

# Coleta de sêmen em mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) (Kuhl, 1820) através da eletroejaculação Callitrichidae – primates

## Semen collection in golden headed lion tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*) (Kuhl, 1820) by electro ejaculation Callitrichidae – primates

Fabrcio Delgado Vidal,<sup>\*\*\*</sup> Marcelline Santos Luz,<sup>\*\*</sup> Tânia Góes de Pinho,<sup>\*</sup> Alcides Pissinatti<sup>\*\*\*\*,\*\*\*\*,\*\*\*\*</sup>

### Resumo

O desenvolvimento de tecnologias capazes de aumentar a eficiência reprodutiva tem crescido nos últimos anos, mas no gênero *Leontopithecus* existem poucos relatos sobre suas características reprodutivas. A eletroejaculação tem sido empregada com sucesso na colheita de sêmen de animais ameaçados, incluindo primatas não-humanos. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo para a colheita de sêmen em *Leontopithecus chrysomelas* e verificar as características do sêmen em animais mantidos em cativeiro. Neste estudo foram utilizados dez machos adultos do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ-FEEMA). Após a sedação, os animais foram estimulados após a introdução de um transdutor via retal para a eletroejaculação, segundo a técnica descrita por Gould et al. (1978), com algumas modificações. Os sagüis foram submetidos a 10 estímulos de cada voltagem, de forma crescente (2, 3, 4 e 6 Volts), até que se obtivesse o ejaculado. Os primatas ejacularam em média após  $29 \pm 12,3$  estimulações, em uma voltagem média de 4 Volts. Foram obtidos ejaculados em todos os animais, porém, alguns deles (17,5%) não apresentaram ereção peniana. O sêmen obtido apresentou aspecto leitoso, ligeiramente amarelado, consistindo de uma porção que rapidamente coagulava. O volume médio foi de  $11,9\text{ml} \pm 4,73\text{ml}$  e verificou-se uma média de 32,71% de patologia espermática. Das alterações morfológicas do sêmen, as mais comumente observadas foram as patologias de peça intermediária (38,63%), caudas fortemente dobradas (22,4%) e patologia da cabeça dos espermatozoides (16,25%). Os resultados demonstraram que a estimulação transretal pode ser considerada um método seguro e eficiente para colheita de sêmen em *Leontopithecus chrysomelas* e que amostras de sêmen podem ser colhidas rotineiramente.

*Palavras-chave:* *Leontopithecus chrysomelas*, primatas, sêmen, eletroejaculação, morfologia espermática.

### Abstract

The development of technologies capable of improve reproductive efficiency has been increased in last years, but in genus *Leontopithecus*, there are few reports describing a bout this reproductive characteristics. The electroejaculation has been employed successfully in many endangered animals, including non-human primates. This study intended develop a semen collection protocol for *Leontopithecus chrysomelas* and verify the semen characteristics of captive the animals. Ten adult males *Leontopithecus chrysomelas* of Rio de Janeiro State's Primatology Center (CPRJ-FEEMA) were used in this study. After sedation, they had their semen collected by electrical stimulation after introduction of a trans-rectal probe, based on the technique described for GOULD et al (1978), with some modifications. The animals were submitted to 10 stimulus of each voltage of 2, 3, 4 and 6 Volts, until ejaculation that occurred after a mean of  $29 \pm 12.3$  stimulations with mean of 4 Volts. Samples were obtained in all animals but some of them (17.5%) did not demonstrate penile erection. The semen collected had milky aspect, slightly yellow, consisting of one portion that quickly clotted. The mean seminal volume was  $11.9\text{mL} \pm 4.73\text{mL}$  and were verified a mean of 32.71% of spermatic pathology. The most common sperm pathology observed was in the intermediate piece (38.63%) then in tail (22.4%) and last in the head (16.25%). Results indicated that trans-rectal electro ejaculation can be considered a safe and effective method of semen collection in *Leontopithecus chrysomelas* and semen samples can be routinely collect.

