posicionado em decúbito dorsal e preparado para cirurgia asséptica. Esterilizou-se o local da incisão com gaze autoclavada, clorexidina degermante 2% e álcool 70% (Figura 09). Foi realizada anestesia local com Lidocaína 2% (2 mg/kg), de maneira cuidadosa para não injetar o fármaco de forma intratesticular e não interferir na análise histológica. Os testículos foram posicionados na região escrotal para incisão cutânea, diretamente sobre cada testículo, no aspecto mais ventral do saco escrotal. Em seguida, a túnica vaginal parietal foi incisada, expondo o testículo com pequena tração. Com auxílio de uma pinça

hemostática, o ligamento da cauda do epidídimo foi divulsionado para liberação da túnica vaginal visceral e exposição do ducto deferente e dos vasos espermáticos, técnica cirúrgica conhecida como aberta (Oliveira et al., 2010). Utilizou-se o Bisturi ultrassônico veterinário (Sonix, modelo VSX20), dispositivo responsável pelo selamento vascular, para realizar a ligadura do cordão espermático. Este aparelho utiliza energia bipolar cauterizando os tecidos e proporcionando hemostasia segura, eficaz e rápida. A pinça do LigaSure também realiza o corte do tecido após a cauterização, seccionando o cordão espermático e liberando o testículo (Figura 10). A ferida cirúrgica foi inspecionada para verificação de sangramentos. Túnica vaginal e bolsa escrotal foram suturadas com fio absorvível de longa duração, separadamente. Imediatamente após a retirada, os testículos foram pesados, fotografados e colocados em solução de Bouin para fixação (Figura 11 e 12).

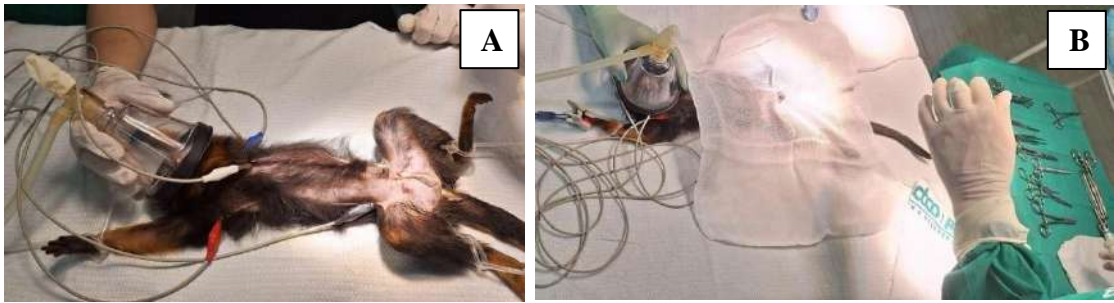


Figura 09: *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia do ato de aprofundamento anestésico oral com isoflurano e monitoramento de sinais vitais em (A). Em (B) Após a assepsia, a montagem do campo cirúrgico. Fonte: arquivo pessoal.

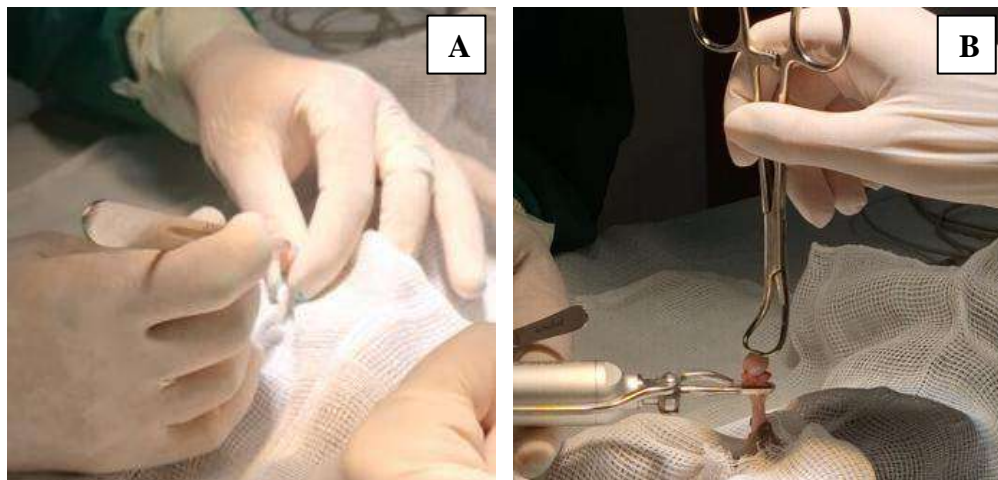


Figura 10: *Leontopithecus chrysomelas* macho. Fotografia do ato de incisão cirúrgica da bolsa escrotal para a exposição da gônada (A) e selamento vascular e secção do cordão espermático com o uso de bisturi ultrassônico (B). Fonte: arquivo pessoal.



Figura 11: *Leontopithecus chrysomelas*. Fotografia da identificação de cada testículo e epididimo após a remoção cirúrgica. Fonte: arquivo pessoal.



Figura 12: Fotografia sobre a pesagem e a distribuição dos testículos no líquido fixador de Bouin.
Fonte: arquivo pessoal.

4.6 Processamento histológico e análise microscópica

4.6.1 Amostras de tecidos

Foram realizados dois dias de castração, em 30/08/2024 e em 20/12/2024. Imediatamente após os procedimentos de castração, os testículos foram pesados e, em seguida, fixados em solução de Bouin (composta por 75 mL de solução aquosa saturada de ácido pícrico, 25 mL de formol e 5 mL de ácido acético) por um período de 24 horas. Após esse período, as amostras foram transferidas para álcool 70% e mantidas nessa solução até o processamento histológico.

4.6.2 Processamento Histológico

As amostras (testículos e epidídimos) foram coletadas durante procedimento cirúrgico e imediatamente fixadas em solução de Bouin. Após 72 horas de fixação os tecidos foram clivados e processados rotineiramente (banhos sequenciais de álcool, xilol e parafina no Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), *campus* Seropédica, RJ. Posteriormente, os tecidos foram incluídos em blocos de parafina histológica, cortados por micrótomo rotativo manual para se obter cortes histológicos de 5 μ m de espessura. Todas as lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) e montadas com lamínulas coladas com Entellan® (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Os tecidos foram examinados histologicamente com o uso de um microscópio óptico.

4.6.3 Análise Microscópica

Foram analisadas lâminas dos testículos direito e esquerdo utilizando Microscópio Olympus BX53, acoplado à câmera Moticam A8 com sistema de captura de imagem, medição e escalas, operado pelo software Motic images plus 3.1. Durante o exame histológico, foram mensurados os diâmetros das secções testiculares e epididimárias, com o objetivo de realizar comparações e estabelecer correlações entre os primatas jovens e adultos em fase de maturidade sexual.

5. Resultados

5.1 Ultrassonografia

Todos os animais participantes deste estudo passaram por exame ultrassonográfico a fim de compreender mais sobre arquitetura testicular e epididimária hígida. Com sucesso, foi possível verificar padronização de todos os testículos e epidídimos analisados, salvo o testículo esquerdo do indivíduo CP 4014 (Figura 13). Este apresentou tamanho reduzido na imagem, sugerindo degeneração da gônada, mais tarde confirmada através da análise histológica. Não foram identificadas alterações em imagem quanto a diferença de idade ou posição social dentro do grupo familiar (Figuras 14, 15 e 16). Em animais muito jovens, com testículos e epidídios muito pequenos, não foi possível definir um padrão de imagem. Acredita-se que o tamanho era incompatível com o equipamento disponível, inviabilizando a análise de forma satisfatória (Tabela 02).



Figura 13: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4014 macho. Indivíduo juvenil, sem posição hierárquica definida no grupo. Fotografia do exame ultrassonográfico evidenciando arquitetura testicular direita sem alteração e esquerda com alterações compatíveis com degeneração testicular. Fonte: Dra Marcelline Luz



Figura 14: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4005 macho. Indivíduo juvenil, sem posição hierárquica definida no grupo. Fotografia do exame ultrassonográfico evidenciando arquitetura testicular direita e esquerda sem alteração na imagem ultrassonográfica. Fonte: Dra Marcelline Luz



Figura 15: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4010 macho. Indivíduo adulto, dominante. Fotografia do exame ultrassonográfico evidenciando arquitetura testicular direita e esquerda sem alteração na imagem ultrassonográfica. Fonte: Dra Marcelline Luz



Figura 16: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4009 macho. Indivíduo adulto, satélite. Fotografia do exame ultrassonográfico evidenciando arquitetura testicular direita e esquerda sem alteração na imagem ultrassonográfica. Fonte: Dra Marcelline Luz

Resultados das mensurações das gônadas obtidas pela ultrassonografia

Nº de CP	Faixa etária estimada	Origem	Posição hierárquica	Peso vivo (g)	Comprimento testículo esquerdo (cm)	Largura testículo esquerdo (cm)	Comprimento testículo direito (cm)	Largura testículo direito (cm)
3914	Adulto	Vida livre	dominante	590	0,83	0,62	0,80	0,70
3915	Adulto	Vida livre	satélite	550	0,89	0,55	0,76	0,75
3934	Adulto	Vida livre	satélite	532	1,05	0,89	0,90	0,67
3939	Juvenil	Vida livre	Não determinado	496	1,06	0,69	1,13	0,67
3991	Juvenil	Vida livre	Não determinado	672	0,87	0,71	0,85	0,71
3994	Adulto	Vida livre	dominate	650	0,94	0,82	0,90	0,80
4005	Juvenil	Vida livre	Não determinado	580	1,24	0,81	1,18	0,66
4007	Adulto	Vida livre	dominante	600			1,31	0,82

4009	Adulto	Vida livre	satélite	596	0,89	0,67	0,84	0,72
4010	Adulto	Vida livre	dominante	560	0,87	0,55	0,80	0,57
4014	Adulto	Vida livre	dominante	540	0,58	0,42	0,74	0,52
4093	Juvenil	Cativeiro	Não determinado		Não mensurado / Animal muito jovem			
4100	Juvenil	Cativeiro	Não determinado		Não mensurado / Animal muito jovem			
4124	Juvenil	Cativeiro	Não determinado		Não mensurado / Animal muito jovem			

Quadro 2: *Leontopithecus chrysomelas*. Relação dos dados dos animais com a morfometria visualizada no exame de ultrassonografia, correlacionando origem, faixa etária, posição hierárquica e peso corpóreo de cada indivíduo.

5.2 Morfometria testicular

Foram analisados 14 pares de testículos de mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*). Com base nos achados histológicos, seis indivíduos foram classificados como juvenis (pré-púberes) e oito indivíduos adultos em fase reprodutiva, sendo que um indivíduo apresentou testículo hipoplásico (LUZ, M, 2025, comunicação pessoal). Os testículos foram analisados em pares (direito e esquerdo), esses apresentavam formato ovoide, envoltos por tecido conjuntivo. Os resultados da morfometria testicular e cálculos dos volumes estão apresentados na Tabela 03. Não foi possível avaliar a morfometria testicular dos indivíduos CP 4093, CP4100 e CP 4124, pois os mesmos apresentavam testículos muito pequenos, por serem indivíduos muito jovens.

