

COLHEITA E AVALIAÇÃO DO SÊMEN DE SAGUI-DE-TUFO-BRANCO (*Callithrix jacchus*)

CARLOS EDUARDO DA SILVA VERONA,¹ FABIANA FERREIRA DE SOUZA,² GILSON HÉLIO TONIOLLO,³
JOAQUIM MANSANO GARCIA³ E CÉSAR ROBERTO ESPER³

1. Departamento de Endemias, Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Universidade Gama Filho

2. Professora doutora da Pós-Graduação, UNIFRAN, Franca, SP. E-mail: fertcani@fertcani.vet.br (autora correspondente)

3. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Jaboticabal

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi verificar a eficiência do método de eletroejaculação na colheita de sêmen de saguis-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*) e realizar uma avaliação descritiva dos aspectos físicos e morfológicos do ejaculado. Foram utilizados três espécimes adultos e colhidas nove amostras de sêmen de cada animal, pela eletroejaculação. Para os testes de dissolução dos coágulos seminais, utilizaram-se nove variações de três tipos de meios.

De todas as variações estudadas, o meio TALP, livre de íons Ca^{+2} , acrescido de tripsina a 0,5%, durante 45 minutos, a 37° C, mostrou-se o mais eficiente na dissolução do coágulo, porém não foi capaz de dissolvê-lo completamente. O método de eletroejaculação para colheita de sêmen em *C. jacchus* mostrou-se viável, apresentando sucesso em todas as colheitas, porém a qualidade do sêmen apresentou-se baixa.

PALAVRAS-CHAVES: *Callithrix jacchus*, eletroejaculação, primata, sêmen.

ABSTRACT

COLLECTION AND ANALYSIS OF SEMEN FROM THE COMMON MARMOSET (*Callithrix jacchus*)

The objective of this study was to evaluate the efficiency of different extenders on the semen from common marmoset to improve the quality of physical and morphological characteristics. Three adult specimens were used and nine ejaculates were collected from each one, using electroejaculation. To break up the seminal clot, nine varia-

tions of three different extenders were tested. TALP, Ca^{+2} free, with 0.5% trypsin, during 45 minutes at 37°C, was the best extender, dissolving partially the semen clot. The electroejaculation is a viable semen collection method for common marmoset, obtaining success in all animals, but the semen quality was relatively poor.

KEY WORDS: *Callithrix jacchus*, electroejaculation, primates, semen.

INTRODUÇÃO

Os primatas não humanos são muito utilizados como modelos em pesquisas biomédicas por sua proximidade filogenética ao homem. O sagui-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*) é a espécie de

calitriquídeo mais utilizada, por sua facilidade de manejo, de produção de filhotes, por ser pequeno (cerca de 300 g), não necessitar de muito espaço e pelo baixo custo de manutenção das colônias (HEARN, 1982, 1983; MANSFIELD, 2003). Essa espécie tem sido utilizada como modelo

experimental valioso em estudos relacionados à biotecnologia da reprodução (MILLAR et al., 2000).

Pesquisas na área de reprodução auxiliam a seres humanos, na resolução de problemas reprodutivos, e a outras espécies de primatas não humanos, tanto com objetivos clínico-cirúrgicos como conservacionistas. Diante do sério dilema de encontrar um balanço entre as populações humana e animal para o manejo e a preservação da biodiversidade, a reprodução assistida vem tornando-se um dos métodos mais eficientes na manutenção das espécies de primatas ameaçadas de extinção e no auxílio ao aumento das populações de cativeiro (HEARN, 1996).

A colheita e análise do sêmen é uma das formas essenciais de avaliação do desempenho reprodutivo de machos. Diferentes métodos são citados na literatura para a colheita de sêmen em primatas: vagina artificial (FUSSEL et al., 1973), masturbação (MARSON et al., 1988), eletroejaculação por sonda retal (WEISBROTH & YOUNG, 1965; LANG, 1967; CUI et al., 1991), estimulação peniana (VALÉRIO et al., 1969), lavagem vaginal (KUEDERLING et al., 1996) e vibroestimulação peniana (KUEDERLING et al., 2000; SCHNEIDERS et al., 2004).