*Keywords:* *Leontopithecus chrysomelas*, semen, electro-ejaculation, sperm morphology.

\*Faculdade de Veterinária – Universidade Federal Fluminense.

\*\*Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ-FEEMA), Guapimirim - RJ.

\*\*\*Centro Universitário Plínio Leite (UNIPLI), Niterói - RJ.

\*\*\*\*Fundação Educacional Serra dos Órgãos (UNIFESO), Teresópolis - RJ.

e-mail do autor: [fabriciovidal@uol.com.br](mailto:fabriciovidal@uol.com.br)

## Introdução

O Brasil destaca-se mundialmente pela conhecida riqueza biológica e, dentre os mais variados animais encontrados na fauna brasileira, destacam-se os primatas. Entre os calitriquídeos, os micos-leões representam um grupo típico na Mata Atlântica do sudeste brasileiro, mas, apresentam-se ameaçados devido a constante destruição do seu habitat, além de sofrerem ameaças de caça e capturas, o que dificulta a luta contra a extinção destes pequenos símios. A formação de criobancos de material genético de espécies ameaçadas de extinção, constitui-se uma alternativa interessante no desenvolvimento de procedimentos conservacionistas em populações de cativeiro (Durrant, 1990, Morrel e Hodges, 1998).

O desenvolvimento de tecnologias capazes de aumentar a eficiência reprodutiva em animais ameaçados de extinção tem crescido nos últimos anos, estimulado por diversos organismos nacionais e internacionais. Porém, em relação aos animais do gênero *Leontopithecus*, a literatura nos brinda com pouquíssimos relatos sobre suas características reprodutivas.

A ejaculação é um processo complexo, neurologicamente mediado e independente da ereção, consistindo num processo trifásico integrado, composto por emissão seminal, oclusão do colo da bexiga e ejaculação anterógrada. Em situações normais, um estímulo sensor aferente do pênis, através do nervo pudendo, atinge a medula espinhal, de onde é encaminhado ao córtex cerebral. A resposta eferente ao reflexo ejaculatório envolve o gânglio tóraco-lombar formado pelo nervo hipogástrico, cujos ramos atingem as fibras pré-ganglionares na próstata e glândulas vesiculares. Enquanto os estímulos simpáticos resultam na emissão do sêmen para a uretra e também o fechamento do colo da bexiga, os estímulos parassimpáticos estimulam a propulsão anterógrada do fluido seminal (Ball, 1992).

A eletroejaculação transretal tem sido utilizada com sucesso na obtenção de sêmen de diversos animais selvagens, incluindo primatas não-humanos. É considerado o método mais seguro e apropriado para a colheita de sêmen de animais selvagens, devendo-se estabelecer um protocolo para cada espécie e, de acordo com a resposta do animal, para cada indivíduo, sendo a anestesia o principal fator de risco neste procedimento (Durrant, 1990).

A emissão seminal depende dos estímulos elétricos sinusal de fibras eferentes simpáticas e musculatura lisa, através de estimulação elétrica induzida próximo à bifurcação da aorta entre o nervo obturador e retal, onde se encontra grande número de fibras pré e pós-ganglionares simpáticas (Ball, 1992).

Os ejaculados obtidos em diversas espécies de símios apresenta-se como uma mistura de um líquido opaco e marron e uma parte clara e viscosa, que se misturam e são dificilmente separáveis, formando uma massa coagulada de cor marfim (Valério et al, 1969, Van Pel e Keyser, 1970, Gould et al, 1978, Gould e Mann, 1988). Na porção escura encontram-se alta concentração de espermatozóides (Valle, 2002). Em algumas espécies os coágulos se liquefazem mais facilmente, como no macaco verde africano (*Cercopithecus aethiops*) no qual basta manter o ejaculado em banho-maria a 37°C por 30 minutos (Valle, 2002). Em outras espécies isto

não ocorre e, portanto, o desenvolvimento de novas técnicas tem sido fonte de estudos, como por exemplo utilizando-se solução de TALP-HEPES – Ham's F-10 (Gould e Young, 1996).