Na análise de regressão linear para investigar a relação entre o peso corpóreo (kg) e o peso testicular total (g), os resultados indicaram uma correlação positiva e estatisticamente significativa entre as variáveis ($R = 0,711$; $p = 0,014$), com o modelo explicando aproximadamente 50,5% da variação observada no peso testicular ($R^2 = 0,505$) ($N = 11$, Figura 17) (Tabela 04).

O valor do ICC encontrado foi de 0,302, indicando uma baixa concordância entre os métodos de mensuração testicular. O teste F apresentou valor de 2,75 com graus de liberdade de 10,0 e 6,07, resultando em um valor-p de 0,113.

A análise de Bland-Altman indicou um viés médio de 0,206, sugerindo que, em média, o método da balança mede valores 0,206 unidades maiores do que a massa testicular estimada pelas fórmulas. O intervalo de confiança de 95% para esse viés foi de 0,0748 a 0,3379, não incluindo zero, o que indica que essa diferença é estatisticamente significativa. A amplitude dos limites de

confiança (aproximadamente 0,77) revela uma variação considerável entre as medições, sugerindo que os métodos não são perfeitamente intercambiáveis sem ajustes. O viés positivo reforça a tendência da balança em superestimar os valores em comparação com a massa testicular estimada (Figura 18).

ID animal	Testículo direito					Testículo esquerdo				
	Comprimento (cm)	Largura (cm)	Espessura (cm)	Volume TD (cm3)	Peso (g)	Comprimento (cm)	Largura (cm)	Espessura (cm)	Volume TE (cm3)	Peso (g)
CP 3939	0,93	0,7	0,62	0,29	0,44	1,12	0,69	0,8	0,44	0,50
CP 4005	1,04	0,69	0,57	0,29	0,50	1,33	0,84	0,82	0,65	0,53
CP 4014	1,09	0,66	0,73	0,37	0,51	0,78	0,6	0,58	0,19	0,29
CP 3934	1,03	0,72	0,64	0,34	0,56	1,15	0,63	0,42	0,22	0,52
CP 4009	1,16	1,04	0,6	0,51	0,45	1,21	0,68	0,73	0,43	0,58
CP 4010	1,04	0,68	0,68	0,34	0,44	1,01	0,6	0,55	0,24	0,42
CP 3914	1,11	0,63	0,73	0,36	0,55	1,29	0,73	0,66	0,44	0,51
CP 3915	1,27	0,96	0,71	0,61	0,53	1,21	0,68	0,71	0,41	0,60
CP 3994	1,14	0,78	0,6	0,38	0,65	1,29	0,78	0,78	0,56	0,71
CP 3991	1,19	0,78	0,6	0,40	0,60	1,14	0,88	0,83	0,59	0,62
CP 4007	1,33	0,1	0,8	0,08	0,60	1,11	0,83	0,73	0,48	0,62
CP 4093	NÃO FOI POSSÍVEL AVALIAR									
CP 4100	NÃO FOI POSSÍVEL AVALIAR									
CP 4124	NÃO FOI POSSÍVEL AVALIAR									

Quadro 3: *Leontopithecus chrysomelas*. Dados da morfometria testicular. TD – testículo direito; TE – testículo esquerdo.

Dados Gerais					Circunferência escrotal (cm)	USG	Volume testicular total (cm ³) - fórmula	Peso Testicular Total (g) - peso balança	Massa testicular total (g)	Tamanho relativo dos testículos
ID animal	Idade	Nível hierárquico	Registro de filhotes (nº de indivíduos)	Peso corpóreo (Kg)						
CP 3939	jovem	não determinado	0	0,496	5,00	Sem alteração	0,73	0,94	0,80	1,61
CP 4005	jovem	não determinado	0	0,58	4,50	Sem alteração	0,94	1,03	1,03	1,78
						Degeneração em testículo esquerdo?				
CP 4014	adulto	dominante	2	0,54	4,00		0,57	0,8	0,62	1,15
CP 3934	adulto	satélite	0	0,532	5,00	Sem alteração	0,55	1,08	0,61	1,14
CP 4009	adulto	satélite	0	0,596	5,00	Sem alteração	0,94	1,03	1,03	1,74
CP 4010	adulto	dominante	3	0,56	4,50	Sem alteração	0,58	0,86	0,64	1,14
CP 3914	adulto	dominante	1	0,59	4,50	Sem alteração	0,80	1,06	0,88	1,50
CP 3915	adulto	satélite	0	0,55	4,40	Sem alteração	1,03	1,13	1,13	2,06
CP 3994	adulto	dominante	4	0,65	5,00	Sem alteração	0,94	1,36	1,03	1,58
CP 3991	jovem	não determinado	0	0,672	5,50	Sem alteração	0,99	1,22	1,09	1,61
CP 4007	adulto	dominante	0	0,6	5,00	Sem alteração	0,55	1,22	0,61	1,01
CP 4093	jovem	não determinado	0			NÃO FOI POSSÍVEL AVALIAR				
CP 4100	jovem	não determinado	0			NÃO FOI POSSÍVEL AVALIAR				
CP 4124	jovem	não determinado	0			NÃO FOI POSSÍVEL AVALIAR				

Quadro 04: *Leontopithecus chrysomelas*. Correlação das características de cada indivíduo, com dados coletados na ultrassonografia e valores dos cálculos de volume testicular total inferido pela fórmula, o peso testicular total aferido pela pesagem na balança, e valores calculados da massa testicular total e tamanho relativo dos testículos.

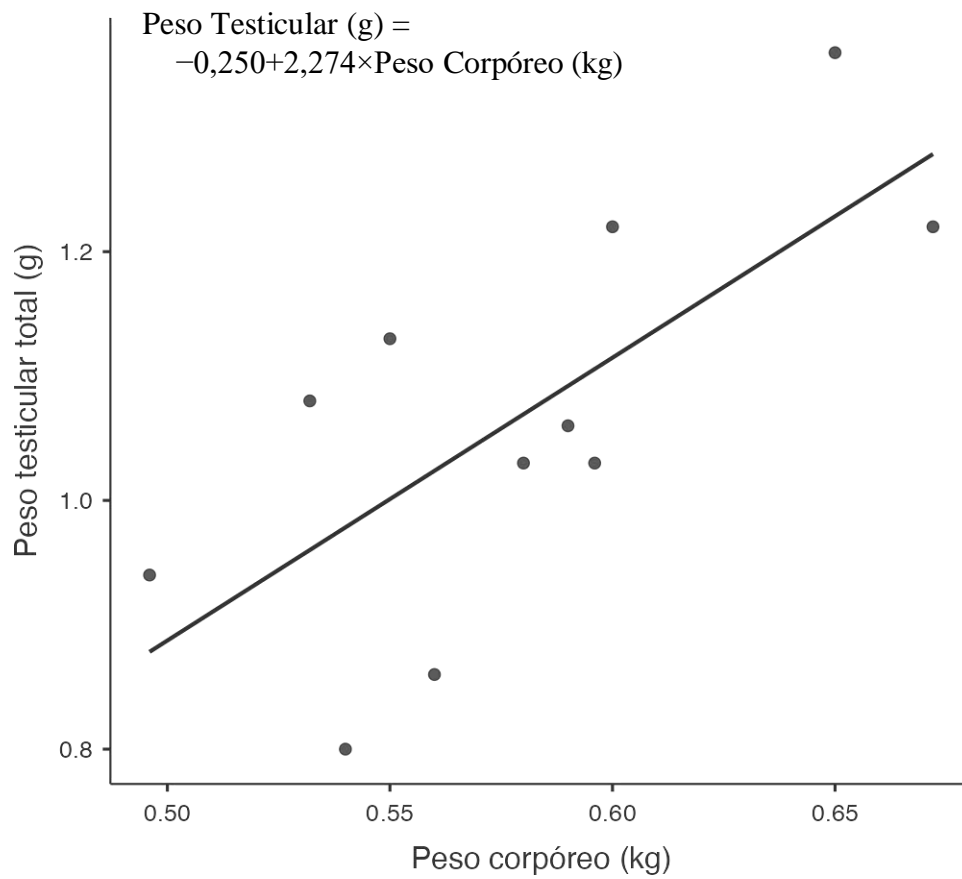


Figura 17: Regressão linear entre o peso corpóreo (kg) e peso testicular total (g) de 11 indivíduos de *Leontopithecus chrysomelas*. O coeficiente de regressão mostrou que, para cada aumento de 1 kg no peso corporal, o peso testicular total aumentou, em média, 2,274 g.

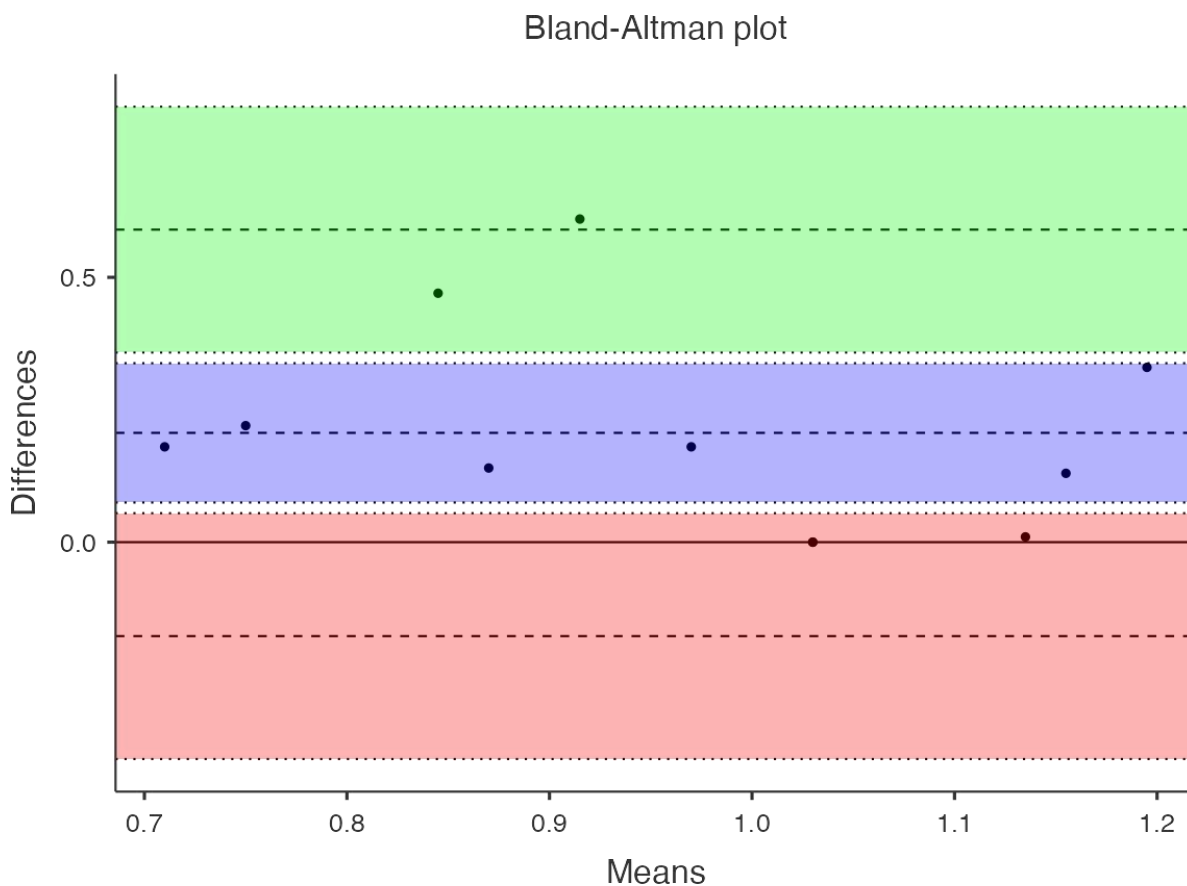


Figura 18: Análise de Bland-Altman, comparando as diferenças entre os métodos de aferição de massa testicular (pesagem na balança e estimativa pelas fórmulas a partir da morfometria testicular) de 11 indivíduos de *Leontopithecus chrysomelas*. Quando avaliados pelo método da balança os valores encontrados foram, em média, 0,206 unidades maiores do que a massa testicular estimada pelas fórmulas.