A colheita de sêmen por eletroejaculação e sua posterior avaliação já foram desenvolvidas em diferentes espécies de primatas (WEISBROTH & YOUNG, 1965; BENNETT, 1967; LANG, 1967; ROUSSEL & AUSTIN, 1967; DENIS et al., 1976; MARSON, 1989; GOULD & YOUNG, 1990; SCHNEIDERS et al., 2004) e apresenta a vantagem de possibilitar colheitas repetidas de sêmen de alta qualidade, de um mesmo indivíduo (KUEDERLING et al., 1996).

O sagui-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*) foi a espécie escolhida para este estudo, por sua proximidade filogenética com outras espécies de calitriquídeos ameaçados de extinção, como, por exemplo, todas do gênero *Leontopithecus* (micoleões). Optou-se pela colheita de sêmen mediante eletroejaculação por sonda retal.

O objetivo do presente estudo foi verificar a eficiência do método de eletroejaculação na colheita de sêmen de *Callithrix jacchus* e realizar

uma avaliação descritiva dos aspectos físicos e morfológicos do ejaculado.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo

Desenvolveu-se o experimento no Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil, localizado a 21° 15' 22" graus de latitude sul, 48° 18' 58" graus de longitude oeste, a 595 m acima do nível do mar. A umidade relativa média do ar, durante o período experimental, foi de 64,9% e a temperatura média 22,1° C.

Animais

Utilizaram-se três machos adultos de *C. jacchus* (Fig. 1), provenientes do Parque Municipal Quinzinho de Barros, município de Sorocaba, São Paulo, Brasil.



FIGURA 1. Saguis-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*).

Manejo

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de 0,5 x 1,0 x 1,0 m e alimentados duas vezes ao dia com frutas, ração e suplementação

com complexo vitamínico/mineral; água *ad libitum*. Antes do início do estudo, submeteram-se os animais a um período de adaptação de trinta dias, para exames clínicos e laboratoriais de sangue (hemograma) e parasitológico de fezes, visando à avaliação e padronização das condições clínicas gerais de saúde. Durante o período de adaptação, o comportamento individual, assim como características das fezes, urina e a quantidade de alimento ingerido foram observados, diariamente, na tentativa de se perceber qualquer alteração funcional ou comportamental.

Como a espécie não apresenta sazonalidade reprodutiva, reproduzindo-se ao longo de todo ano, optou-se pelo primeiro semestre para o respectivo estudo.

Colheita do sêmen

As colheitas de sêmen de todos os animais foram realizadas no primeiro semestre do ano e a frequência das contenções de cada animal para colheita de sêmen respeitou um intervalo médio de uma semana. Realizaram-se as contenções físicas manualmente nas gaiolas, com o auxílio de luvas de couro e em seguida os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (Ketalar®, Pfizer, Guarulhos, SP - 20 mg/kg de peso corporal, IM). Após o procedimento anestésico, higienizaram-se o pênis e o prepúcio com solução salina e mediram-se os testículos com paquímetro. Após a higienização, uma sonda bipolar de 3 cm de comprimento e 0,7 cm de diâmetro (Figura 2) lubrificada (lubrificante a base de água K-Y Gel®, Johnson & Johnson, São Paulo, SP) foi introduzida no reto do animal, com os eletrodos posicionados ventralmente, para estimulação da próstata. A sonda, previamente conectada a uma fonte elétrica (Eletrovét, São Paulo, SP, Brasil), transmitia uma corrente máxima de 200 mA e 6 V, segundo o método descrito por CUI et al. (1991).

Todo material utilizado para colheita do sêmen apresentava-se aquecido em placa aquecedora, entre 33 e 37°C, e no momento da ejaculação as amostras foram colhidas em tubos plásticos de 1,5 mL.

Análise do ejaculado

Nove variações de três diferentes meios de diluição foram utilizadas (Quadro 1) para diluição e redução do coágulo seminal do ejaculado.



FIGURA 2. Macho adulto de *C. jacchus* anestesiado para colheita de sêmen. Sonda transretal para eletroejaculação (seta).

Para determinação do melhor meio diluente, diferentes amostras foram mantidas em cada um deles por 30, 45 e 60 minutos.