A descrição de características morfológicas é uma das avaliações essenciais na análise do sêmen. Evidencia-se que nos primatas do Novo Mundo ocorre maior porcentagem de anomalias em cauda e peça intermediária e menor na cabeça dos espermatozóides (Cui et al., 1991, Harrison e Wolf, 1985, Seier et al., 1996).

O presente trabalho teve por objetivo descrever a obtenção de sêmen em mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*), através da eletroejaculação transretal, bem como o volume e aspecto dos ejaculados obtidos e a morfologia dos espermatozóides encontrados.

## Materiais e métodos

Este projeto foi protocolizado sob o nº 001/2004 e aprovado pela Comissão de Ética no Trato com Animais da UNIFESO.

Para a realização deste estudo foram utilizados 10 micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*), machos, saudáveis e considerados adultos pelos padrões de Backer et al. (1993), alojados no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ-FEEMA) durante o período de novembro a dezembro de 2004. Dos dez animais estudados, quatro foram mantidos em gaiolas individuais ou isolados e seis distribuídos em quatro grupos familiares (4 animais a, dominantes e 2 animais b, submissos).

Os animais, previamente mantidos em jejum por 12 horas, foram capturados com puçá e, ainda dentro dos viveiros, submetidos a sedação através da injeção intra-muscular de Tiletamina + Zolazepam (2,2 mg/kg de ZOLETIL®) sugerida por (Lee et al., 2003), acrescida de Cloridrato de atropina (0,6 mg).

Para a eletroejaculação utilizou-se um aparelho gerador de eletrochoques, da marca Boinjet, fabricado pela Comercial Barbos Ltda – São Paulo. Com o animal em decúbito lateral, o transdutor (com um diâmetro de 4 mm) foi lubrificado e cuidadosamente introduzido na ampola retal do animal por movimentos rotatórios, com os pólos metálicos direcionados sobre a próstata e glândulas vesiculares. A profundidade de colocação do transdutor variou de acordo com o tamanho do animal e respostas obtidas. O protocolo utilizado para a eletroejaculação consistiu em 10 estímulos de cada voltagem (2, 3, 4 e 6 Volts), de forma crescente, até que se obtivesse o ejaculado. Cada estímulo foi mantido por aproximadamente 2 a 3 segundos, seguido de retorno à voltagem zero.

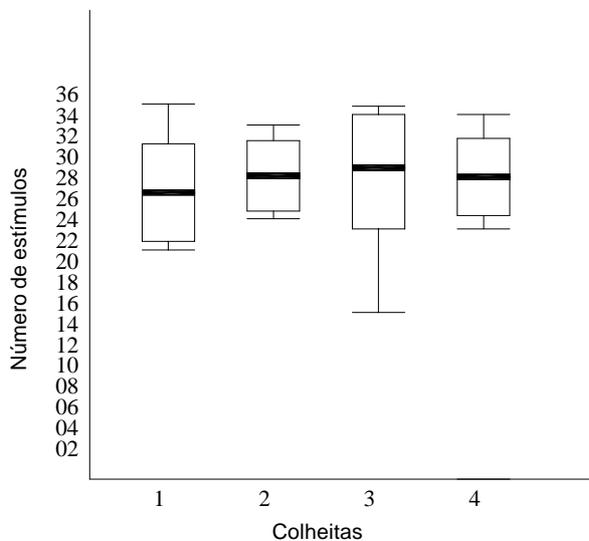
Foram efetuadas quatro colheitas em cada um dos dez animais, com intervalo de uma semana, conforme preconizado por WHO (World Health Organization, 1999), totalizando quarenta colheitas. O material obtido nas três primeiras colheitas foi destinado à análise das características morfológicas e aspecto do sêmen e o da última colheita foi destinado exclusivamente para a mensuração do volume ejaculado, utilizando-se micropipetas.

