



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
INSTITUTO DA SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA  
AMAZÔNIA**

**ELLEN YASMIN EGUCHI MESQUITA**

**MORFOLOGIA DO ESÔFAGO, ESTÔMAGO E PROGRESSÃO ALIMENTAR  
GÁSTRICA DE PREGUIÇAS DE TRÊS DEDOS (*Bradypus variegatus*)**

**BELÉM  
2019**

**ELLEN YASMIN EGUCHI MESQUITA**

**MORFOLOGIA DO ESÔFAGO, ESTÔMAGO E PROGRESSÃO ALIMENTAR  
GÁSTRICA DE PREGUIÇAS DE TRÊS DEDOS (*Bradypus variegatus*)**

Defesa apresentada para obtenção do grau de  
Doutor em Saúde e Produção Animal na  
Amazônia no Programa de Pós-Graduação em  
saúde e produção animal na Amazônia.  
Universidade Federal Rural da Amazônia.  
Área de concentração: Saúde animal.

Orientador Prof. Dra. Érika Renata Branco.

**BELÉM  
2019**

**ELLEN YASMIN EGUCHI MESQUITA**

**MORFOLOGIA DO ESÔFAGO, ESTÔMAGO E PROGRESSÃO ALIMENTAR  
GÁSTRICA DE PREGUIÇAS DE TRÊS DEDOS (*Bradypus variegatus*)**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Saúde e Produção Animal na Amazônia, para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Érika Renata Branco.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Érika Renata Branco  
Orientadora UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

---

Profa. Dra. Ana Rita Lima – 1º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

---

Profa. Dra. Maria Auxiliadora Pantoja Ferreira– 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ - UFPA

---

Profa. Dra. Fernanda Martins Hatano- 3º. Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

---

Proa. Dr. José Ledamir Sindeaux Neto- 4º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

## AGRADECIMENTOS

Nesse momento tão esperado e especial da minha vida, quero agradecer a Deus que nutri uma fé incansável dentro da minha alma. A positividade que habita em mim tem por trás, uma fé inabalável no Pai e na força interna que carrego comigo.

Agradeço e ofereço esse trabalho a minha mãe Edna Eguchi, que conseguiu inculcar em minha mente uma sede incessável de conhecimento, juntando com meu amor aos animais, me levando a enveredar pelos caminhos que hoje trilho.

Ofereço também ao meu pai Raimundo Mesquita, que já está no céu me protegendo e torcendo por mim. Obrigada por me escolher para esse mundo, pai.

Agradeço e ofereço também esse trabalho a minha madrinha Rosiane Mesquita, que por diversas vezes em minha vida se sentou ao meu lado para me ajudar e ensinar quando eu precisei, além de me entusiasmar ao estudo.

Agradeço e serei grata eternamente a pessoa que a minha querida orientadora me tornou. Professora Érika, além de me ensinar a ser uma pesquisadora, me ensinou como ser uma boa orientadora e, principalmente, acreditou em mim.

Agradeço ao meu amor, Jéssica França, que me acompanha desde a metade do caminho, mas que teve paciência pra me ajudar a não me sobrecarregar e tornar leve essa caminhada.

Agradeço imensamente a uma pessoa muito especial que me ajudou em muitas etapas, pessoais e profissionais, desde a execução das lâminas, até as palavras de força que eu precisei e que eu quero eternamente ao meu lado: Luise Ratis.

Agradeço a todos os alunos que pacientemente me ajudaram a confeccionar material: Simone, Diego, Rogério, Jerônimo, Wadson (a galera do LHEA), Elisa e Rodrigo.

As professoras que também colaboraram para que o trabalho ficasse impecável: Ana Rita e Elane Giese.

Aos meus amigos e familiares que acreditaram que eu era capaz, seja da Unama, Bosque, HVB ou da vida. Hoje é dia de comemorar!

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Distribuição geográfica da <i>B. Variegatus</i> .....	12
FIGURA 2 - Anatomia topográfica <i>in situ</i> do esôfago de preguiças da espécie <i>Bradypus variegatus</i> .....	25
FIGURA 3 - Fotomicrografia do esôfago de preguiça da espécie <i>Bradypus variegatus</i> .....	27
FIGURA - 4 Fotomicrografia da válvula cárdio-esofágica de preguiça da espécie <i>Bradypus variegatus</i> .....	28
FIGURA 5 - Photomacrographs of longitudinal sections of <i>Bradypus variegatus</i> trunk for visualization of <i>in situ</i> stomachs.....	37
FIGURA 6 - <i>Bradypus variegatus</i> <i>in situ</i> stomach.....	38
FIGURA 7 - Photomacrographs of the inner face of <i>Bradypus variegatus</i> stomach. ....	39
FIGURA 8 - Photomicrographs of the keratinized portion of the stomach of <i>Bradypus variegatus</i> .....	40
FIGURA 9 - Photomicrographs of the bottom portion of the stomach of <i>Bradypus variegatus</i> .....	42
FIGURA 10 - Photomicrographs of the diverticulum of <i>Bradypus variegatus</i> .....	43
FIGURA 11 - Photomicrography of the pre-pyloric region of the <i>Bradypus variegatus</i> stomach.....	44
FIGURA 12 - Gastric transit revealed by x-rays of contrast injection in the brown-throated sloth ( <i>Bradypus variegatus</i> ).....	45

## MORFOLOGIA DO ESÔFAGO, ESTÔMAGO E PROGRESSÃO ALIMENTAR GÁSTRICA DE PREGUIÇAS DE TRÊS DEDOS (*Bradypus variegatus*)

**RESUMO:** As adaptações para a dieta folívora arborícola de preguiças são evidentes logo na mastigação. Devido às especializações alimentares, as preguiças dispõem de uma gama de peculiaridades morfofisiológicas no trato digestório, em consonância com o comportamento acrobático realizados por esses Xenarthra, os quais representam um grupo diferenciado no que diz respeito a anatomia e fisiologia digestiva. Diante do exposto, objetivou-se investigar as características morfológicas do aparelho digestório da preguiça-comum, a fim de subsidiar o entendimento da digestão desses animais, bem como seu comportamento alimentar. Nos sete animais adultos estudados, o esôfago iniciou dorsal a laringe desviando a esquerda da traqueia, mantendo-se adjacente a mesma, ainda no antímero esquerdo, ao longo de toda a porção cervical. No tórax, percorreu o mediastino, cruzando o diafragma através do hiato esofágico, alcançando o estômago. Histologicamente, o esôfago seguiu um padrão peculiar que facilitou o entendimento do aparelho digestório do animal, sendo este com mucosa queratinizada e camada muscular estriada esquelética, apresentando musculatura lisa apenas na região transicional esôfago-estômago. O estômago desses animais permitiu caracterizar a divisão em sete compartimentos: saco cranial, saco central, fundo, saco caudal, divertículo e pré piloro I e II. O saco cranial caracterizou-se pela zona de inserção esofágica, sendo a primeira cavidade do estômago situada na região cranial, desviada a esquerda. Em seguida destacou-se o saco central posicionado na região mediana do corpo, precedendo o saco caudal, que estava posicionado no antímero direito. O fundo era localizado na região crânio central do órgão, acima do divertículo, que sobrepunha os pré piloros I e II (inserção duodenal). Microscopicamente, os compartimentos revelaram dois padrões distintos: uma fração de tecido plano queratinizado estratificado aglandular e uma fração glandular, de mucosa revestida por tecido epitelial glandular prismático baixo, com formações de fossetas curtas e glândulas longas. No exame de imagem, verificamos ultrassonograficamente a presença de válvulas estomacais e no raio-x contrastado o trânsito pelas cavidades gástricas. Por fim, concluímos que a configuração única do tubo esofágico aliada a complexidade morfológica dos estômagos e comportamentos posturais pré e pós ingesta, inferem alguns dos comportamentos peculiares da *Bradypus variegatus*, no que concerne também ao conhecimento do trânsito alimentar. Esses achados poderão nortear novas pesquisas quanto ao comportamento morfológico dos intestinos desta espécie, bem como as investigações quanto a digestibilidade dos alimentos.

**Palavras-chave:** Anatomia, Digestório, Histologia, Xenarthra.

**MORPHOLOGY OF ESOPHAGUS, STOMACH AND GASTRIC FOOD  
PROGRESSION OF BROWN- THROATED SLOTS (*Bradypus variegatus*)**

**ABSTRACT:** The adaptations to the tree folivore diet of sloths are evident soon in chewing. Due to food specialties, sloths have a range of morphophysiological changes in the digestive tract and in agreement with the acrobatic behavior and laterality performed by these Xenarthras, these individuals represent a differentiated group with respect to anatomy and digestive physiology. In view of the above, the objective was to investigate the morphological characteristics of the common sloth digestive apparatus, in order to support the understanding of the digestion of these animals, as well as their feeding behavior, and with that help in the preservation of the species. Seven adult animals were used, in which the esophagus started the larynx dorsal to the left of the trachea, remaining adjacent to it, still in the left antimer, along the entire cervical portion. In the thorax, it crossed the mediastinum, crossing the diaphragm through the esophageal hiatus, reaching the stomach. Histologically, the esophagus followed a peculiar pattern that facilitated the understanding of the animal's digestive apparatus, being this with keratinized mucosa and skeletal striated muscle layer, presenting smooth muscle only in the transitional esophagus-stomach region. The anatomical analysis of the stomach of laziness allowed us to characterize the division into seven compartments: cranial sac, central sac, fundus, caudal sac, diverticulum and pre pilorus I and II. The cranial sac was characterized by the esophageal insertion zone, the first cavity of the stomach being located in the cranial region, deviated from the left. Next, the central bag positioned in the middle region of the animal's body was preceded by the caudal sac, which was positioned in the right antimer. The fundus was located in the central cranial region of the organ so above the diverticulum, which overlapped prepilorus I and II (duodenal insertion). Microscopically, the compartments revealed two distinct patterns: a flat agglutinated stratified keratinized flat tissue fraction and a glandular fraction of mucosa lined with low prismatic glandular epithelial tissue with short pits and long gland formations. Finally, we conclude that the unique configuration of the esophageal tube, combined with the complexity of the stomachs and posture behaviors before and after ingestion, the histological composition and the low metabolic rate infer some of the behaviors peculiar to the sloths of the *Bradypus variegatus* species, knowledge of food traffic.

Key words: Esophagus, Stomach, Anatomy, Histology, Xenarthra.

## Sumário

1 CONTEXTUALIZAÇÃO .....	12
1.1 MORFOLOGIA DO APARELHO DIGESTÓRIO DE HERBÍVOROS .....	14
1.2 ALIMENTAÇÃO DE <i>B. variegatus</i> .....	16
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
REFERÊNCIAS .....	18
3 MORFOLOGIA DO ESÔFAGO DE <i>Bradypus variegatus</i> (SCHINZ, 1825) (Aceito pela revista Biotemas – Qualis B4) – (Anexo I). .....	22
<b>Resumo</b> .....	<b>22</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>23</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>23</b>
<b>Material e Métodos</b> .....	<b>25</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>25</b>
<b>Discussão</b> .....	<b>29</b>
<b>Referências</b> .....	<b>31</b>
4 MORPHOLOGY AND DYNAMICS OF THE BROWN-THROATED SLOTH ( <i>Bradypus variegatus</i> ) STOMACH.....	34
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>35</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>36</b>
<b>MATERIALS AND METHODS</b> .....	<b>36</b>
<b>RESULTS</b> .....	<b>38</b>
<b>DISCUSSION</b> .....	<b>47</b>
<b>REFERENCES</b> .....	<b>52</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>57</b>



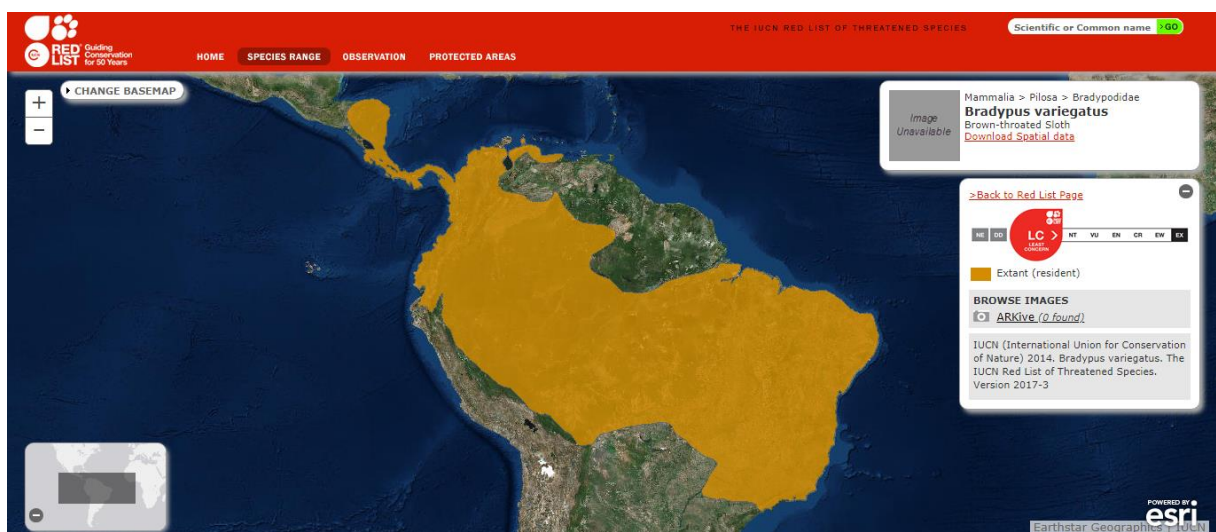
## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A evolução e ecologia das preguiças são caracterizadas por sua capacidade de sobreviver na copa arbórea em florestas neotropicais, e por supostamente apresentarem adaptações fisiológicas e comportamentais para superar as limitações impostas por este ambiente, porém, pouco se sabe sobre a capacidade da preguiça para adquirir nutrientes em folhas pobres (BISCHOF et al., 2013) que compõem a maioria de sua dieta (HLADIK, 1978; SHIELS, 2006).

Uma das dificuldades que prejudicam a manutenção cativa de animais da Superordem Xenarthra é o desconhecimento acerca da fisiologia do aparelho digestório, e para o auxílio no entendimento, as diretrizes morfométricas são importantes no que diz respeito inclusive as preferências alimentares (CARVALHO, 2014).

A preguiça pode ser designada, zologicamente, como um mamífero da Classe Eutheria, Superordem Xenarthra, e Família Bradypodidae. A ocorrência da espécie *Bradypus variegatus* está amplamente distribuída desde o norte de Honduras, passando pela sul da América Central, e na América do Sul varia desde a Colômbia até o oeste e sul da Venezuela, sul do Equador, leste do Peru e Bolívia, além do Brasil (Figura 1). A distribuição se sobrepõe com *B. torquatus* na parte central da Mata Atlântica. No Brasil, atualmente, ambas as espécies ocorrem em áreas florestais da Amazônia, Mata Atlântica e possivelmente nas zonas de contato entre esses biomas e Cerrado (HIRSCH e CHIARELLO, 2012; CHIARELLO, 2014).

**Figura 1** – Distribuição geográfica da *B. variegatus*, 2019 (Fonte: IUCN, 2019).



Conhecidos pelo comportamento de movimentação lenta e baixa taxa metabólica, habitam florestas e alimentam-se de folhas, ramos e brotos de várias plantas, frequentemente da família Moraceae (CHIARELLO, 2008), Cecropiaceae e Clethraceae (URBANI; BOSQUE, 2007).

É sabido que esses animais não se adaptam facilmente à vida cativa, pois são pouco resistentes a esta condição. Apesar de escassa, a literatura sobre manejo de animais do gênero *Bradypus* relata a dificuldade de manutenção desses indivíduos, por não se adaptarem facilmente quanto a exigência nutricional e ecológica, levando a uma taxa de sobrevivência diminuída (CRANDALL, 1964; MONTGOMERY; SUNQUIST, 1975).