Na avaliação das amostras de sêmen, consideraram-se os aspectos macroscópicos (volume, aspecto e cor) e microscópicos (motilidade espermática, velocidade de progressão e morfologia espermática).

Determinou-se o volume com a utilização de uma pipeta automática e os resultados foram expressos em μL . Determinaram-se a cor e o aspecto pela visualização direta, considerando a cor branca opalescente como normal. A motilidade espermática e a velocidade de progressão foram determinadas com uma gota de sêmen diluído colocado sobre lâmina aquecida (38–40°C) e recoberta por lamínula. Realizou-se o exame pela observação direta do movimento das células espermáticas, utilizando um microscópio de contraste de fase (Carl Zeiss, Jena, Alemanha), em um aumento de 20 X. Representou-se a motilidade em porcentagem (0% a 100 %) de espermatozoides móveis. A velocidade de progressão foi representada por uma escala numérica de 0 a 5, em que 0 representou espermatozoides sem movimento e cinco espermatozoides com movimentos rápidos e vigorosos.

QUADRO 1. Composição dos meios e variações das substâncias diluentes utilizadas para desfazer o coágulo seminal de ejaculados colhidos de *C. jacchus*

Composição dos meios

Meio TALP livre de íons Ca^{2+} :

(0,53 g de NaCl; 0,0005 g de vermelho fenol; 0,023 g de KCl; 0,005 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,031 g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,21 g de NaHCO_3 ; 184 μl de lactato de sódio; 0,24 g de HEPES; em 100 ml de água ultrapura) (BAVISTER et al., 1983)

Meio de fertilização *in vitro*:

(0,012g de KCl; 0,2720 g de NaCl; 0,039 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,005 g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,11 g de NaHCO_2 ; 0,0023 g de NaHPO_4 ; 93 μl de lactato de sódio; 0,0005 g de vermelho fenol; em 50 ml de água ultra-pura) (BUSH, 1975)

9. Meio diluente de sêmen com EDTA:

(6,0 g de glicose, 0,37 g de EDTA, 0,375g de citrato de sódio, 0,12 g de bicarbonato de sódio em 100 ml de água destilada, sem adição de antibióticos para evitar a toxicidade aos espermatozoides) (MARTIN, 1979).

1. Acrescido de tripsina 0,5% (MARSON et al., 1988)
2. Acrescido de tripsina 1% (ACKERMAN & ROUSSEL, 1968)
3. Acrescido de pronase 0,5%
4. Acrescido de pronase 1%
5. Acrescido de tripsina 0,5% (MARSON et al., 1988)
6. Acrescido de tripsina 1% (ACKERMAN & ROUSSEL, 1968)
7. Acrescido de pronase 0,5%
8. Acrescido de pronase 1%

Avaliou-se a morfologia espermática após a confecção de esfregaços de sêmen fixados em glutaraldeído e corados com Giemsa. Foram avaliadas duzentas células de cada ejaculado e os resultados, expressos em porcentagem.

RESULTADOS

O experimento iniciou-se após a confirmação dos resultados parasitológicos de fezes negativos, avaliação comportamental e resultados dos hemogramas similares aos valores encontrados na literatura (YARBROUGH et al., 1984).

Não se observaram quaisquer reações adversas nos machos durante todo o período experimental e nem mesmo nos seis meses posteriores ao estudo. Assim, todos os procedimentos de contenção física, de farmacológica, assim como a colheita de sêmen, aparentemente, não produziram maiores transtornos à saúde dos animais.

Na análise biométrica, os animais do estudo não apresentaram diferenças estatísticas de peso, sendo que a média encontrada foi 362 ± 10 g. As análises estatísticas também não apresentaram diferenças significativas entre o tamanho dos testículos (medidos com paquímetro) esquerdo e direito de cada animal ao longo da pesquisa, nem tampouco

entre as dimensões dos testículos entre os animais, sendo encontradas as médias de $13,4 \pm 0,6$ mm de comprimento e $9,0 \pm 0,9$ mm de largura.

Foram colhidas 27 amostras de sêmen, dos três espécimes de *C. jacchus*, durante seis meses, totalizando nove amostras de cada animal. Todas as amostras apresentaram cor e aspecto branco opalescente, característicos para sêmen da espécie. As ejaculações ocorreram em um intervalo médio de cinco minutos, contados a partir do início dos estímulos. Todas as amostras colhidas apresentaram-se com coágulo seminal, o qual representava, praticamente, 100% do volume dos ejaculados.