5.2.1 Exame histológico dos testículos de indivíduos juvenis (N=6)

Os testículos apresentaram-se envolvidos por uma túnica albugínea composta por tecido conjuntivo denso modelado. Nos indivíduos juvenis (pré-púberes), os túbulos seminíferos apresentaram-se bem definidos, contendo células de Sertoli (núcleo em formato oval e pálido) em menor quantidade em relação às espermatogônias (Figura 19). Em alguns segmentos dos túbulos, observaram-se células em processo de divisão meiótica. Essas células foram localizadas na região medial do epitélio seminífero, apresentando diâmetro um pouco maior em relação às espermatogônias da área mais basal, núcleo sem delimitação evidente e aparência vesicular (Figura 20).



Figura 19: *Leontopithecus chrysomelas*, CP 4110 macho. Testículo e epidídimo de animal juvenil (pré-pubere). Fotomicrografia do testículo e do epidídimo de pré pubere: (*) Túbulos seminíferos com ausência de lúmen no testículo e (***) Ductos epididimários com diâmetro reduzido. Epidídimo apresentando diferenças morfológicas em relação ao diâmetro dos segmentos do ducto epididimário e epitélio de revestimento em área medial da fotomicrografia. HE. Barra de 500 µm.

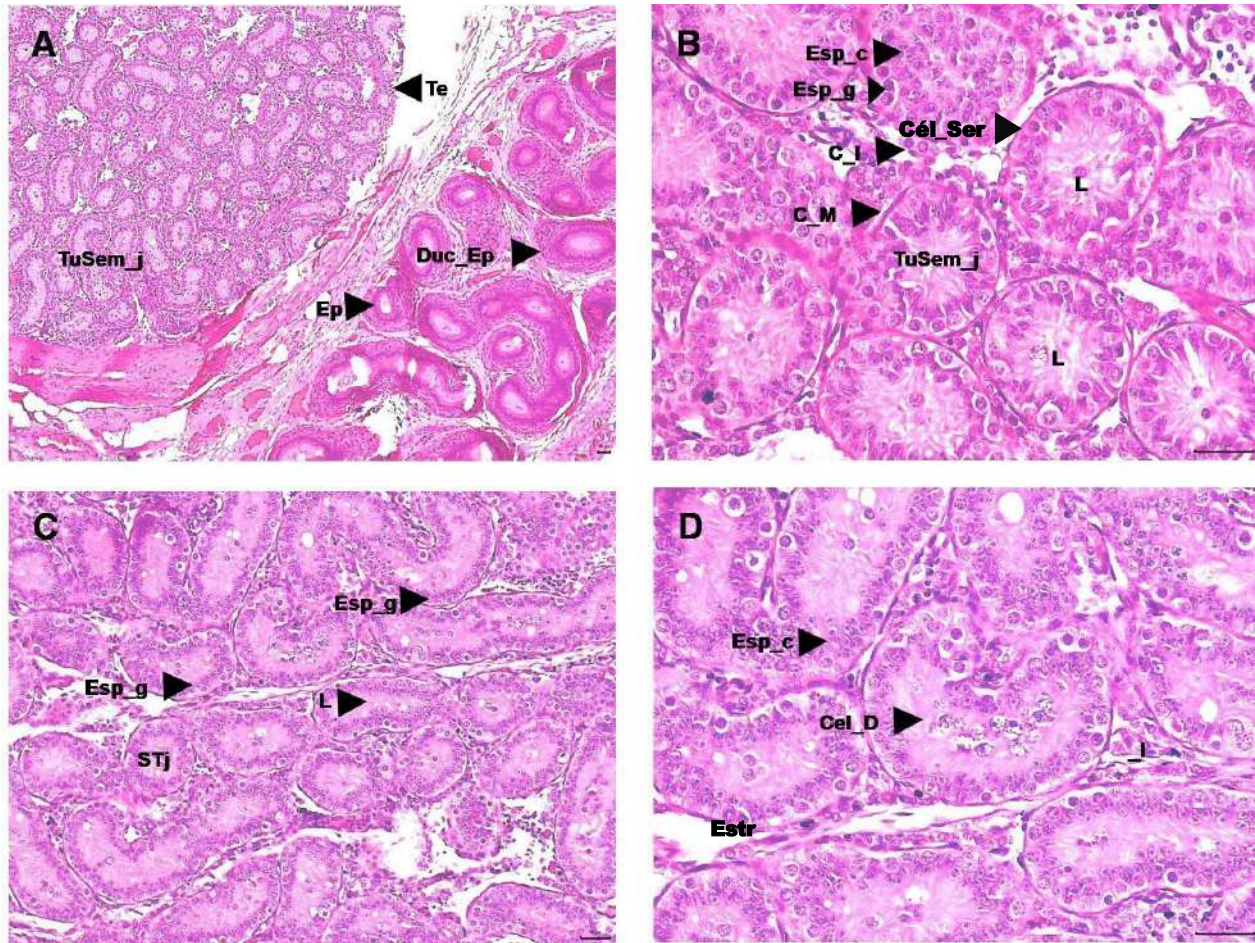


Figura 20: *Leontopithecus chrysomelas*. Testículo de animal pré-pubere (CP 4110). Fotomicrografia do Testículo e Epidídimo esquerdo em corte transversal (A - D); Testículo esquerdo em corte transversal (A e B); Epidídimo direito em corte transversal (C e D). Segmentos dos túbulos seminíferos com células de Sertoli, espermatogônias e a presença de poucos espermatócitos (representados pelas células em divisão celular). Em maior aumento, observa-se o surgimento de pequenos espaços na região central de vários segmentos dos túbulos seminíferos, que tem em média 8,56 mm de diâmetro. Os segmentos do ducto epididimário são revestidos por epitélio pseudoestratificado cilíndrico (ou colunar) com estereocílios. As células mioides encontram-se ao redor do ducto. São observados poucos segmentos do ducto epididimário, esses se mostram envolvidos por uma quantidade moderada de estroma. São observados segmentos do ducto epididimário em diferentes diâmetros (os ductos da área mais desenvolvida mediram em média 15,9mm de diâmetro). Te: testículo; Ep: Epidídimo; TuSem_j: túbulo seminífero juvenil; Esp_c: espermatócitos; Esp_g: espermatogônias; I: interstício; C_I: células intersticiais; C_M: células mioides; L: Lúmen; Estr: Estroma; Cél_d: células em divisão celular (espermatócitos em divisão celular); Ep_g: Epitélio Germinativo; Duc_Ep: Ducto Epididimário; Duc_Ep: Epitélio Pseudoestratificado do Ducto Epididimário; Célula de Sertoli. Bar: 500 μ m. HE

Nesses indivíduos não foram observadas espermátides e espermatozoides. Nesta fase, o lúmen não foi evidenciado. No interstício, as células intersticiais (células de Leydig) foram observadas em pequena quantidade, distribuídas de forma difusa entre os túbulos seminíferos. Essas células apresentaram morfologia típica de células produtoras de hormônios esteroides, com grande volume citoplasmático, pálido contendo inclusões intracitoplasmáticas claras e com limites bem definidos e

núcleo esférico.

Dentre os primatas examinados, foi identificado um indivíduo (CP 4093) com hipoplasia testicular, caracterizada por túbulos seminíferos de formato irregular e pela ausência parcial de estratificação do epitélio germinativo. No epitélio seminífero observou-se apenas a presença de células de Sertoli e de espermatogônias, ambas em quantidade reduzida.

5.2.2 Exame histológico dos ductos epididimários de indivíduos juvenis (N=6)

Os ductos epididimários apresentaram variações morfológicas significativas quanto ao diâmetro (em cortes transversais) dos ductos, lúmen e ao tipo de epitélio de revestimento, permitindo a identificação de três regiões distintas. Algumas áreas apresentaram segmentos dos ductos menos desenvolvidos, com lúmen de diâmetro reduzido. Nesses segmentos, o epitélio de revestimento mostrou-se do tipo simples cúbico ou colunar baixo, com núcleos esféricos e citoplasma pálido. Em contraste, as regiões mais desenvolvidas do epidídimo apresentaram morfologia condizente com a literatura, com segmentos dos ductos de diâmetro e lúmen amplos, revestidos por epitélio pseudoestratificado colunar estereociliado. Observou-se que os segmentos menos desenvolvidos estavam envoltos por quantidade moderada a abundante de estroma fibrocolagenoso, enquanto os segmentos mais desenvolvidos ocuparam maior espaço de parênquima e estavam associados a uma quantidade reduzida de estroma. Essa diferença morfológica entre os segmentos do ducto epididimário foi observada em 11 indivíduos, incluindo juvenis (pré-púberes) e adultos (púberes) (Figura 21).

