



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO CIÊNCIAS ANIMAIS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ANDREZA VIEIRA BRASIL

**CARACTERIZAÇÃO E ESTIMATIVA DA POPULAÇÃO FOLICULAR OVARIANA
EM TATUS-PEBA (*Euphractus sexcinctus*)**

MOSSORÓ

2020

ANDREZA VIEIRA BRASIL

**CARACTERIZAÇÃO E ESTIMATIVA DA POPULAÇÃO FOLICULAR OVARIANA
EM TATUS-PEBA (*Euphractus sexcinctus*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em MEDICINA VETERINÁRIA.

Orientador: Alexandre Rodrigues Silva, Prof. Dr.

MOSSORÓ

2020

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

B823c Brasil, Andreza.
Caracterização e estimativa da população
folicular ovariana em tatus-peba (*Euphractus*
sexcinctus) / Andreza Brasil. - 2020.
36 f. : il.

Orientador: Alexandre Silva.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Medicina
Veterinária, 2020.

1. Xenarthra. 2. Reprodução. 3. Foliculogênese.
4. Animais Silvestres. I. Silva, Alexandre,
orient. II. Título.

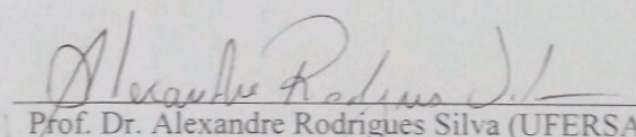
ANDREZA VIEIRA BRASIL

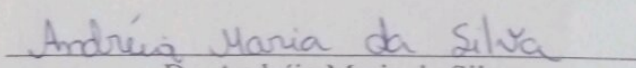
CARACTERIZAÇÃO E ESTIMATIVA DA POPULAÇÃO FOLICULAR OVARIANA
EM TATUS-PEBA (*Euphractus sexcinctus*)

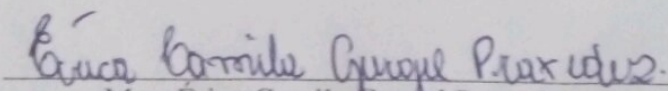
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em MEDICINA VETERINÁRIA.

Defendida em: 23 / 01 / 20 20.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Alexandre Rodrigues Silva (UFERSA)
Presidente


Dr. Andréia Maria da Silva
Membro


Msc. Érica Camila Gurgel Praxedes
Membro

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar e caracterizar a população folicular do ovário de Tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*). Para tanto, foram coletados os 5 pares de ovários de fêmeas adultas eutanasiadas. Em seguida os órgãos foram mensurados quanto ao seu tamanho e peso. Os ovários foram fixados em Carnoy por 12 horas, processados por histologia clássica, cortados em secções de 5 µm, corados em hematoxilina/eosina e finalmente avaliadas diretamente em microscopia de luz ou por meio de microfotografias. Estas imagens foram utilizadas posteriormente para mensuração das estruturas foliculares com o auxílio do programa de processamento de imagens ImageJ. Os folículos ovarianos pré-antrais (FOPAs) foram contados e avaliados por microscopia óptica, e classificados quanto a classe pertencente e quanto a morfologia. A população de FOPAs foi estimada segunda a fórmula: $PF = (n^{\circ} \text{ de folículos} \times n^{\circ} \text{ de secções} \times \text{espessura do corte}) \div (n^{\circ} \text{ de secções observado} \times \text{diâmetro médio do núcleo do oócito})$. Os resultados foram expressos em média e erro padrão, as comparações foram realizadas através de uma ANOVA unidirecional, sendo considerados estatisticamente significativos quando $P < 0,05$. Foram observados no ovário direito 7.933,40, 5.497,90 e 307,32 folículos primordiais, primários e secundários, respectivamente. Já no órgão esquerdo, na mesma ordem, foram 4.683,48, 3.838,98 e 238,15 folículos. Os diâmetros dos folículos foram 14,65, 11,067 e 7,05 para primordiais, primários e secundários, respectivamente. Os resultados obtidos fornecem informações fundamentais a respeito da população de folículos pré-antrais no ovário de *Euphractus sexcinctus*, que serão úteis para uma melhor compreensão futura da foliculogênese nesta espécie.

Palavras-chave: Xenarthra, Reprodução. Foliculogênese. Animais Silvestres.

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate and characterize the follicular ovary population of Tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*). For this, the 5 pairs of ovaries of euthanized adult females were collected. The organs were then measured for size and weight. The ovaries were fixed in Carnoy for 12 hours, processed by classical histology, cut into 5 µm sections, stained with hematoxylin / eosin and finally evaluated directly by light microscopy or by photomicrographs. These images were later used to measure follicular structures with the aid of the ImageJ image processing program. Pre-antral ovarian follicles (FOPAs) were counted and evaluated by light microscopy, and classified according to their class and morphology. The population of FOPAs was estimated according to the formula: $PF = (\text{number of follicles} \times \text{number of sections} \times \text{section thickness}) \div (\text{number of sections observed} \times \text{mean diameter of oocyte nucleus})$. Results were expressed as mean and standard error, comparisons were performed using a one-way ANOVA and were considered statistically significant when $P < 0.05$. 7933.40, 5,497.90 and 307.32 primordial, primary and secondary follicles, respectively, were observed in the right ovary. In the left organ, in the same order, there were 4,683.48, 3,838.98 and 238.15 follicles. Follicle diameters were 14.65, 11.067 and 7.05 for primordial, primary and secondary, respectively. The obtained results provide fundamental information about the pre-antral follicle population in the ovary of *Euphractus sexcinctus*, which will be useful for a better future understanding of folliculogenesis in this species.

Keywords: Xenarthra. Reproduction. Folliculogenesis. Wild Animals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Tatu-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i> Wagler, 1830).....	14
Figura 2	–	Aspectos morfológicos dos folículos ovarianos de tatu-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>). (A) Folículo morfolologicamente normal e (B) folículo morfolologicamente degenerado.....	23
Figura 3	–	Aspectos histológicos dos folículos ovarianos de tatu-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>). (A) Folículos primordiais e primários situados no córtex. (B) Folículo secundário com duas ou mais camadas de células da granulosa. (C)Folículos multioocitários. (D) Corte transversal de ovário.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Medidas de peso (g), comprimento (cm), largura (cm) e espessura (cm) dos ovários direito e esquerdo de tatus-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>) (média $\pm$ erro padrão).....	23
Tabela 2	–	Estimativa da população folicular ovariana em tatus-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>).....	24
Tabela 3	–	Diâmetro dos folículos ovarianos pré-antrais, oócitos e seus núcleos (μm) em tatus-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>), de acordo com as categorias foliculares (média $\pm$ erro padrão).....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
cm	Centímetro
FOPA	Folículo ovariano pré-antral
g	Grama
nº	Número
CGs	Células da granulosa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	O Tatu-peba	13
2.1.1	Importância da espécie.....	13
2.1.2	Características gerais e reprodutivas da fêmea.....	14
2.2	O folículo.....	16
2.3	Caracterização e estimativa da população folicular ovariana.....	17
3	OBJETIVOS	19
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1	Os Animais.....	20
4.2	Coleta e processamento dos ovários.....	20
4.3	Processamento histológico.....	20
4.4	Análise morfométrica.....	21
4.5	Estimativa da população folicular.....	21
4.6	Análise da integridade folicular.....	21
4.7	Análise estatística.....	22
5	RESULTADOS.....	23
6	DISCUSSÃO.....	26
7	CONCLUSÃO	30
	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

O tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*) é uma espécie mamífera silvestre que se distribui amplamente pela costa leste da América do Sul, sendo classificada quanto ao risco de extinção como espécie pouco preocupante, com população estável (ABBA et al, 2014). Alimentam-se de pequenos invertebrados presentes em massas orgânicas como árvores caídas, o que faz com que essas massas sejam fragmentas, e assim aumentam a superfície do material, o que facilita a decomposição por fungos e bactérias. Além disso, promovem a ciclagem de nutrientes do solo ao introduzir e revolver matéria orgânica quando preparam suas tocas (PEREIRA JR.,2007).