Assim, quando removidas do seu habitat natural, sobrevivem por poucos meses (CRANDALL, 1964). *B. variegatus* e *B. torquatus*, por serem consideradas folívoras muito estritas, se alimentam de uma gama limitada de espécies de vegetais, o que as torna mais difíceis de manter em ambiente cativo. Já as preguiças de dois dedos (*Choloepus* spp.) costumam ter uma dieta mais ampla, que inclui uma grande variedade de espécies de plantas e são mais fáceis de manter em cativeiro (RAINES, 2005; VAUGHAN et al., 2007).

O manejo cativo do gênero *Bradypus* tem sido pesquisada em algumas regiões da América do Sul (URBANI; BOSQUE, 2007; RÉUS; SOUZA, 2007) na busca do entendimento da habilidade fisiológica da digestão e comportamental, tal qual a postura na hora da ingesta, devido ao comportamento acrobático destes Xenarthras fazem destes indivíduos um grupo diferenciado, inclusive no momento da alimentação (CONSENTINO, 2004; PINHEIRO, 2006). Especula-se que para superar as limitações impostas por este estilo de vida, as preguiças desenvolveram várias adaptações anatômicas evolutivas, especializações fisiológicas e comportamentais (CORK e FOLEY, 1991; GILMORE et al., 2001; PAULI et al., 2014), inclusive um estômago contendo três compartimentos (BAUCHOP, 1978; STEVENS; HUME, 1995).

Relatos antigos sobre a manutenção de preguiças em cativeiro apontam que esses animais são muitas vezes alimentados com dietas que não contêm folhas, mas arroz cozido, frutas e legumes (MERRIT, 1985), o que não se assemelha aos valores nutricionais dos alimentos de vida livre (folhas com baixo teor nutricional), o qual apresentam digestibilidade mais elevada. As hipóteses de que processos digestivos em preguiças assemelham-se aos de outros mamíferos herbívoros, ainda permanece sem comprovação, porém, o arroz como ingrediente componente nas rações comerciais de animais silvestres herbívoros tem sido reportada, como em formulações de dietas para *Trichechus inunguis* (BARBOSA et al., 2013).

Os hábitos alimentares e a conformação corporal única das espécies dos Xenarthras instigam a inferir, a partir da forma do tubo digestório, os processos de digestão e absorção dos nutrientes, para fornecer subsídios às pesquisas aplicadas no campo da nutrição e das enfermidades gastrointestinais (GAUDIN; McDONALD, 2008; ENDO et al., 2009). As modificações mais extremas na forma de se alimentar afetam não só as estruturas de mastigação e digestórias, mas também o comportamento, as taxas metabólicas e as funções locomotoras de preguiças (OWEN, 1857; MACALISTER, 1875; NAPLES, 1999).

Estudos mais recentes sobre a avaliação da fisiologia digestiva em outras espécies Xenarthras, como *Myrmecophaga tridactyla* e *Choloepus didactylus* tem sido desenvolvidos para otimizar o manejo alimentar desses animais (STAHL et al., 2012; VENDL et al., 2015), porém, ainda não há relatos no gênero *Bradypus*, possivelmente pelo desconhecimento do aparelho digestório desta espécie.

A incompreensão a respeito da morfofisiologia do aparelho digestório das preguiças do gênero *Bradypus* dificulta o manejo em cativeiro desses animais, possivelmente aumentando o número de mortalidade por erros da nutrição. Este estudo, baseado na morfologia, visa além de contribuir para pesquisas posteriores de digestibilidade aparente da espécie *Bradypus variegatus*, fomentar o sucesso clínico quando os animais são criados na forma cativa ou semi-cativa.

## 1.1 MORFOLOGIA DO APARELHO DIGESTÓRIO DE HERBÍVOROS

O aparelho digestório é responsável por digerir os alimentos em partes menores, possibilitando gerar energia, crescimento e renovação celular. Os órgãos que fazem parte do tubo digestório são capazes de receber alimentos, fracioná-los de maneira química e mecânica até seus componentes moleculares e então absorvê-los. Por fim, este aparelho elimina resíduos excretados e que não foram absorvidos (KONIG; LIEBICH, 2016), bem como a morfologia dos animais está relacionada intimamente com os hábitos alimentares, assim como as características da ingesta, que influem também na forma de se alimentar (SHIPLEY, 1999).

De forma geral, os herbívoros dependem de microrganismos simbióticos que podem fermentar carboidratos estruturais presentes nas folhas, em subprodutos ricos em energia, principalmente ácidos graxos voláteis (AGV's), que são usados como fonte de energia primária (HUNGATE, 1966; STEVENS, 1988). Nos primeiros relatos científicos sobre o processo de fermentação alimentar, as abordagens alicerçavam-se em diferenças básicas em anatomia e fisiologia dos herbívoros centrando-se numa dicotomia entre fermentadores de

intestino anterior e posterior (JANIS, 1976; ALEXANDER, 1991). Mais recentemente, essa separação foi expandida enfatizando as diferenças entre os não ruminantes e os ruminantes fermentadores intestinais anteriores e a flexibilidade no sistema de fermentação do intestino posterior (SCHWARM et al., 2009; CLAUSS et al., 2010).

Os animais herbívoros são classificados como ruminantes quando apresentam três características básicas: estômago poligástrico, fermentação bacteriana ativa para absorção de nutrientes e regurgitação de ingesta (FRANDSON et al., 2003). Apresentam o estômago dividido em fração aglandular (rúmen, retículo e omaso) e fração glandular (abomaso) contendo na composição do órgão os padrões cárdicos, fúndicos e pilóricos (EURELL; FRAPPER, 2006; SAMUELSON, 2007).

Ruminantes não domésticos, não necessariamente se encaixam no padrão proposto anteriormente, como é o caso por exemplo dos Camelídeos, que exibem um padrão morfológico diferente dos bovinos, com o estômago apresentando dois ventrículos de fermentação bacteriana diferentes do rúmen e retículo, e um terceiro ventrículo semelhante ao abomaso, dividido em três regiões (pseudocárdia, fundo e piloro) (WANG et al., 2000; ABDEL-MAGIED; TAHA, 2003).

Hipopótamos pigmeus, que também são considerados ruminantes, apresentam o estômago dividido em quatro cavidades, sendo as três primeiras aglandulares e a última glandular, porém, com o padrão de apresentação totalmente diferente do ruminante clássico (MCDONALD; HARTMAN, 1983).

No gênero *Bradypus*, alvo de nossa investigação, na década de 1940, pesquisadores destacavam um estômago grande, inicialmente dividido em quatro câmaras, representando cerca de 20-30% do corpo do animal (BRITTON, 1941); afirmavam também que nas três primeiras porções gástricas ocorria a fermentação e na quarta, a ação de ácidos e enzimas (CORK; FOLEY, 1991).

Mais tarde, entre as décadas de 1970 a 2000, pesquisadores interpretaram a porção gástrica das preguiças de acordo com as adaptações anatómicas, fisiológicas e comportamentais destes indivíduos, e afirmaram que as preguiças apresentam um estômago de três compartimentos com uma distensão intestinal com características ruminais (BAUCHOP, 1978; CORK ; FOLEY, 1991; STEVENS; HUME, 1995; GILMORE et al., 2001; PAULI et al., 2014).

## 1.2 ALIMENTAÇÃO DE *B. variegatus*

A alimentação das preguiças é a chave vital para a manutenção com sucesso destes indivíduos criados em cativeiro, sendo necessário um esforço concentrado para se manter espécies de plantas comestíveis, uma vez que a maioria da ingestão de água pelas preguiças acontece com ingesta das folhagens (NAGY; MONTGOMERY, 1980).

A dieta já descrita das preguiças em vida livre é bastante restrita, composta por árvores, plantas ou folhas e cipós, com cerca de 30 espécies de vegetais já relatados, com cada indivíduo consumindo em torno de 15 a 20 espécies/ano (DRUMOND, 2010). No entanto, o comportamento alimentar das preguiças, em geral, se dá de acordo com a preferência, no que diz respeito a questão nutricional e a seletividade e, pelo fato das folhas serem consideradas alimentos energeticamente desfavoráveis, esses animais possuem uma clara preferência manifestada por folhas jovens, que apresentam menores proporções de compostos de difícil digestão como a celulose, taninos, alcaloides e lignina, apresentando concentrações maiores de açúcares, água e proteínas quando comparadas às folhas maduras (STRIER, 1992; CHIARELLO, 1994; NOGUEIRA, 1996; CHIARELLO, 1998).

Partindo então dessa dificuldade de compreender os processos de digestão e consequentemente, do manejo nutricional, buscou-se o entendimento inicial da morfologia do aparelho digestório desses animais, os quais poderão subsidiar pesquisas quanto a fisiologia digestiva e digestibilidade, favorecendo a confecção da dieta ideal para *B. variegatus* mantidos em cativeiro.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a morfologia do esôfago, estômago e progressão alimentar gástrica de preguiças de três dedos (*Bradypus variegatus*).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever a morfologia do esôfago dos animais para o entendimento do trânsito dos alimentos;
- Descrever a morfologia do estômago dos animais, para o entendimento da digestão dos alimentos;
- Analisar em tempo real, por meio de exames de imagem do percurso do alimento e a digestão dos espécimes estudados.

## REFERÊNCIAS

- ABDEL-MAGIED, E.M.; TAHA, A.A.M. Morphological, morphometric and histochemical characterization of the gastric mucosa of the camel (*Camelus dromedarius*). **Anat. Histol. Embryol.**, v. 32, p. 42-47, 2003.
- ALEXANDER, R. McN. Optimization of gut structure and diet for higher vertebrate herbivores. **Phil. Trans. R. Soc.** v. B, p. 249-255, 1991.
- BARBOSA, P; DA SILVA, V. M. F.; PEREIRA JUNIOR, G. Tempo de passagem de duas dietas no trato gastrointestinal do peixe-boi da Amazônia *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883) em cativeiro. **Acta Amazônica**. v. 43, p. 365-370, 2013.
- BAUCHOP, T. Digestion of leaves in vertebrate arboreal folivores. In **The Ecology of Arboreal Folivores**. Montgomery, G.G. (ed.). Washington, DC, USA: Smithsonian Institution Press, p. 193–204, 1978.
- BISCHOF, S.; UMHANG, M.; EICKE, S.; STREB, S.; QI, W.; ZEEMAN, S.C. *Cecropia peltata* accumulates starch or soluble glycogen by differentially regulating starch biosynthetic genes. **Plant Cell Online** v. 25, p.1400–1415, 2013.
- BRITTON, S. W. Form and function in the sloth. **Quart. Rev. Biol.** v. 16, p. 13-34, 1941.
- CARVALHO, M.M.; PIERI, N.C.G.; PEREIRA, K.F.; LIMA, F.C.; CARNIATTO, C.H.; MIGLINO, M.A.; RICCI, R.E.; MARTINS, D.S. Caracterização comparativa do intestino das espécies da Ordem Xenarthra. **Pesq. Vet. Bras.** v. 34 p. 49-56, 2014.
- CHIARELLO AG, MORAES-BARROS, N. *Bradypus torquatus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org).
- CHIARELLO, A. G. Sloth ecology. An overview of field studies. In: The biology of the Xenarthra (S. F. Vizcaíno and W. J. Loughry, eds.). University Press of Florida, Gainesville, p. 269–280 2008.
- CHIARELLO, A. G. Diet of the atlantic forest maned sloth *Bradypus torquatus* (Xenarthra: Bradypodidae). **Journal of Zoology, London**: v. 246, n. 1, p. 11-19, 1998.
- CHIARELLO, A.G. Diet of the Brown Howler Monkey *Alouatta fusca* in a semi-deciduous Forest fragment of Southeastern Brazil. **Primates**, Tokyo, v. 35, p. 25-34, 1994.
- CLAUSS, M.; HUME, I.D.; HUMMEL, J. Evolutionary adaptations of ruminants and their potential relevance for modern production systems. **Animal** v. 4, p. 979-992, 2010.
- CONSENTINO, L. N. **Aspectos do comportamento da preguiça-comum, *Bradypus variegatus* (Xenarthra, Bradipodidae) em uma área de semi-cativeiro no município de Valença – Rio de Janeiro.** 2004. 38 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2004.
- CORK, S.J.; FOLEY, W.J. Digestive and metabolic strategies of arboreal mammalian folivores in relation to chemical defenses in temperate and tropical forests. In: PALO, R.T.; ROBBINS,

C.T. (Eds.) Plant defenses against mammalian herbivory. **CRC Press**, p.133-166, 1991.

CRANDALL, L. S. The management of wild mammals in captivity. **Chicago: University of Chicago Press**, p.187-190, 1964.

DRUMOND, G.M.; MACHADO, A.B.M.; PAGLIA, A.P. **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**, v 2. Brasília. CIP Brasil, 908p, 2010.

ENDO, H.; KOMIYA, T; KAWADA, S.; et al.. Three-dimensional reconstruction of the xenarthrous process of the thoracic and lumber vertebrae in the giant anteater. **Mammal Society of Japan, Tokyo**, v. 34, n. 1, p. 1-6, 2009.

EURELL JA, FRAPPER BL, DELLMANN HD. **Textbook of veterinary histology**. 6th ed. Oxford: Blackwell. p 173–177, 2006.

FRANDSON, R.D.; WILKE, L.W.; FAILS, D.A. **Anatomy and physiology of farm animal**. 6.ed., Philadelphia: Williams and Wilkins, 2003, 501p

GAUDIN, T.J.; MCDONALD, H.G. Morphology-based investigations of the phylogenetic relationships among extant and fossil xenarthrans; pp. 24–36 in S. F. Vizcaíno and W. J. Loughry (eds.), *The Biology of the Xenarthra*. **Florida University Press**, Gainesville, Florida, 2008.

GILMORE, D. P.; DA-COSTA C. P.; DUARTE, D. P. F. Sloth biology: an update on their physiological ecology, behavior and role as vectors of arthropods and arboviruses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 9–25, 2001.

HIRSCH, A.; CHIARELLO, A.G. The endangered maned sloth *Bradypus torquatus* of the Brazilian Atlantic forest: a review and update of geographical distribution and habitat preferences. **Mammal Review**, v. 42, p.35-54, 2011.

HLADIK, A. Phenology of leaf production in rain forest of Gabon: distribution and composition of food for folivores. In **The Ecology of Arboreal Folivores**. Montgomery, G.G. (ed.). Washington, DC, USA: Smithsonian Institution Press, p. 51–71, 1978.

HUNGATE, R.E. The Rumen and its Microbes. **Academic Press**, N.Y, 1966.

JANIS, C. The evolutionary strategy of the equidae and the origins of rumen and caecal digestion. **Evolution** v. 30, p. 757-774, 1976.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MACALISTER, A. Report on the anatomy of insectivorous edentates. **Proceedings of the Royal Irish Academy**, Dublin, v. 25, p. 491-508, 1875.

MACDONALD, A.A.; HARTMAN, W. Comparative and functional morphology of the stomach in the adult and newborn Pigmy Hippopotamus (*Choeropsis liberiensis*), **Journal of Morphology**, v. 177, p. 269-276, 1983.



MERRIT, D. A. The two-toed sloth, *Choloepus hoffmanni* Peters. In: G. G. Montgomery (ed.), *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. **Smithsonian Institution Press**, Washington and London, p. 333–341, 1985.

MONTGOMERY, G.G.; SUNQUIST, M.E. Impact of sloths on neotropical energy flow and nutrient cycling. In: GOLLEY, F.; MEDINA, E. (Ed.) *Tropical ecological systems: trends in terrestrial and aquatic research*. **New York: Springer-Verlag**, p.69-98, 1975.

NAGY, K A.; MONTGOMERY, G.G. Field metabolic rate, water flux, and food consumption in three-toed sloths (*Bradypus variegatus*). **Journal of Mammalogy**, v. 61, p. 465-472, 1980.