Para a análise morfológica do sêmen em câmara úmida, o sêmen recém ejaculado foi aspirado com uma seringa de 1mL (Becton&Dickson-Curitiba-PR), sem agulhas e previamente aquecidas em placa térmica a 36°C, contendo

10mL de solução diluente Ham's F-10 (Cutlab- Campinas-SP) aquecida (36°C), de modo a proporcionar maior fluidez ao ejaculado e minimizar a formação do coágulo. Em seguida, uma amostra da solução foi misturada a 5 mL de solução salina tamponada aquecida a mesma temperatura e então depositada em lâmina sobre lamínulas também aquecidas. Após a retirada do excesso de fluido da lâmina por compressão, as mesmas foram observadas em microscopia de contraste de fase (STORZ) sob objetiva 1000 X e o sêmen avaliado segundo os padrões da WHO (1999) para análise de sêmen humano.

## Resultados

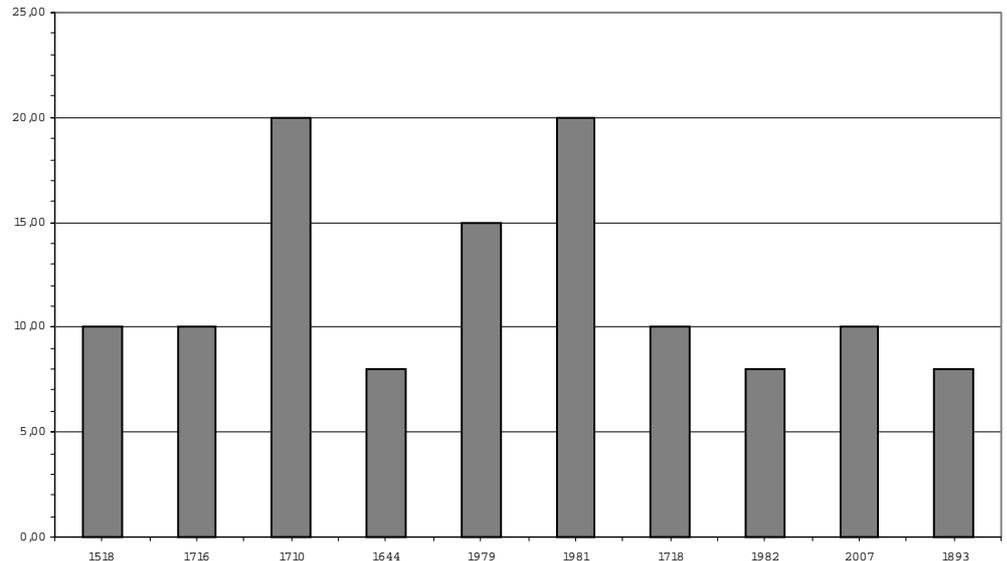
Foram obtidos ejaculados em todas as 40 tentativas realizadas com os dez animais. Em mais de 50% das ocasiões (22), os animais ejacularam com a estimulação de 4 Volts, 17 vezes com 6 Volts e uma com 3 Volts. Necessitou-se de  $29 \pm 12,3$  estimulações com um mínimo de 16 e um máximo de 36, para a obtenção dos ejaculados, conforme a Figura 1.



**Figura 1:** Número de estímulos necessários à ejaculação, de acordo com a colheita em *Leontopithecus chrysomelas*.

Com o início dos estímulos surgiram as contrações involuntárias dos músculos dos membros posteriores. O movimento de extensão plena de ambos os membros relacionaram-se de forma direta com os estímulos elétricos desde que o transdutor se encontrasse em posição adequada para a eletroejaculação. A eletroestimulação não produziu um estímulo sincrônico e assim, o sêmen, ao invés de ser ejetado naturalmente de forma pulsátil, ocorreu lentamente em forma de gotejamento e algumas vezes sem ereção peniana.

Observou-se um volume médio de  $11,9\text{mL} \pm 4,73\text{mL}$  de ejaculado após o descarte da fração coagulada. O volume de sêmen ejaculado para cada animal pode ser observado na Figura 2.