Registros arqueológicos evidenciam que estes animais eram utilizados como fonte de alimento há 13.000 anos (ABBA et al., 2011) e, ainda hoje, a espécie tem sido utilizada como fonte de proteína e geração de renda. Culturalmente, ainda se acredita que partes do corpo do animal possam ser utilizadas para fabricação de remédios, explorados para atividades cinegéticas e para usos mágico religioso (Barbosa , 2009).

Os principais estudos nesta espécie concentram-se na descrição morfológica (REZENDE et al., 2011), ecologia (BONATO et al., 2008; BEZERRA et al., 2001), parasitologia e epidemiologia de doenças infectocontagiosas (FROTA et al., 2012; ACOSTA e LÓPEZ, 2013).

No ramo da reprodução, os estudos voltados á coleta e conservação de gametas masculinos de tatus-peba já encontram-se mais avançados (SILVA et al., 2015; SOUSA et al., 2014; SOUSA et al., 2016; SOUSA et al., 2013; SANTOS et al., 2011; SERAFIM et al., 2010). No entanto, pouco se sabe a respeito dos aspectos reprodutivos básicos das fêmeas, como sobre a morfologia do tecido ovariano. Desse modo, faz-se necessário o aprofundamento dos conhecimentos sobre a fisiologia reprodutiva, para que se possa aprimorar o manejo desta espécie em cativeiro (CAMPOS et al., 2016).

Nesse contexto, pesquisas a respeito da reprodução de tatus-peba, com enfoque no estudo das propriedades morfofisiológicas de seu ovário, podem fornecer informações importantes a respeito do potencial reprodutivo de uma fêmea. Sabe-se que os ovários das fêmeas mamíferas possuem milhares de oócitos, que em sua maioria estão inclusos nos folículos ovarianos pré-antrais. Apesar disto, uma ínfima quantidade poderá ser ovulada e fecundada, o que representa uma grande perda de material genético (GONÇALVES et al., 2001).

Deste modo, o conhecimento a respeito da caracterização e quantificação dos folículos ovarianos pré-antrais (FOPAs) representa um passo significativo para o desenvolvimento de tecnologias reprodutivas futuras que poderão contribuir para preservar essa espécie, bem como o seu material genético, resultando assim na formação de bancos de germoplasma.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Tatu-peba

2.1.1 Importância da espécie

A ordem Xenarthra (xenon, significa estranho e arthros, articulação) é um dos ramos mais antigos dos grupos de mamíferos placentários, do qual fazem parte preguiças, tamanduás e tatus. Os tatus são o grupo mais diverso em distribuição geográfica e em número de espécies, sendo 21 espécies que habitam desde o sul dos Estados Unidos até o Chile e a Argentina (BONATO et al., 2008).

A explicação mais convencional para a restrição geográfica da ordem é que esta tenha surgido da América do Sul quando o continente foi isolado de outra grande massa continental há milhares de anos (ENGELMANN, 1985). Especificamente no Brasil, o tatu-peba pode ser encontrado a partir do sul da Amazônia, e a partir daí se distribui em todos os biomas nacionais – Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Pantanal e Pampas (WETZEL, 1985).

Os dados coletados pelo órgão de preservação da biodiversidade brasileira, ICMBio, contribuem para que a IUCN classifique a situação do *E. sexcinctus* como ‘Menos Preocupante’ por se tratar de uma espécie comum e de ampla distribuição, além de serem tolerantes a mudanças ambientais (IUCN, 2019).

Os tatus têm características únicas como adaptabilidade às condições de laboratório, alta resistência a hipóxia, baixa temperatura corporal, entre outras que os tornam apropriados para utilização em pesquisas científicas (CÓDON et al., 2001). Desta forma, sugere-se que espécies de tatus que não estejam em situação preocupante como os tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*) possam ser utilizados como modelos experimentais para desenvolvimento de pesquisas voltadas para espécies ameaçadas como o tatu-bola (*Tolypeutes tricinctus*) (SOUSA et al., 2014). Além disso, são importantes em pesquisas biomédicas, como agentes infecciosos como o bacilo Hansen (*Mycobacterium leprae*), uma vez que este não é cultivável em laboratório. Assim, os tatus são utilizados experimentalmente para multiplicação do patógeno, com a finalidade de obter-se material biológico para diagnóstico e pesquisas de vacinadas, uma vez que estes são susceptíveis à bactéria, desenvolvendo a doença da mesma forma em

que ocorre em humanos, com formação de hansenomas (PEREIRA JR., 2007; BINFORD et al., 1976).

Adicionalmente, essa espécie desempenha notável papel ecológico uma vez que se alimenta de invertebrados e pequenos vertebrados, contribuindo para o equilíbrio das populações (BEZERRA, 2001). Podem ainda tornarem-se dispersores de sementes, uma vez que são capazes de alimentar-se de partes vegetais (ABBA e VIZCAÍNO, 2011). Entretanto, podem ser considerados pragas, quando há o crescimento da população, e estes invadem plantações, e também por seu hábito de cavar grandes tocas que prejudica a dinâmica dos solos (FALLABRINO e CASTIÑERA, 2006).

Ademais, a captura destes animais para subsistência alimentar em comunidades tropicais, principalmente as mais afastadas, pode ser essencial para sobrevivência destas (CAJAIBA et al., 2015). Além da carne do animal, outras partes de seu corpo são utilizadas para fins medicinais, como a banha do animal utilizada para tratamento de picadas de insetos, reumatismo e asma, e religiosos, como a cauda utilizada para proteção contra “mau olhado” (BARBOZA, 2009). Contudo, a utilização constante de espécies silvestres para tais fins vem sendo apontada como uma das causas para a diminuição populacional das espécies caçadas (CAJAIBA et al., 2015)

2.1.2 Características gerais e reprodutivas da fêmea

O tatu-peba (*Euphractus sexcinctus* Linnaeus, 1758) é o único representante do gênero *Euphractus* (Figura 1) da superordem Xenarthra. Dados sobre ecologia, biologia reprodutiva e análises filogenéticas das espécies pertencentes a esse grupo são imprecisos, uma vez que são dotados de características particulares bastante peculiares. A presença de carapaça, por exemplo, que é utilizada como defesa contra predadores é uma característica da ordem Cingulata, da qual pertencem os tatus (WETZEL, 1985).

Figura 1: Tatu-peba (*Euphractus sexcinctus* Wagler, 1830). Fonte: arquivo pessoal.



Esta espécie possui atividade principalmente diurna, mas também podem ter atividade a noite. Em geral, tem hábito solitário, mas podem ser vistos em bando durante a época reprodutiva (REDFORD e WETZEL, 1985; MEDRI, 2008). Os animais possuem uma cabeça cônica e achatada na parte superior; cor da carapaça varia de pardo-amarela a marrom clara, possuindo 6 a 8 faixas móveis; a cauda é longa, podendo ter de 11,9 a 24,1cm, além de ser protegida por anéis córneos. Os animais adultos podem chegar a de 40cm de comprimento, pesando entre 3,2 e 6,5 kg (LOUGHRY et al., 1998). Ressalta-se ainda, a presença de garras em todos os cinco dedos de cada membro, característica essa que lhe confere grande habilidade para cavar (POCOCK, 1924).

A maturidade sexual nesta espécie ocorre entre os 9 meses (GUCWINSKA, 1971) e um ano (ABBA e SUPERINA, 2010). Campos et al., 2016 relataram que por ocasião do estro, as fêmeas de tatu-peba estudadas apresentaram secreção vaginal com sangue, edema vulvar, e presença de muco. Os autores em questão consideraram um ciclo estral como sendo o intervalo entre períodos de estro, sendo assim constatarem a duração do ciclo como sendo em média de 23,5 dias. A fase estrogênica foi identificada com duração média de 8,8 dias (com variações de 4 a 16 dias), quando foi possível observar, através do exame ultrassonográfico, a presença de folículos ovarianos em crescimento. Tais estruturas foram descritas como corpos circulares regulares contendo líquido, em algumas vezes, anecóico, e em outras hipocóico.