NAPLES, V. L. Morphology, evolution and function of feeding in the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*), **Journal of Zoology, London**, v. 249, p. 19- 41, 1999.

NOGUEIRA, C.P. **Ecologia e comportamento de fêmeas muriquis (*Brachyteles arachnoides*) em diferentes estágios reprodutivos [Tese]. [Guarulhos (Brazil)]: Universidade de Guarulhos, 1996.**

OWEN, R. On the Anatomy of the Great Anteater (*Myrmecophaga jubata*, Linn). **Proceedings of The Zoological Society of London**, London, v. 1857, p. 22-29, 1857.

PAULI, J.N.; MENDOZA, J.E.; STEFFAN, S.A. et al.. A syndrome of mutualism reinforces the lifestyle of a sloth. **Proceedings of the Royal Society** v. 281, p.2013-3006, 2014.

PINHEIRO, S. D. **Comportamento alimentar da preguiça comum *Bradypus variegatus* (Schinz, 1825) (Xenarthra, Bradypodidae) no Parque Centenário de Barra Mansa-RJ. 2006. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Comportamento e Biologia Animal ) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora. 2006.**

RAINES, J. Captive Health and Husbandry of the Bradypodidae, **Zoo Biology**, v. 24, p. 557–568, 2005.

RÉUS, C.L.; SOUZA, C.M. Estrutura populacional de *Bradypus tridactylus* (Xenarthra, Bradypodidae) em fragmento florestal urbano no município de Manaus, Amazonas, Brasil **Estud. Biol.** v.29, p. 249-256, 2007.

SAMUELSON, DA. **Textbook of veterinary histology**. 1st Edn., Philadelphia, W. B. Saunders Co. p. 323-335, 2007.

SCHWARM, A.; ORTMANN, S.; WOLF, C.; STREICH, W. J.; CLAUSS, M. More efficient mastication allows increasing intake without compromising digestibility or necessitating a larger gut: comparative feeding trials in banteng (*Bos javanicus*) and pygmy hippopotamus (*Hexaprotodon liberiensis*). **Comp. Biochem. Physiol.**v. 152, p. 504-512, 2009.

SHIELS, A.B. Leaf litter decomposition and substrate chemistry of early successional species on landslides in Puerto Rico. **Biotropica**, v. 38, p. 348–353, 2006.

SHIPLEY, L. A. Grazers and browsers: How digestive morphology affects diet selection. Pages 20- 27 IN K. L. Launchbaugh, J. C. Mosley, and K.D. Sanders, eds. *Grazing behavior of livestock and wildlife*. **Idaho Forest, Wildlife, and Range Experiment Station Bulletin** v.70,

1999.

STAHL, M.; OSMANN, C.; ORTMANN, S.; KREUZER, M.; HATT, J. M.; CLAUSS, M. Energy intake for maintenance in a mammal with a low basal metabolism, the Giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** v. 96, p.818–824, 2012.

STEVENS, C.E. Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System. **Cambridge Univ. Press**, N.Y. T, 1988.

STEVENS, E.; HUME, I.D. The mammalian gastrointestinal tract. In Comparative physiology of the vertebrate digestive system. New York, New York: **Cambridge University Press**, p. 65-67, 1995.

STRIER, K.B. Atelinae adaptations: behavioral strategies and ecological constraints. **Am J Phys Anthropol** 88:515–524, 1992.

URBANI, B.; BOSQUE, C. Feeding ecology and postural behaviour of the three-toed sloth (*Bradypus variegatus flaccidus*) in northern Venezuela. **Mamm. biol.** v. 72, p. 321–329, 2007.

VAUGHAN, C.; RAMÍREZ, O.; HERRERA, G.; GURIES, R. Spatial ecology and conservation of two sloth species in a cacao landscape in Limón, Costa Rica. **Biodiversity and Conservation**, v. 16, p. 2293- 2310, 2007.

VENDL, C.; FREI, S.; DITTMANN, M. T.; FURRER, S.; OSMANN, C.; ORTMANN, S.; MUNN, A.; KREUZER, M.; CLAUSS, M. Digestive physiology, metabolism and methane production of captive Linne's two-toed sloths (*Choloepus didactylus*). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 2015.

WANG, J.L.; LAN, G.; WANG, G.X.; LI, H. Y.; XIE, Z. M. Anatomical subdivisions of the stomach of the Bactrian camel (*Camelus bactrianus*). **J. Morphol.** v. 245, p. 161-176, 2000.

### **3 MORFOLOGIA DO ESÔFAGO DE *Bradypus variegatus* (SCHINZ, 1825) (Aceito pela revista Biotemas – Qualis B4) – (Anexo I).**

**Ellen Yasmin Eguchi Mesquita<sup>1,2\*</sup>**

**Paola Cardias Soares<sup>1</sup>**

**Luise Ratis Mello<sup>1</sup>**

**Ana Rita Lima<sup>1</sup>**

**Elane Guerreiro Giese<sup>1</sup>**

**Érika Branco<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia, UFRA, Laboratório de Morfologia Animal, LAPMA, Instituto da Saúde e Produção Animal, ISPA, Av. Presidente Tancredo Neves, n° 2501 Bairro: Terra Firme CEP: 66.077-830, Belém–PA, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade da Amazônia, UNAMA, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Av. Alcindo Cacela, n° 287. Bairro: Umarizal, Belém - PA, CEP: 66065-205, Belém–PA, Brasil.

\*Ellen Yasmin Eguchi Mesquita +5591982263621

[elleneguchi@yahoo.com.br](mailto:elleneguchi@yahoo.com.br)

#### **Resumo**

*Bradypus variegatus*, vulgarmente conhecida como preguiça comum, pertence a um grupo individualizado de mamíferos, com peculiaridades morfológicas e biológicas já descritas, porém, pouco se sabe sobre questões estruturais do seu trato digestório, incluindo a morfologia do esôfago. Diferindo dos mamíferos em geral quanto ao trajeto completo do órgão, o esfíncter esofágico cranial localiza-se dorsalmente à laringe, desviando a esquerda da traqueia, mantendo-se adjacente a mesma, ainda no antímero esquerdo, ao longo da porção cervical. No tórax, seguiu pelo mediastino, atravessou transversalmente o diafragma através do hiato esofágico, alcançando o estômago. Histologicamente, apresentou o mesmo padrão tecidual ao longo das três porções, destacando-se a presença de três camadas musculares, adensando na porção torácica, e adventícia cercada pela cadeia nervosa simpática, adjacente a região cárdica.

Estas características histológicas conferem ao esôfago desta espécie arquitetura peculiar, que pode explicar o comportamento de deglutição destes indivíduos frente aos hábitos posturais dos mesmos.

**Palavras-chave:** Anatomia; Aparelho Digestório; Preguiça; Xenarthras

### **Abstract**

**Morphological characteristics of the esophagus of *Bradypus variegatus* (SCHINZ, 1825).**

*Bradypus variegatus*, commonly known as brown-throated sloth, belongs to an individualized group of mammals, with some morphological and biological peculiarities already described. However, little is known about the structural issues of the digestive tract of this animal, which includes knowing the morphology of the esophagus. Differing from the mammals in general, *B. variegatus*' esophagus sphincter started dorsal to the larynx, diverting to the left of the trachea, remaining adjacent to it, still in the left antimer along the entire cervical portion. In the thorax, it followed the mediastinum, crossing the diaphragm through the esophageal hiatus, reaching the stomach. Histologically, it presented the same tissue pattern throughout the three portions, emphasizing the presence of three muscular layers, thickening in the thoracic portion and adventitia, surrounded by the sympathetic nerve chain, adjacent to the cardiac region. These histological particulars confer to the esophagus of this species a peculiar architecture that may explain the swallowing behavior of these individuals in relation to their postural habits.

**Key words:** Anatomy; Digestive Tract; Sloth; Xenarthras

### **Introdução**

As funções primárias do tubo digestório são a digestão e a absorção de nutrientes, essenciais aos processos metabólicos dos animais, além de revelar hábitos alimentares gerais, sendo útil para a sistemática. Os nutrientes digeridos são absorvidos pelo epitélio e transferidos para a circulação (HILDEBRAND; GOSLOW, 2006).

As preguiças estão entre as poucas espécies de mamíferos arborícolas com hábito alimentar estritamente folívoro (CORK; FOLEY, 1991), conhecido pelos movimentos lentos e baixa taxa metabólica, habitando florestas e alimentando-se de folhas, ramos e brotos de várias plantas, frequentemente da família Moraceae (CHIARELLO, 2008), Cecropiaceae e Clethraceae (URBANI; BOSQUE, 2007), sendo que as folhas representam 94% dos itens

consumidos (QUEIROZ, 1995).

As adaptações para a dieta folívora arborícola de preguiças são evidentes logo na mastigação. Devido às especializações para trituração dos alimentos fibrosos, as preguiças dispõem de músculos faciais reduzidos em número e complexidade em comparação com os músculos de carnívoros (NAPLES, 1985). Em consonância, o comportamento acrobático e a lateralidade realizada por estes *Xenarthras* fazem destes indivíduos um grupo diferenciado, inclusive no momento da alimentação (CONSENTINO, 2004; PINHEIRO, 2006).

Para compreender a dieta de animais selvagens é importante conhecer a morfologia do trato digestório, porém, há escassez literária quanto ao tema, que impede compreender os processos digestivos e a alimentação adequada para cada espécie (PINHEIRO et al., 2014). É pacificado que o tubo digestório é variável estruturalmente nos animais vertebrados, inclusive entre espécies do mesmo gênero (ZAMITH, 1952). A mastigação, o transporte de alimento e a deglutição dos mamíferos também ocorrem de maneira diferente dos outros vertebrados (PARSONS; ROMER, 1985), uma vez que as diferenças anatômicas entre as espécies podem refletir nas adaptações filogenéticas de diversas dietas alimentares (FOWLER, 1998).

Na anatomia do tubo digestório, a primeira porção tubular percorrida pelo bolo alimentar é o esôfago, o qual tem por função conduzir o alimento da faringe ao estômago (DYCE et al., 2010), possuindo três porções (cervical, torácica e abdominal). Histologicamente, em alguns animais domésticos já descritos, é composto por quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e adventícia/serosa (SAMUELSON, 2007).

Topograficamente, o esôfago se apresenta nos herbívoros como um tubo relativamente estreito que começa dorsalmente a cartilagem cricoide da laringe e, acompanha a traqueia ao longo do pescoço, se inclinando inicialmente à esquerda e retomando a posição mediana dorsal. Ao atingir a região torácica, apresenta desvio a esquerda do arco aórtico e reassume o antímero esquerdo na porção abdominal no cárdia estomacal. O bolo alimentar segue morfologicamente a arquitetura do tubo, passando por etapas de lubrificação, até alcançar o estômago (DYCE et al., 2010).

Histologicamente, o esôfago de alguns animais, apresenta configurações distintas de acordo com o hábito alimentar, podendo ser composto por epitélio pavimentoso estratificado, com ausência de queratina e sustentado por lâmina própria (SAMUELSON, 2007), ou mesmo ser queratinizado, ou seja, dotado de camada de queratina na superfície do epitélio, provavelmente relacionada à dieta mais fibrosa (NASCIUTTI et al., 2016). Além do epitélio e lâmina própria, existe uma delicada camada muscular lisa dotada de feixes orientados longitudinalmente, a muscular da mucosa, que delimita a mucosa da submucosa, adjacente a

camada muscular lisa dupla, e mais externamente segue a adventícia, constituída de tecido conjuntivo frouxo (STINSON; CALHOUN, 1982; LANGER, 2003).

Diante do exposto, objetivou-se investigar as características morfológicas do esôfago da *B. variegatus*, a fim de subsidiar o entendimento de sua digestão, bem como o comportamento alimentar, e com isso auxiliar na preservação da espécie.

### **Material e Métodos**

Foram utilizados sete animais adultos (quatro fêmeas e três machos), provenientes do Bosque Rodrigues Alves Jardim Botânico da Amazônia, município de Belém, Estado do Pará, Brasil (SISBIO N°49221), que viviam em regime semi-cativo e foram a óbito por causas naturais, não correlatas ao aparelho digestório. Dos sete animais estudados, um grupo com cinco indivíduos (3 fêmeas e 2 machos) foi imediatamente congelado por período médio de 7 dias, e um grupo com 2 animais (1 fêmea e 1 macho) foi utilizado em condição de óbito recente. Todos os animais foram encaminhados ao Laboratório de Pesquisa Morfológica Animal (LaPMA), da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA-PA).

Inicialmente, os animais congelados foram descongelados em água corrente, por período de aproximadamente 6 h e em seguida, com auxílio de material básico de dissecação, realizou-se incisão longitudinal na região mentoniana, estendendo-se pela linha mediana ventral do pescoço, do tórax, do abdome, até a região pré-umbilical, rebatendo-se a cútis, musculatura e o esterno, o qual foi incisado nas articulações costocodrais, seguido de exposição do esôfago, até seu ponto de desembocadura junto ao estômago. Esta foi a mesma metodologia de abordagem utilizada nos animais com óbito recente.

Após fotodocumentação para registro da topografia do esôfago, o mesmo foi removido e foram fixadas amostras de 2cm das porções cervical, torácica e abdominal, em solução aquosa de formaldeído a 10% tamponado, para avaliação pela microscopia de luz, seguindo protocolo de rotina histológica de Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gomori (TOLOSA et al., 2003).

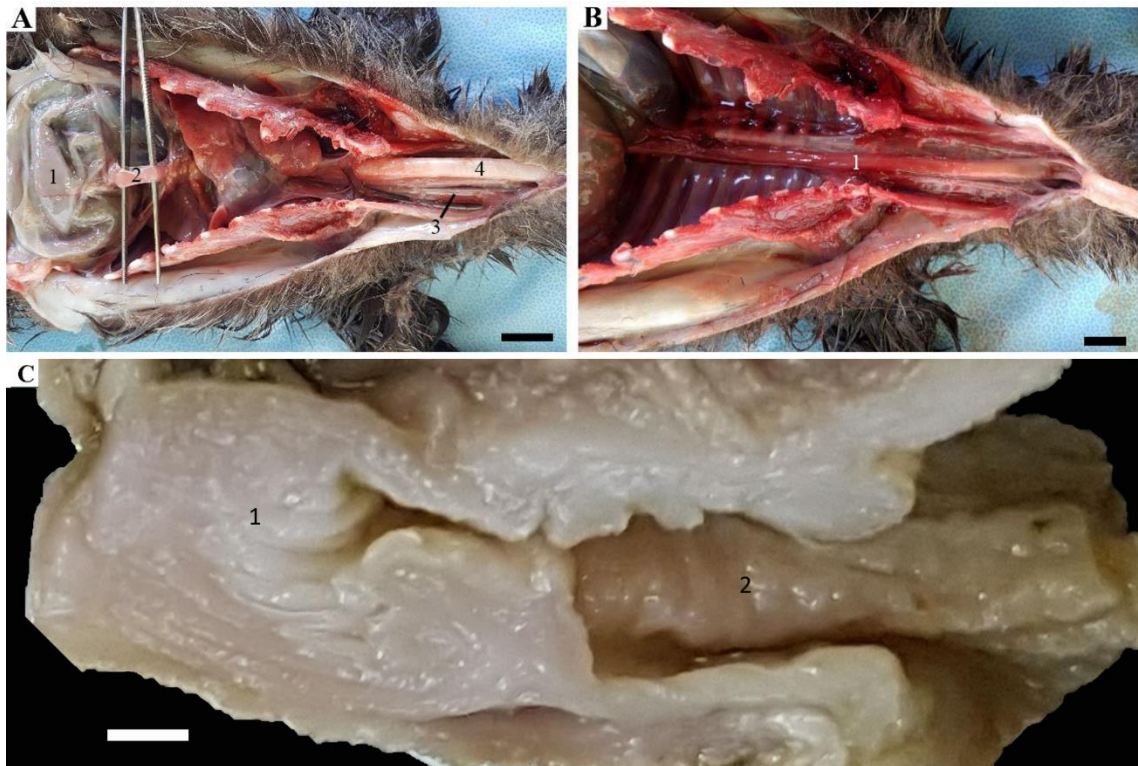
As nomenclaturas adotadas seguiram os padrões da Nomina Anatomica Veterinaria (INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE, 2017) e da Nomina Histologica Veterinária (INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY HISTOLOGICAL NOMENCLATURE, 2017).