**Figura 2:** Volume do ejaculado de *Leontopithecus chrysomelas*, de acordo com o indivíduo.

Foram observados um percentual médio de 32,71% de patologias totais dos espermatozoides. Das alterações morfológicas do sêmen, as mais comumente observadas foram as patologias de peça intermediária (38,63%) cujos dobramentos foram predominantes, as caudas fortemente dobradas (22,4%) e patologia da cabeça dos espermatozoides (16,25%).

Em relação à posição social verifica-se que os machos a apresentaram percentual médio de  $32,87\% \pm 2,25\%$ , os indivíduos b  $37,24\% \pm 6,14\%$  e os isolados  $32,38\% \pm 3,72\%$  de defeitos espermáticos.

## Discussão

O conhecimento sobre fisiologia reprodutiva é parte fundamental para o efetivo manejo de *Leontopithecus chrysomelas*, tanto em cativeiro como para a viabilidade populacional e o futuro status das populações selvagens. Estudos sobre os machos são de grande importância, uma vez que até o momento as fêmeas têm merecido mais atenção, sendo investigadas através da medição de níveis de esteróides metabolizados excretados pelas fezes e urina, levando em consideração as influências sazonais e comportamentais reprodutivas (Wasser et al., 1988, Pryce et al., 1994, Zigler et al., 1996, Jurke et al., 1997).

No presente trabalho buscou-se estabelecer uma técnica de colheita de sêmen, na qual machos de *Leontopithecus chrysomelas* foram submetidos à eletroejaculação trans-retal em várias séries de estimulações com voltagens controladas e crescentes, até um máximo de 6 Volts. Observou-se que, estando os animais em condições anestésicas sugerida por Lee et al., (2003), o ponto ideal da estimulação encontra-se em torno de 4 Volts, embora na literatura os autores relataram

variações de estímulos de 2 a até 100 Volts (Gould, et al., 1978, 1985, Ball, 1992, Thomson et al., 1992, Morrel et al., 1996a, Valle, 2002).

Cui et al. (1991) descreveram em *Callithrix jacchus* valores médios de 31,9  $\mu$ L enquanto Cui (1996), na mesma espécie obteve em média 40,2  $\mu$ L de ejaculado, pela técnica de eletroejaculação transretal. Kuederling et al (2000) obtiveram ejaculados em *Callithrix jacchus* através de vibroestimulação peniana resultando numa quantidade média de 30  $\mu$ L de ejaculado. Em todos estes experimentos relatados, as mensurações de volume contavam com a presença do coágulo ejaculatório, que posteriormente era descartado. Nas amostras de *Leontopithecus* obtivemos em média 11,9  $\mu$ L apenas com a parte líquida.

Embora a mensuração do volume tenha sido obtida através de uma única amostra de cada animal, na quarta colheita, acredita-se que haja semelhança com as obtidas anteriormente, visto que colheitas de sêmen subseqüentes com intervalos de mais de cinco dias normalmente não interferem na produção espermática (Cui et al 1991, Cui 1996, Morrel et al., 1996, Yeoman et al., 1998).

Durante a colheita por eletroejaculação, observou-se ausência de ereção peniana em alguns machos de *Leontopithecus chrysomelas*, coincidindo com as descrições de Lang (1967) em *Saimiri sciureus* e as de Van Pelt e Keyser (1970) em *Macaca mulatta*. Do mesmo modo as variações no processo de contração testicular e extensão dos membros posteriores foram compatíveis com o observado por Gould et al. (1978) em *Macaca mulatta* e por Yeoman (1998) em *Saimiri boliviensis*.

Em geral, os defeitos dos espermatozoides em primatas não humanos mostram-se elevados. Observou-se em *Leontopithecus*

*chrysomelas* 34,16% de alterações morfo-lógicas enquanto que em *Callithrix jacchus* (Cui et al., 1991, Cui 1996, Morrel et al., 1988, Kuerdeling et al., 2000), *Cebus apella* (Guimarães, 1994), *Allouatta caraya* (Valle, 2002), *Cercopithecus aethiops* (Seier et al., 1996) encontraram médias em torno de 40%.