A estação reprodutiva pode variar de acordo de acordo a região e a situação em que se encontram, por exemplo, em climas temperados os animais tendem a apresentar uma estação reprodutiva entre a primavera e o verão, mas as fêmeas em cativeiro podem apresentar estro durante o outono (NERIS et al., 2002). Já no Chaco boliviano, foi relatado que os animais apresentam estação reprodutiva no período seco com maior fecundidade nos primeiros meses do período chuvoso. Desta forma, para que haja reconhecimento do período receptivo da fêmea por parte do macho, os animais, de ambos os sexos, possuem glândulas no dorso que liberam secreções sinalizadoras, que também podem ser utilizadas para demarcação de tocas (MCDONOUGH e LOUGHRY, 2003). Nas fêmeas, a gestação tem duração média de 60 a 65 dias, com intervalo médio entre pa podendo nascer de um a três indivíduos por vez, do mesmo ou de outro sexo, uma vez que nesta espécie não há ocorrência de poliembrionia, como relatado em outras espécies de tatus como o tatu-galinha (*Dasyus novemcinctus*) (GUCWINSKA, 1971).

2.2 O folículo ovariano

Embora os estudos a cerca da ecologia estejam caminhando ao avanço, pouco se sabe a respeito da fisiologia ovariana desta espécie.

Nas fêmeas mamíferas, os ovários podem variar quanto ao peso e sua aparência entre as diferentes espécies, e também de acordo com os diferentes períodos do ciclo reprodutivo. Este órgão pode ser dividido em duas regiões, a medula e o córtex. A maior parte do córtex é formada por folículos, que são a estrutura de sustentação dos gametas femininos (SAMUELSON, 2007).

O folículo, por sua vez, tem a função de proporcionar um ambiente adequado para a manutenção da viabilidade do gameta feminino, e consiste em um oócito primário circundado por células de sustentação que, por conseguinte, são circundadas por células estromais especializadas (GONÇALVES et al., 2001). Cada folículo tem a capacidade de passar por progressivas mudanças que caracterizam a evolução de seus estágios, abrangendo a formação de folículos primordiais, primários, secundários terciários.

A classificação dos folículos ovarianos pode ser feita de diferentes maneiras, sendo as principais formas as que consideram: a) o tamanho, pela medida do diâmetro folicular; b) o grau de evolução, observando-se o formato e o número de camadas de células da granulosa (CGs); e c) a viabilidade.

A primeira proposta de classificação data de 1951 e leva em consideração o formato e a quantidade de células presentes na camada da granulosa, da seguinte forma: 1, oócito rodeado por uma camada simples de CGs achatadas; 2, oócito em crescimento rodeado por uma camada simples de CGs cuboides; 3, oócito em crescimento rodeado por duas camadas de CGs cuboides; 4, oócito em crescimento rodeado por três camadas de CGs cuboides; 5, oócito em crescimento rodeado por quatro ou mais camadas de CGs cuboidais, mas sem cavidade antral (MANDL & ZUCKERMAN, 1951).

Uma classificação proposta mais tarde considera as diferenças morfológicas entre os estágios foliculares, de tal forma que: um folículo primordial era composto por um gameta rodeado uma camada de 4 a 8 CGs achatadas; os primários mostravam um oócito rodeado por uma camada de 11 a 12 CGs cuboidais; os secundários, mais de uma camada de CGs cuboidais (HULSHOF et al., 1994).

Em uma classificação mais recente, Cortvrindt e Smitz (2001) caracterizam um folículo primordial como sendo um oócito circundado por uma única camada de CGs de formato pavimentoso; os folículos primários por um oócito circundado por uma única camada

de CGs de formato cuboidais, não possuindo células da camada da teca diferenciadas e podendo apresentar o início da formação de uma zona pelúcida. Os folículos secundários foram caracterizados como um gameta rodeado por pelo menos duas camadas de CGs de formato cúbico e com presença de uma zona pelúcida. Os folículos terciários e os pré-ovulatórios formam o grupo dos antrais, caracterizados por apresentarem uma corona radiata que circunda-os e células do cumulus que conectam o oócito às células da granulosa, além das células tecais e uma cavidade contendo líquido folicular (FIGUEIREDO, 2008).

Os folículos podem ainda ser considerados normais, quando o gameta possuir formato regular e seu citoplasma encontra-se homogêneo, e as CGs que o circundam estiverem organizadas; ou em degenerados quando o oócito possuir formato irregular e/ou for picnótico, o citoplasma apresentar-se heterogêneo e/ou retraído e as CGs estiverem desorganizadas (LOPES et al., 2009).

Por ocasião da ovulação, as células da granulosa expandem-se em número e tamanho em um processo que as transforma em células luteínicas, especificamente células luteínicas da granulosa ou células luteínicas grandes. Conforme as células da granulosa não transformam, formam-se diversas organelas para a produção de esteroides, de modo que estas células passam a ser primariamente envolvidas na produção de progesterona, e tornam-se capazes de converter androgênios em estrogênios. Um processo similar ocorre com as células adjacentes à teca interna, e estas passam a ser chamadas de células luteínicas pequenas, responsáveis por também produzir progesterona, alguns estrogênios e androgênios (SAMUELSON, 2007).

2.3 Caracterização e estimativa da população folicular ovariana

A população folicular ovariana, entre as distintas espécies, é marcadamente heterogênea, sendo 95% desta população constituída por folículos primordiais, os quais são considerados o pool de reserva dos folículos ovarianos (SAUMANDE, 1991). Em uma mesma espécie, esta população pode ainda sofrer a influência de outras variáveis como idade, estado nutricional, fatores genéticos, status reprodutivo e raça (SCARAMUZZI et al., 1993).

A obtenção de informações mais precisas a respeito desta população é importante para que se conheça o potencial reprodutivo de uma fêmea, bem como para ajudar no aumento do sucesso no emprego de biotécnicas reprodutivas (COMIZZOLI et al., 2010). Nesse sentido, vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos no sentido de estimar a população folicular ovariana em espécies mamíferas domésticas e silvestres, nestas últimas reforça-se o objetivo de preservação das espécies (grande-tatu-peludo - *Chaetophractus villosus* –CÓDON et al.,

2001; preá -*Galea spixii* –PRAXEDES et al., 2015; jumento nordestino – *Equus asinus* – LOPES et al., 2017; fetos bovinos –*Bos tauros* –ANTONINO et al., 2017; cutia -*Dasyprocta leporina* –SANTOS et al., 2018).

Na superordem de mamíferos placentários Xenarthra, a qual pertencem os tatus-peba, os trabalhos são restritos. Em grandes-tatus-peludos (*Chaetophractus villosus*), uma espécie filogeneticamente mais próxima aos tatus-peba, observou-se características estruturais específicas como folículos primordiais compostos por células foliculares que podem estar isoladas ou em camada completa. Constatou-se ainda que morfometricamente existem diferenças entre os estágios para folículos e oócitos (CÓDON et al., 2001).

Em bichos-preguiça (*Bradypus variegatus*), animais também pertencentes a superordem Xenarthra, a população foi estimada em 5.103,3 folículos por ovário, dos quais 89% foram caracterizados como primordiais, assim como na maioria dos mamíferos (SILVA, 2018). Favoretto et al. (2015) identificaram folículos em todos os estágios de desenvolvimento nesta espécie. Contudo, Saraiva et al. (2015) não observaram a presença de folículos pré-ovulatórios, na mesma espécie.