De todas as amostras de sêmen analisadas, quatro (15%), de um mesmo animal ($n^\circ 2$), não apresentaram espermatozoides. A motilidade espermática do animal $n^\circ 3$ manteve-se estável nas sete colheitas iniciais (40%), porém caiu para 20% e 10%, respectivamente, nas duas últimas colheitas.

O volume do ejaculado variou entre 10 e 50 μL , porém só foi possível mensurar as frações seminais que se desprenderam dos coágulos formados.

A média dos resultados da análise seminal, de cada animal, está representada na Tabela 1. Os resultados incluem a motilidade espermática,

a velocidade de progressão, a porcentagem de espermatozoides morfologicamente normais, com defeitos de cabeça, de peça intermediária e de cauda.

A Figura 3 apresenta as fotomicrografias de espermatozoides normais e os defeitos mais

frequentemente encontrados nos *C. jacchus* deste estudo. Dos meios utilizados para diluição dos coágulos seminais, o que apresentou resultados mais satisfatórios foi o TALP, livre de íons Ca^{+2} , acrescido de tripsina a 0,5%, durante 45 minutos, a 37°C.

TABELA 1. Valores médios aproximados \pm desvio-padrão da análise do sêmen de três espécimes de *C. jacchus* (A), incluindo a motilidade espermática (ME), a velocidade de progressão espermática (VP), a porcentagem de espermatozoides normais (N), com defeitos de cabeça (DCb), de peça intermediária (DPI) e de cauda (DCa)

A	ME (%)	VP (0 a 5)	Morfologia espermática (%)			
			N	DCb	DPI	DCa
1	40 \pm 5	3 \pm 0,6	41 \pm 10	32 \pm 8	10 \pm 9	17 \pm 7
2	30 \pm 8	4 \pm 0,9	13 \pm 3	67 \pm 5	8 \pm 3	12 \pm 6
3	30 \pm 9	3 \pm 1,0	23 \pm 6	58 \pm 11	8 \pm 6	11 \pm 5

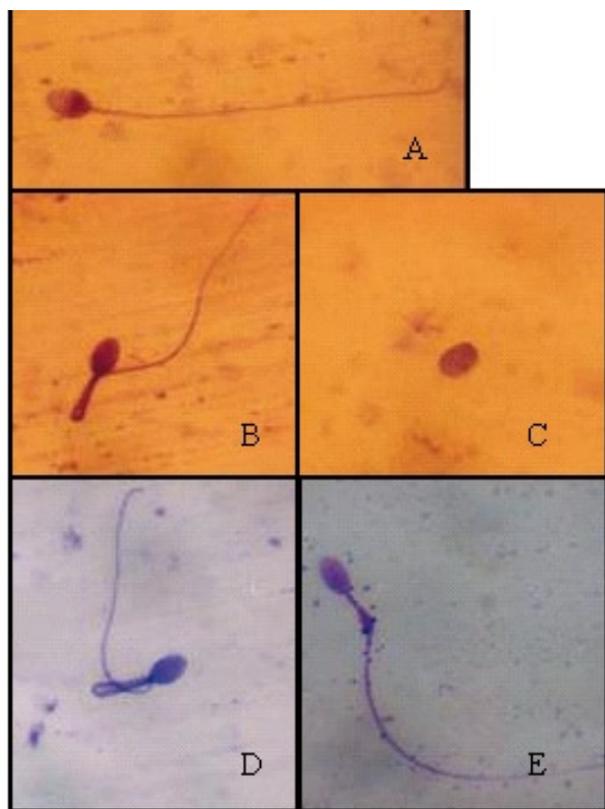


FIGURA 3. Fotomicrografias de espermatozoides de *Callithrix jacchus* (aumento de 330X), normal (A), com a cauda dobrada (B), decapitado (C), com a cauda fortemente dobrada (D) e com gota citoplasmática distal (E).