Este estudo foi realizado nos meses de novembro e dezembro, ao final da segunda estação reprodutiva dos *Leontopithecus chrysomelas*. Desta forma, é de se esperar algum reflexo negativo na produção espermática destes animais. Hernandez Lopez et al. (2002) verificaram em *Ateles geoffroyi* maior porcentagem de defeitos espermáticos (50,3%) em períodos chuvosos (fora da época das coberturas), enfatizando a influência da sazonalidade reprodutiva nesta espécie.

Em relação à posição social dos micos-leões, verificam-se os animais dominantes, os submissos e os isolados, apresentaram respectivamente 32,87%, 37,24% e 32,38% de defeitos espermáticos. Referentes aos primatas do Novo Mundo, Kerderling et al. (2000) e Valle (2002) observaram menor porcentagem de defeitos espermáticos em animais isolados do que naqueles mantidos com fêmeas. Já Hernandez-Lopez et al. (2002) verificaram em *Ateles geoffroyi* características morfológicas semelhantes entre animais a, b e isolados.

## Conclusão

O protocolo de eletroejaculação transretal utilizado demonstrou ser seguro e eficiente para a obtenção do sêmen de *Leontopithecus chrysomelas*, cujo volume, aspecto e percentual de defeitos espermáticos são semelhantes aos descritos em outros calitríqueos.

## Agradecimentos

Ao Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ-FEEMA) e a Estação Ecológica Estadual do Paraíso (ESEC Paraíso/FEEMA) por disponibilizarem material científico e bibliográfico. Ao Ministério Público Federal e Estadual. Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), à Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ (Processo n. E-26/271.185/2006) e Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), ao Greater Los Angeles Zoo Association (GLAZA). The Zoological Society of Philadelphia, American Society of Primatologist (ASP) e à Conservation International (CI) pela constante cooperação no programa de reprodução de primatas neotropicais.

## Referências

- BALL, L. Electro ejaculation. *AUA Updates Series*, Vol. XI, 1992.
- DURRANT, B.S. Semen collection, evaluation and cryopreservation in exotic animal species: maximizing reproductive potential. *Ilar News*, v. 32, n. 1, p. 2-9, 1990.
- CUI, K.H. The effect of stress on semen reduction in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Human Reproduction*, v. 11, n. 3, p. 568-73, 1996.
- CUI, K.H., FLAHERTY, S.P., NEWBLE, C.D., GUERIN, M.V., NAPIER, A.J., MATTHEWS, C.D. Collection and analysis of semen from the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Journal of Andrology*, v. 12, n. 3, p. 214-20, 1991.
- GOULD, K.G., WARNER, H. MARTIN, D.E. Rectal probe electro ejaculation. *Journal of Medical Primatology*, v. 7, p. 213-22, 1978.
- GOULD, K.G., MARTIN, D.E, WARNER, H. Improved method for artificial insemination in the Great Apes. *American Journal of Primatology*, v. 8, p. 61-67, 1985.
- GOULD, K.G., MANN, R.D. Comparisons of electro stimulation methods for semen recovery in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Journal of Medical Primatology*, v. 17, p. 95-103, 1988.
- GOULD, K.G., YOUNG, L.G. Functional parameters of chimpanzee (*Pan troglodytes*) sperm from ejaculates collected by rectal probe electro stimulation and by artificial vagina. *American Journal of Primatology*, v. 39, p. 115-122, 1996.
- GUIMARÃES, M.A. de B.V. *Contribuição para o estudo da colheita e avaliação do sêmen do macaco prego Cebus apella (Erleben, 1777)*. São Paulo, 1994. Tese (Mestrado em Reprodução animal)–Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 1994.
- HARRISON, R.M., WOLF, H.R. Sperm parameters and testicular volumes in *Saguinus mystax*. *Journal of Medical Primatology*, v. 14, p. 281-284, 1985.