Números semelhantes foram encontrados em ovários de cutia (*Dasyprocta leporina*), onde a população foi estimada em 4419,8 e 5397,52 nos ovários direito e esquerdo, respectivamente. Além disso, foram encontrados folículos multioócitos em 11 animais, e estes eram mais presentes nos folículos primordiais (SANTOS et al., 2018). Embora os tipos celulares constituintes dos ovários encontrados nesta espécie se assemelhem aos encontrados por Praxedes et al. (2015) para preás (*Galea spixii*), observou-se que o comprimento ovariano destes últimos era maior que o de cutias, enquanto a sua população folicular era menor. Nesta espécie, a população estimada foi de 416 folículos em cada par de ovários. Diferentemente do que já foi relatado em outras espécies mamíferas, em preás a população folicular é formada predominantemente por folículos primários, sendo estes mais de 60% da população de cada ovário.

Em fêmeas suínas pré-púberes, foram isolados mecanicamente em média 599.160 FOPAs. Contudo, nos mesmos ovários, em observação histológica clássica foram estimados 131.937,78 folículos, dos quais 89,41% eram primordiais (GONÇALVES, 2001). A justificativa para tal diferença pode ser baseada na diferença das técnicas utilizadas para quantificar os folículos e pela contaminação por células somáticas observadas no processo de isolamento mecânico (TELFER, 1996).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Estudar a morfofisiologia ovariana de fêmeas de Tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*) adultas.

3.2 Objetivos Específicos:

- a. Estimar o número de folículos ovarianos em cada categoria pré-antral.
- b. Descrever a morfometria do folículo e do oócito de tatus-peba.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Os animais foram capturados no município de Icapuí (4.7159° S, 37.3547° W), no estado do Ceará, sob autorização do órgão de proteção ambiental responsável, e foram levados para a Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA (Mossoró, RN, Brasil, 5° 10' = S, 37 ° = 10 W).

Para este estudo foram utilizados 5 tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*) fêmeas, adultas, sexualmente maduras. Os animais foram eutanasiados de acordo com as recomendações do comitê de ética da UFERSA (CEUA Proc. Nº 23091.002959/2016-43), e mediante autorização do Instituto Chico Mendes de Biodiversidade – ICMBio (SISBIO 50564-1).

4.2 COLETA E PROCESSAMENTO DOS OVÁRIOS

Após a eutanásia, os pares de ovários foram coletados e lavados em álcool 70% por 10 segundos, e posteriormente, duas vezes em solução fisiológica também por 10 segundos, para que fossem retirados sangue e outros contaminantes.

Os ovários mensurados quanto a sua largura, comprimento e espessura com o auxílio de um paquímetro, e pesados em balança digital.

4.3 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Após o processamento, cada par de ovário foi fixado em Carnoy durante 12 horas, seguido de desidratação em concentrações crescentes e diafanizados em xilol, inclusos em parafina histológica. Os blocos de parafina confeccionados foram seccionados em séries de 5 µm. A cada 120ª secções foram montadas lâminas que foram coradas com hematoxilina-eosina.

4.4 ANÁLISE MORFOMÉTRICA

Os folículos foram observados por microscopia de luz, sob aumento de 40x (Zeiss, Germany), quando foram realizadas microfotografias. A partir destas foram feitas medidas perpendiculares dos diâmetros do folículo, do oócito e do núcleo, com o auxílio do programa de processamento de imagens ImageJ.

4.5 ESTIMATIVA DA POPULAÇÃO FOLICULAR

Os folículos foram identificados e classificados como primordiais quando apresentavam um oócito de núcleo visível e eram circundados por uma única camada de células da granulosa em formato pavimentoso; primários quando continham um oócito circundado por uma camada de células de formato cúbico; e secundário quando o oócito presente era circundado por duas ou mais camadas de célula de formato cúbico, sem presença de cavidade antral (LIMA, 2011).

Os FOPAs foram contados de acordo com sua categoria e os números obtidos foram aplicados na fórmula para estimativa da população folicular segundo Lucci et al. (1999):

$$PF = \frac{n^{\circ} \text{ de folículos} \times n^{\circ} \text{ de secções} \times \text{espessura do corte}}{n^{\circ} \text{ de secções observados} \times \text{diâmetro médio do núcleo do oócito}}$$

4.6 ANÁLISE DA INTEGRIDADE DOS FOLÍCULOS

Os folículos ovarianos foram avaliados de acordo com a integridade do oócito e da estrutura da camada da granulosa. Os folículos foram considerados normais quando o oócito estava presente e tinha formato regular e citoplasma uniforme, e as células da camada da granulosa bem organizadas. Quando as células da granulosa estavam desorganizadas, e o oócito possuía retração de ooplasma e/ou núcleo picnótico, o folículo foi considerado degenerado. A classificação foi realizada de forma rigorosa, de forma que a presença de uma única alteração folicular foi suficiente para que o folículo fosse considerado degenerado.

Para evitar a avaliação e contagem de um mesmo folículo mais de uma vez, os FOPAS foram analisados apenas nas secções nas quais o núcleo do oócito foi observado (PRAXEDES et al., 2015).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando o programa StatView para Windows (SAS Institute Inc. Copyright 1992 – 1998. Version 5.0). Os dados referentes a estimativa populacional de cada categoria e aos diâmetros das estruturas foliculares foram submetidos à ANOVA seguida de teste Tukey. Os resultados foram expressos em médias e erro padrão. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $P < 0.05$.

5 RESULTADOS

As médias das medidas dos ovários direito e esquerdo foram semelhantes e encontram-se apresentados na tabela 1. Um total de 13.738,62 e 8.760,61 de FOPAs foram estimados como a população nos ovários direito e esquerdo, respectivamente. Do total desta população, 43,97% (figura 2A) apresentaram-se normais e 56,03% (figura 2B) foram classificados como degenerados. Observou-se que o número de folículos diminuía de acordo com a evolução da categoria folicular destes, conforme representado na tabela 2.

Tabela 1. Medidas de peso (g), comprimento (cm), largura (cm) e espessura (cm) dos ovários direito e esquerdo de tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*) (média $\pm$ erro padrão).

Características	Ovário	
	Esquerdo	Direito
Peso (g)	0,06 $\pm$ 0,2	0,06 $\pm$ 0,2
Comprimento (cm)	0,90 $\pm$ 0,12	0,89 $\pm$ 0,10
Largura (cm)	0,41 $\pm$ 0,03	0,41 $\pm$ 0,06
Espessura (cm)	0,25 $\pm$ 0,06	0,25 $\pm$ 0,06

Resultados não apresentam diferenças significativas ($P > 0,05$).

Figura 2. Aspectos morfológicos dos folículos ovarianos de tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*). (A) Folículo morfolologicamente normal e (B) folículo morfolologicamente degenerado. Fonte: arquivo pessoal.