DISCUSSÃO

A coagulação do sêmen de primatas de forma geral, tanto Catarrinos quanto Platyrrinos, já foi descrita anteriormente (DENIS, 1976; MARSON, 1989). Alguns autores têm demonstrado que a formação do coágulo ocorre ainda na uretra, devido ao contato dos fluidos seminais com a secreção do lobo cranial da próstata (WEISBROTH & YOUNG, 1965; BENNETT, 1967; SCHAFFER et al., 1989). VALTONEN et al. (2005) detectaram seminogelina I e II no plasma seminal de saguis-de-tufo-branco, as quais são responsáveis pela coagulação do sêmen. Porém, os mesmos autores, inexplicavelmente, não detectaram o PSA (*prostatic-specific antigen*), o qual é responsável pela liquefação do sêmen humano.

O coágulo seminal observado em todas as amostras de sêmen foi o fator que mais dificultou a avaliação dos ejaculados, porém os resultados encontrados são semelhantes aos citados anteriormente por outros autores, utilizando a mesma técnica. CUI et al. (1991) estudaram sêmen de sagui e encontraram em suas colheitas um volume médio de 30 μL (8 a 85 μL), motilidade média de 48%, porcentagem de células morfologicamente

normais de 49%, sendo a porcentagem de defeitos de cauda e cabeça de 50% e 4,5%, respectivamente. KUEDERLING et al. (1996) encontraram uma qualidade seminal superior colhendo ejaculados dessa mesma espécie, porém pelo método de lavagem vaginal, após o acasalamento natural. Num primeiro estudo, colheram e analisaram quarenta amostras de sêmen e encontraram uma motilidade espermática que variou de 20% a 95%. Esse método de colheita foi considerado eficiente para obtenção de sêmen de alta qualidade, sem a necessidade de anestesia, pois o sêmen é colhido após a cópula voluntária e a lavagem vaginal não causa dor à fêmea. Contudo, trata-se de método que requer várias outras situações especiais como a presença de uma fêmea, a aceitação da cópula, a observação da cópula pelo pesquisador, uma

fêmea treinada para que a colheita do sêmen possa ser realizada sem anestesia ou uma jaula de contenção para mantê-la imóvel para proceder à colheita do sêmen intravaginal. Todos estes quesitos restringem o número de animais tecnicamente viáveis para utilização desse método e tornam o uso de animais não treinados praticamente impossível.

Como descrito na Tabela 2, existem dados diversos nos parâmetros seminais avaliados por diferentes autores, utilizando métodos de colheita diferenciados. No entanto, na maioria dos estudos, os resultados quanto ao volume e motilidade espermática são baixos, assim como no presente trabalho, o que dificultaria a aplicação de técnicas da reprodução, com o propósito de diversificação genética.

TABELA 2. Comparação do dados referentes à análise de sêmen de primatas *Callithrix jacchus* em diferentes estudos

Autor	Método de colheita*	Volume (µL)	Motilidade (%)	Morfologia espermática (% normais)
CUI et al., 1991	ELT	8 a 85	48	24 a 81
CUI, 1996	ELT	40,2	47,4	51,5
KUEDERLING et al., 1995	LV	20 a 95	--	--
KUEDERLING et al., 1996	LV	--	20 a 95%	--
MORREL et al., 1996	LV vs. ELT	--	74,8 vs. 70,7	91,9 vs. 87,6
KUEDERLING et al., 2000	EVP	31,9	59,6	--
GRUPEN et al., 2004	EVP	--	35 ¹ vs 85 ²	--

*ELT (eletroejaculação), EVP (estimulação vibratória do pênis), LV (lavado vaginal)

¹Machos em recintos com fêmeas e ²machos em recintos com machos.

A qualidade do sêmen colhido pode variar em diferentes colheitas, num mesmo animal, assim como pode haver variação entre indivíduos, relacionadas a diferenças genéticas (CUI et al., 1991), de idade, condição de saúde e variações na técnica como número de pulsos necessários para a ejaculação ou posicionamento da sonda retal (LANZENDORF et al., 1990). O sêmen resultante da eletroejaculação também pode seguir um fluxo retrógrado e então grande número de espermatozoides pode ser perdido na bexiga. A quantidade de espermatozoides perdidos na bexiga pode variar entre os animais e entre as colheitas de um mes-

mo animal, devido a diferenças na estimulação. Além disso, a variabilidade dos resultados de cada colheita pode surgir da diferença individual na adaptação ao manejo e às condições ambientais (CUI et al., 1991). No presente estudo, como verificado na Tabela 2, não foram observadas grandes variações inter ou intramachos relacionadas aos fatores anteriormente citados.

GRUPEN et al. (2004) encontraram qualidade inferior nos parâmetros do sêmen, colhido por estimulação vibratória do pênis, para as médias da motilidade (35% versus 85%) e concentração espermática total ($3,9 \times 10^6$ versus $10,1 \times 10^6$)

em machos alojados em recintos com fêmeas, comparados a machos alojados apenas com outros machos, respectivamente. Embora o método utilizado por esses autores tenha sido diferente do empregado no presente estudo, os machos foram alojados em gaiolas individuais, sem contato com fêmeas; no entanto, a qualidade do sêmen foi inferior àquela encontrada por GRUPEN et al. (2004).

A eletroejaculação, como afirmado anteriormente (CUI et al., 1991), mostrou-se um método eficaz para a colheita de sêmen em sagui-de-tufo-branco, já que em todas as tentativas foram obtidas amostras, porém em quatro colheitas do animal n° 2, ou 15 % do total, não se apresentaram espermatozoides.

Não foram encontrados relatos anteriores sobre a utilização eficiente do meio TALP, livre de íons Ca^{+2} , acrescido de tripsina a 0,5%, durante 45 minutos a 37°C, para desfazer o coágulo seminal nessa espécie. Os resultados apresentaram-se satisfatórios para a realização de uma avaliação parcial da amostra seminal, porém não foi suficientemente eficaz para a diluição total dos coágulos formados.

Um segundo passo após a determinação do diluente ideal para o coágulo seminal seria a criopreservação do sêmen. Porém, o pequeno volume seminal, a ausência de um diluente eficaz para desfazer totalmente o coágulo seminal e a baixa qualidade dos ejaculados, principalmente em relação à motilidade espermática, impossibilitaram a utilização dessas amostras para a criopreservação. Possivelmente, a utilização de um cateter intravenoso (a porção flexível), mantido na uretra durante a colheita, como descrito para a eletroejaculação de gatos domésticos, aumentaria o volume colhido (SOUZA^{1*}).

O sêmen da forma como foi colhido poderia ser utilizado para inseminação artificial a fresco, seguindo o mesmo princípio da técnica utilizada em cães (SEAGER & PLATZ, 1977). Descrições do sucesso da inseminação artificial nesta espécie tem sido feito por MORREL et al. (1997), usando sêmen proveniente do epidídimo, no qual seis de dezoito fêmeas conceberam. Em posterior estudo,

MORREL et al. (1998), também utilizando sêmen do epidídimo, fresco ou congelado, obtiveram sucesso com a inseminação artificial. Embora as descrições anteriores utilizam a inseminação como método de aplicação do sêmen do epidídimo, deve ser analisado que o sêmen ejaculado se dilui nas secreções das glândulas sexuais acessórias, o que faz com que ocorra a formação do coágulo seminal, dificultando a sua preservação. Assim, a utilização de um diluente que desfaça o coágulo seria essencial na criopreservação. Ademais, a obtenção do sêmen do epidídimo é possível em animais que foram orquiectomizados, *post-mortem* ou vivos, porém associada a alguns riscos.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo colaboraram para mais um avanço da técnica reprodutiva prática, eficiente e de baixo custo, que pode auxiliar na colheita, avaliação e inseminação artificial de primatas da família Callithrichidae, cuja maioria das espécies é endêmica e ameaçada de extinção. Além disso, também trazem avanços ao desenvolvimento de técnicas que tornem mais simples a criopreservação do sêmen dessa família, aumentando, assim, as chances de preservação do patrimônio genético dessas importantes espécies de primatas brasileiros.

AGRADECIMENTOS

À FUNEP, pelo apoio financeiro; aos professores e funcionários do Departamento de Reprodução Animal, FCAV, UNESP, Jaboticabal, que apoiaram a iniciativa de um estudo em primatas e pela dedicação e boa vontade para o desenvolvimento do experimento; ao Departamento de Clínica e Cirurgia, FCAV, UNESP, Jaboticabal, que cedeu o local para alojamento dos animais; ao Prof. Dr. José Maurício Barbanti, do Departamento de Melhoramento Genético, pelo apoio técnico na elaboração do experimento e cuidado com os animais; ao Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana e ao técnico do Laboratório de Patologia Clínica, do HV, FCAV, UNESP, Jaboticabal, pela realização dos exames laboratoriais de sangue e fezes; ao

^{1*} Souza, F.F. Comunicação pessoal, 2003.

Prof. Dr. Jurandir Fagliari, do Departamento de Clínica e Cirurgia, FCAV, UNESP, Jaboticabal, pela doação de material para o desenvolvimento deste estudo e auxílio nas análises dos resultados dos exames laboratoriais; à Cooperativa dos Funcionários, pelo fornecimento de frutas para os animais.

REFERÊNCIAS

- ACKERMAN, D. R.; ROUSSEL, J. D. Fructose, lactic acid and citric acid content of the semen of eleven subhuman primate species and man. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.17, p. 563-566, 1968.
- BAVISTER, B. D.; LEIBFRIED, M. L.; LIEBERMAN, G. Development of preimplantation embryos of the golden hamster in a defined culture medium. **Biology of Reproduction**, v. 28, p. 235-247, 1983.
- BENNETT, J. P. Semen collection in the squirrel monkey. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 13, p. 353-355, 1967.
- BUSH, B.; RUSSEL, L. H. Jr.; FLOWERS, A.I.; SORENS-EN, A. M. Semen evaluation in capuchin monkeys (*Cebus apella*). **Laboratory Animals**, v. 25, p. 588-593, 1975.
- CUI, K. H. The effect of stress on semen reduction in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). **Human Reproduction**, v. 11, p. 568-573, 1996.
- CUI, K. H.; FLAHERTY, S. P.; NEWBLE, C. D.; GUERIN, M.V.; NAPIER, A. J.; MATHEWS, C. D. Collection and analysis of semen from the common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Journal of Andrology**, v. 12, p. 214-220, 1991.
- DENIS, L.T.; POINDEXTER, A. N.; RITTER, M.B.; SEAGER, S.W. Freeze reservation of squirrel monkey sperm for use in timed fertilization studies. **Fertility and Sterility**, v. 27, p. 723-729, 1976.
- FUSSEL, E. N.; FRANKLIN, L. E.; FRANTZ, R. C. Collection of chimpanzee semen with an artificial vagina. **Laboratory Animal Science**, v. 23, p. 252-255, 1973.
- GOULD, K. G.; YOUNG, L. G. Acquisition of fertilizing capacity by chimpanzee sperm. **Folia Primatologica (Basel)**, v. 54, p. 105-108, 1990.
- GRUPEN, C. G.; SCOTT, S. J; GILCHRIST, R. B. Effects of animal pairing on marmoset sperm collected by penile vibratory stimulation. **Journal of Medical Primatology**, v. 33, p. 98-104, 2004.
- HEARN, J. P. Mechanisms regulating the reproduction and fertility of some mammalian species in their natural environments. **Laboratory Animal Science**, v. 46, p. 152-158, 1996.
- HEARN, J. P. The common marmoset. In: HEARN, J. P. (Ed.). **Reproduction in new world primates**, New York: Kluwer Academic Publishers (Hardcover), p. 181-216, 1983.
- HEARN, J. P. The reproductive physiology of common marmoset *Callithrix jacchus* in captivity. **International Zoo Yearbook**, v. 22, p. 138-143, 1982.
- KUEDERLING, I.; MORRELL, J. M.; NAYUDU, P. L. Collection of semen from marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) for experimental use by vaginal washing. **Laboratory Animals**, v. 30, p. 260-266, 1996.
- KUEDERLING, I.; SCHNEIDERS, A; SONKSEN, J.; NAYUDU, P. L.; HODGES, J.K. Non-invasive collection of ejaculates from the common marmoset (*Callithrix jacchus*) using penile vibrostimulation. **American Journal of Primatology**, v. 52, p. 149-154, 2000.
- LANG, C. M. A. Technique for the collection of semen from squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) by electro-ejaculation. **Laboratory Animal Care**, v. 17, p. 218-221, 1967.
- LANZENDORF, S. E.; GLIESSMAN, P. M.; ARCHIBONG, A. E.; ALEXANDER, M.; WOLF, D. P. Collection and quality of rhesus monkey semen. **Molecular Reproductive Development**, v. 25, p. 61-66, 1990.
- MANSFIELD, K. Marmoset models commonly used in biomedical research, overview. **Comparative Medicine**, v. 53, p. 383-392, 2003.
- MARSON, J. Influence of ejaculation frequency on semen characteristics in chimpanzees (*Pan troglodites*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 85, p. 43-50, 1989.
- MARSON, J.; MEURIS, S.; MOYSAN, F.; GERVAIS, D.; COOPER, R. W.; JOUANNET, P. Cellular and biochemical characteristics of semen obtained from pubertal chimpanzees by masturbation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 82, p. 199-207, 1988.
- MARTIN, J. C.; KLUG, E.; GÜNZEL, A.R. Centrifugation of stallion semen and its storage in large volume straws. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 27, p. 47-51, 1979.
- MILLAR, M. R.; SHARPE, R. M.; WEINBAUER, G. F.; FRASER, H. M.; SAUNDERS, P. T. Marmoset spermato-