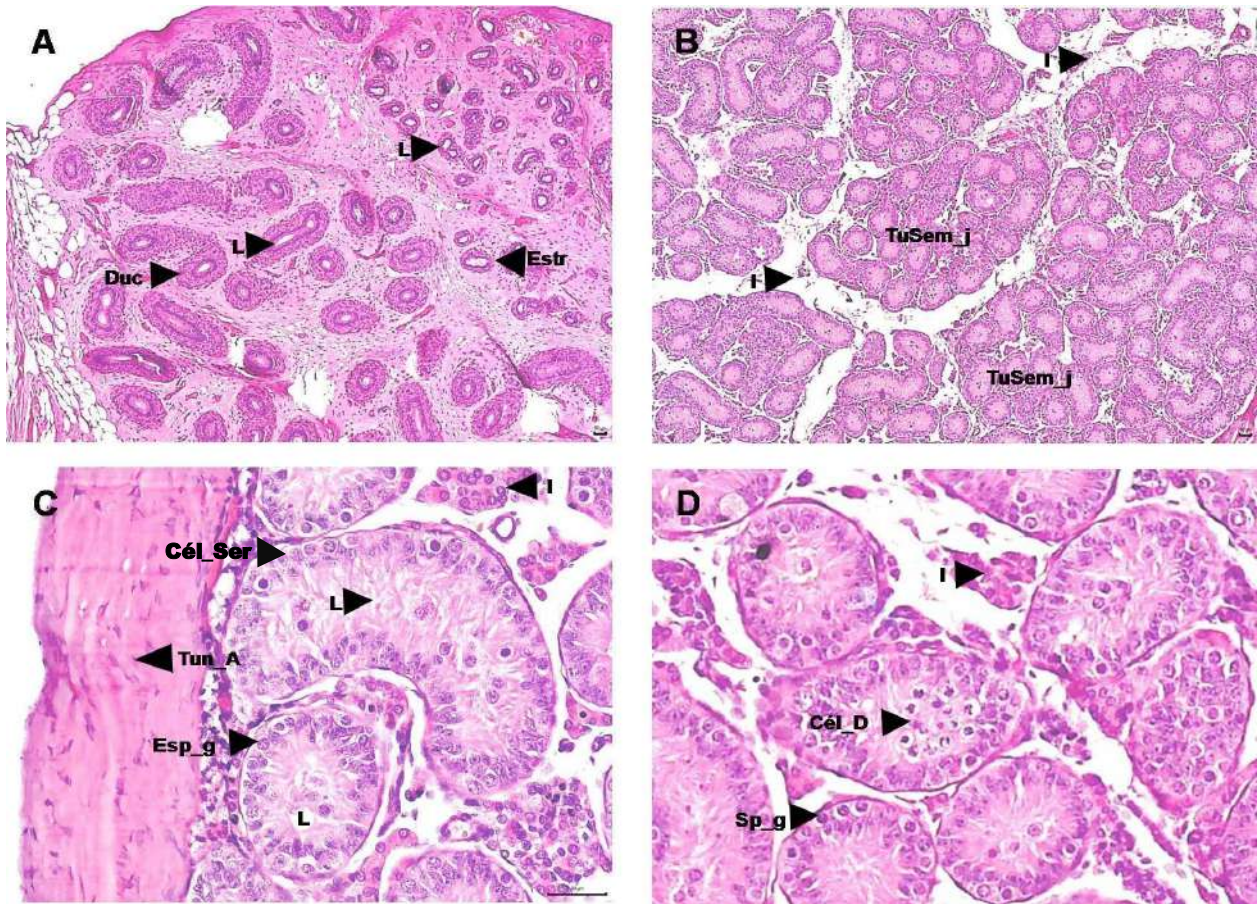


Figura 21: *Leontopithecus chrysomelas*. A - D. Testículo pré-pubere (CP 3939). Fotomicrografia de Epidídimo e testículo em corte transversal. A: Os segmentos do ducto epididimário apresentam lúmen (L) e revestimento por epitélio pseudoestratificado cilíndrico ou colunar com estereocílios, mostrando diferenças no diâmetro dos segmentos (em média 6,1 mm a 15,9 mm de diâmetro). Os segmentos do ducto (Duc) mostram-se envolvidos por uma quantidade moderada de estroma (Estr). B: Testículo em menor aumento, com túbulos seminíferos juvenis (TuSem_j) apresentando poucas células formando o epitélio germinativo e aparente ausência de lúmen. O interstício (I) contém apenas células intersticiais. C e D: Testículo em maior aumento, com observação da túnica albugínea (Tun_A); Segmentos dos túbulos seminíferos juvenis (TuSem_j) mostrando pequenas aberturas na região central que dão início a formação do lúmen (L). Na periferia dos túbulos, são observadas espermatogônias (Esp_g), células de Sertoli (Cél_Ser) e espermatócitos (Sp_c) representados pelas células em divisão celular (Cél_D) na região central dos túbulos.

5.2.3 Análise dos Testículos de Indivíduos Adultos (N=8)

Nos indivíduos adultos, os túbulos seminíferos apresentaram-se com epitélio espesso, caracterizado por alta celularidade, composto por duas linhagens celulares: as células de Sertoli e as células da linhagem espermatogênica, incluindo espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozoides (Figura 22). As células em divisão celular foram observadas em maior número na região medial e no início da região adluminal do epitélio seminífero. As espermátides são observadas

por seu tamanho reduzido, núcleos de formato oval, localizados na região apical do epitélio germinativo, com flagelos voltados para o lúmen (Figura 23 – A e B).

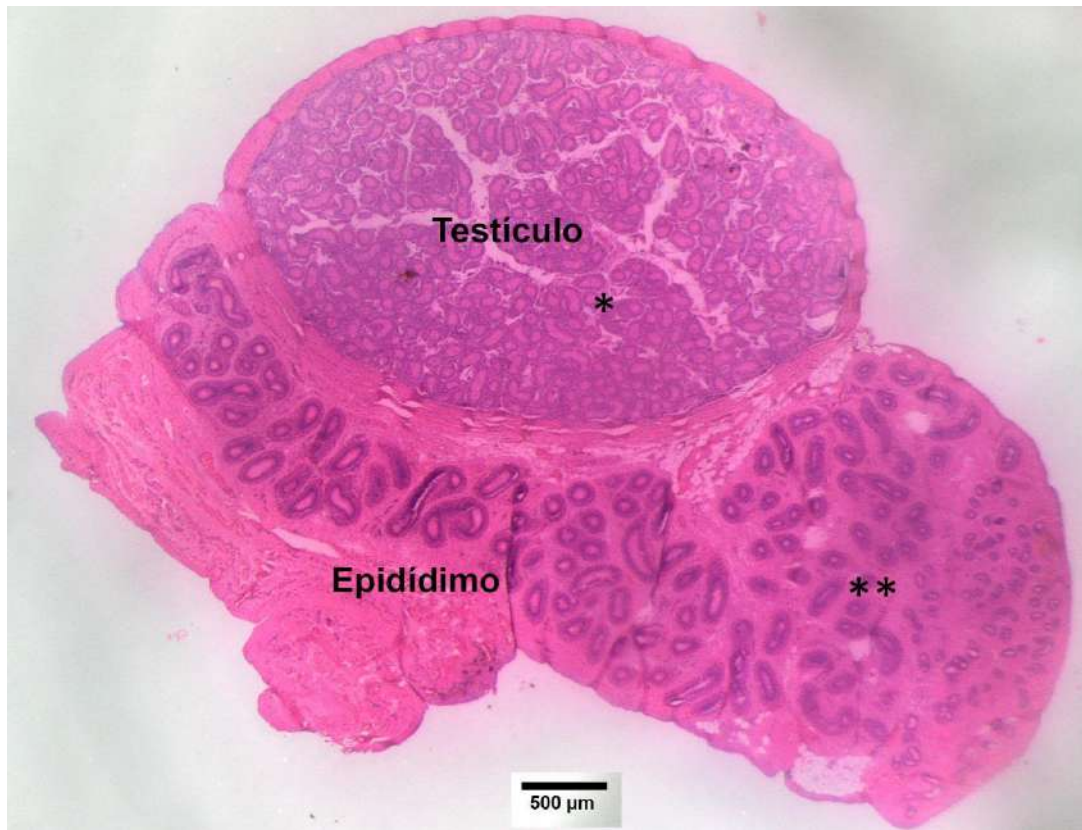


Figura 22: *Leontopithecus chrysomelas*. Fotomicrografia de Testículo e epidídimo de animal adulto (CP 3994): *Túbulos seminíferos com lúmen definido, ** Assim como no epidídimo dos animais pré-puberes, os ductos epididimários apresentam diâmetro reduzido; Epidídimo apresentando com diferenças morfológicas em relação ao diâmetro dos segmentos do ducto epididimário e epitélio de revestimento em área medial* da fotomicrografia. HE. Barra de 500 µm.

5.2.4 Análise do Ducto Epididimário de Indivíduos Adultos (N=8)

Os segmentos do ducto epididimário apresentaram diferenças morfológicas significativas entre as diversas regiões analisadas (Figura 23 – C e D). Com base nas características morfológicas de tamanho e revestimento epitelial, foram identificadas três regiões distintas com base no calibre dos segmentos do ducto epididimário. Duas dessas regiões apresentaram ductos menores, com diâmetro médio de 7,7 µm, revestidos por epitélio simples, variando entre cúbico e cilíndrico (ou colunar). A região medial, localizada entre as duas áreas com ductos menos desenvolvidos, revelou segmentos de ducto significativamente maiores, com diâmetro médio de 17,43 µm. Nessa região medial, os

segmentos do ducto epididimário estavam revestidos por epitélio pseudoestratificado colunar estereociliado, o que está de acordo com o descrito na literatura. Todos os indivíduos adultos apresentaram áreas com diferenças morfológicas no tamanho do ducto, lúmen e revestimento epitelial. Adicionalmente, foram observadas células mioides fusiformes, caracterizadas por núcleo achatado e citoplasma escasso e acidófilo, distribuídas ao redor dos segmentos ductais, sobretudo nas regiões onde os ductos apresentavam maior grau de desenvolvimento. Em comparação com a região medial, os segmentos do ducto epididimário nas regiões proximal e distal, onde os ductos eram menores, apresentaram maior quantidade de estroma. Observa-se uma relação inversa entre a quantidade de estroma fibrocolagenoso e o diâmetro dos ductos, de modo que ductos de maior diâmetro estão associados a uma redução proporcional na quantidade de estroma circundante. Nesses indivíduos foram identificados túbulos retos e ductos epididimários contendo espermatozoides no lúmen, indicando espermatogênese ativa.