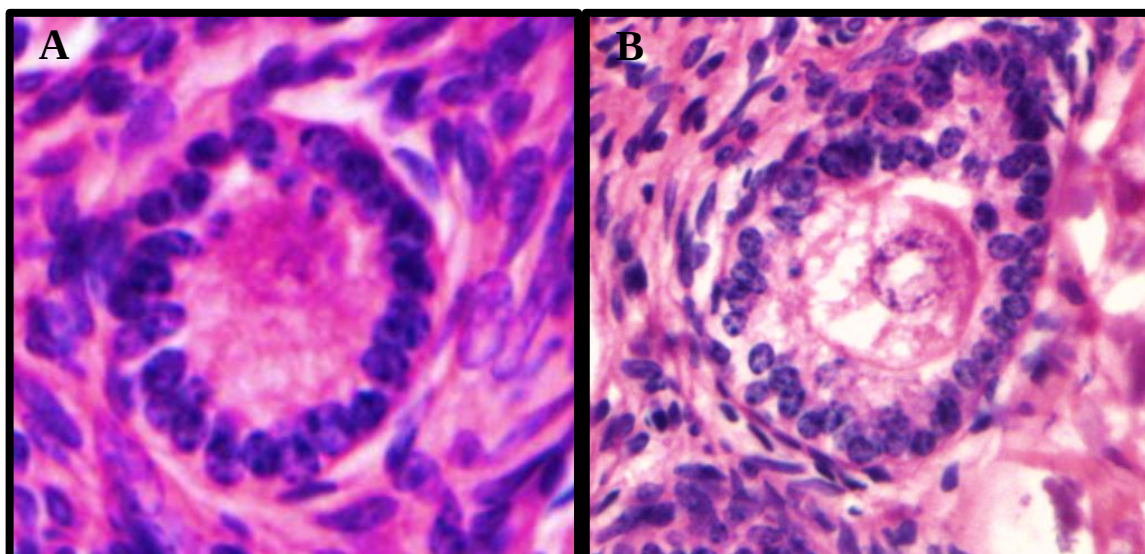


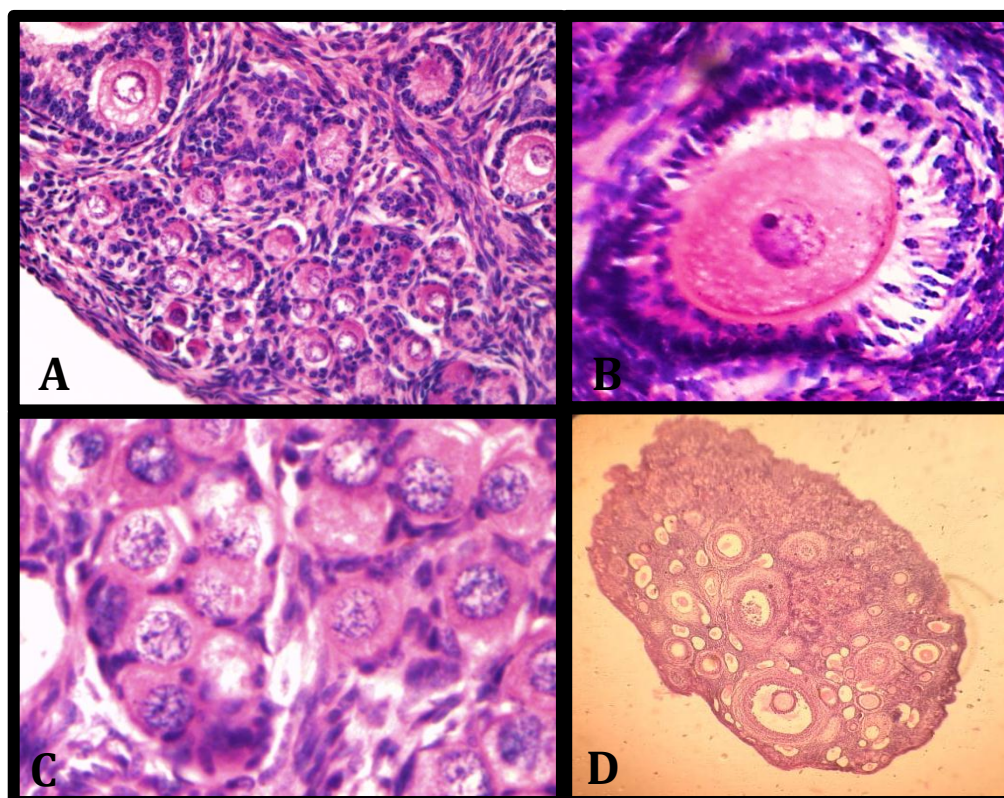
Tabela 2. Estimativa da população folicular ovariana em tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*).

Categoria folicular	População folicular		População total	Porcentagem de folículos (%)	
	Direito	Esquerdo		Direito	Esquerdo
Primordial	7.933,40 ^a	4.683,48 ^a	12.616,88	57,74 ^a	53,46 ^a
Primário	5.497,90 ^b	3.838,98 ^b	9.336,88	40,02 ^b	43,82 ^b
Secundário	307,32 ^c	238,15 ^c	545,47	2,24 ^c	2,72 ^c
Total	13.738,62	8.760,61	22.499,23	100,00	100,00

a, b, c na mesma coluna, diferentes sobrescritos demonstram diferenças significativas ($P < 0,05$).

Os folículos primordiais (figura 3A) e primários (figura 3A) estavam situados mais proximamente às margens externas do córtex ovariano. Folículos secundários (figura 3B) e multioócitos (figura 3C) foram observados em todos os animais, porém em menor quantidade.

Figura 3. Aspectos histológicos dos folículos ovarianos de tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*). (A) Folículos primordiais e primários situados no córtex. (B) Folículo secundário com duas ou mais camadas de células da granulosa. (C) Folículos multioocitários. (D) Corte transversal do ovário. Fonte: arquivo pessoal.



No tocante à morfometria, as estruturas foliculares, folículo, oócito e núcleo, diferiam entre as classes foliculares, com os folículos secundários apresentando os maiores diâmetros de folículo, oócito e núcleo (tabela 3).

Tabela 3. Diâmetro dos folículos ovarianos pré-antrais, oócitos e seus núcleos (μm) em tatus-peba (*Eupharactus sexcinctus*), de acordo com as categorias foliculares (média $\pm$ erro padrão).

Categoria	Estrutura		
	Folículo (μm)	Oócito (μm)	Núcleo (μm)
Primordial	$14,65 \pm 1,48^a$	$11,067 \pm 1,31^a$	$7,05 \pm 0,83^a$
Primário	$21,53 \pm 3,49^b$	$14,97 \pm 2,39^b$	$8,25 \pm 1,04^b$
Secundário	$38,17 \pm 14,23^c$	$24,08 \pm 8,85^c$	$10,85 \pm 2,53^c$

a, b, c na mesma coluna, diferentes sobrescritos demonstram diferenças significativas ($P < 0,05$).

6 DISCUSSÃO

Ao nosso conhecimento, este foi o primeiro estudo a caracterizar e estimar a população de folículos pré-antrais ovarianos de tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*). A aparência dos ovários desta espécie, visualizados em ultrassonografia, foram descritos anteriormente por Campos et al. (2016) como sendo estruturas bem definidas, arredondadas e levemente hipoeóicas em relação ao tecido adjacente, com o ovário direito apresentando 0,94cm de comprimento e 0,68cm de largura na fase estrogênica do ciclo estral; e 0,67cm de comprimento e 0,60cm de largura na fase progesterônica; já o ovário esquerdo apresentou 0,61cm de comprimento e 0,60cm de largura na fase estrogênica, e 0,65cm e 0,57cm de comprimento e largura, respectivamente, na fase progeterônica. No presente estudo foi verificado que os ovários apresentavam comprimento (0,90 cm e 0,89 cm) semelhante à descrita por Campos et al. (2016) para o ovário direito na fase estrogênica, contudo a largura (0,41 cm) apresentou-se menor que as medidas encontradas por estes em todas as fases. Vale ressaltar que durante o processo de formação da imagem ultrassonográfica há a ocorrência de formação de artefatos de imagem, que se referem à projeção de imagens que não condizem exatamente com a verdadeira imagem do local examinado, fazendo com que a imagem gerada possa ser errônea, superficial ou deslocada (PEIXOTO, 2010).

As características ovarianas de comprimento e largura estão mais próximas as medidas verificadas por Silva (2018) em ovários de bicho preguiça (*Bradypus variegatus*) (0,7 a 1,0 cm de comprimento, e 0,5 a 0,8cm de largura) que as medidas encontradas por Barretto et al. (2013) para *Bradypus variegatus* (0,6 a 0,8cm de largura, e 0,5 a 0,8 de comprimento). Contudo, as características citadas e a espessura diferiram das encontradas por para tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) que apresentaram ovário direito medindo 15,69 cm, 6,63 cm e 4,98 cm para comprimento, largura e espessura respectivamente; já os órgãos esquerdos apresentavam na mesma ordem 17,27 cm, 7,04 cm e 5,46 cm (Rossi et al., 2011).