- HERNANDÉZ-LOPES, L., CERDA-MOLINA, A.L., PÉREZ-BOLAÑOS, S.C., DÍAZ SANCHEZ, V., MONDRAGÓN-CEBALLOS, R. Sperm quality differences between the rainy and dry seasons in captive black-handed spider monkey (*Ateles geoffroyi*) *American Journal of Primatology*, v. 57, p. 135-141, 2002.
- JURKE, M.H., CZEKALA, N.M., FITCH-SNYDER, H. Non invasive detection and monitoring of estrus, pregnancy and post partum period in pigmy loris (*hycticebus pygmaeus*) using fecal estrogen metabolites. *American Journal of Primatology*, v. 41, p. 103-105, 1997.
- KUEDERLING, A. SCHNEIDERS A., SØNKSEN 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, M.C. A technique for the collection of semen from squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) by electro ejaculation. *Laboratory Animal Care*, v. 17, p. 218, 1967.
- LEE, J.I. BRADY, D. KOENIG, J.I. Immobilization with ketamine HCl and tiletamine-zolazepam in cynomolgus monkeys. *Journal of Veterinary Science*, v. 4, p. 187-191, 2003.
- MORRELL, J.M., HODGES, J.K. Cryopreservation of non-human primate sperm: priorities for future research. *Animal Reproduction Science*, v. 53, n. 1, p. 43-63, 1998.
- MORRELL, 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. 2, 164-172, 1996.
- PISSINATTI, A. *Morfologia e morfometria da aorta torácica, e estereologia do miocárdio de infantis e adultos em Leontopithecus (Lesson, 1840), Callitrichidae – Primates*. Seropédica – Rio de Janeiro, 1999. Tese (doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1993.
- PRYCE, C.R., EVANS, C.S., ABBOTT, D.H., EPPLE, G. Monitoring fecal samples for estrogen excretion across the ovarian cycle in Goeldi's monkey (*Callimico goeldii*) *Zoo Biology*, v. 13, p. 219-230, 1994.
- SEIER, J.V., HORST, G.V.D., LAUBSCHER, R. Abnormal morphology of vervet monkey sperm. *Journal of Medical Primatology*, v. 25, p. 397-403, 1996.
- THOMSON, J.A., FRENCH, J.A., INGLET, B.J. Collection and fertilization potential of sperm from sulawesi crested black macaque (*Macaca nigra*) *American Journal of Primatology*, v. 28, p. 289-297, 1992.
- VALERIO, D.A., ELLIS, E.B., CLARK, M.L., THOMPSON, G.E. Collection of semen from macaques by electro ejaculation. *Laboratory Animal Care*, v. 19, n. 2, p. 250-252, 1969.
- VALLE, R.D.R.do. *Características físicas e morfológicas do sêmen de Alouatta caraya (Humboldt, 1812) mantidos em cativeiro*. São Paulo, 2002. 66 p. Tese (Mestrado em Reprodução animal.) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2002.
- VAN PELT, L.P., KEYSER, P.E. Observation on semen collection and quality in macaques. *Laboratory Animal Care*, v. 20, n. 4, p. 726-733, 1970.
- WASSER, S.K., RISLER, L., STEINER, R.A. Excreted steroids in primate feces over the menstrual cycle and pregnancy. *Biology of Reproduction*, v. 39, p. 862-872, 1988.
- YEOMAN, R.R. SONKSEN, J. GIBSON, S.V. RIZK, B.M. ABEE, C.R. Penile vibratory stimulation yields increased spermatozoa and accessory gland production compared with rectal electro ejaculation in a neurologically intact primate. (*Saimiri boliviensis*) *Human Reproduction*, v. 13, n. 9, p. 2527-2531, 1998.
- ZIEGLER, T.E., SCHEFFLER, G., WITWER, D.J., SCHULTZ-DARKEN, N., SNOWDON, C.T., ABBOTT, D.H. Metabolism of reproductive steroids during the ovarian cycle in two species of callitrichids, *Saguinus Oedipus* and *Callithrix Jacchus* and estimation of the ovulatory period from fecal steroids. *Biology of Reproduction*. v. 4, p. 91-99, 1996.