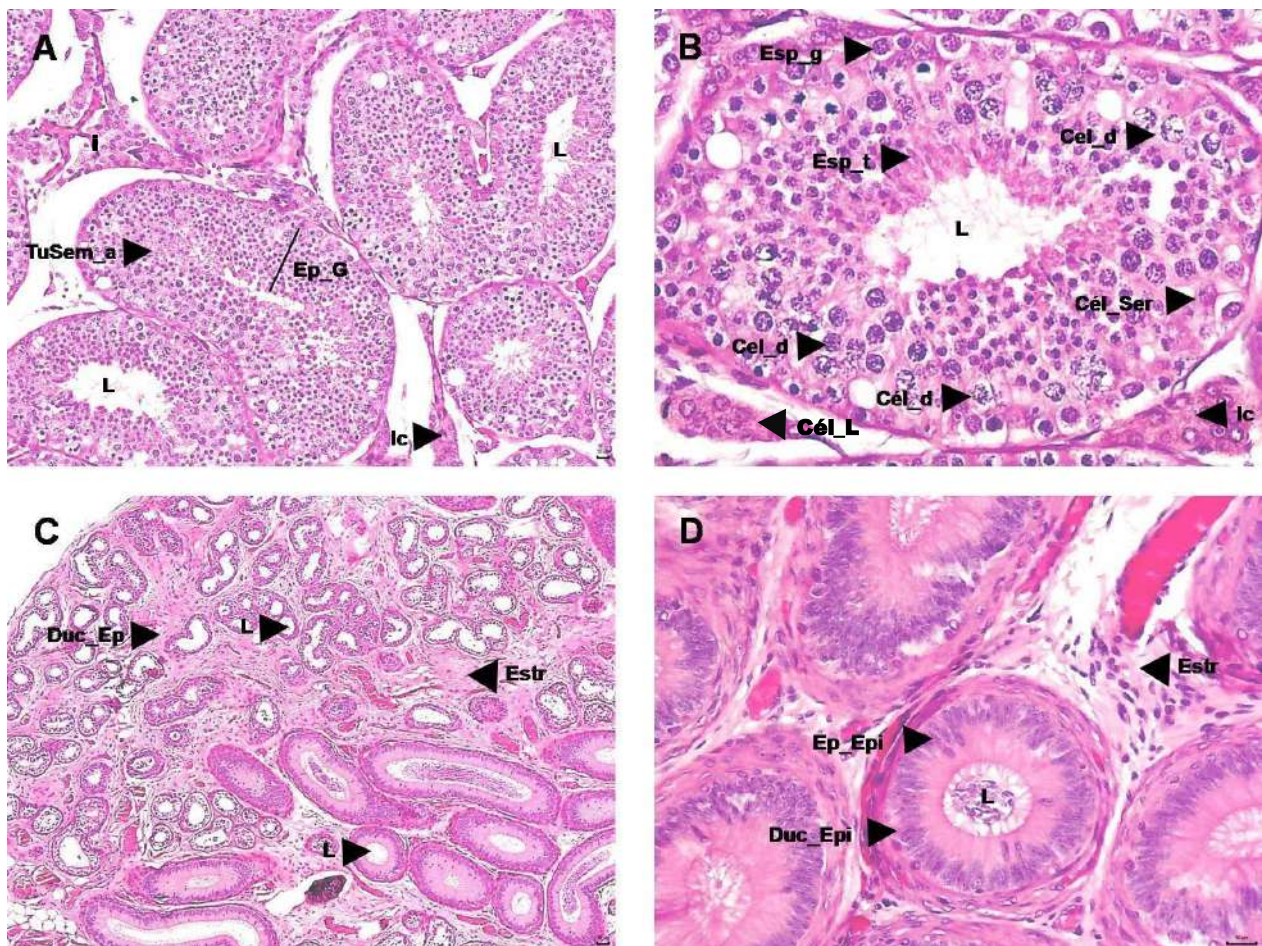


Figura 23: *Leontopithecus chrysomelas*. Fotomicrografia de Indivíduo Adulto (CP 3934). Testículo e epidídimo em corte transversal. A e B: Observam-se segmentos dos túbulos seminíferos adultos (TuSem_a) com epitélio germinativo (Ep_G)

espesso com alta celularidade. As espermatogônias (Esp_g) e células de Sertoli (Cél_Ser) estão localizadas na periferia dos túbulos; Os espermátocitos são representados pelas células em divisão celular (Cel_d), visíveis da segunda camada epitelial até a região adluminal; O lúmen (L) é evidente; São observadas espermátides (Esp_t) com núcleos ovais inseridos no epitélio e flagelos voltados para o lúmen. O tamanho médio dos túbulos seminíferos foi de 20,28 mm de diâmetro. No interstício (Ic), células intersticiais, estroma e células de Leydig (Cél_L). **C e D:** No epidídimo, observa-se ainda heterogeneidade no diâmetro dos segmentos do ducto (Duc_Epi) e no revestimento. Lúmen (L) bem definido contendo espermatozoides. Algumas regiões contêm segmentos com diâmetro menores, revestidos por epitélio simples variando de cúbico a cilíndrico (ou colunar) (diâmetro médio de 7,77 mm); outras regiões mais desenvolvidas apresentam segmentos revestidos por epitélio pseudoestratificado cilíndrico (colunar) com estereocílios (Ep_Epi) (diâmetro médio de 17,43 mm). Nas regiões com ductos menores (menos desenvolvidos), há uma quantidade maior de estroma (Estr) em relação a regiões mais desenvolvidas. Bar: 500 µm. HE

5.2.5 Achados da Ultrassonografia, Histologia e Fenótipo

O indivíduo CP 4014, adulto, foi laudado na ultrassonografia com atrofia/degeneração testicular esquerda. Fenotipicamente apresentava pleno desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários, possui registro de paternidade, posição hierárquica familiar determinada como dominante. Histologicamente foi confirmada a espermatogênese ativa com desenvolvimento de túbulos seminíferos e ductos epididimários morfológicamente normais (Figuras 24, 25 e 26).



Figura 24: *Leontopithecus chrysomelas*. Testículo na macro. É possível ver que o testículo direito é maior que o testículo esquerdo. Fonte: arquivo pessoal.

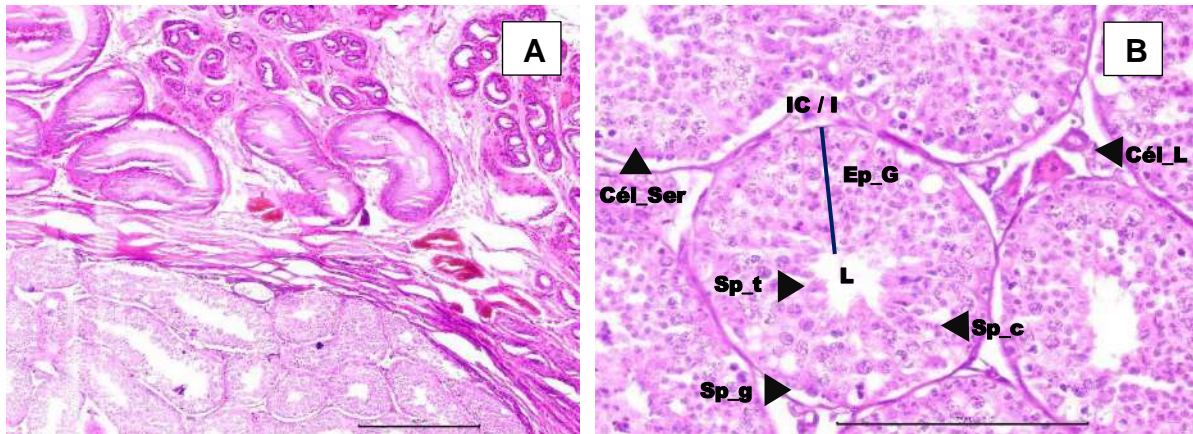


Figura 25: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4014, macho. Fotomicrografia de Testículo e epidídimo direito em corte transversal. **A e B:** Observam-se segmentos de túbulos seminíferos revestidos por epitélio germinativo (Ep_G). Esse epitélio é constituído por diferentes tipos celulares: células de Sertoli (Cél_Ser) e células da linhagem germinativa, incluindo espermatogônias (Sp_g), localizadas na região basal; espermatócitos (Sp_c), identificados como células em divisão; e espermatídes (Sp_t), posicionadas com seus flagelos voltados para o lúmen (L). No interstício (I), destacam-se as células de Leydig (Cél_L) ou intersticiais (IC). Bar: 500 µm. HE

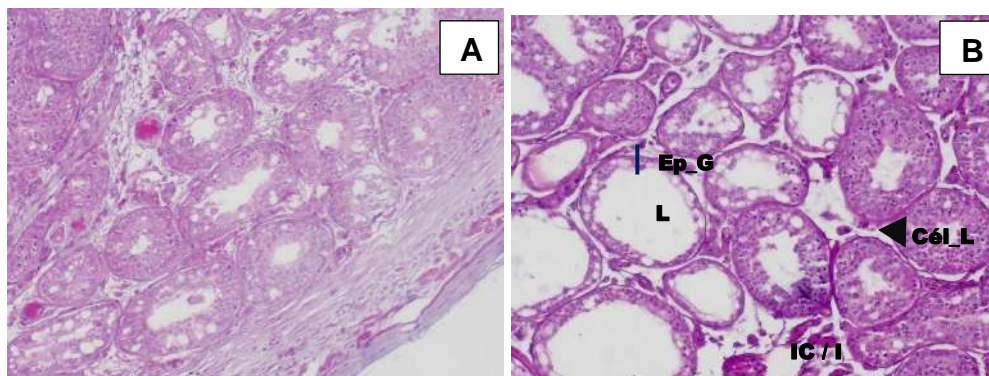


Figura 26: *Leontopithecus chrysomelas* CP 4014, macho. Fotomicrografia de Testículo e epidídimo esquerdo em corte transversal. **A e B:** Observam-se túbulos seminíferos com acentuado processo degenerativo, caracterizados por desorganização do epitélio germinativo (Ep_G), rarefação ou ausência de células da linhagem espermatogênica e aumento do lúmen tubular (L). O interstício apresenta relativa preservação, com presença de células de Leydig (Cél_L) dispersas. Bar: 500 µm. HE

Os indivíduos CP 4100, CP 4093 e CP 4124 eram muito jovens, o que dificultou a análise ultrassonográfica, não sendo possível traçar um padrão para esses animais. Observou-se que em animais jovens havia o mesmo padrão citado para os indivíduos CP 4100 e CP 4124. Já o indivíduo CP 4093, apresentou padrão compatível com hipoplasia de testículos e epidídimos, possivelmente pela idade do animal. Histologicamente, verificou-se hipoplasia testicular, túbulos com formato irregular,

ausência parcial de células epitélio germinativo, células com citoplasma pálido e núcleo picnótico, total ausência de espermatócitos e espermatozoides (Figura 27). Não foi possível definir posição hierárquica dos animais juvenis no grupo familiar devido seu estágio de vida.

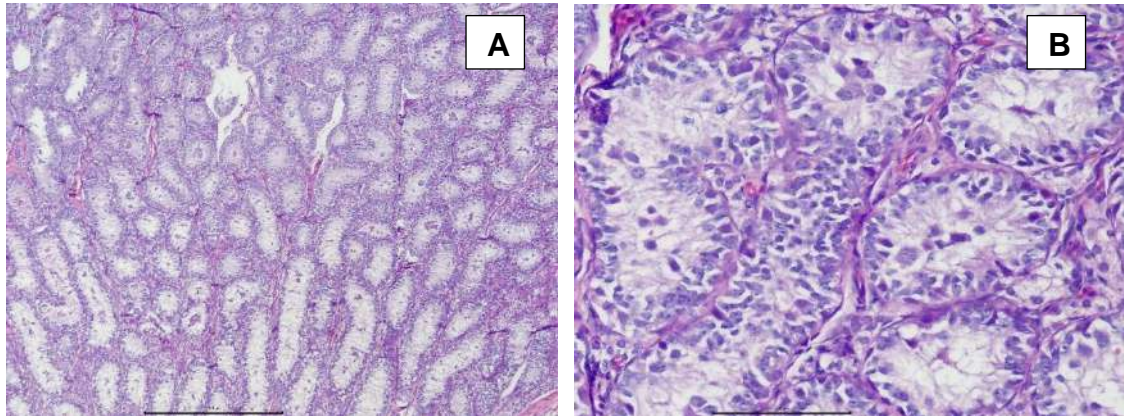


Figura 27: *Leontopithecus chrysomelas*. Indivíduo pré-pubere (CP 4093). Fotomicrografia de Testículo esquerdo em corte transversal. **A e B:** Observa-se hipoplasia testicular, caracterizada por túbulos seminíferos de formato irregular, com ausência parcial de estratificação do epitélio germinativo, com predomínio de células de Sertoli e presença reduzida de espermatogônias. Ausência de espermatócitos I, II, espermátides e espermatozoides. Bar 500 μ m.

Já nos animais adultos foi identificada atividade espermatogênica presente, com desenvolvimento adequado dos túbulos seminíferos e dos ductos epididimários, ambos com morfologia preservada. Foi possível ver espermatócitos, espermátides e espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos.

Dos 14 animais estudados, 11 indivíduos apresentavam epidídimo com segmentos heterogêneos e três animais apresentaram algum grau de atrofia testicular: CP 4093 com atrofia total de testículo; CP 4014 com atrofia parcial principalmente na periferia de testículo esquerdo; CP 4009 com raros focos de atrofia na periferia.