A população folicular estimada para cada ovário foi significativamente maior que a população estimada para bicho preguiça (*Bradypus variegatus*), estimada em 5.103,3 folículos por ovário, e de cutias (*Dasyprocta leporina*) que apresentou para os ovários direito e esquerdo, respectivamente, 4419,8 e 5397,52 (SILVA, 2018; SANTOS et al., 2018). Ressalta-se ainda, que embora o tamanho dos ovários de tatus-peba seja notoriamente menor que os de jumento nordestinos (*Equus asinus*), a população total, resultado do somatório da população estimada em cada ovário, é maior em tatus-peba (LOPES et al.2017). Meira et al. (1998) descreveram o reconhecimento embrionário asinino como sendo semelhante ao de equinos, de forma que esta espécie costuma ter apenas um filhote por gestação como outros

indivíduos do gênero *Equus*. Isto faz com que as fêmeas desta espécie tenham uma menor taxa ovulatória quando comparada à fêmeas pluríparas, como as fêmeas de tatu-peba que costumam ter de um a três filhotes por gestação (GUCWINSKA, 1971).

Embora seja sabido que o processo de atresia de folículos ovarianos é um processo comum, e responsável pela perda de um número considerável de gametas, ressalta-se que na maioria das espécies, que tem sua população folicular estimada, é mais comum encontrar-se um número maior de folículos normais que atrésicos (PRAXEDES, 2014). Mesmo dentro do grupo dos Xenarthras, dentre os trabalhos já citados, este é o primeiro que classifica a população folicular morfológicamente (normal e degenerado), impossibilitando correlacionar os dados com de outras espécies. Ainda assim, a população morfológicamente normal encontrada em tatu-peba (9.892,95) é significativamente maior que a encontrada em bichos-preguiça (5.103,3) (SILVA, 2018). Por ora, sugere-se que o fenômeno encontrado pode ser resultado de um processo infeccioso causado pela bactéria *Mycobacterium leprae*, causadora da hanseníase, uma vez que os animais foram diagnosticados como sendo portadores da mesma. Trabalhos evidenciam que tatus que contraem o bacilo tendem a apresentar a forma virchowiana da doença. Esta se caracteriza pela infiltração progressiva do bacilo através da pele, nervos, linfonodos e órgãos internos (ARAÚJO, 2003). Em trabalho de diagnóstico molecular, Frota et al. (2012) conseguiram isolar o DNA do *M. leprae* em biópsia tecidual de 5 animais da espécie *D. novemcinctus* e um *E. sexcinctus*. Anteriormente, em um trabalho de inoculação e diagnóstico da bactéria em *D. novemcinctus*, Binford et al. (1976) avaliaram os ovários de apenas um animal, observando que neste havia considerável infiltrado lepromatoso. Trabalhos recentes têm relatado que estes indivíduos podem ser portadores e transmissores de agentes infecciosos como *Mycobacterium leprae*, *Trypanosoma cruzi* e *Leptospira* spp. (FROTA et al., 2012; ACOSTA e LÓPEZ, 2013; FERNANDES, 2015). Contudo, pouco se sabe sobre como estes agentes afetam clinicamente e fisiologicamente esses indivíduos.

Diversos autores estimaram a população folicular de diferentes espécies utilizando diferentes metodologias. Em relação às categorias foliculares os resultados obtidos corroboram com os demais trabalhos de estimativa da população folicular, em que os folículos primordiais são quantitativamente dominantes, com decréscimo das categorias seguintes. Contudo, as proporções entre as classes foram notadamente distintas às encontradas por Lima (2011) em catetos (*Tayassu tajacu*), quando os folículos primordiais representaram mais de 90% da população estimada, bem como em bichos-preguiça (SILVA et al., 2018).

Tal qual aqui descrito para os tatus-peba, a ocorrência de oócitos agrupados em um mesmo folículo tem sido relatada por diversos autores tanto em outras espécies da família Euphractinae quanto em outras famílias. Cetica, Marcos e Merani (2005) descreveram em tatus das famílias Euphractinae (*Ch. Villosu*, *Ch. Vellerosus*, *Z. pichiy* e *C. truncatus*) e Tolypeutinae (*T. matacus*) a presença de folículos multioócitos formados por uma camada simples de células colunares ou cúbicas. A ocorrência destas estruturas foi descrita mais uma vez na espécie *Zaedyus pichiy*, desta vez por Superina, Careño e Jahn (2009), além de Codón e Casanave (2000) que verificaram o mesmo nesta espécie e em *Chaetophractus vellerosus*. O motivo da ocorrência deste fenômeno, ainda não está completamente elucidado. Contudo algumas teorias foram sugeridas para explicar sua existência, como a divisão mitótica com alta taxa de diferenciação de células durante o crescimento do folículo, a partir da qual surgem vários oócitos de folículos primordiais (KENNEDY, 1924). Outros autores acreditam que a ocorrência desta classe folicular se dá em decorrência de uma falha da divisão celular nos estágios iniciais de desenvolvimento do folículo (LUCCI et al., 1999; TINGER et al., 2009). A teoria mais recente sugere que as células da granulosa podem ser invasivas, e assim causam a fusão de células adjacentes (GAYTAN et al., 2014).

Quanto à morfometria folicular, Códon et al. (2001) estimaram as médias dos diâmetros dos folículos e dos oócitos de seis classes foliculares do grande-tatu-peludo (*Chaetophractus villosus*): primordiais, primário precoce, primário tardio, secundário, terciário e folículo de Graaf (ou folículo antral). Estes encontram diâmetros médios foliculares de 28,23µm, 38,64µm, 71,00µm e 134,52µm para folículos primordiais, primários precoces, primários tardios e secundários, respectivamente. Já para os oócitos, as médias encontradas foram de 19,38µm, 26,36µm, 38,27µm e 84,63µm para a mesma ordem de classes foliculares. Marcadamente os diâmetros encontrados nesta espécie diferem das medidas encontradas para os folículos e oócitos de folículos primordiais, primários e secundários de tatus-peba, encontrados no presente estudo. Contudo, os diâmetros das estruturas dos folículos primordial e primário de *Euphractus sexcinctus* são próximos aos diâmetros das mesmas classes encontrados em cutias e preás. Ressalta-se que ambas as espécies tem tamanho semelhante, com o indivíduo adulto medindo em média 40 cm. Além disso, o número de indivíduos que nascem em cada parição também é o mesmo (Smith, 2008).

Carrijo et al. (2010) observaram que os diâmetros dos componentes foliculares de gatas domésticas (*Felis catus*) aumentavam conforme as classes destes evoluíam. O mesmo

foi observado em FOPAs de cabras (*Capra aegagrus hircus*) isolados mecanicamente, onde os diâmetros dos folículos primordiais, primários e secundários foram respectivamente, 20,1µm, 49,7µm e 72,7µm (RODRIGUES et al., 1998). Este aumento crescente dos diâmetros pode ser explicado pelo crescimento do oócito, uma vez que no estágio primordial o oócito mede em média 10µm, apresentando o dobro deste tamanho no estágio primário e continuando a crescer no estágio secundário. Além disso, durante as evoluções as células da granulosa aumentam seu tamanho, e posteriormente se dividem dando origem a um epitélio estratificado (SAMUELSON, 2007). Deste modo, o crescente diâmetro verificado nos núcleo, oócito e do folículo ovariano de acordo com o avanço destes em tatus-peba está de acordo com o que foi observado em outras espécies mamíferas domésticas e silvestres.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho constituem informações fundamentais sobre a população de folículos pré-antrais no ovário de *Euphractus sexcinctus*, que serão úteis para uma melhor compreensão da foliculogênese nesta espécie. Além disso, assumindo sua importância como modelos biomédicos, pode constituir um claro auxílio à manutenção em cativeiro.