### **Resultados**

Topograficamente, o esôfago iniciou dorsal a laringe e imediatamente desviou a

esquerda da traqueia, mantendo-se adjacente a mesma, ainda no antímero esquerdo ao longo de toda a extensão cervical. No tórax, o esôfago foi identificado no mediastino, e, em seguida atravessou transversalmente o diafragma através do hiato esofágico, alcançando o estômago à esquerda do plano mediano (Figura 1).

FIGURA 1: A e B: Anatomia topográfica *in situ* do esôfago de preguiças da espécie *Bradypus variegatus*. A) 1 – Estômago; 2 – Esôfago abdominal; 3 – Esôfago cervical; 4 – Traqueia (Barra de escala: 2 cm). B) Trajetória completa do esôfago após remoção do aparelho cardiorrespiratório (Barra de escala: 2 cm). C) Válvula cárdio-esofágica 1 – Estômago; 2 – Esfíncter gástrico (Barra de escala: 1cm).



Macroscopicamente, o esôfago da *B. variegatus* apresentou mucosa pregueada em toda extensão com uma estrutura que se projeta em direção ao lúmen do órgão na porção cárdica do estômago, semelhante a uma válvula ou esfíncter proeminente.

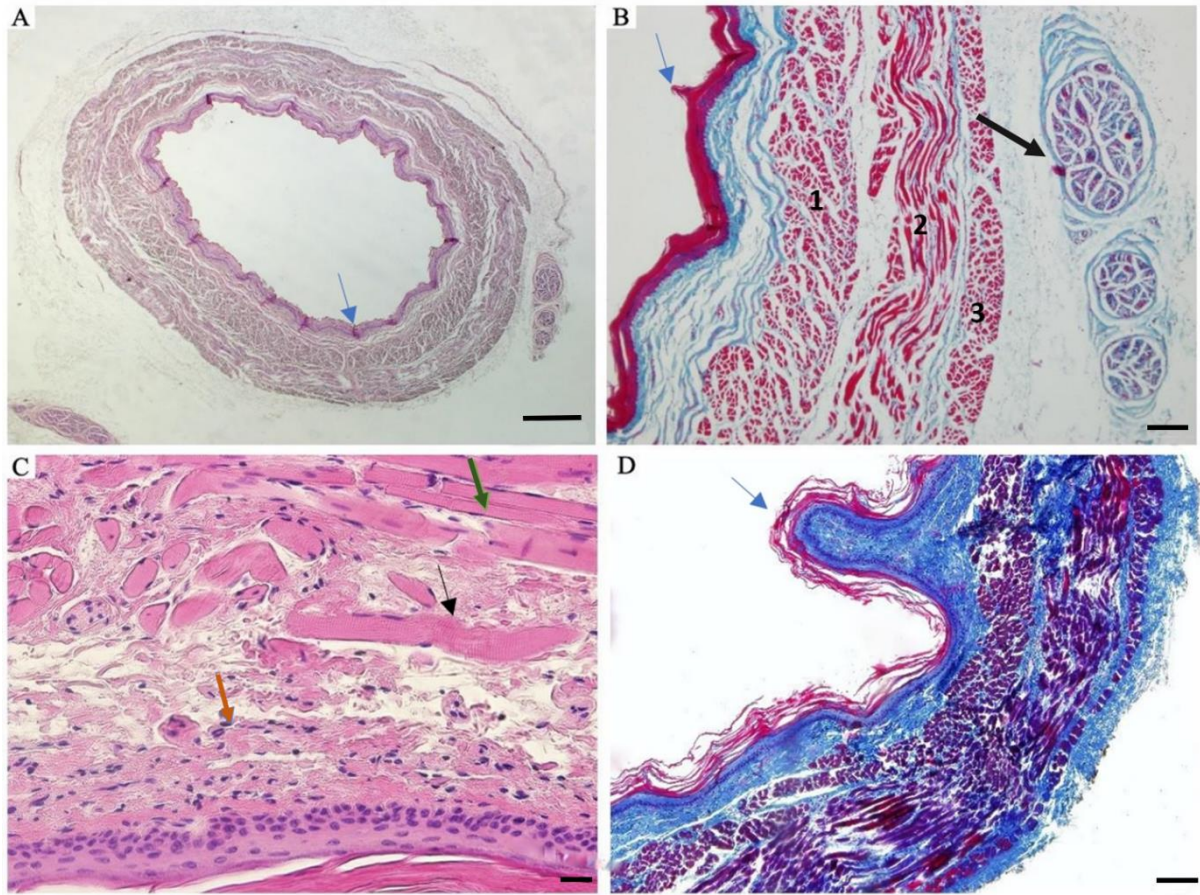
Histologicamente, o esôfago seguiu o mesmo padrão tecidual ao longo das três porções (cervical, torácica e abdominal) com pequenas modificações (Figura 2). A mucosa do órgão constituía-se por tecido pavimentoso queratinizado estratificado, composto de estrato córneo sem padrão de estratificação, com formações de pregas suportadas somente por queratina,

sucedido pela lâmina própria.

A submucosa de tecido conjuntivo frouxo se mostrou sem glândulas, ausência de muscular da mucosa, com a túnica muscular marcante contendo três camadas (longitudinal, transversal e longitudinal), e adensamento da musculatura na porção torácica. Toda a extensão do órgão mostrou-se composta por musculatura estriada esquelética, com núcleos periféricos, sendo as células multinucleadas, e adventícia formada por tecido conjuntivo frouxo, com a cadeia nervosa simpática circunscrevendo o órgão próximo a região cárdica.

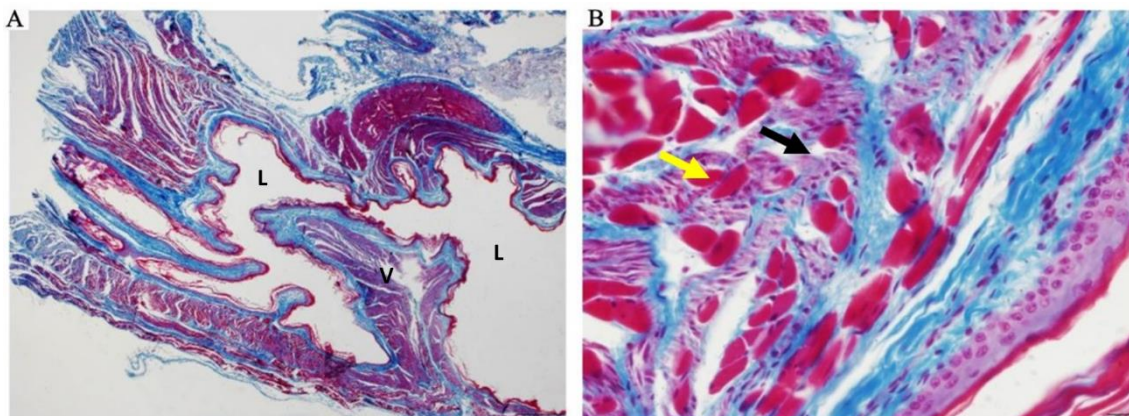
FIGURA 2: Fotomicrografia do esôfago de preguiça da espécie *Bradypus variegatus*. A) Corte transversal do esôfago, da porção abdominal indicando mucosa pregueada (seta); B) Corte longitudinal do esôfago, porção abdominal com o padrão das camadas do órgão (mucosa com as dobras de queratina – seta azul) túnica muscular com as três camadas – Transversal (1), longitudinal (2) e transversal (3), e plexo nervoso autônomo na serosa (seta preta); C) Camada muscular apresentando estrias (seta preta) e núcleos periféricos (setas laranja e verde) caracterizando o tecido muscular esquelético; D) Criptas de tecido epitelial na mucosa invadindo a luz do órgão (seta azul). Barras de Escala e coloração: A: 500  $\mu\text{m}$ , hematoxilina-eosina; B: 100  $\mu\text{m}$ , hematoxilina-eosina; C: 20  $\mu\text{m}$ , hematoxilina-eosina; D: 100  $\mu\text{m}$ , Tricrômico de Gomori).





A porção do esfíncter ou válvula cárdica apresentou também mucosa de tecido plano queratinizado, semelhante a toda extensão do órgão, composto de estrato córneo sem padrão de estratificação, com formações de pregas suportadas somente por queratina, sucedido pela lâmina própria e submucosa de tecido conjuntivo frouxo, ausência de glândulas e muscular da mucosa (Figura 3).

FIGURA 3: Fotomicrografia da válvula cárdio-esofágica de preguiça da espécie *Bradypus variegatus*. A) Válvula cárdio-esofágica (V) com a projeção para o lúmen do órgão (L); B) Padrão misto muscular entremeado, composto por musculatura lisa (seta preta) e musculatura estriada esquelética (seta amarela) Barras de Escala e coloração: A: 100  $\mu$ m, Tricrômico de Gomori; B: 20  $\mu$ m, Tricrômico de Gomori.



A camada muscular, composta por três feixes em oposição, exibiu um padrão misto, composto tanto por musculatura lisa quanto por músculo estriado esquelético, que se entrecruzam na mesma porção, e a serosa, já bem caracterizada, composta por tecido conjuntivo frouxo e células epiteliais pavimentosas.

### Discussão

A disposição do esôfago da *B. variegatus*, situado exclusivamente no antímero esquerdo do pescoço, apresentando o trajeto retilíneo e ausência de flexura, difere da literatura já descrita tanto em carnívoros quanto em herbívoros domésticos (GETTY, 1986; MURRAY, 1998; DYCE et al., 2010), porém, se assemelha a descrita por Dias et al. (2015), em tamanduás-mirins. Esta condição, em conjunto ao comportamento alimentar suspenso com os membros pélvicos acima e a cabeça em plano inferior, supostamente esclarece a necessidade de maior controle de movimento do bolo alimentar. A presença de flexuras usualmente descrita em animais domésticos dificultaria esse retorno, o que não é o caso em preguiças que por sua vez, é justificada pela presença de uma densa válvula cárdio-esofágica que tende a evitar o processo de refluxo.

A microscopia do esôfago confirma que este apresenta características próprias, no qual a mucosa revela pregas dispostas pela superfície interna, diferente dos animais domésticos, em que as pregas desaparecem na porção abdominal (GENESER, 2003; GARTNER; HIATT, 2007). Além disto, há ausência de glândulas esofágicas o que, junto com as características anatômicas, confirma que o órgão possivelmente apresenta funcionalidade apenas mecânica, como a tartaruga verde (*Chelonia mydas*), cujos autores sugerem a mesma função (MAGALHÃES et al., 2010).

A ausência de lubrificação com base no movimento de deglutição antigravitacional,

reforçado pela presença da musculatura esquelética, leva a crer que existe algum controle do bolo alimentar, e a lubrificação, possivelmente, deve ocorrer pela salivação do animal.

A literatura aponta também que ruminantes e cães possuem igualmente a túnica muscular composta de musculatura esquelética, porém, formada por dois feixes musculares (SAMUELSON, 2007), bem como a descrição morfológica do esôfago de capivara, cuja camada muscular também é constituída por duas camadas de músculo estriado esquelético desenvolvidas ao longo do órgão, influenciando no transporte de partículas remanescentes após a deglutição (VELÁSQUEZ et al., 2016).

A espécie *B. variegatus* apresenta três camadas musculares, o que possivelmente leva ao controle dos movimentos esofágicos de regurgitação ainda mais preciso quando comparado aos ruminantes que utilizam esse domínio muscular para o retorno alimentar no processo de ruminação (BANKS, 1992).

Ao final do trajeto alimentar até o estômago, *B. variegatus* apresenta uma válvula cárdica, presumidamente controlada pelo aparelho nervoso autônomo a fim de evitar o refluxo, já que a anatomia retilínea favoreceria o evento. Em caninos, a finalidade da válvula cárdica já é descrita e consiste em evitar a regurgitação, já que à medida que o bolo alimentar transita inicialmente pelo esôfago, ocorre a diminuição da pressão do esfíncter esofágico caudal, relaxando-o e permitindo a passagem do alimento ao estômago. Após a passagem do bolo, o esfíncter se contrai e cria uma zona de alta pressão. A contração evita o refluxo do conteúdo gástrico dentro da porção distal do esôfago (HOFFER et al., 1979; BANKS, 1992).

Possivelmente, *B. variegatus* segue o padrão semelhante dos animais domésticos nesse aspecto, já que, a histologia também mostra a composição mista de tecido muscular liso e esquelético e o enlace do plexo nervoso autônomo. No entanto, a porção cárdica difere no que diz respeito às glândulas.

Em animais com o estômago monocavitário, o esfíncter cárdico também possui glândulas secretoras de muco (glândulas tubulares ramificadas mucosas, cuja secreção protege a parede do esôfago de um refluxo de suco gástrico) (GENESER, 2003; SAMUELSON, 2007; ROSS; PAWLINA, 2012). Já em *B. variegatus*, estas glândulas estão ausentes, reiterando a função mecânica exclusiva do órgão (FRAPE, 2004).

Por fim conclui-se que, a configuração única retilínea do tubo esofágico, juntamente com a densa musculatura, confere a esse órgão características singulares quando aliadas a complexidade de comportamentos posturais pré e pós ingesta da espécie.

## Referências

- BANKS, B. I. Aparelho digestivo. I – Canal alimentar. In: BANKS, B. I. (Ed.). **Histologia veterinária aplicada**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 437-450.
- CHIARELLO, A. G. Sloth ecology: an overview of field studies. In: VIZCAÍNO, S. F.; LOUGHRY, W. J (Ed.). **The biology of the Xenarthra**. Gainesville: University Press of Florida, 2008. p. 638- 671.
- CONSENTINO, L. N. **Aspectos do comportamento da preguiça-comum, *Bradypus variegatus* (Xenarthra, Bradipodidae) em uma área de semi-cativeiro no município de Valença – Rio de Janeiro**. 2004. 38 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2004.
- CORK, S. J.; FOLEY, W. J. Digestive and metabolic strategies of arboreal mammalian folivores in relation to chemical defenses in temperate and tropical forests. In: PALO, R. T.; ROBBINS, C. T. (Ed.). **Plants defenses against mammalian herbivory**. Florida: CRC Press, 1991. p. 133-166.
- DIAS, G. F.; SIQUEIRA, R. A. S.; FIRMINO, M. O.; GUERRA, R. R. Anatomia topográfica do aparelho digestivo de tamanduá mirim (*Tamandua tetradactyla*, Linnaeus 1758) In: CONGRESSO DA SOCIEDADE DE ZOOLOGICOS E AQUÁRIOS DO BRASIL, 39, 2015, Foz do Iguaçu. **Resumos...** Foz do Iguaçu: SZB, 2015. Versão eletrônica.
- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3 ed. São Paulo: Saunders Elsevier, 2010. 813 p.
- FOWLER, M. E. **Medicine and surgery of South American camelids: llama, alpaca, vicuna, guanaco**. Ames: Iowa State University Press, 1998. 391 p.
- FRAPE, D. **Equine nutrition and feeding**. 3 ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. 650 p.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de histologia em cores**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 373 p.
- GENESER, F. **Histologia com bases moleculares**. 3 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana/ Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 125 p.
- GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. Vol. 2. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 2000 p.
- HILDEBRAND, M.; GOSLOW, J. R. G. E. **Análise da estrutura dos vertebrados**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2006. 638 p.
- HOFFER, R. E.; MACCOY, D. M.; QUICK, C. B. Management of acquired achalasia in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 175, n. 8, p. 814-817, 1979.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nomina anatomica veterinaria**. 6 ed. Hannover, Ghent, Rio de Janeiro and Columbia: World Association on Veterinary Anatomist, 2017. 178 p.