6. Discussão

Os dados avaliados neste projeto foram obtidos durante as estações seca e chuvosa para que entender a influência da sazonalidade durante o ano de 2024. O tamanho relativo dos testículos apresentou uma média de $1,58 \pm 0,31$, valores semelhantes aos encontrados na mesma espécie por Arakaki et al., 2020. A relação entre o peso corpóreo (kg) e o peso testicular total (g) nesta espécie, estimada pela análise de regressão linear mostrou uma correlação positiva entre as variáveis, sugerindo

que o peso corpóreo é um bom preditor do peso testicular em indivíduos da amostra analisada.

Neste trabalho, tivemos a disponibilidade de mensurar os testículos após a castração, ou seja, fora da bolsa escrotal. Embora tivéssemos um número reduzido de amostras (11 indivíduos), comparamos a massa testicular de *Leontopithecus chrysomelas* obtida diretamente pela pesagem na balança pós-castração, e a massa testicular inferida pela fórmula empírica de Lambert (Hsieh et al., 2009) e posterior uso do fator de conversão (Moller, 1991) com os testículos ainda na bolsa escrotal, como é usualmente feito nos exames andrológicos de animais que não serão submetidos à castração.

A comparação dos dois métodos utilizados para verificação da massa testicular (pesagem e fórmula pós morfometria testicular) pela aplicação do Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC) e da análise de Bland-Altman mostrou uma baixa concordância entre eles, sendo que a última apresentou um viés para obtenção de valores menores quando aplicada a fórmula. A amplitude do intervalo de confiança e a presença de valores negativos sugerem incerteza nos dados na comparação dos métodos de mensuração testicular. Tais resultados podem, possivelmente, estar relacionados ao tamanho amostral reduzido e à variabilidade nas medições. Estas limitações do presente projeto se devem à dificuldade de acesso aos testículos de animais silvestres pós-castração, sobretudo tratando-se de espécies ameaçadas de extinção, e pela inclusão de jovens e adultos de diferentes posições hierárquicas. A fim de obter resultados mais robustos, propomos um trabalho com maior prazo e maior número de animais.

A caracterização morfofuncional do sistema reprodutor masculino do *L. chrysomelas* através do estudo histológico e ultrassonográfico mostrou-se eficaz para diferenciar a maturidade entre indivíduos adultos e juvenis, onde animais pré-puberes apresentavam túbulos seminíferos com camada celular proliferativa e lúmen sem definição quando comparado aos animais adultos, e diagnosticar possíveis patologias, por exemplo a atrofia/degeneração testicular observada em um dos indivíduos estudado.

A padronização das imagens ultrassonográficas corrobora o uso desta técnica como ferramenta complementar segura e não invasiva na avaliação testicular em primatas neotropicais, como demonstrado em outros estudos com mamíferos silvestres e domésticos (De Oliveira et al., 2023). Avaliou-se que a arquitetura testicular e epididimária pôde ser visualizada com clareza nos adultos, porém não em animais muito jovens. Tal fato pode estar associado à resolução do equipamento disponível para o presente estudo, como também a imaturidade tecidual. Este achado é coerente com descrições anteriores que indicam que estruturas testiculares imaturas, com baixo volume e densidade celular reduzida, dificultam a interpretação ultrassonográfica (Andrade et al., 2017). A correlação entre

a imagem ultrassonográfica alterada e a confirmação histológica de atrofia/degeneração do indivíduo CP 4014 reforça a importância do uso conjunto de ambas as técnicas, quando da disponibilidade de material para a realização da histologia.

A presença de espermatogênese ativa, com visualização de espermatócitos e espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos dos adultos, indica maturidade funcional e está de acordo com os padrões descritos para primatas de hábitos semelhantes. Já os juvenis apresentam túbulos seminíferos com apenas células de Sertoli e espermatogônias, sem lúmen evidente, sendo esses achados típicos em fase pré-púbere. A espermatogênese ocorre dentro dos túbulos seminíferos nos testículos. É um processo dinâmico e contínuo de produção de espermatozoides haploides altamente diferenciados a partir de espermatogônias de células-tronco diploides indiferenciadas. A espermatogênese ocorre em três etapas principais: a fase proliferativa, a fase meiótica e a fase espermatogênica. A fase proliferativa é responsável pela manutenção do número de espermatogônias, que são células mitoticamente ativas localizadas sobre a membrana basal na periferia dos túbulos seminíferos. A segunda fase, a fase meiótica, envolve a formação dos espermatócitos, que passam por duas divisões meióticas, resultando em espermatócitos de primeira e segunda ordem. Na fase espermatogênica, ocorre a diferenciação das espermátides em espermatozoides, completando o processo de espermatogênese (Dreff, Van Esch & De Rijk, 2007).

Com base nas análises histológicas, os indivíduos avaliados fenotipicamente jovens, classificados como imaturos, apresentaram células do epitélio germinativo em divisão celular, sugerindo que a presença dessas células possa indicar a fase proliferativa na região mais basal do túbulo seminífero e, também início da fase meiótica, representado pelas células localizadas na região central. A presença dessas células pode estar associada à necessidade de aumentar a população de espermatogônias (fase proliferativa) e marcar o início da diferenciação celular para formar espermatócitos (fase de transição pré-púbere para púbere com início da fase meiótica), considerando que esses indivíduos estivessem entrando ou se preparando para entrada na puberdade.

A presença de células em divisão e ausência de células da linhagem espermatogênica de fases mais maduras (como espermátides e espermatozoides) indica que esses indivíduos ainda não apresentam a fase espermatogênica. Assim, acredita-se que provavelmente este seja um momento de transição final da fase de pré-púbere e início da fase reprodutiva. Os túbulos seminíferos nessa fase ainda se mostram com o lúmen aparentemente fechado. No entanto, em análises microscópicas com objetivas de maior aumento, é possível observar pequenas aberturas na região central dos túbulos seminíferos. Considerando que os túbulos dos indivíduos imaturos apresentam ausência de lúmen, esse

achado histológico sugere que, posteriormente, ocorrerá a coalescência dessas aberturas, culminando na formação do lúmen. Haruyama e colaboradores (2012) afirmam que, em macacos *Cynomolgus*, o lúmen dos túbulos seminíferos se desenvolve conforme a maturidade do indivíduo. O túbulo sem lúmen é comumente observado em mamíferos antes da puberdade, a presença do lúmen é vista em indivíduos após a puberdade pela fase espermatogênica.

A morfologia dos ductos epididimários também seguiu um padrão compatível com o grau de maturação sexual, com maior complexidade epitelial e presença de espermatozoides nos adultos. As observações histológicas vistas neste estudo sobre o ducto epididimário de *Leontopithecus chrysomelas* classificados como juvenis, sugerem que o desenvolvimento do ducto pode não depender exclusivamente da ação hormonal sistêmica de andrógenos, mas também de estímulos intrínsecos locais, relacionados à presença, passagem e movimentação dos espermatozoides no lúmen do ducto. Essa hipótese é corroborada pelas variações estruturais observadas entre os diferentes segmentos do epidídimo, principalmente no que se refere ao diâmetro do lúmen, ao tipo de epitélio de revestimento e à proporção de estroma intersticial. Tais diferenças morfológicas parecem refletir estágios distintos de maturação do órgão e podem estar associadas ao período de transição da fase pré-púbere para a puberdade. A presença de ductos com epitélio simples cúbico ou colunar baixo, lúmen reduzido e maior quantidade de estroma em indivíduos juvenis, em contraste com ductos amplos e revestimento epitélio pseudoestratificado cilíndrico estereociliado nos indivíduos adultos, reforça essa interpretação. A diferenciação em três regiões morfológicas do epidídimo (cabeça, corpo e cauda) é coerente com o descrito por Junqueira (2013) tanto em primatas quanto em outras espécies de mamíferos.

Os indivíduos avaliados fenotípicamente como adultos e com histórico de prole, também demonstraram células em divisão celular em vários segmentos dos túbulos seminíferos. A presença dessas células em divisão e a presença das demais células da linhagem espermatogênica compondo o epitélio seminífero, como espermátides e espermatozoides, indicam a fase espermatogênica ativa. Além desses achados, os ductos seminíferos desses indivíduos estavam repletos de espermatozoides, o que corrobora esse resultado.

Animais tidos como adultos apresentaram todos os segmentos do ducto epididimário revestido por epitélio pseudoestratificado cilíndrico estereociliado. Além disso, a ausência de alterações compatíveis com processos regressivos e membrana basal ondulada, reforça a hipótese de que as variações identificadas representam fases fisiológicas do desenvolvimento epididimário e não processos patológicos. Esses achados são corroborados por estudos em primatas e mamíferos domésticos, que indicam a relação da passagem espermática para a manutenção da estrutura e função

do epitélio epididimário (Santos, 20212; França, 2025). As diferenças também refletiram na quantidade de estroma entre os segmentos do ducto epididimário. Nesse caso, sugerimos que com o desenvolvimento dos segmentos, o estroma seja reduzido de acordo com a maturação e ocupação dos segmentos mais desenvolvidos.

Constata-se que machos satélites fenotipicamente maduros e sexualmente ativos apresentam atividade espermatogênica confirmada pelas análises histológicas, sugere que a hierarquia social em *L. chrysomelas* pode não inibir completamente a função reprodutiva, como já foi sugerido por estudos comportamentais em outros calitriquídeos (Saltzman et al., 2009). Tal fato possui implicações importantes para a conservação da espécie, pois reforça o papel dos machos satélites na diversidade genética dos grupos. A ausência de criptorquidia nos indivíduos analisados pode indicar baixa incidência dessa condição na população estudada, embora sua prevalência ainda seja pouco conhecida em primatas neotropicais. Essa informação é valiosa para protocolos reprodutivos e programas de manejo, especialmente em cativeiros ou reintrodução. Assim, os dados obtidos neste estudo contribuem significativamente para a compreensão da morfologia testicular e epididimária de *L. chrysomelas*, oferecendo subsídios para futuras ações entre métodos de imagem e análise histológica no estudo da biologia reprodutiva de primatas ameaçados.

7. Considerações finais

O presente estudo traz achados inéditos sobre a morfologia testicular e epididimária do *Leontopithecus chrysomelas*, com base na análise combinada de exames ultrassonográficos, mensuração e avaliação histológica dos testículos obtidos por orquiectomia. A associação entre essas metodologias demonstrou-se eficaz para caracterizar a maturidade sexual e identificar alterações funcionais no sistema reprodutor masculino da espécie.

Foi possível estabelecer um padrão histológico compatível com a maturidade reprodutiva em indivíduos adultos, caracterizado por espermatogênese ativa, presença de espermatozoides nos túbulos seminíferos e ductos epididimários desenvolvidos. Em contraste, os indivíduos juvenis apresentaram estruturas imaturas, com ausência de células espermatogênicas em estágios avançados e morfologia epididimária condizente com a fase pré-púbere.

A análise ultrassonográfica demonstrou eficácia na detecção de alterações testiculares, como a atrofia/degeneração de testículo esquerdo no indivíduo CP 4014, posteriormente confirmada por

exames histológicos. Contudo, observou-se limitação técnica na ultrassonografia em indivíduos muito jovens, acredita-se que devido ao tamanho das gônadas reduzido e à resolução do equipamento disponível para o estudo (10 MHz). Probes com maior frequência (12-18 MHz) devem ser consideradas para estudos futuros.