REFERÊNCIAS

- ABBA A. M.; LIMA E.; SUPERINA M. 2014. *Euphractus sexcinctus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2014: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T8306A47441708.en> . Downloaded on 05 November 2020.
- ABBA, A. M.; VIZCAÍNO, S. F. Distribución de los armadillos (xenarthra: dasypodidae) en la provincia de buenos aires, argentina. **Mastozoología Neotropical**, Mendoza, v. 18, n. 2, p.185-206, jul./dec. 2011.
- ABBA, Agustín Manuel; SUPERINA, Mariella. The 2009/2010 Armadillo Red List Assessment. **Edentata**, v. 11, n. 2, p.135-184, dez. 2010.
- ACOSTA, N; LOPEZ, E. Reservorios mamíferos del Trypanosoma cruzi en Paraguay: Mammalian reservoirs of Trypanosoma cruzi in Paraguay. **Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud**, Asunción , v. 11, n. 2, p. 90-96, Dec. 2013
- ALVES, B. G. **Isolamento, quantificação e classificação de folículos pré-antrais de suínos**. 2010. 53 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.
- ANTONINO, D. C. de et al. Morfometria de ovários de fetos bovinos: isolamento e quantificação de folículos pré-antrais. **Uningá**, v. 52, n, 1, p.18-22, abr/jun. 2017
- ARAUJO, M. G. Hanseníase no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v. 36, n. 3, p. 373-382, June 2003 .
- BARBOZA, R. R. D. **A etnoecologia dos tatus-peba (euphractus sexcinctus (linnaeus, 1758) e tatu verdadeiro (dasypus novemcinctus linnaeus, 1758) na perspectiva dos povos do semiárido paraibano**. 2009. 100 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2009.
- BARRETTO, M. L. M.; AMORIM, M. J. A. A. L.; FALCAO, M. V. D. Análise morfológica e morfométrica das gônadas de preguiça (Bradypus variegatus Schinz, 1825). **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro , v. 33, n. 9, p. 1130-1136, Sept. 2013 .
- BEZERRA, A. M. R.; RODRIGUES, F. H. G.; CARMIGNOTTO, A. P. Predation of Rodents by the Yellow Armadillo (Euphractus sexcinctus) in Cerrado of Central Brazil. **Mammalia**, v. 65, n. 1, p. 86-88, 2001.
- BINFORD, C. H.; STORRS, E. E.; WALSH, G. P. Disseminated infection in the nine-banded armadillo (Dasypus novemcinctus) resulting from inoculation with M. leprae. Observations made on 15 animals studied at autopsy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.**, v. 44, n.1-2, p. 80-83, 1976.
- BONATO, V. et al. Ecology of the armadillos Cabassous unicinctus and Euphractus sexcinctus (Cingulata: Dasypodidae) in a Brazilian Cerrado. **Journal of Mammalogy**, v. 89, n. 1, p. 168-174, 2008.

CAJAIBA, R. L.; SILVA, W. B.; PIOVESAN, P. R. R.. Animais silvestres utilizados como recurso alimentar em assentamentos rurais no município de Uruará, Pará, Brasil. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 34, p.157-168, 11 ago. 2015.

CAMPOS, L. B. et al. Monitoring the reproductive physiology of six-banded armadillos (*Euphractus sexcinctus*, Linnaeus, 1758) through different techniques. **Reproduction In Domestic Animals**, v. 51, n. 5, p.736-742, jul. 2016.

CARRIJO, J., O. et al. Morphometry, Estimation and Ultrastructure of Ovarian Preantral Follicle Population in Queens. **Cells Tissues Organs**, [s.l.], v. 191, n. 2, p.152-160, 2010.

CETICA, P. D.; MARCOS, H. J. A.; MERANI, M. S. Morphology of female genital tracts in Dasypodidae (Xenarthra, Mammalia): a comparative suney. **Zoomorphology**, v. 124, n. 2, p. 57-65, mar. 2005.

CODON, S. M.; CASANAVE, E. B. COMPARATIVE MORPHOLOGY OF THE OVARIES OF THREE SPECIES OF DASYPODIDAE (MAMMALIA, XENARTHRA). **Revista chilena de anatomía**, Temuco , v. 18, n. 2, p. 251-257, 2000 .

CODÓN, S. M. et al. Ultrastructure and morphometry of ovarian follicles in the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). **Brazilian Journal Of Biology**, v. 61, n. 3, p.485-496, ago. 2001.

COMIZZOLI, P.; SONGSASEN, N.; WILDT, D. E.. Protecting and Extending Fertility for Females of Wild and Endangered Mammals. **Cancer Treatment And Research**, p.87-100, 2010.

CORTVRINDT, R; SMITZ, J. In vitro Follicle Growth: Achievements in Mammalian Species. **Reproduction In Domestic Animals**, v. 36, n. 1, p.3-9, fev. 2001.

DEPS, P. D. et al . Pesquisa de anticorpos anti PGL-I através de ELISA em tatus selvagens do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba , v. 41, n. 2, p. 73-76, 2008.

ENGELMANN, G. F. The phylogeny of the Xenarthra. In: MONTGOMERY, G. G. (Ed.) **The evolution and ecology of armadillos, sloths, and vermilinguas**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1985. P.51-64.

FALLABRINO, A.; CASTIÑEIRA, E. Situación de Los Edentados en Uruguay. **Edentata**, v. 7, n. 1, p.1-3, 2006

FAVORETTO, S. M. et al. Reproductive System of Brown-throated Sloth (*Bradypus variegatus* (Schinz 1825), Pilosa, Xenarthra: Anatomy and Histology. **Anat Hist Embryol**, v.45, n.4, p.249-259, 2015.

FERNANDES, W. O. B. **Deteção da leptospirose, toxoplasmose e leishmaniose em tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*) de vida livre**. 2015. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, 2015.

FIGUEIREDO, J. R. et al. Manipulação de Oócitos Inclusos em Folículos Ovarianos Préantrais-MOIFOPA. In: Gonçalves PBD, Figueiredo J. R., Freitas V. J. F., editors. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo: Editora Roca; 2008. P. 303-327.

FROTA, Cristiane Cunha et al. Mycobacterium leprae in six-banded (Euphractus sexcinctus) and nine-banded armadillos (Dasypus novemcinctus) in Northeast Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 107, supl. 1, p. 209-213, Dec. 2012.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo: Editora Varela, 2001, 340p.

GUCWINSKA, Hanna. Development of Six-banded armadillos at Wroclaw Zoo. **International Zoo Yearbook**, v. 11, n. 1, p.88-89, jan. 1971.

HULSHOF, S.C.J. et al. Isolation and characterization of preantral follicles from fetal bovine ovaries. **Vet. Quart.**, v.16, n. 2, p.78-80, jul. 1994.

ICMbio (INSTITUTO CHICO MENDES). Livro Vermelho, v.II, *Mamíferos I*. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/lista-de-especies/livro-vermelho>> Acessado em: 18 de novembro de 2019.

JIVAGO, J. L.P. R. et al. Cryopreservation and characterization of canine preantral follicles. **Cryobiology**, v. 81, p.34-42, abr. 2018.

KENNEDY, W. P, The occurrence of polyovular graafian follicles. **Journal of Anatomy**, v. 58, n. 4, p. 328-334, jul. 1924

LIMA, G. L. **Caracterização e conservação de folículos ovarianos pré-antrais de catetos (Tayassutajacu)**. 2011. 132 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2011.

LIMA, G. L. **Conservação de material genético de espécies silvestres do bioma caatinga utilizando a manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré antrais (MOIFOPA)**. 2015. 213 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia)- Rede Nordeste de Biotecnologia, Mossoró, 2015.

LIMA, L. F. et al. Importância das comunicações intercelulares para o desenvolvimento de folículos ovarianos. **Reprodução & Climatério**, v. 31, n. 2, p.93-104, 2016.

LIMA, A. K. F.; FELIPE, C. B.; SILVA, G. M. L.. Biologia reprodutiva de *Bradypus variegatus* Schinz (1825): desafios e perspectivas. In: IX Congresso Norte e Nordeste de Reprodução Animal, 2018, Belém. **Anais...** Belém: CBRA, 2018. Resumo.

LOPES, K. R. F. et al. Characterization of the ovarian preantral follicle populations and its correlation with age and nutritional status in Brazilian Northeastern donkeys (*Equus assinus*). **Animal Reproduction Science**, v. 187, p.193-202, dez. 2017.

- LOPES, C. A. P. et al. Short-term preservation of canine preantral follicles: Effects of temperature, medium and time. **Animal Reproduction Science**, v. 115, n. 1-4, p.201-214, out. 2009.
- LOUGHRY, W J et al. Correlates of reproductive success in a population of nine-banded armadillos. **Canadian Journal Of Zoology**, v. 76, n. 10, p.1815-1821, out. 1998.
- LUCCI, C. M. et al. Study of preantral follicle population in situ and after mechanical isolation from caprine ovaries at different reproductive stages. **Animal Reproduction Science**, v. 56, n. 3-4, p.223-236, ago. 1999.
- MANDL, A.M.; ZUCKERMAN, S. The relation of age to numbers of oocytes. **Journal of Endocrinology**, v.7, n. 2, p.190-193, jun, 1951.
- MARTINS, F. S. et al.. Fatores reguladores da foliculogênese em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 32, n. 1, p. 36-49, jan./mar. 2008
- MCDONOUGH, C. M.; LOUGHRY, W. J. *Armadillos* (Dasypodidae). In: Hutchins M. **Grzimek's Animal Life Encyclopedia**. Farmington Hills: Gale Group, 2003. p.181-192.
- MEDRI, Í.M. **Ecologia e história natural do tatu-peba, *Euphractus sexcinctus* (Linnaeus, 1758), no Pantanal da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul**. 2008. 187p. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Distrito Federal, DF, 2008.
- MEIRA, C et al. Ultrasonographic evaluation of the conceptus from days 10 to 60 of pregnancy in jennies. **Theriogenology**, v. 49, n. 8, p.1475-1482, jun. 1998.
- NERIS, N. **Guía de Mamíferos Medianos y Grandes del Paraguay**: Distribución, Tendencia Poblacional y Utilización. Assunção: SEAM, 2002.
- PEREIRA JR., H. R. J. **Evolução cromossômica na ordem xenarthra**. 2007. 180 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)- Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.
- PEIXOTO, G. C. X. **Aplicação de biotécnicas para monitoramento e controle do ciclo estral de espécies silvestres do bioma caatinga**. 2016. 141 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia)- Rede Nordeste de Biotecnologia, Mossoró, 2016.
- PEIXOTO, G. C. X. Bases da formação da imagem ultrassonográfica. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 4, n. 1, p. 15-24, 2010.
- POCOCK, R. I.. The External Characters Of The South American Edentates. **Proceedings Of The Zoological Society Of London**, v. 94, n. 4, p.983-1031, dez. 1924.
- PRAXEDES, É. C. G. et al. Characterisation and cryopreservation of the ovarian preantral follicle population from Spix's yellow-toothed caviar (*Galea spixii* Wagler, 1831). **Reproduction, Fertility And Development**, v. 29, n. 3, p.594-602, 2015.
- REDFORD, K. H.; WETZEL, R. M.. *Euphractus sexcinctus*. **Mammalian Species**, n. 252, p.1-4, dez. 1985.

REDFORD, K. H. 1985. Food habits of armadillos (Xenarthra, Dasypodidae). Pp. 429-437. In: Montgomery, G.G. (ed.). **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas**. Smithsonian Institution Press, Washington & London. 451p.

REZENDE, L. C. **Biologia da Reprodução em Tatus: Análise Morfológica do Aparelho Reprodutor Feminino da Espécie *Euphractus sexcinctus* e Análise Morfológica Placentária Comparativa entre as Espécies *Chaetophractus villosus*, *Chaetophractus vellerosus* e *Euphractus sexcinctus***. 2011. 143p. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

RODRIGUES, A. P. R. et al . Isolamento mecânico de folículos ovarianos pré-antrais em cabras. **Ciência Rural**, Santa Maria , v. 28, n. 3, p. 477-482, sept. 1998 .

ROSSI, L. F. et al. Female reproductive tract of the lesser anteater (*Tamandua tetradactyla*, myrmecophagidae, Xenarthra). Anatomy and histology. **Journal Of Morphology**, v. 272, n. 11, p.1307-1313, jul. 2011.

SAMUELSON, D. A. Sistema Reprodutor Feminino. In: Tratado de histologia veterinária. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007

SANTOS, E. A. A. et al. Assessment of sperm survival and functional membrane integrity of the six-banded armadillo (*Euphractus sexcinctus*). **Theriogenology**, v. 76, n. 4, p.623-629, set. 2011.

SANTOS, E. A. A. et al . Estimation, morphometry and ultrastructure of ovarian preantral follicle population in agouti (*Dasypus leporina*). **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p. 175-182, jan. 2018 .

SARAIVA L. R. F. et al. Morfologia ovariana de bicho preguiça comum (*Bradypus variegatus*) Schinz 1825. In: Congresso da Sociedade de Zoológicos e Aquários do Brasil, 39º, 2015, Foz do Iguaçu. **Anais...** Paraná: SZB, 2015. Resumo.

SAUMANDE, J. La folliculogénèse chez les ruminants. **Rec. Med. Vet.**, v.167, p.205-218, 1991.

SCARAMUZZI, R. J. et al. A model for follicle selection and determination of ovulation rate in the ewe. **Reprod. Fertil Dev**, v. 5, n. 5, p. 459-478, 1993.

SERAFIM, M. K. B. et al. Description of semen characteristics from six-banded armadillos (*Euphractus sexcinctus*) collected by electroejaculation. **Animal Reproduction Science**, v. 118, n. 2-4, p.362-365, abr. 2010.

SILVA, A. R.; SOUSA, P. C.; FREITAS, C. I. A. Reprodução assistida em tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*): peculiaridades e desafios. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 39, n. 1, p. 61-65, jan/mar. 2015.

SILVA, G. M. L. **Ocorrência da espécie e estimativa de população folicular ovariana de *Bradypus variegatus* (Shinz, 1825)**. 2018. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos) - Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, 2018.

SMITH, P. Greater hairy armadillo *Chaetophractus villosus* (Desmarest, 1808). **Mammals of Paraguay**, n.11, p.1-15, 2008.

SOUSA, P.C. et al. Establishment of an anesthetic protocol for semen collection by electroejaculation in six-banded armadillos (*Euphractus sexcinctus* Linnaeus, 1758). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte , v. 68, n. 6, p. 1595-1601, dec. 2016 .

SOUSA, Patrícia C. et al . Identification of ultrastructural and functional damages in sperm from six-banded armadillos (*Euphractus sexcinctus*) due to cryopreservation. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 8, p. 767-774, aug. 2016.

SOUSA, P. C. et al. Morphology, morphometry and ultrastructure of captive six-banded armadillo (*Euphractus sexcinctus*) sperm. **Animal Reproduction Science**, v. 140, n. 3-4, p.279-285, ago. 2013

SOUSA, P. C. et al. Viabilidade do sêmen de tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*) centrifugado e diluído em Tris ou água de coco em pó. **Cienc. Rural**, Santa Maria , v. 44, n. 9, p. 1645-1650, set. 2014 .

SUPERINA, M.; CARREÑO, N.; JAHN, G. A.. Characterization of seasonal reproduction patterns in female pichis *Zaedyus pichiy* (Xenarthra: Dasypodidae) estimated by fecal sex steroid metabolites and ovarian histology. **Animal Reproduction Science**, v. 116, n. 3-4, p.358-369, dez. 2009.

TELFER, E.E.. The development of methods for isolation and culture of preantral follicles from bovine and porcine ovaries. **Theriogenology**, v. 45, n. 1, p.101-110, jan. 1996.

TINGEN, C.; KIM, A.; WOODRUFF, T. K.. The primordial pool of follicles and nest breakdown in mammalian ovaries. **Molecular Human Reproduction**, v. 15, n. 12, p.795-803, 26 ago. 2009.

WETZEL R. M. Taxonomy and distribution of armadillos, Dasypodidae. In: Montgomery GG. (Ed.), **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas**. Smithsonian Institution Press, Washington, p. 23–46. 1985.