LANGER, P. Lactation, weaning period, food quality, and digestive tract differentiations in eutheria. **Evolution**, New York, v. 57, n. 5, p. 1196-1215, 2003.

MAGALHÃES, M. S.; FREITAS, M. D. L.; SILVA, N. B. D.; MOURA, C. E. B. D. Morfologia do tubo digestório da tartaruga verde (*Chelonia mydas*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 30, n. 8, p. 676-684, 2010.

MURRAY, M. J. O esôfago. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M. (Ed.). **Medicina interna equine**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 524-529.

NAPLES, V. L. Form and function of the masticatory musculature in the tree sloths, *Bradypus* and *Choloepus*. **Journal of Morphology**, Malden, v. 183, n. 1, p. 25-50, 1985.

NASCIUTTI, L. E.; NARCISO, M. S.; LIMA, A. V. P.; GERLY, A. C.; ORIÁ, R. B. Histologia do tubo digestório. In: ORIÁ, R. B.; BRITO, g. a. DE c. (Ed.). **Aparelho Digestório: integração básico-clínica**. São Paulo: Blucher, 2016. p. 273-314.

NOMINA HISTOLOGICA VETERINÁRIA. IN: INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS HISTOLOGICAL NOMENCLATURE. **Nomina anatomica veterinaria**. 6 ed. Hannover, Ghent, Rio de Janeiro and Columbia: World Association on Veterinary Anatomist, 2017. 78 p

PARSONS, T. S.; ROMER, A. S. **Anatomia comparada dos vertebrados**. 5 ed. São Paulo: Atheneu, 1985. 560 p.

PINHEIRO, S. D. **Comportamento alimentar da preguiça comum *Bradypus variegatus* (Schinz, 1825) (Xernarthra, Bradypodidae) no Parque Centenário de Barra Mansa-RJ**. 2006. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Comportamento e Biologia Animal) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora. 2006.

PINHEIRO, A. C. O.; LIMA, A. R.; CARVALHO, A. F.; PEREIRA, L. C.; BRANCO, E. Aspectos morfológicos macro e microscópicos do estômago de tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 66, n. 4, p. 1089-1096, 2014.

QUEIROZ, H. L. **Preguiças e guaribas, os mamíferos folívoros arborícolas do Mamirauá**. Vol. 2. Rio de Janeiro: Sociedade Civil Mamirauá, 1995. 176 p.

ROSS, M. H.; PAWLINA, W. **Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular**. 6 ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2012. 864 p.

SAMUELSON, D. A. **Tratado de histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 544

p.

STINSON, A. W.; CALHOUN, M. L. Aparelho digestivo. In: DELMANN, H. D.; BROWN, E. M. (Ed.). **Histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. p. 164-211.

TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia: normal e patológica**. 1 ed. São Paulo: Edição Manole, 2003. 241

p.

URBANI, B.; BOSQUE, C. Feeding ecology and postural behaviour of the three-toed sloth (*Bradypus variegatus flaccidus*) in northern Venezuela. **Mammalian Biology**, Jena, v. 72, n. 6, p. 321-329, 2007.

VELÁSQUEZ, J. C. C.; BEDOYA, S. A. O.; HERNÁNDEZ, V.G. P. Caracterização microscópica das regiões esofágicas de um grupo de Capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) livres no Brasil. **CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, Medellín, v. 11, n. 2, p. 73-81, 2016.

ZAMITH, A. P. L. Contribuição para o conhecimento da estrutura da mucosa do esôfago dos vertebrados. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Piracicaba, v. 9, p. 357-426, 1952.

#### **4 MORPHOLOGY AND DYNAMICS OF THE BROWN-THROATED SLOTH (*Bradypus variegatus*) STOMACH**

Submetido para The Anatomical Records em: 05/02/2019 (anexo II)

**Running title: MORPHOLOGY OF *Bradypus variegatus* STOMACH**

**Ellen Yasmin Eguchi Mesquita<sup>1,2\*</sup>**

**Paola Cardias Soares<sup>1</sup>**

**Luise Ratis Mello<sup>1</sup>**

**Ana Rita Lima<sup>1</sup>**

**Elane Guerreiro Giese<sup>1</sup>**

**Érika Branco<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Federal Rural University of Amazonia, UFRA, Laboratory of Animal Morphology, Institute of Animal Health and Production, ISPA, Av. Presidente Tancredo Neves, n° 2501 Bairro: Terra Firme Zip Code: 66.077-830, Belém–PA, Brazil.

<sup>2</sup>University of Amazonia, UNAMA, Biological Science and Health Center, AV. Alcindo Cacela, n° 287. Bairro: Umarizal, Belém - PA, Zip code: 66065-205, Belém–PA, Brazil.

\*Ellen Yasmin Eguchi Mesquita +5591982263621

[elleneguchi@yahoo.com.br](mailto:elleneguchi@yahoo.com.br)

**ABSTRACT:** Fermentative herbivorous animals have peculiar conformations of the digestive system. Sloths have the capacity for evolutionary adaptation, which enabled them to adapt to their current way of life and eating habits. Revealing the morphology of the stomach of these animals will provide a better understanding of their diet and digestion. Seven adult semi-captive specimens were examined and found to have seven macroscopic compartments, which histologically revealed three distinct patterns: an aglandular keratinized fraction (mechanical) and two glandular fractions, one being mucus secretory and the other composed of acid-secreting cells. This indicates a complex of fermentative chambers preceding a well characterized chemical stomach, therefore, these individuals are similar to ruminants in gastric morphology, with some particularities.

Key words: Anatomy, Digestive, Stomach, Histology, Xenarthra.



## INTRODUCTION

During the evolution of the digestive apparatus of omnivores, herbivores, and carnivores, the organs of the animals have undergone several adaptations to meet specific needs (Hildebrand and Goslow, 2006) and, in the case of some herbivorous animals, a peritoneal serosa and a specialized vascular network that constitute the pre-stomach, stomach, colon, and mesentery and various mucosal adaptations have been identified (Rezende et al, 2011).

Due to their strict folivore feeding habits, sloths of the genus *Bradypus* do not adapt easily to life in captivity, making them less resistant to diseases. Thus, when removed from their natural habitat, they survive only for a few months (Crandall, 1964) since they feed on a limited number of tree species. Two-toed sloths (*Choloepus* spp.) usually have a broader diet, including a wide variety of plant species, making them easier to keep in captivity (Raines, 2005; Vaughan et al, 2007).

To overcome the limitations imposed by this lifestyle, sloths, in general, evolved and developed anatomical, physiological, and behavioral adaptations (Cork and Foley, 1991; Gilmore et al., 2001; Pauli et al., 2014) such as a compartmentalized stomach with rumen characteristics (Bauchop, 1978; Stevens and Hume, 1995).

In addition, previous studies have shown that these animals have the lowest rate of digestion when compared to other known mammals (Britton, 1941; Foley et al., 1995), as well as a low metabolic rate (McNab, 1978; Nagy and Montgomery, 1980), low body temperature, and low muscle density (McNab, 1978), which might explain their reduced energy requirements and allow these animals to subsist on low-calorie diets (Dill-McFarland et al., 2016). However, a more detailed morphological study is necessary so that inferences can be made about the digestion of these animals.

In view of the above reasons, and given the important role of the veterinarian, not only in the clinic and surgery, but also in the nutritional management of wild animals, understanding the morphology of the stomach of brown-throated sloths will lead to a better understanding of the diet and digestion of these animals, which would help in the preservation of this species.

## MATERIALS AND METHODS

We analyzed seven adult sloths (four females and three males) from Bosque Rodrigues Alves Jardim Botânico da Amazônia (SISBIO N° 49221 and CEUA 13/2017) (Belém, Pará, Brazil), that lived in a semi-captive regime and died due to natural causes

unrelated to the digestive tract. They were immediately frozen and sent to the Laboratory of Morphological Animal Research (LaPMA), Federal Rural University of Amazonia (UFRA-PA).

Initially the animals were thawed in running water for approximately six hours and then, with the help of basic dissecting materials, we performed an incision along the alba line exposing the abdominal cavity for visualization and identification of the stomach of each specimen.

Both the end portion of the esophagus and the initial portion of the duodenum were bonded with 0.0 cotton yarn and incised for extraction of the stomach, which was carefully washed with physiological solution (0,9% NaCl) to remove all gastric contents. Subsequently, part of the material destined for macroscopy was immersed in an aqueous solution of 10% formaldehyde, while another part was fixed in Davidson in accordance with the protocol for routine histology and subjected to light microscopy with two colorations: hematoxylin and eosin (HE) and Gomori trichrome (TG). For scanning electron microscopy (SEM) analyses, we used techniques previously described by Murakami (1974), Watanabe and Yamada (1983), and Ohtani (1987).

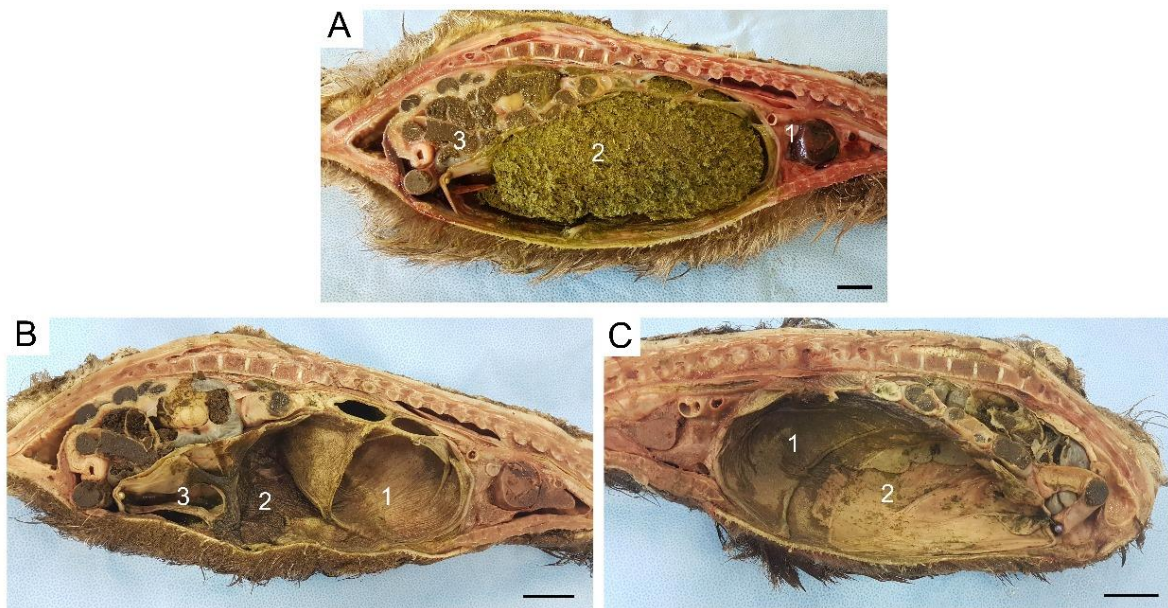
The nomenclature adopted followed the standards of the *Nomina Anatomica Veterinaria* (International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature, 2017) and *Nomina Histologica Veterinaria* (International Committee on Veterinary Gross Histological Nomenclature, 2017).

In order to understand the alimentary tract, we performed contrast x-ray examinations in vivo using a barium sulfate-based digital contrast instrument by injecting 1 ml/kg BaSO<sub>4</sub> into the animal orally by means of an oesophageal catheter. The examination was performed at 10-minute intervals, for a period of 90 minutes. We adopted a radiographic pattern (60 kV and 10 mA) according to the exposure factors and the adequate positioning of the animal (ventrodorsal), the mucosal surface coverage was promoted by a thin layer of positive contrast medium, and the distension and transparency of the stomach were used as criteria for the evaluation of the examination. The ultrasound examination of the ex situ organ was performed in a water-filled stomach, also immersed in water, in order to obtain the appropriate interface using a convex mode B transducer and 12 MHz frequency.

## RESULTS

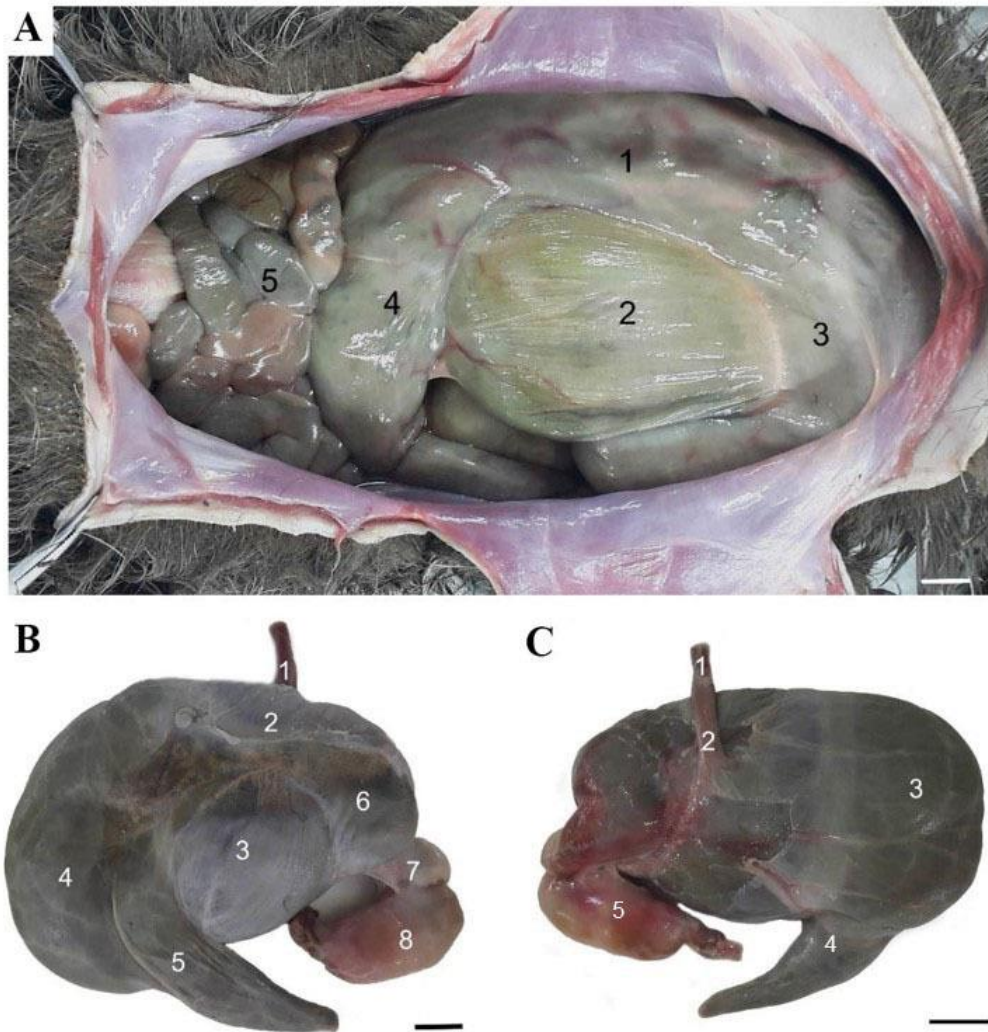
### *Macroscopic description*

The anatomical analysis of the stomach of the brown-throated sloth allowed us to verify that it occupies a large part of the abdominal cavity (Fig. 1) and is divided into seven compartments: cranial sac, central sac, fundus, caudal sac, diverticulum, and pre-pylorus I and II (Fig. 2).



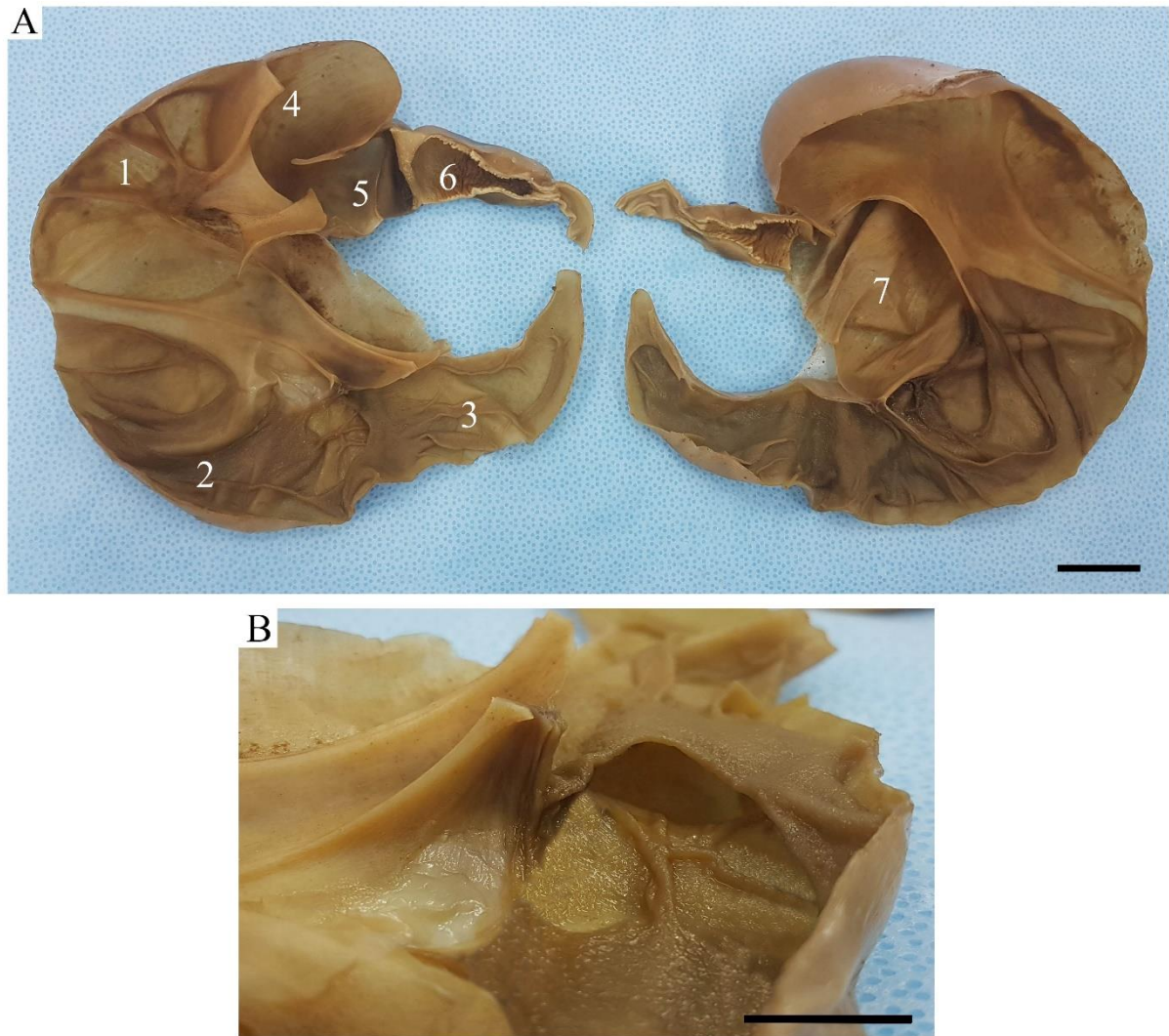
**FIGURE 1.** Photomacrographs of longitudinal sections of *Bradypus variegatus* trunk for visualization of in situ stomachs. A: Left antimer with gastric content: 1) heart, 2) stomach, 3) intestines. B: Left antimer with no gastric content: 1) cranial sac, 2) central sac, 3) diverticulum. C: Right antimer: 1) cranial sac, 2) central sac. Scale bar: 2 cm.

Topographically, the cranial sac was characterized by the esophageal insertion zone, and the first cavity of the stomach was located in the cranial region, deviated to the left. The central sac, positioned in the medial region of the animal's body, preceding the caudal sac, was positioned in the right antimer. The fundus was located in the central cranial region of the organ in a contra-lateral way to the diverticulum, which overlapped the pre-pylorus I and II (duodenal insertion) (Fig. 2B).



**FIGURE 2.** A: *Bradypus variegatus* in situ stomach: 1) cranial sac, 2) central bag, 3) caudal sac, 4) fundus, 5) intestine. B: Ex situ stomachs (ventral face): 1) esophagus, 2) cranial sac, 3) central sac, 4) fundus, 5) diverticulum, 6) caudal sac, 7) pre-pylorus I, 8) pre-pylorus II. C: Ex situ stomachs (dorsal face): 1) esophagus, 2) esophageal insertion, 3) fundus, 4) pre-pylorus II, 5) diverticulum. Scale bar: 2 cm.

Opening the organ revealed that the internal face was delimited by valves that subdivided it into smaller cavities (Fig. 2A). The sacral areas (cranial, central, and caudal sacs) were composed of a pleated mucosa, divided by pillars that surrounded each compartment, making up the majority of the stomach of these animals. The central sac was delimited more prominently and was visible within the whole body.



**FIGURE 3.** Photomicrographs of the inner face of *Bradypus variegatus* stomach. A: 1) cranial sac, 2) fundus, 3) diverticulum, 4) caudal sac, 5) pre-pylorus I, 6) pre-pylorus II, 7) central bag. Scale bar: 2 cm. B: Diverticular folds (pouches). Scale bar: 1 cm.

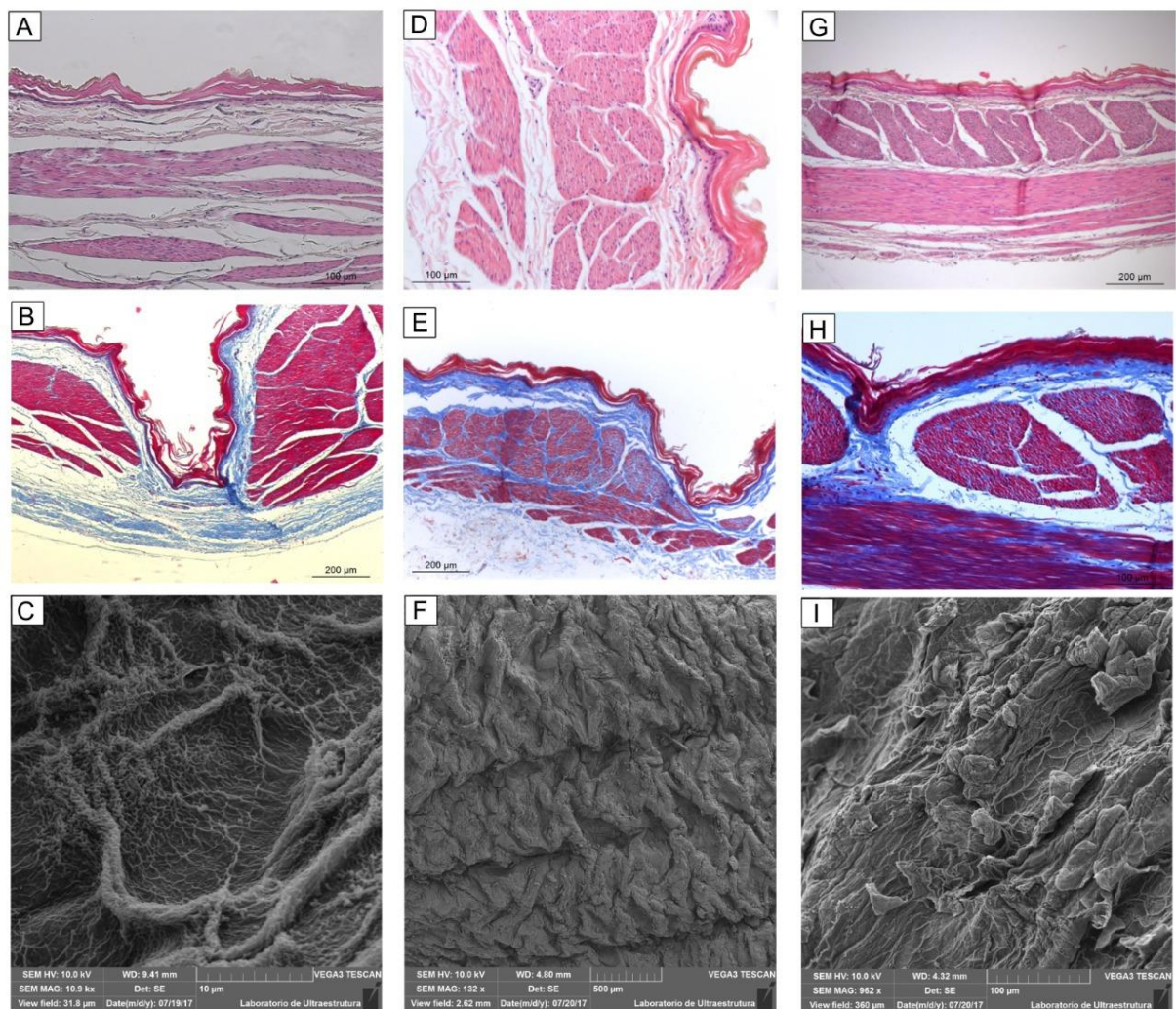
The region of the fundus was composed of the thinnest layer of the organ, with no folds in the interior. There were also macroscopic differences in color and appearance, with the fundus presenting a smoother and darker surface than the sacral region, which comprised a rough and clear mucosa divided by a dense valve. The diverticulum revealed a saccular shape projecting from the stomach, was bipartite, and had several tortuous labyrinthine folds, compartmentalized by small asymmetrical sections in the internal portion (Fig. 2B).

The final portion of the stomach, nearest the intestines, was formed by two tubular parts. The first fraction was darkened, with a thin and smooth appearance, called pre-pylorus I, the second fraction was subdivided by a sphincter, and revealed two patterns of mucosa and

musculature; the first portion was rough with a thin wall, and the second had a lighter mucosa, with dense musculature and a narrow lumen that preceded the duodenum.

### *Microscopic description*

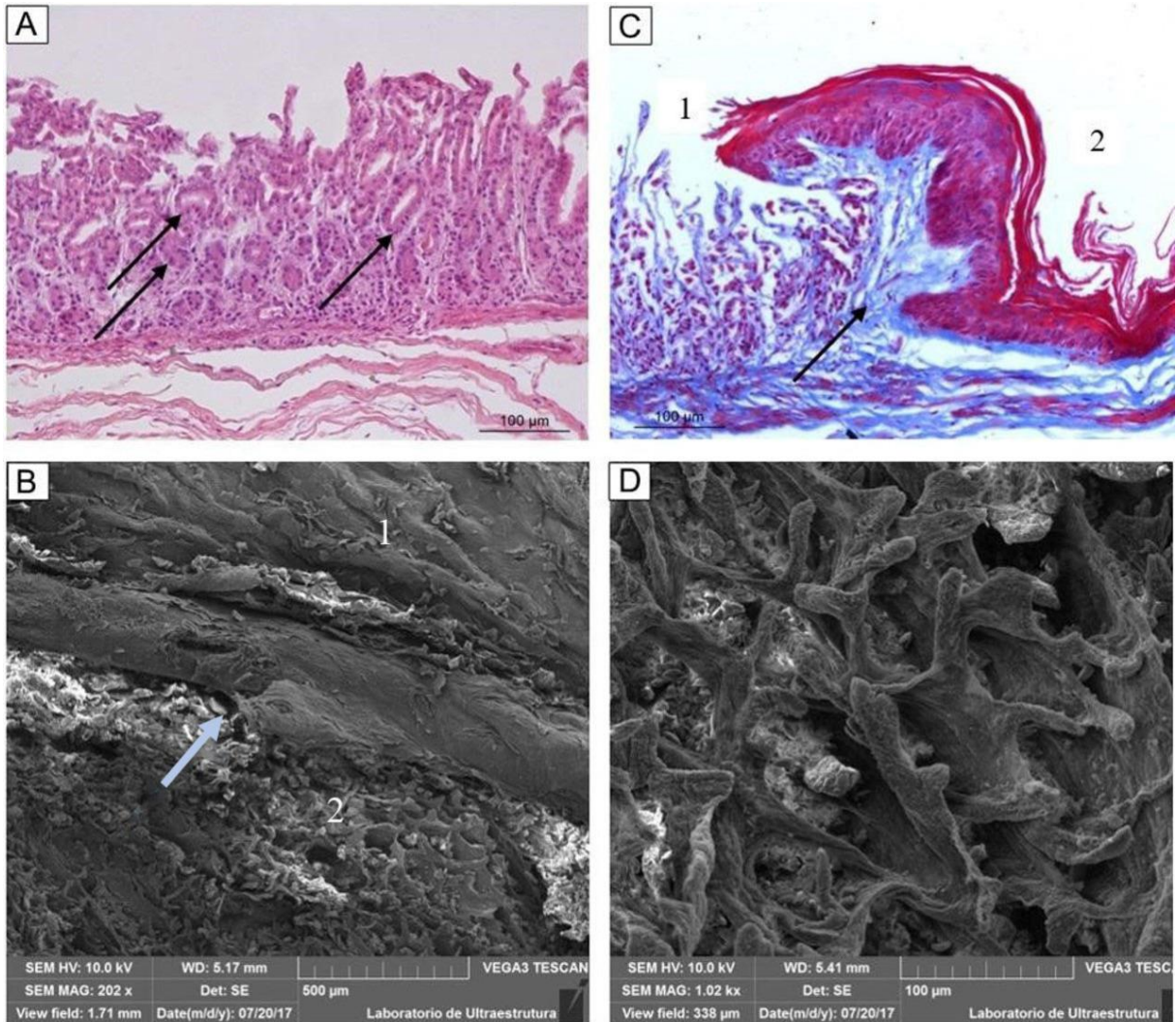
Histologically, the cranial sac revealed (from the inner to outer portion) a low stratified keratinized flat tissue mucosa, and the stratum corneum was the most developed region without a stratification pattern. This was followed by the submucosal region with a discrete layer of dense and loose connective tissue, a marked muscular layer with an apparent and fasciculated pattern, and a thickened serosa composed of connective tissue covered by flat epithelial tissue. Scanning electron microscopy confirmed the findings of light microscopy (Fig. 3).



**FIGURE 4.** Photomicrographs of the keratinized portion of the stomach of *Bradypus variegatus*. A) Cranial sac: cornified mucosa, submucosa of loose connective tissue, and muscular tissue in longitudinal bundles. B) Muscular distribution pattern (thick bundles) with intervals of conjunctive tissue (cranial sac). C) Mucosal surface covered

by a thick layer of keratin (cranial sac). D) Central sac: mucosa with keratin crests, submucosa of connective tissue accompanying the mucosa pattern, two muscular layers, and standard serosa. E) Transverse muscle blade with bundles covered by connective tissue (central sac). F) Fanfolded surface of the mucosa of the central sac with a different pattern compared to the cranial portion. G) Caudal sac: cornified mucosa, standard submucosa, double muscular layer (oblique and longitudinal), and standard serosa. H) The muscular pattern of the double layer (transverse and longitudinal) of the caudal sac is shown. I) Standard of keratin disposition (caudal sac). (A, D, and G: HE staining, scale bar: 100  $\mu\text{m}$ , B, E and H: Gomori Trichrome, scale bar: 200  $\mu\text{m}$ , C, F, and I: SEM).

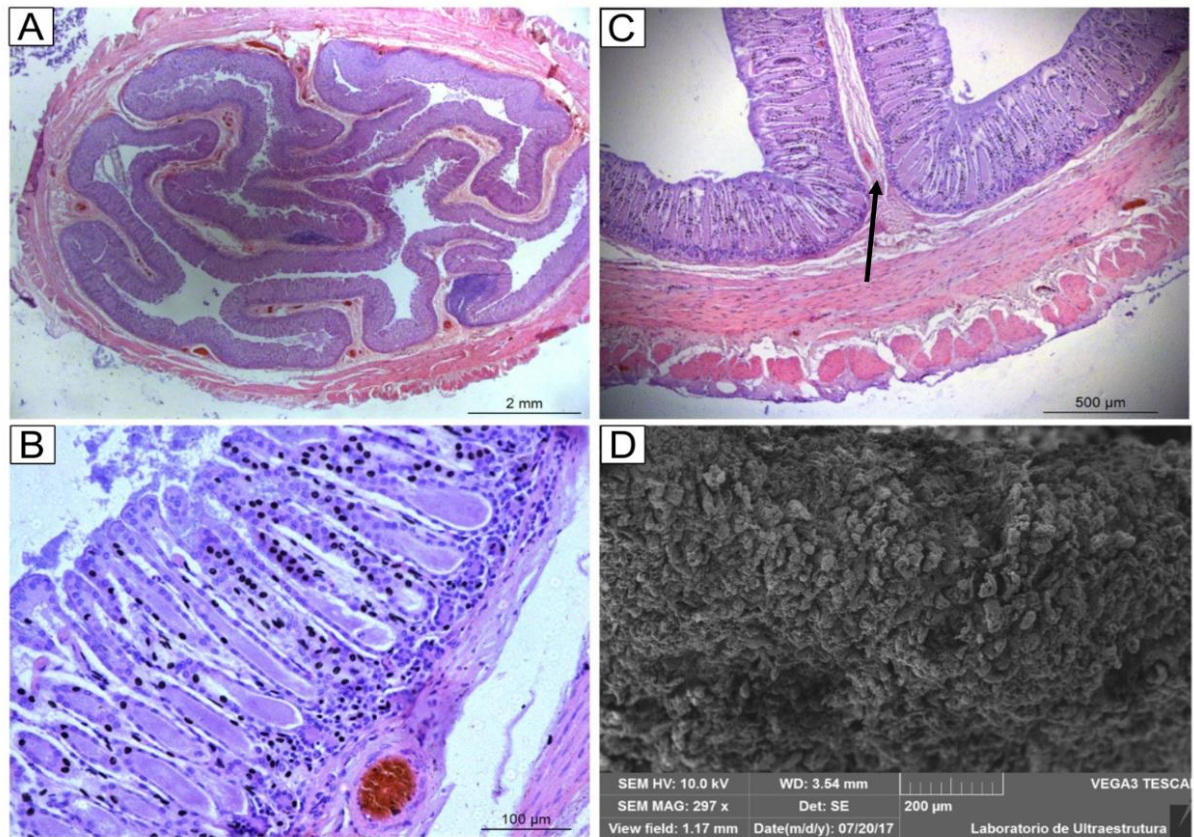
The central sac also exhibited a mucosa with a developed corneal extract and no stratification pattern, however, the muscular layer, despite its circular and longitudinal standardization, was less pronounced than the cranial sac, whereas in the external region of the sac, the serosa layer was similar to the above cited. The fundus presented a mucosa covered by low prismatic glandular epithelial tissue with short pits and long gland formations and, just below the mucus producing glands (pattern evidenced in SEM), a muscular layer of the mucosa with a standard appearance. The submucosa was irrigated and the muscular layer was found to be composed of two other thin layers (external circular and internal longitudinal). In the external region of the fundus, the serosa also obeyed the pattern described previously (Fig. 4).



**FIGURE 5.** Photomicrographs of the bottom portion of the stomach of *Bradypus variegatus*. A) Fundus mucosa with mucus producing glands and an absence of oxyntic and peptic cells (-). B) Cranial sac transition (2)/fundus (1)—valve composed of connective tissue and cornified filaments (keratin) (arrow); a glandular pattern can be seen to the left (bottom) and a cornified pattern (cranial sac) to the right. C) Cranial sac transition/fundus: 1) glandular pattern (fundus), 2) cornified pattern (cranial sac). D) Pits and foveolas of the glandular pattern of the bottom region. (A: scale bar: 100 µm, HE staining; C: scale bar: 100 µm, TG; B and D: SEM).

More caudally, the diverticulum revealed a reticulated mucosa, revested by low prismatic glandular tissue composed of standard mucosa cells supported by a basal lamina. The muscle of the mucosa presented a dense muscular layer and a standard serosa (Fig. 5).



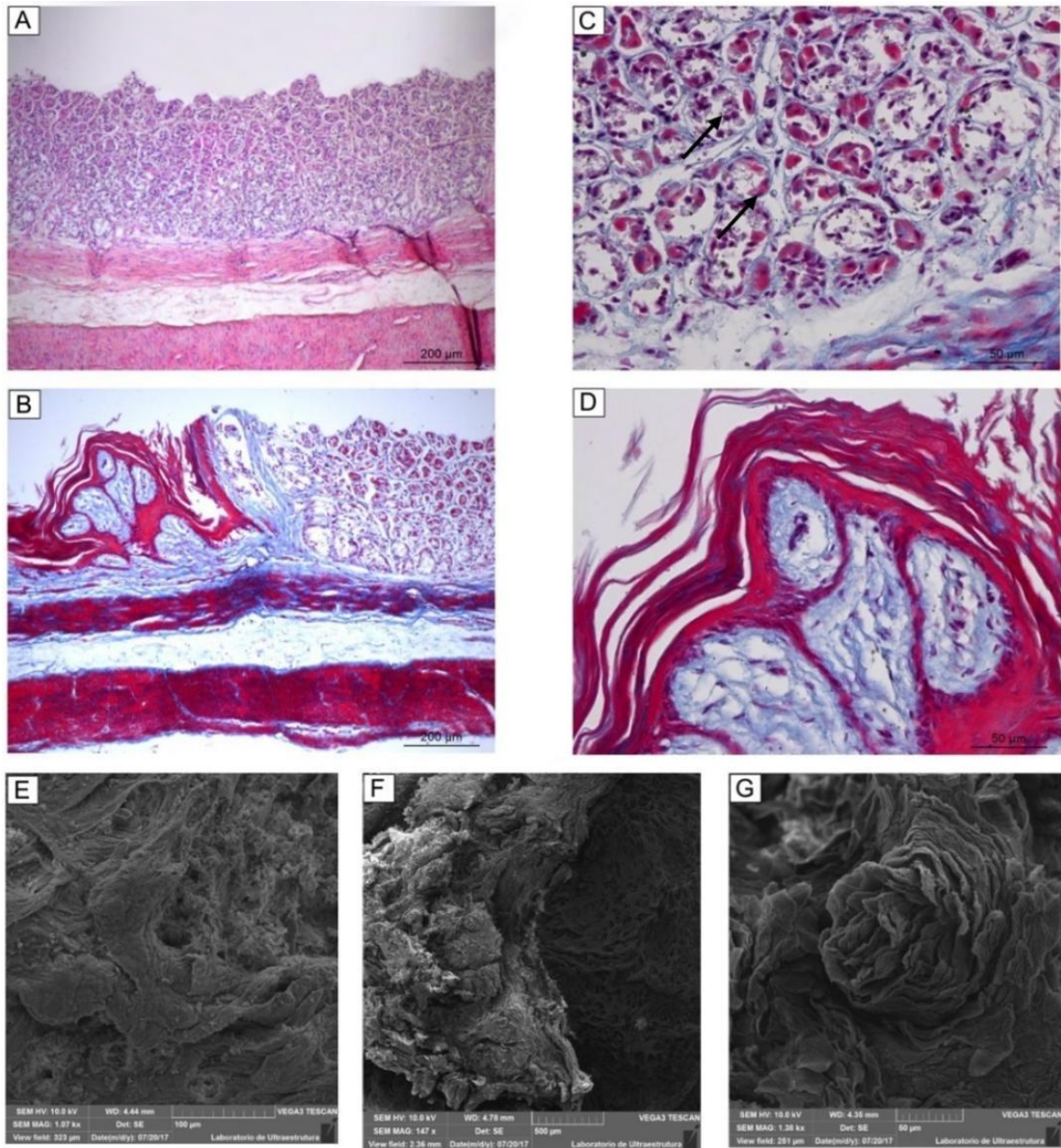


**FIGURE 6.** Photomicrographs of the diverticulum of *Bradypus variegatus*. A) Diverticulum at high magnification. The labyrinthine pattern of the organ with mucous membranes forming crypts for the lumen, submucosa composed of conjunctive tissue accompanying the crypts, and a double layer surrounding the organ are visible. B) Mucosa composed of crypts and crests of mucus producing cells, with an absence of oxyntic and peptic cells, and the presence of a double muscular layer (internal longitudinal and external transverse). C) Crests of connective tissue with mucosa in the lumen of the organ. D) Glandular epithelium of the diverticular surface. (A: scale bar: 2 mm, HE staining; B: scale bar: 500 µm, HE staining; C: scale bar: 100 µm, HE staining; D: MEV).

Preceding the pre-pyloric region and ending in the sacculations, the caudal sac was characterized by a mucosa composed of keratinized stratified flat epithelial tissue, supported by a lamina propria, followed by a submucosa of loose connective tissue containing nerves and blood vessels. The muscular layer was composed of smooth muscular tissue arranged transversely and longitudinally and serosa comprising the same pattern as the rest of the organ. In the region that precedes the intestines, the pre-pylorus I was constituted by glandular mucosa formed by low prismatic tissue composed of parietal acidophilic cells and was basophilic on its surface, which is characteristic of a chemical stomach.

Finally, the pre-pylorus II also presented an aglandular mucosa, with an intensely keratinized flat pavement tissue with crests or rosettes, which led to mucosal secretory glands and a muscular region developed in a single, thick, and fasciculated bundle. The serous layer

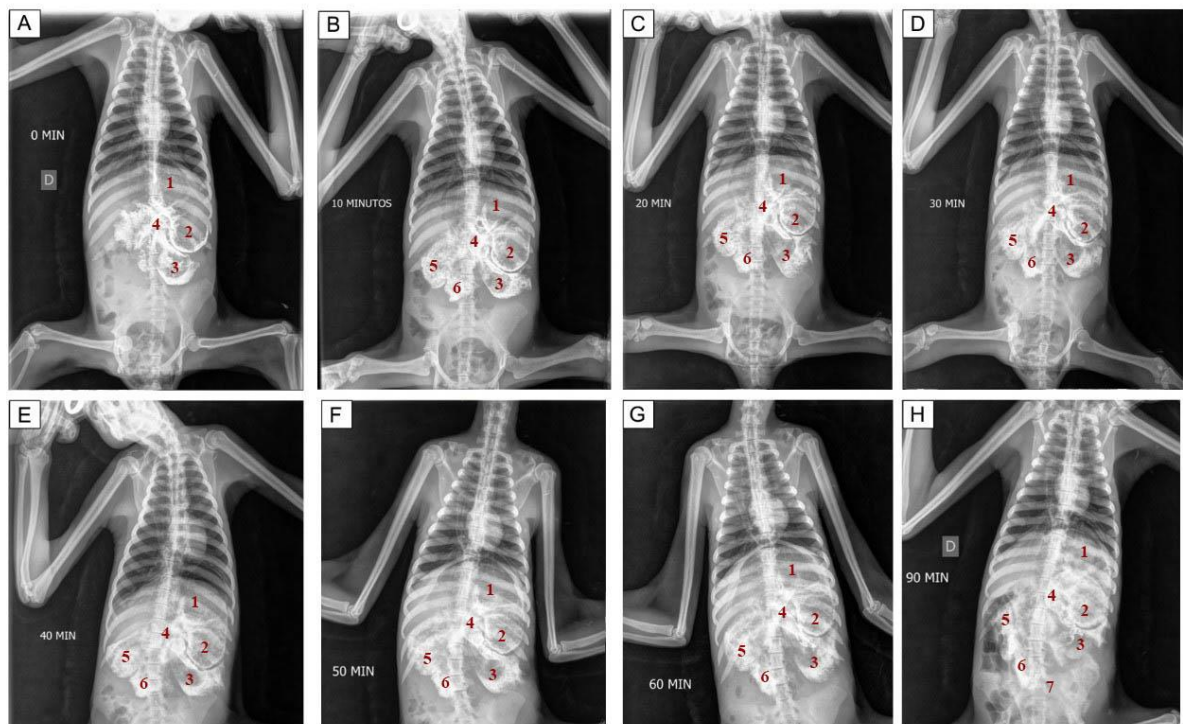
was delicate, differing from the anterior compartments of the organ (Fig. 6).



**FIGURE 7.** Photomicrography of the pre-pyloric region of the *Bradypus variegatus* stomach. A) pre-pylorus I—tissue pattern with glandular mucosa (mucosa, muscularis mucosae, submucosa, muscular, and serosa layers). B) Pre-pylorus I/pre-pylorus II transition—chemical glandular pattern (pre-pylorus I on the right) and keratinized muscle/fibrous (pre-pylorus II on the left). C) Pre-pylorus—mucosa composed of oxyntic or parietal (acidophilic) cells in the crypts and peptic or major (basophilic) cells in the basal lamina (arrows). D) Pre-pylorus II—cornified aglandular mucosa with a thick submucosa composed of loose connective tissue and developed muscle. E) Glandular surface (pre-pylorus I). F) Pre-pylorus I/pre-pylorus II transition valve. G) Cornified surface with keratin rosettes—pre-pylorus II (A: scale bar: 200  $\mu\text{m}$ , HE staining; B: scale bar: 200  $\mu\text{m}$ , HE staining; C: scale bar: 50  $\mu\text{m}$ , HE staining; D: scale bar: 50  $\mu\text{m}$ , HE staining; E, F and G: SEM).

### Image exams and gastric dynamics

The route after contrast injection showed that the alimentary flow, caudal to the esophagus, occurred in the following order: cranial sac, central sac, fundus, diverticulum, central sac, caudal sac, and pre-pylorus I and II. The contrast went straight to the cranial sac (esophageal insertion area) at time 0, and advanced to the central sac. It filled the fundus, then the diverticulum and pre-pylorus I (after 10 min). In the 20- and 30-min exams, no other visible cavities were filled. After 40 min, the caudal and pre-pyloric sac I started the pigmentation process, with no major modifications up to 80 min, and continuation of the contrast flow into the intestinal loops was clear only at 90 min (Fig. 7).



**FIGURE 7.** Gastric transit revealed by x-rays of contrast injection in the brown-throated sloth (*Bradypus variegatus*). A: 0 min; B: 10 min; C: 20 min; D: 30 min; E: 40 min; F: 50 min; G: 60 min; H: 90 min; (1: Cranial sac; 2: fundus; 3: diverticulum; 4: central sac; 5: caudal sac; 6: pre-pylorus I; 7: pre-pylorus II).

Ultrasound examination showed the presence of valves that appear to regulate the passage of stomach contents in the alimentary transit. When the probe was moved, the valve between the cranial sac and the fundus opened and closed (attached video).

## DISCUSSION

The diversity of the Xenarthra superorder in relation to its digestive morphology is demonstrated by the diversity of conformations in the species already described. These animals, although belonging to the same superorder, have different characteristics, as observed in the studies of Pinheiro et al (2014), who described the morphology of the stomach of *Tamandua tetradactyla*, and de Menezes (2013), who described the gastric morphology of *Mymercophaga tridactyla*; both species have unicavitary stomachs in a "J" format, equivalent to several domestic species. Rezende et al. (2011), who anatomically described the stomach and vascularization of the digestive tract of *B. tridactylus*, demonstrated it was a multicavitary patterned organ similar to that of our study.

This diversity may hinder the captive management of these animals as far as nutrition is concerned, and may reduce the success rate of rehabilitation as portrayed by Diniz (2001), who emphasized the importance of knowing the variable characteristics of anatomy, physiology, and behavior when attempting to reduce clinical problems, with nutritional deficiency being the most prevalent in sloths (Diniz, 1999).

As far as organ length is concerned, animals with folivore habits have, by nature, large stomachs in relation to the other organs of the body, as evidenced by Britton (1941), who claimed that this organ accounts for between 20% and 30% of the body mass of *Bradypus tridactylus*, which was further detailed by other authors (Grassé, 1955; Langer, 1979a, 1987, 2002; Garcia and Leal, 2003; Clauss et al., 2005) and, more recently, *Bradypus torquatus*, described by Rezende et al. (2011), who found similar conformations for these sloths. The above mentioned authors do not give an effective or proven reference to the volumetric questions when addressing stomach dimensions, however, we understand from the observations that the stomach dimensions of *B. variegatus* correspond to more than 30% of the body mass of the individual, having in view of the area occupied by it in the abdominal cavity.

The macroscopic shows that each portion presents a characteristic mucosa and, consequently, must present a specific function, which makes clear the delimitation of the chambers, in addition to a valve system that allows the individualization of each compartment according to the alimentary route. However, microscopic analysis allows us to infer more accurately the number of cavities, which in the case of *Bradypus variegatus* is seven, contrary to findings by Cassano (2006), who described the stomach of the *Bradypus* sloths, based only on macroscopic aspects, as large and divided into only four chambers, the first three being for fermentation and the fourth for the action of acids and enzymes.

A number of studies have already documented the anatomy of sloths from the *Bradypus* genus (Gilmore et al., 2000; Pacheco, 2007; Rezende et al., 2011). However, there is no evidence of exactly what occurs inside the organs of the species *Bradypus variegatus*, including the correlation between anatomical findings and histology. Kent (1954) analyzed the stomach about presence of glands and described three regions: cardiac, fundic, and pyloric, which is different than the stomach of *Bradypus variegatus*, whose glandular disposition does not obey the standard of monogastric animals.

Bachop (1975) reported that the stomach of these animals comprises three cardinal chambers, divided into pillars and is composed of a stratified epithelium, a right or anterior layer composed of a blind sac extending into the diverticulum, composed of glands, and a ventricular layer that goes to the pylorus. However, after analyzing the microscopic morphology of the stomach of *B. variegatus*, we confirmed the presence of seven valved and differentiated compartments, not only microscopically, but also according to the appearance and texture of the gastric contents present at the time of the macroscopic examination, which could explain the larger number of compartments observed by us than in previous reports.

More recently, Mesquita (2015), in an anatomical study of the stomach of these animals, enumerated six compartments only macroscopically, unifying the keratinized portions of two parts (the cardiac chamber and stomach body). However, the histological study suggests a pattern of both keratin and muscle between the layers, which supports the existence of different divisions and functionalities.

The gastric sacculations (cranial, central, and caudal) of *B. variegatus* follow the pattern of tubular organs of herbivorous animals, which are responsible for the course of the food bolus and have evident keratin (Padykula, 1981; Ham and Cormack, 1983). The dense muscular layer allows an intense movement of the content to facilitate degradation, since animals of the genus *Bradypus* are considered primitive, possessing only four pairs of molars and a poor chewing ability (Santana et al, 2013).

The histological findings demonstrate the similarity of *Bradypus variegatus* sloths to polygastric animals, such as ruminants, which present in their ruminal sacculations a stratified mucosa heavily keratinized, covered by a muscular layer divided by pillars, favoring stomach contractility and leaf degradation (Dellmann and Wrobel, 1982), enabling the epithelium to be protected, assisting the exposure and metabolism of fatty acids, and subsidizing the ideal site for bacterial colonization (Samuelson, 2007; Dill-McFarland et al., 2016).

This similarity (both anatomical and physiological) to ruminant herbivores was reaffirmed by the use of short chain fatty acids (AGCC) by the bacterial microbiota constituent

of the stomach of the sloths, which also enable the physiological absorption of these acids from fermentation in the stomach chambers, as described by Dill-McFarland et al. (2016). The same reasoning does not apply to koalas (Barker et al., 2013; Alfano et al., 2015) or *Alouatta caraya* (Amato et al., 2013, Amato et al., 2014) that rely on intestinal colonies to be able to utilize the biomass of the plants ingested as absorbable nutrients.

The diverticulum also suggests the presence of bacterial colonization and fermentation in animals with non-fermentative ceca, which probably occurs in the genus *Bradypus*, similar to that described for primates of the species *Presbytis entellus* and *Presbytis cristatus*, which are called 'ruminant-like' because they resemble ruminants, but without effective rumination (Bauchop and Martucci, 1968). This similarity was also described by Pacheco (2007), who studied the microbiology of the saccular and diverticular portions of *Bradypus tridactylus* and found that the bacterial load in these portions resembles that found in ruminants. The existence of bacteria also supports the ability of sloths to 'detoxify' young plants consumed, and these bacteria are possibly responsible for the breakdown of these substances (Kohl et al., 2014).

The pre-pylorus has been described morphologically in animals of the *Bradypus torquatus* species as being divided into a glandular part (pre-pylorus I) that resembles the stomach itself, and a glandular muscle-fibrous part (pre-pylorus II) (Rezende et al., 2011) which is possibly responsible for enzymatic digestion, if it follows the pattern of other herbivorous animals described previously. However, studies admit that the functionality of the pre-pylorus is questionable due to its limited digestive participation as evidenced by the distribution of lysozyme (which has a low abundance), which differs from ruminants, and draws a parallel with the abomasal region (Pacheco, 2007), resembling the distribution of chemically active cells that produce stomach acids.

Furthermore, the bioavailability of nutrients, combined with bacterial fermentation and compared to cattle in the rumination process, the process can be analogous between *B. variegatus* and ruminants or herbivorous animals. This requires, therefore, bacterial action for nutrient absorption. Comparatively, having stomachs that form fermentative chambers with active bacteria before chemical action occurs make these individuals very similar to ruminants that access nutrients through bacterial fermentation in the rumen and reticulum, regurgitate into the oral cavity, chew, swallow, and later pass the food bolus to the omasum and abomasum (where chemical digestion occurs) for intestinal absorption (Kolb, 1980). This process proved to be equivalent to our findings in the sequenced x-ray examination of *B. variegatus*.

Finally, the pre-pylorus II, which to date has only been referenced by Rezende et al. (2011), is described as the last gastric portion and a muscle-fibrous organ. Our findings

histologically corroborate this statement, and reveal a mucosa containing mucus-producing glands, possibly indicating that this gastric fraction has a mechanical and lubricating role, leading us to suggest that the pre-pylorus II functions to control transit from the stomach to the intestines.

## **CONCLUSION**

The brown-throated sloth is a polygastric mammal with a complex of fermentative chambers preceding a microscopically well-characterized chemical stomach. This gastric anatomy indicates that these individuals are similar to ruminants regarding their gastric morphology. However, it is necessary to study the digestive physiology of these animals.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

To the botanical garden Bosque Rodrigues Alves who kindly gave the animals away.



## REFERENCES

- Alfano N, Courtiol A, Vielgrader H, Timms P, Roca, AL, Greenwood, AD. 2015. Variation in koala microbiomes within and between individuals: effect of body region and captivity status. *Sci Rep* 5:10189.
- Amato KR, Leigh SR, Kent A, Mackie RI, Yeoman CJ, Stumpf RM. et al. 2014. The role of gut microbes in satisfying the nutritional demands of adult and juvenile wild, black howler monkeys (*Alouatta pigra*). *Am J Phys Anthropol* 155:652-664.
- Amato KR, Yeoman CJ, Kent A, Righini N, Carbonero F, Estrada A. et al. 2013. Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes. *ISME J* 7:1344.
- Barker CJ, Gillett A, Polkinghorne A, Timms P. 2013. Investigation of the koala (*Phascolarctos cinereus*) hindgut microbiome via 16S pyrosequencing. *Vet Microbiol* 167:554-564.
- Bauchop T. 1978. Digestibility of leaves by vertebrate folivores. In: the ecology of arboreal folivores. p 193-204.
- Bauchop T, Martucci RW. 1968. Ruminant-like digestion of the langur monkey. *Science* 161:698-700.
- Britton SW. 1941. Form and function in the sloth. *Q Rev Biol* 16:190-207.
- Cassano CR. 2006. Ecology and conservation of the collared sloth (*Bradypus torquatus* Illiger, 1811) in the south of Bahia. Graduate Program in Zoology, Federal University of Santa Cruz.
- Clauss M, Hummel J, Vercaemmen F, Streich WJ. 2005. Observations on the macroscopic digestive anatomy of the Himalayan tahr (*Hemitragus jemlahicus*). *Anat. Histol. Embryol.*, 34(4):276-278.

Cork SJ, Foley WJ. 1991. Digestive and metabolic strategies of arboreal mammalian folivores in relation to chemical defenses in temperate and tropical forests. Boca Raton, Florida: CRC Press; 133-166.

Crandall LS. 1964. The management of wild mammals in captivity. University of Chicago press. 761p.

Dellmann, HD, Wrobel, KH. 1982. Histologia Veterinária. Guanabara Koogan. 530p.

Dill-McFarland KA, Weimer PJ, Pauli JN, Peery MZ, Suen G. 2016. Diet specialization selects for an unusual and simplified gut microbiota in two and three toed sloths. Environ Microbiol 18:1391-1402.

Diniz LSM. 2001. General medicine. In: Fowler M.E. (Ed.), Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals. Iowa State University Press, Ames. p. 402-422.

Diniz LS, Oliveira PMA. 1999. Clinical problems of sloths (*Bradypus* sp. and *Choloepus* sp.) in captivity. J Zoo Wildlife Med 1: 76-80.

Foley WJ, Engelhardt WV, Charles-Dominique P. 1995. The passage of digesta, particle size, and in vitro fermentation rate in the three toed sloth *Bradypus tridactylus* (Edentata: Bradypodidae). J Zool 236:681-696.

García CGC, Leal ML. 2003. Morfología del estómago e intestino grueso del báquiro de collar (*Tayassu tajacu*). Veterinaria Trop., 28(2):117-34.

Gilmore DP, Da-Costa CP, Duarte DPF. 2000. An update on the physiology of two- and three-toed sloths. Braz J Med Biol Res 33:129-146.

Gilmore DP, Da-Costa CP, Duarte DPF. 2001. Sloth biology: an update on their physiological ecology, behavior, and role as vectors of arthropods and arboviruses. Braz J Med Biol Res 34:9-25.

Grassé PP, 1955. Ordre des Édentés. In: |Grassé P. P. (Ed.) *Traité de Zoologie Anatomie, Systématique, Biologie*. Paris, Masson et Cie Éditeurs, p. 1182-246.

Ham AW, Cormack DH. 1983. *Histologia*. 8th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 543.

Hildebrand M, Goslow G. 2006. Celomas mesentéricos. In: *Análise da estrutura dos vertebrados*. Atheneu. p. 195-199.

International committee on veterinary gross anatomical nomenclature. *Nomina anatomica veterinaria*. 2017. World Association on Veterinary Anatomist. 6th ed. Hannover, Ghent, Rio de Janeiro and Columbia. p. 178.

Kent GC. 1954. Digestive system. In: Kent GC (Ed.). *Comparative anatomy of the vertebrates*. New York, McGraw-Hill Book Company. p. 305-29.

Kolb E. 1980. *Fisiologia veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 612.

Kohl KD, Weiss RB, Cox J, Dale C, Dearing DM. 2014. Gut microbes of mammalian herbivores facilitate intake of plant toxins. *Ecol Lett* 17:1238-1246.

Langer, P. Adaptational significance of the forestomach of the collared peccary, *Dicotyles tajacu* (L. 1758) (Mammalia: Artiodactyla). *Mammalia* 43: 235-246, 1979a.

Langer, P. Evolutionary patterns of Perissodactyla and Artiodactyla (Mammalia) with different types of digestion. *Z. Zool. Syst. Evolutionsforsch.*, 25(3):212-36, 1987.

Langer, P. The digestive tract and life history of small mammals. *Mammal. Rev.*, 32:107-31, 2002.

McNab BK. 1978. Energetics of arboreal folivores: physiological problems and ecological consequences of feeding on a ubiquitous food supply. In: *the ecology of arboreal folivores*. Smithsonian University Press, Washington DC, 153-162.

Menezes LT. 2013. Morphology of the digestive tube of the anteater *Myrmecophaga tridactyla*

(Pilosa: *Myrmecophagidae*). Master's Dissertation - University of São Paulo.

Mesquita EP, Albuquerque PV, Santos FC, Nascimento JCS, Amorim MJAAL, Moura GJB. 2015. An anatomical study of the stomach in *Bradypus variegatus*-Shinz, 1825 (Mammalia, Xenarthra). *Ciência Veterinária nos Trópicos* 18:295-298.

Murakami T. 1974. A revised tannin-osmium method for non-coated scanning electron microscope specimens. *Archivum histologicum japonicum* 36:189-193.

Nagy KA, Montgomery GG. 1980. Field metabolic rate, water flux, and food consumption in three-toed sloths (*Bradypus variegatus*). *J Mammal* 61:465-472.

Ohtani, O. 1987. Three-dimensional organization of the connective tissue fibers of the human pancreas: a scanning electron microscopy study of NaOH treated tissues. *Archivum Histologicum Japonicum* 50:557-566.

Pacheco, MA, Concepción JL, Rangel JDR, Ruiz MR, Michelangeli F, Domínguez-Bello MG. 2007. Stomach lysozymes of the three-toed sloth (*Bradypus variegatus*), an arboreal folivore from the Neotropics. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 147:808-819.

Padykula HA. 1981. O trato digestivo. In: Weiss L, Greep RO. *Histologia*. 4th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 552-554.

Pauli JN, Mendoza JE, Steffan SA, Carey CC, Weimer PJ, Peery MZ. 2014. A syndrome of mutualism reinforces the lifestyle of a sloth. *Proc R Soc B* 281:20133006.

Pinheiro ACO, Lima AR, Carvalho AF, Pereira LC, Branco E. 2014. Aspectos morfológicos macro e microscópicos do estômago de tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) *Arq Bras Med Vet Zootec* 66:1089-1096.

Raines J. 2005. Captive health and husbandry of the *Bradypodidae*. *Zoo Biol*. 24:557-568.

Rezende LC, Monteiro JM; Carvalho P; Ferreira JR, Miglino MA. 2011. Morphology and vascularization of the gastric compartments in three-toed sloth (*Bradypus torquatus* Illiger,

1811). Int J Morphol 29.

Samuelson, DA. 2007. Textbook of veterinary histology. Elsevier. 527p.

Santana LNS, Barbosa LVM, Teixeira FB, Costa AMP, Fernandes LMP, Lima RR. 2013. Morphology of the dentin structure of sloths *Bradypus tridactylus*: a light and scanning electron microscopy investigation. Anat Histol Embryol 42:410-414.

Stevens CE, Hume ID. 1995. The mammalian gastrointestinal tract. In: Comparative physiology of the vertebrate digestive system. New York, New York: Cambridge University Press. p. 65-67.

Vaughan C, Ram-Irez O, Herrera G, Guries R. 2007. Spatial ecology and conservation of two sloth species in a cacao landscape in Limón, Costa Rica. Biodivers Conserv 16:2293-2310.

Watanabe I, Yamada E. 1983. The fine structure of lamellated nerve endings found in the rat gingiva. Archivum histologicum japonicum 46:173-182.

ANEXOS

CARTA DE ACEITE DO ARTIGO I

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO II

CEUA