Os testículos desempenham um papel importante na reprodução e na manutenção da homeostase hormonal dos machos. Sua estrutura altamente especializada permite a produção contínua de espermatozoides e a secreção de testosterona, regulando diversos processos fisiológicos. O epidídimo, por sua vez, é órgão essencial para a maturação, armazenamento e transporte dos espermatozoides, com uma arquitetura histológica que facilita a absorção de fluidos, secreção de proteínas e movimentação espermática. Alterações no desenvolvimento, na morfologia ou na função dessas estruturas podem resultar em distúrbios reprodutivos e endócrinos, o que destaca a importância do conhecimento detalhado de sua anatomia e histologia para o diagnóstico e tratamento de patologias associadas à fertilidade.

A orquiectomia, utilizada na medicina veterinária e humana, apresenta benefícios significativos como tratamento, comportamento e controle de população dos animais. Em programas de manejo de fauna silvestre *ex-situ*, especialmente em espécies sociais como o *L. chysomelas*, a castração pode ser uma alternativa viável em casos de agressividade ou superpopulação. Quando indicada e realizada de maneira adequada, essa intervenção contribui para o bem-estar e longevidade dos indivíduos que não podem retornar ao seu local de origem.

A comparação entre dados histológicos, ultrassonográficos e fenotípicos revelou que a maturidade reprodutiva em *L. chysomelas* pode não estar rigidamente associada à hierarquia social no grupo familiar. Tal achado evidencia uma possível flexibilidade no desenvolvimento reprodutivo dos machos satélites, o que pode representar uma vantagem adaptativa para a manutenção da diversidade genética dentro de populações mantidas sob cuidados humanos ou *in-situ*.

A análise de regressão linear evidenciou que o peso corpóreo apresenta influência direta sobre o peso testicular total, indicando que animais mais pesados tendem a possuir testículos proporcionalmente mais pesados. A correlação observada foi positiva e estatisticamente significativa ($R = 0,711$; $p = 0,014$), demonstrando que a relação entre as variáveis não ocorreu ao acaso. O modelo explicou aproximadamente 50,5% da variação no peso testicular ($R^2 = 0,505$), sugerindo que, embora o peso corpóreo seja um fator importante, quase metade da variação permanece associada a outros aspectos não contemplados nesta análise, possivelmente relacionados a fatores individuais, hormonais ou ambientais. Entretanto, a análise da concordância entre os métodos de mensuração testicular revelou

limitações importantes: o baixo valor de ICC e a ausência de significância estatística sugerem que as estimativas obtidas por fórmulas não apresentam plena confiabilidade quando comparadas à pesagem direta em balança. A análise de Bland-Altman confirmou a existência de um viés sistemático, evidenciando que a balança tende a superestimar os valores em relação às estimativas, além de indicar ampla variação entre as medidas.

Dessa forma, embora o peso corpóreo possa ser considerado um bom preditor do peso testicular, os métodos indiretos de estimativa requerem cautela em sua aplicação, visto que não se mostraram plenamente intercambiáveis com a pesagem direta. Tais achados ressaltam a importância de se considerar as particularidades de cada método, bem como a necessidade de ajustes ou padronizações que garantam maior confiabilidade na avaliação testicular de *Leontopithecus chrysomelas*.

Este trabalho reforça a relevância da integração entre técnicas anatômicas, histológicas e de imagem no estudo da biologia reprodutiva de primatas neotropicais ameaçados, oferecendo subsídios para estratégias de conservação e manejo da espécie.

Conclui-se que, independente da hierarquia no grupo familiar, os animais mantêm níveis de desenvolvimento similares. O que explica os machos satélites com proles, importante para variabilidade genética do grupo. Nenhum dos animais analisados tinham histórico de criptorquidia.

8. Referência bibliográfica

Abrahamsohn, P., (2016). *Histologia* - 1. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. ISBN 978-85-277-3009-9. p. 334-346.

Andrade, N. M. S., Dos Santos, G.V. F., Pinto, J. P., Melo, A. Impactos da introdução de fauna exótica invasora no Brasil: foco nos vetores de doenças e suas consequências para a saúde pública. PhD Scientific Review, v. 5, n. 6, p. 38-57, 2025. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15683627>

Arakaki, P. R. Avaliação de dois diluidores para a criopreservação do sêmen de mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*). 2017. <https://pesquisa.bvsalud.org/porta1/resource/pt/vtt-208577>

Arakaki, P. R., Losano, J. D. A., Salgado, P. A. B., & Pereira, R. J. G. Seasonal effects on testes size and sustained semen quality in captive golden-headed lion tamarins, *Leontopithecus chrysomelas*. *Animal Reproduction Science*, 218, 106472. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106472>

Arakaki, P. R., Salgado, P. A. B., Teixeira, R. H. F., Rassy, F. B., Guimaraes, M. A. B. V., & Valle, R. R. Testicular volume and semen characteristics in the endangered southern muriqui (*Brachyteles arachnoides*). *Journal of Medical Primatology*, 48(4), 244-250. 2019. <https://doi.org/10.1111/jmp.12418>

ASA, Cheryl; MORESCO, Anneke. Fertility control in wildlife: Review of current status, including novel and future technologies. *Reproductive sciences in animal conservation*, p. 507-543, 2019.

Brito, M. B. S. de. Ultrassonografia modo B de alta resolução modo Doppler e uso de contraste de microbolhas na avaliação testicular de gatos domésticos. 2015. x, 38 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, 2015. doi: <http://hdl.handle.net/11449/135981>

Carneiro, J. C. Filogenia e história biogeográfica do grupo *Callicebus moloch* (Primates, Pitheciidae). 91 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, 2015. Programa de Pós-Graduação em Zoologia. 2015.

<https://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/8306>

Carvalho, C. F.; Chammas, M. C.; Cerri, G. G. Princípios físicos do Doppler em ultra-sonografia. *Ciência Rural*, v. 38, p. 872-879, 2008. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000300047>

Chaves, R. Estudo histológico dos sistemas reprodutores masculino e feminino de *Callithrix jacchus* (Linnaeus, 1758) (Primates: Callithricidae). 58 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ. 2006. <https://rima.ufrj.br/jspui/handle/20.500.14407/10855>

Coimbra Filho, A. F.. Os saguis do gênero *Leontopithecus* Lesson, 1840 (Callithricidae-Primates). 72 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1976. <http://hdl.handle.net/11422/2615>

Cooper, T.G., & Yeung, C.H. Sperm maturation in the human epididymis. In: De Jonge, CJ; Barratt, C. *The Sperm Cell Production, Maturation, Fertilization, Regeneration*, p. 72-107. 2006. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511545115.005>

De la Riva, G. T., Hart, B. L., Farver, T. B., Oberbauer, A. M., Messam, L. L. M., Willits, N., & Hart, L. A. Neutering Dogs: Effects on Joint Disorders and Cancers. 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055937>

De Oliveira, G., Romiro, E. T., Franco, E. S., Costa, A. C. M. S. F. Avaliação de animais silvestres através de ultrassonografia. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, v. 9, n. 4, p. 646-653, 2023. <https://doi.org/10.51891/rease.v9i4.9247>

Dietz, J. M., Baker, A. J., & Ballou, J. D. Demographic evidence of inbreeding depression in wild golden lion tamarins. *International Journal of Primatology*, 15(5), 707-719.

1994.<https://doi.org/10.1017/CBO9780511623448.014>

Dreff, H. C.; Van Esch, E.; De Rijk, E. P.C.T. Spermatogenesis in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*): a practical guide for routine morphological staging. *Toxicologic pathology*, v. 35, n. 3, pág. 395-404, 2007. <https://doi.org/10.1080/01926230701230346>

Ferraz, F. S. Morfofisiologia testicular de saguis híbridos de vida livre (Callitriquidae: Primatas) . 63 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 2015.

Fleagle, J. G. *Primate Adaptation and Evolution*. 3rd edition. New York: Academic Press. 2013.

Ford, S. M., & Davis, L. C. (1992). "Systematics and body size: implications for feeding adaptations in New World monkeys". *American Journal of Physical Anthropology*, 88(4), 415-468. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330880403>

França, L. R. & Avellar, M. C. W. (2025). Espermatogênese e maturação espermática: aspectos relevantes durante o exame andrológico nas espécies domésticas. *Rev Bras Reprod Anim*, v. 49, n. 2, p. 574-584, 2025. DOI: 10.21451/1809-3000.RBRA2025.030

Gartner, L. P.; Hiatt, J. L.(2019). *Tratado de Histologia em Cores*.5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier.

German, A. J. (2006). The growing problem of obesity in dogs and cats. *The Journal of Nutrition*, v. 136, n. 7, p. 1940S–1946S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.7.1940S>

Gonçalves, G. S.; Lauton, D. C. R.; De Oliveira, T. V. Saguis no campus: percepção ambiental e influência humana na dieta e comportamento de calitriquíneos na Universidade Estadual de Feira de Santana (BA). *Revista Brasileira de Educação Ambiental (RevBEA)*, v. 20, n. 2, p. 374-396, 2025. <https://doi.org/10.34024/revbea.2025.v20.19835>

Guyton, A. C.; Hall, J. E. *Tratado de Fisiologia Médica*. 14^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier. Capítulo 81, p. 1011-1015. 2021.

Harcourt A, Purvis A, Liles L. Sperm competition: mating system, not breeding season, affects testes size of primates. *Functional Ecology*. 1995; 9(3):468-476.

Haruyama, E., Suda, M., Ayukawa, Y., Kamura, K., Mizutamari, M., Ooshima, Y., & Tanimoto, A. (2012). Testicular development in cynomolgus monkeys. *Toxicologic pathology*, 40(6), 935-942. doi: 10.1177/0192623312444619

Hershkovitz, P. *Living New World Monkeys (Platyrrhini)*. University of Chicago. ISBN 0-226-32788-4. Part II.1977.

Hoffman, J. M.; Creevy, K. E.; Promislow, D. EL. Reproductive capability is associated with lifespan and cause of death in companion dogs. *PloS one*, v. 8, n. 4, p. e61082, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061082>

Hsieh M-L, Huang S-T, Huang H-C, Chen Y, Hsu Y-C. The reliability of ultrasonographic measurements for testicular volume assessment: comparison of three common formulas with true testicular volume. *Asian Journal of Andrology*. 2009;11(2):261-265.

Junqueira, L. C.; Carneiro, J. (2013). *Histologia Básica: Texto e Atlas*. 13^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Kleiman, D. G., & Rylands, A. B. "Lion Tamarins: Biology and Conservation". Washington, D.C.: *Smithsonian Institution Press*. 2002.

Kustritz, M. V. R.(2007). Determining the optimal age for gonadectomy of dogs and cats. *Journal of*

the American Veterinary Medical Association, v. 231, n. 11, p. 1665-1675.
<https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/231/11/javma.231.11.1665.xml>

MA, Irene WY; CHUN, Rosaleen; KIRKPATRICK, Andrew W. Basics of ultrasound. In: *Ultrasonography in the ICU: Practical Applications*. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 1-36.https://doi.org/10.1007/978-3-319-11876-5_1

Machado, C. S. C. "Avaliação dos parâmetros bioquímicos de Micos-leões-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) de vida-livre no município de Niterói, Rio de Janeiro". Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. 2013.