genesis: organizational similarities to the human. **International Journal of Andrology**, v. 23, p. 266-277, 2000.

MORREL, J. M.; KUDERLING, I.; HODGES, J. K. Influence of semen collection method on ejaculate characteristics in the common marmoset, *Callithrix jacchus*. **Journal of Andrology**, v. 17, p. 164-172, 1996.

MORREL, J. M.; NOWSHARI, M.; ROSENBUSCH, J.; NAYUDU, P. L.; HODGES, J. K. Birth of offspring following artificial insemination in the common marmoset, *Callithrix jacchus*. **American Journal of Primatology**, v. 41, p. 37-43, 1997.

MORREL, J. M.; NUBBEMEYER, R.; HEISTERMANN, M.; ROSENBUSCH, J.; KUDERLING, I.; HOLT, W.; HODGES, J. K. Artificial insemination in *Callithrix jacchus* using fresh or cryopreserved sperm. **Animal Reproduction Science**, v. 52, p. 165-174, 1998.

ROUSSEL, J. D.; AUSTIN, C. R. Preservation of primate spermatozoa by freezing. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 13, p. 333-335, 1967.

SCHAFFER, N.E.; CRANFIELD, M.; FAZLEABAS, A.T.; JEYENDRAN, R.S. Viable spermatozoa in the bladder after electroejaculation of lion-tailed macaques (*Macaca silenus*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 86, p.767-770, 1989.

SCHNEIDERS A.; SONKSEN J.; HODGES J. K. Penile vibratory stimulation in the marmoset monkey: a practical

alternative to electro-ejaculation, yielding ejaculates of enhanced quality. **Journal of Medical Primatology**, v. 33, p. 98-104, 2004.

SEAGER, S. W. J.; PLATZ, C. C. Artificial insemination and frozen semen in the dog. **Veterinary Clinics of North America**, v. 7, p. 757-764, 1977.

VALERIO, D. A.; PALLOTTA, A. J.; COURTNEY, K. D. Experiences in large-scale breeding of simians for medical experimentation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.162, p. 282-296, 1969.

VALTONEN, A. C.; OLSSON, A. Y.; NAYUDU, P. L.; LUNDWALL, A. Ejaculates from the common marmoset (*Callithrix jacchus*) contain semenogelin and beta-microseminoprotein but not prostate-specific antigen. **Molecular Reproduction and Development**, v. 71, p. 247-255, 2005.

WEISBROTH, S.; YOUNG, F.A. The collection of primate semen by electro-ejaculation. **Fertility and Sterility**, v. 16, p. 229-235, 1965.

YARBROUGH, L. W.; TOLLETT, J. L.; MONTREY, R. D.; BEATTIE, R. J. Serum biochemical, hematological and body measurement data for common marmosets (*Callithrix jacchus jacchus*). **Laboratory Animal Science**, v. 34, p. 276-280, 1984

Protocolado em: 10 mar. 2007. Aceito em: 21 out. 2008