Ministério do Meio Ambiente (MMA). Link: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-mma-n-148-de-7-de-junho-de-2022-406272733>

Mittermeier, R. A., Rylands, A. B., Jerusalinsky, L., De Melo, F. R., Kierulff, M. C. M., Lynch, J. W., Mendes, S. L., Canale, G. R., Oliveira, L. C., Rezende, G. C., Talebi, M., Ferraz, L. P., Strier, K. B. & Pissinatti, A. *Monkeys of the Atlantic Forest of Eastern Brazil. Pocket Identification Guide. Second Edition. 2022.*

Moller AP. Sperm competition, sperm depletion, paternal care, and relative testis size in birds. *The American Naturalist*. 1991;137(6):882-906.

Moraes, A. M. Avaliação da Estrutura Genética das Populações de Mico-Leão-da-Cara-Dourada, *Leontopithecus chrysomelas* (Kuhl, 1820) (Primates: Callitrichidae), no sul da Bahia, Brasil. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Estadual do Norte Fluminense. 2011. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://uef.br/posgraduacao/ecologia-recursosnaturais/wp-content/uploads/sites/7/2013/10/Andreia-MMoraes.pdf](https://uef.br/posgraduacao/ecologia-recursosnaturais/wp-content/uploads/sites/7/2013/10/Andreia-MMoraes.pdf)

Neilson, J. C., Eckstein, R. A., & Hart, B. L. (1997). Effects of castration on problem behaviors in male dogs with reference to age and duration of behavior. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211(2), 180-182.
<https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/211/2/javma.1997.211.02.180.xml>

Oliveira, K. M., Muzzi, L. A. L., Torres, B. B. J., Alves, E. G. L., Sampaio, G. R., & Muzzi, R. A. L. (2010). Estudo comparativo entre três técnicas abertas de orquiectomia em gatos. *Acta Scientiae Veterinariae*, 38(2), 177-183. *Acta Scientiae Veterinariae*. 38(2): 177-183, 2010.

Oliveira, L.C., Neves, L.G., Kierulff, M.C.M., Jerusalinsky, L., Mittermeier, R.A. & Rylands, A.B. 2021. *Leontopithecus chrysomelas* (amended version of 2020 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T40643A192327573. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-1.RLTS.T40643A192327573.en>. Acessado em 17 de Setembro de 2024.

Pegram, C., Brodbelt, D. C., Church, D. B., Hall, J., Owen, L., Chang, Y. M., & O'Neill, D. G. Associations between neutering and early-onset urinary incontinence in UK bitches under primary veterinary care. *Journal of Small Animal Practice*, 60(12), 723-733. 2019.
<https://doi.org/10.1111/jsap.13072>

Peixoto, G. C. X., Lira, R. A., Alves, N. D., Silva, A. R. Bases físicas da formação da imagem ultrassonográfica. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 4, n. 1, p. 15-24, 2010.
<https://doi.org/10.21708/avb.2010.4.1.1538>

Pereira, D. G. Densidade, genética e saúde populacional como ferramentas para propor um plano de controle e erradicação de invasão biológica: o caso de *Callithrix aurita* (Primates) no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, RJ, Brasil. 163 f. Tese (Doutorado em Meio Ambiente) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.
<http://www.bdtd.uerj.br/handle/1/14251>

- Rego, M. A. F. Avaliação de três protocolos de contenção química de mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) para procedimento de vasectomia. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica Veterinária). Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2017. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10137/tde-22052017-143800/publico/MARIO_ANTONIO_FERRARO_REGO_CORRIGIDA.pdf
- Rylands, A. B.; De Faria, D. S. Habitats, feeding ecology, and home range size in the genus *Callithrix*. *Marmosets and Tamarins*, p. 262-272, 1993. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198540229.003.0013>
- Rylands, A. B., Kierulff, M. C. M., Pinto L. P. S. Distribution and status of lion tamarins. In: Kleiman, D. G., Rylands, A. B. (Eds). *Lion Tamarins - Biology and Conservation*. Washington DC: *Smithsonian Institution Press*, 2002. cap 2, p. 42-70
- Rylands, A. B., Mittermeier, R. A., & Rodriguez-Luna, E. "A species list for the New World primates (Platyrrhini): distribution by country, endemism, and conservation status". *Neotropical Primates*, 3(suppl), 113-160. 1995. <https://primate.socgen.ucla.edu/index.php/multivitaminic/article/download/295/250>
- Rylands, A. B., Schneider, H.; Langguth, A., Mittermeier, R. A.; Groves, C. P.; Rodríguez-Luna, E. An assessment of the diversity of New World primates. *Neotropical primates* 8(2) : 61-93. 2000. doi: <https://doi.org/10.62015/np.2000.v8.453>
- Rylands AB and Mittermeier RA. Taxonomy and systematics of the Neotropical primates: a review and update. *Front. Conserv. Sci.* 5:1391303. 2024. doi: 10.3389/fcosc.2024.1391303.
- Saltzman, W.; Digby, L. J.; Abbott, D. H. Reproductive skew in female common marmosets: what can proximate mechanisms tell us about ultimate causes? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 276, n. 1656, p. 389-399, 2009. doi: <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1374>
- SANTOS, P. R. da S. Estudo ultraestrutural do desenvolvimento da espermatogênese e da via espermiática de preás (*Galea spixii*, Wagler, 1831) criados em cativeiro. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10132/tde-01112013-154704/publico/PAULO_RAMOS_DA_SILVA_SANTOS_Original.pdf

Stanzani, D. Avaliação das características vasculares dos nódulos sólidos de mama com ultrassonografia Doppler pré e pós-injeção de contraste por microbolhas. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. doi: <https://doi.org/10.11606/T.5.2010.tde-02022011-174455>

Wallace, P.; Asa, C.; Agnew, M.; Cheyne, S. A review of population control methods in captive-housed primates. *Animal welfare*. 25(1):7-20. 2016. doi:10.7120/09627286.25.1.007

Werner Júnior, H., Santos, J. L. dos, Belmonte, S., Ribeiro, G., Daltro, P., Gasparetto, L. E., Marchiori, E. Aplicabilidade da tecnologia tridimensional na medicina fetal. *Radiologia Brasileira*, v. 49, p. 281-287, 2016. <https://doi.org/10.1590/0100-3984.2015.0100>

Anexo I



Fundação Educacional Serra dos Órgãos
Centro Universitário Serra dos Órgãos
Reitoria
Direção de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão
Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO
PROTOCOLO DE PESQUISA Nº 566/23
Anexo I

Certificamos, conforme a Orientação Técnica do CONCEA nº 5, de 27 de abril de 2015, que a proposta intitulada **“ORQUIECTOMIA BILATERAL E OOFORECTOMIA LAPAROSCÓPICA EM Leontopithecus chrysomelas (Kuhl,1820) A FIM DE CONTROLE POPULACIONAL, ALIADO À AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E ULTRASSONOGRÁFICA DE TESTÍCULOS E OVÁRIOS E DO EXAME OFTALMOLÓGICO”**, recebida em 13/12/2023, como protocolo de entrega 1212.2342.034/2023, registrada com o nº **566/23**, sob a responsabilidade de **Fernando Luis Fernandes Mendes** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFESO), na **103ª REUNIÃO ORDINÁRIA**, no dia **15/12/2023**. De acordo com a Resolução Normativa nº 22, de 25 de junho de 2015, anexo item 8 e baseado no parágrafo 4º do artigo 22 do Regimento Interno desta Comissão registramos que **É OBRIGATÓRIO a cada seis meses e ao final da pesquisa o envio de relatório consolidado impresso à CEUA que o autorizou.**

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa científica
Vigência da autorização	15/12/2025
Espécie /Linhagem/ Raça Nº de animais /Sexo	Leontopithecus chrysomelas: 30 machos e 30 fêmeas; L. rosalia: 03 machos e 03 fêmeas; L. chrysopygus: 03 machos e 03 fêmeas.
Peso	Variável
Número total de animais	72
Idade	Variável
Origem	CPRJ-INEA

Teresópolis, 15 de dezembro de 2023.


Professor Alcides Pissinatti
Coordenador CEUA – UNIFESO
PO/GR/A/010/23

Av. Alberto Torres, 111 – Alto – CEP 25.964-000 – Teresópolis-RJ – Brasil – Tel.: (21) 2641-7000 – Fax (21) 2741-5270
CNPJ/MF Nº 32.190.092/0001-06 – Inscrição Estadual Isento
Est. Wenceslau José de Medeiros s/nº - Vale do Paraíso – Teresópolis-RJ CEP:25.976-340
Tel.: (21) 2743-5342 - 2743-5301 . Fax: (21)2743-5321

Anexo II



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95827-1	Data da Emissão: 08/01/2025 11:39:06	Validade*: 08/01/2026
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Michelle Nogueira Lundstedt	CPF: 057.980.217-50
Título do Projeto: Avaliação ultrassonográfica e histológica de testículos de mico-leão-de-cara-dourada, <i>Leontopithecus chrysomelas</i> (Kuhl, 1820)	
Nome da Instituição: Fundação Universidade Federal de São Carlos	CNPJ: 45.358.058/0001-40

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Confeção e análise de lâminas histológicas	09/2024	02/2025
2	Análise de dados e defesa de mestrado	03/2025	04/2025
3	Coleta de materiais	09/2024	02/2025

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Paloma Rocha Arakaki	Orientadora do programa de mestrado	325.927.178-38	Brasileira
2	Silvia Bahadrian Moreira	Colaboradora	061.794.907-00	Brasileira
3	DANIEL GUIMARAES UBIALI	Colaborador	329.592.088-54	Brasileira
4	ALCIDES PISSINATTI	Colaborador	208.501.317-15	Brasileira

Anexo III

Identificação do animal:
Idade/DN:
Posição social no grupo:
Data de castração:
Peso do animal:

Circunferencia do testiculo na bolsa escrotal (cm):

Testiculo direito (mm)	Testiculo esquerdo (mm)
Comprimento:	Comprimento:
Largura:	Largura:
Espessura:	Espessura:
Peso:	Peso:

Identificação do animal:
Idade/DN:
Posição social no grupo:
Data de castração:
Peso do animal:

Circunferencia do testiculo na bolsa escrotal (cm):

Testiculo direito (mm)	Testiculo esquerdo (mm)
Comprimento:	Comprimento:
Largura:	Largura:
Espessura:	Espessura:
Peso:	Peso:

Identificação do animal:
Idade/DN:
Posição social no grupo:
Data de castração:
Peso do animal:

Circunferencia do testiculo na bolsa escrotal (cm):

Testiculo direito (mm)	Testiculo esquerdo (mm)
Comprimento:	Comprimento:
Largura:	Largura:
Espessura:	Espessura:
Peso:	Peso:

Identificação do animal:
Idade/DN:
Posição social no grupo:
Data de castração:
Peso do animal:

Circunferencia do testiculo na bolsa escrotal (cm):

Testiculo direito (mm)	Testiculo esquerdo (mm)
Comprimento:	Comprimento:
Largura:	Largura:
Espessura:	Espessura:
Peso:	Peso: