

## FISIOLOGIA REPRODUTIVA E COLETA DE SÊMEN EM FELÍDEOS SELVAGENS

(*Reproductive physiology and semen collection in wild felids*)

Gabriela Lima ARAÚJO<sup>1\*</sup>; Alissa Maia SILVA<sup>1</sup>; Dayse Queiroz RODRIGUES<sup>1</sup>; Lídia Pinheiro COSTA<sup>1</sup>; Luiz Antonio Moreira MIRANDA<sup>1</sup>; Ricardo TONIOLLI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (UECE). Av. Doutor Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza/CE. CEP: 60.714-903.; <sup>2</sup>Laboratório de Reprodução Suína e Tecnologia de Sêmen da FAVET / UECE. \*Email: [g.lima0010@gmail.com](mailto:g.lima0010@gmail.com)

### RESUMO

O grupo de espécies pertencentes a família *felidae* apresenta fortes candidatos à extinção devido inúmeros fatores relacionados direta ou indiretamente a atividades humanas predatórias, que impactam negativamente na manutenção da vida desses animais, principalmente no seu aspecto reprodutivo. A partir disso, surge a necessidade de se conservar o material genético das suas populações visando a reprodução desses indivíduos. Como ferramentas para que se alcancem esses objetivos, as tecnologias da reprodução têm se mostrado de grande eficiência, entretanto, ainda existem desafios relacionados às particularidades da fisiologia reprodutiva e comportamental desses indivíduos que devem ser considerados. Como parte dessas tecnologias, a colheita de sêmen por meio de eletroejaculação se mostra como a mais eficiente até os dias atuais para esses animais, entretanto, é importante que outros métodos de coleta também sejam descritos, para fins comparativos, ou mesmo como alternativa para situações específicas em que seu uso seja benéfico ou mais vantajoso do que a eletroejaculação.

**Palavras-chave:** Felideos, reprodução, conservação.

### ABSTRACT

*The group of species belonging to the Felidae family presents great candidates for extinction due to numerous factors directly or indirectly related to human predatory activities. These activities negatively impact the maintenance of these animals' lives, particularly in their reproductive aspect. Consequently, there arises a need to conserve the genetic material from their populations with the aim of facilitating reproduction. As tools to achieve these objectives, reproductive technologies have proven highly efficient. However, there are still challenges related to the specific reproductive and behavioral physiology of these individuals, which must be considered. As part of these technologies, semen collection through electroejaculation remains the most efficient method for these animals to date. Nevertheless, it is essential to describe other collection methods for comparative purposes or as alternatives in specific situations where their use may be beneficial or more advantageous than electroejaculation.*

**Keywords:** Felids, reproduction, conservation.

### INTRODUÇÃO

A fragmentação e a perda de habitats são as principais ameaças à conservação da diversidade biológica (COLLINGE, 2001). Projetos na área da biologia da conservação vêm sendo desenvolvidos, visando uma melhor compreensão da influência das ações de fragmentação sobre as espécies silvestres e os ecossistemas (LAURENCE *et al.*, 2000), bem como se esses efeitos podem ser minimizados (DEBINSKI e HOLT, 2000). Os mamíferos carnívoros são um dos mais vulneráveis a extinções locais em biomas fragmentados. Eles precisam de grandes áreas para se alimentar e estão em queda populacional, pois são afetados pela ação predatória do homem (CHIARELLO, 2000, CULLEN Jr. *et al.*, 2001).

Eles ocupam o topo da cadeia alimentar, desempenhando um papel essencial, bem como na manutenção do equilíbrio ecológico dos ecossistemas, assim surge a necessidade de sua preservação e a minimização dos impactos sobre suas populações (MIRANDA, 2003). O desaparecimento desses predadores nos sistemas fragmentados pode ter consequências desastrosas para os ecossistemas (TERBORGH, 1992). Eles, por utilizarem grandes áreas, são considerados “espécies guarda-chuva”, pois suas necessidades abrangem as de vários outros animais (LINNELL *et al.*, 2000).

É de amplo conhecimento o impacto negativo que a influência humana exerce na manutenção das espécies de felídeos selvagens. Seja por meio de queimadas, contrabando e caça, o homem tem conduzido as espécies de felídeos ao risco de extinção, com grande redução populacional em seus habitats naturais. Todos eles estão, no momento, ameaçados em algum grau. Várias espécies são vistas como criticamente em perigo (JACKSON e NOWELL, 1996).

Uma das estratégias de conservação de animais ameaçados de extinção é por meio de programas de reprodução assistida, para se manter a população geneticamente viável (BRASIL, 2014). As biotecnologias reprodutivas, que utilizam técnicas assistidas como a fecundação *in vitro*, a inseminação artificial (IA) e a clonagem, são muito importantes para a conservação desses animais. A IA é um método bastante efetivo nesse contexto, devido principalmente ao seu baixo custo. Entretanto, as particularidades das espécies ligadas a fisiologia reprodutiva, comportamento e genética, tornam o processo desafiador (MORATO *et al.*, 1998).

Apesar do progresso das biotecnologias reprodutivas em felídeos silvestres, os entraves em desenvolvê-las iniciam na dificuldade em se obter amostras representativas de sêmen. A eletro-ejaculação é a escolhida para colheita de sêmen desses animais, porém, exige equipamentos, operador treinado e fornecem amostras de sêmen muito diluídas e às vezes com urina, o que a torna pouco viável (ZAMBELLI *et al.*, 2008; LUEDERS *et al.*, 2012).

Portanto, ainda se considera a aplicação dessas tecnologias reprodutivas um tanto limitada, visto que, pouco se conhece sobre a biologia reprodutiva das espécies selvagens, além da variação de comportamentos específicos da reprodução dentro de uma mesma família (*Felidae*), como a divergência quanto ao comportamento copulatório de uma espécie para outra. Faltam estudos básicos sobre as várias espécies não estudadas, sendo fundamental para melhorar e controlar a reprodução das mesmas (PUKAZHENTHI e WILDT, 2004).

Cabe ressaltar os problemas quanto ao manejo da coleta de sêmen, pouco conhecido e com complexidade na manipulação e controle dos animais. A intratabilidade da maioria deles limita os métodos a serem utilizados, pois necessitam de contenção química (anestesia) (MASSONE, 2019) e de protocolos anestésicos espécie/específicos (VIEIRA *et al.*, 2021). Deve-se levar em conta as particularidades na coleta de cada espécie, sendo necessárias diferentes técnicas que garantam o bem-estar do animal e a segurança da equipe técnica. A grande diversidade de espécies torna a padronização limitada, sendo necessários estudos para uma otimização dos protocolos (MORATO *et al.*, 1998; GARCIA PEREIRA *et al.*, 2024).

Visando a expansão do conhecimento sobre o assunto, o presente estudo busca descrever diferentes métodos de coleta de sêmen em felídeos selvagens, por meio de uma revisão de literatura, tendo em vista a importância desse processo para a realização das técnicas de reprodução assistida utilizadas nos animais da família felidae.

## DESENVOLVIMENTO

Para a realização deste trabalho, foi feita uma pesquisa bibliográfica nas principais plataformas de busca de artigos científicos nacionais e internacionais, como SciELO e Google Acadêmico. As palavras chaves utilizadas para a pesquisa dos artigos foram “coleta de sêmen”, “felídeos selvagens”, e “reprodução”. Após isso, foram selecionados trabalhos com foco em métodos de coleta de sêmen em felídeos selvagens e com as abordagens mais relevantes sobre o assunto, como os principais métodos e a sua importância. Por fim, os principais resultados foram selecionados e as informações usadas para a construção desse trabalho.

### Família *Felidae*

A família *Felidae* é dividida em 2 subfamílias: *Felinae* e *Pantherinae* que contam com 14 gêneros e 37 espécies (WEST *et al.*, 2010). Dentre as espécies de felinos selvagens, existem animais de pequeno, médio e grande porte, com peso variando de 2,5 a 300kg. Esta ordem (carnivoria) é uma das mais especializadas quando se trata de predação, pois os animais possuem potentes dentes caninos e o 4º pré-molar superior bem desenvolvido e especializado em cortar (CHEIDA *et al.*, 2006). Alimentam-se de aves, mamíferos, répteis, invertebrados e algumas vezes de frutos e vegetais. São, geralmente, caçadores ativos, mas podem também pacientemente esperar a presa chegar até eles (MELO *et al.*, 2015).

Geralmente, são animais terrestres de hábitos noturnos ou crepusculares, mas alguns são escansoriais, ou seja, vivem tanto no estrato arbóreo quanto no chão (CHEIDA *et al.*, 2006). Pode-se encontrar espécies de felinos selvagens em grandes áreas com vegetação aberta, mas há outros que são encontrados em diversos outros biomas, como: amazônia, cerrado, caatinga, pantanal e mata atlântica (OLIVEIRA e CASSARO, 2005). Há espécies, por exemplo, que são capazes de ocupar todos os biomas brasileiros, além de mosaicos vegetais como pastagens e campos de cultivo (PAGLIA *et al.*, 2011). Suas distribuições geográficas variam, tendo animais presentes apenas em alguns países ou em todo o continente (CHEIDA *et al.*, 2006).

Os felinos são animais solitários de modo geral e devido a sua ocorrência depender da qualidade ambiental e da disponibilidade de recursos, acabam tendo baixas densidades populacionais e baixa taxa reprodutiva (RABINOWITZ, 2002). Por serem predadores de topo de cadeia alimentar, atuam no equilíbrio biológico de populações de pequenos e médios vertebrados nas áreas que habitam, influenciando fortemente a cadeia trófica (GRAIPEL *et al.*, 2014).

### Ameaças à conservação

Os carnívoros de grande porte, os grandes felídeos, são considerados representantes da conservação animal. Eles ocupam o topo da cadeia alimentar e necessitam de uma grande quantidade de presas. Além disso, são consideradas espécies “guarda-chuva”, o que significa que regulam diretamente as relações predador-presa (PAULA, 2011; DICKMAN *et al.*, 2015).

Uma espécie “guarda-chuva” significa quando protegida, também protege um grande número de outras espécies que compartilham seu habitat. Ao focar na conservação de uma espécie “guarda-chuva”, outras espécies que partilham do mesmo ecossistema também se beneficiam indiretamente (FRANKEL e SOULÉ, 1981).

Devido ao desmatamento e à urbanização, os felídeos silvestres estão cada vez mais próximos das habitações humanas, resultando na escassez de presas naturais devido à destruição de seus habitats e à caça direta. Essa falta de alimento os leva a caçar animais domésticos, como o gado, o que os coloca em conflito com fazendeiros, que os veem como ameaças financeiras e os caçam como forma de proteger seus rebanhos (DECHNER, 2020).

As populações de felinos selvagens enfrentam desafios significativos devido à sua curta expectativa de vida, baixa produção de filhotes e início precoce da senescência reprodutiva. Isso dificulta a manutenção de populações geneticamente viáveis em cativeiro. A ameaça à maioria das populações de felídeos selvagens está aumentando, exigindo esforços conjuntos e interdisciplinares para sua conservação. A reprodução assistida é uma importante solução para enfrentar esses desafios de manejo e pode ajudar na conservação dessas espécies (MOREIRA, 2017).

### **Programas de conservação**

A conservação das espécies se dá através de duas maneiras principais: programas de conservação *in situ* e *ex situ*. A preservação *in situ* envolve estratégias de conservação da população em seu ambiente natural, enquanto a preservação *ex situ* trata da conservação das espécies fora do ambiente natural, em cativeiro (AZEVEDO e YOUNG, 2005).

Programas de conservação por reprodução assistida podem ser desenvolvidos através do enfoque na biotecnologia da reprodução, mais especificamente em estratégias *ex situ*, em que a coleta de sêmen, inseminação artificial (IA), criopreservação, fertilização *in vitro*, dentre outros, se apresentam como ferramentas essenciais e de alta significância benéfica em detrimento da conservação reprodutiva, substituindo e evitando o uso e transporte de animais e auxiliando na biodiversidade, assim como na variabilidade genética. A criopreservação do sêmen, em conjunto com outras técnicas de reprodução assistida, pode ser benéfica à conservação da diversidade genética de pequenas populações de felídeos (SWANSON *et al.*, 2002; SWANSON e BROWN, 2004).

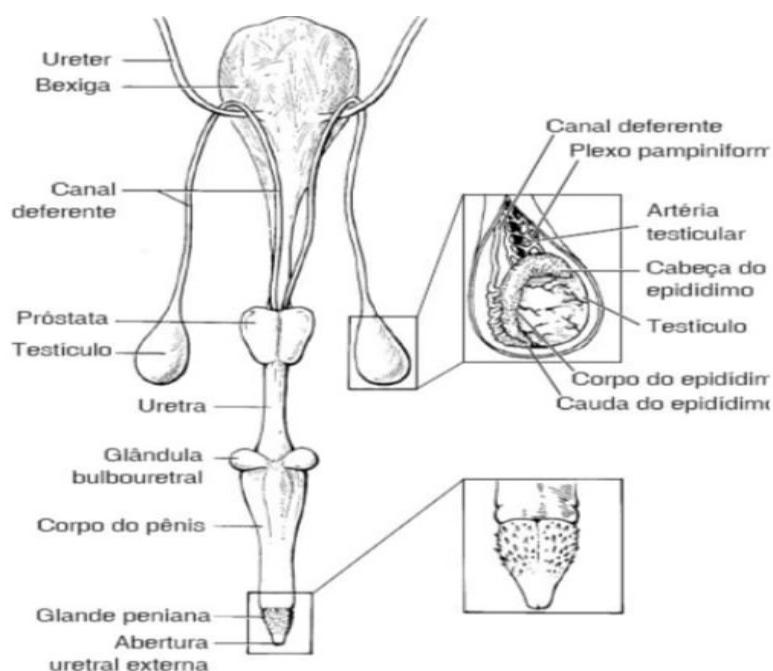
Para o uso efetivo destas tecnologias nas espécies de felídeos, o estudo e a programação do conhecimento básico e de novas tecnologias são necessários, pois há variação de espécies-específicas que precisam ser consideradas no desenvolvimento desses protocolos (SWANSON e BROWN, 2004). Assim, deve-se levar em consideração a anatomia, limitações e demais particularidades de cada espécie, em que possuem diversas áreas que se interligam entre si, nas quais dependem umas das outras, por exemplo fisiologia, embriologia e endocrinologia. Uma melhor compreensão da fisiologia reprodutiva dos pequenos felídeos neotropicais é necessária para obter-se um desempenho reprodutivo mais consistente em cativeiro, aumentar o número de indivíduos que reproduzem na população e para que técnicas de reprodução assistida (ex.: inseminação artificial, fertilização *in vitro*) sejam aplicadas com maior sucesso (MOREIRA, 2001).

Dessa forma, programas de conservação de felídeos selvagens, possuem alta significância quanto ao seu foco, a fim de reduzir a vulnerabilidade desses animais, através de suas ações. Contudo, esta abordagem pode apresentar limitações em relação à redução de áreas destinadas a manutenção dos animais, redução de presas que favorecem a alimentação e o desconhecimento da sociedade sobre a importância dessas estratégias que visam a conservação da biodiversidade (CRAWSHAW *et al.*, 2004).

Em virtude disso, existem projetos que defendem essa perspectiva, dos quais podem ser citados: O projeto Carnívoros do Iguaçu teve origem na década de 90 e retomado em 2009 e dedica-se a conservação de onça-pintada na região do Parque Nacional do Iguaçu. O projeto Felinos do Tabuleiro teve origem em abril de 2003, com o monitoramento de felinos através de armadilhas fotográficas, direcionada para o gato-do-mato-pequeno. O projeto Instituto Onça-Pintada (IOP) teve origem em junho de 2002 e visava promover a preservação da onça pintada, de suas presas naturais e seus habitats, bem como a coexistência pacífica com o homem. O projeto Onçafari visa promover o ecoturismo no Pantanal, através de veículos de Safari fotográficos para entrar em contato e conhecer a Onça-Pintada (MELO, 2015).

### Anatomia e fisiologia reprodutiva

O sistema reprodutivo masculino dos felídeos silvestres, assim como o do gato doméstico (*Felis catus*), é composto pelo pênis, testículos, escroto, epidídimo, ducto deferente e glândulas acessórias (Fig. 01) (ADANIA *et al.*, 2014). Apenas o gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*), que não apresenta a glândula bulbo uretral e se diferencia dos outros membros da família felidae (ROCHA *et al.*, 2017).



(Fonte: JOHNSTON *et al.*, 2001)

**Figura 01:** Anatomia do trato reprodutivo do macho felino.

Os testículos são pequenos e ovalados, tendo suas extremidades caudais viradas em direção ao ânus e o epidídimo posicionado em sua margem craniodorsal (DYCE, 2019). Estão ligados ao organismo pelo cordão espermático, composto pelo ducto deferente, artéria e veia testicular, vasos linfáticos e plexo nervoso (JOHNSTON *et al.*, 2001; LITTLE, 2015).

Assim como em outras espécies, os espermatozoides são produzidos nos túbulos seminíferos e por meio dos ductos deferentes, são transportados ao epidídimo. Na cabeça e no corpo deste último, ocorre a maturação dos espermatozoides e na cauda ficam armazenados até a ejaculação (JOHNSTON *et al.*, 2001; REECE e DUKE, 2006).

A fisiologia dos felídeos silvestres possui semelhanças com a do gato doméstico, assim são realizados estudos endócrinos de caráter não invasivo para esses animais, tendo em vista que seus hormônios esteroidais são em sua maioria excretados pelas fezes. A partir de exames de radioimunoensaio e ELISA é possível conhecer os resultados para os hormônios reprodutivos, com a finalidade de aplicar esse conhecimento em técnicas de manejo visando a conservação desses animais (ADANIA *et al.*, 2014).

Similarmente ao que acontece com os felídeos domésticos, nos silvestres a sazonalidade influí na reprodução, especialmente no caso de animais de vida livre, são também dependentes do fotoperíodo e da disponibilidade de alimentos, ocorrendo mais intensamente em fêmeas, que podem ser bastante, moderadamente, ou nada sensíveis ao fotoperíodo. Ainda sobre as fêmeas, a foliculogênese sofre redução durante o período de decréscimo do fotoperíodo e há um aumento durante o período de maior exposição de horas de luz/dia. Quanto aos machos, quando influenciados pela variação sazonal, ocorrem variações nos níveis de concentração de testosterona e que também interfere na qualidade seminal, podendo assim dificultar se conseguir bons resultados com a congelação do sêmen (MOREIRA, 2017).

A duração de cada período de estro, com base na receptividade feminina, varia de nove a dez dias e o período entre estros de 30 a 39 dias. As sequências comportamentais observadas durante a receptividade da fêmea, até o término do movimento pélvico do macho, normalmente são semelhantes. Esse tipo de movimento do macho, se caracteriza pelo comportamento copulatório com penetração ou sem penetração peniana. Quando não há penetração peniana, o macho pode abandonar a fêmea após finalizar seus movimentos pélvicos. Por outro lado, quando acontece a penetração peniana, comportamentos copulatórios adicionais podem acontecer tais como, o macho mordendo ou lambendo a nuca da fêmea e a fêmea balançando e rolando em decúbito lateral-dorsal (JORGE-NETO *et al.*, 2018).

A vida reprodutiva nos machos inicia-se entre 18 e 48 meses de idade, enquanto nas fêmeas o intervalo entre 18 e 36 meses demarca esse início, possuindo variações para cada espécie de felídeo silvestre (ADANIA *et al.*, 2014).

Sobre o ejaculado desses animais, é observado na maioria das espécies silvestres um baixo número de espermatozoides por ejaculado. Uma segunda característica que se apresenta nos ejaculados dos felídeos silvestres é uma alta porcentagem de espermatozoides anormais denominada de teratospermia (MOREIRA, 2017). Dentre as principais anormalidades estão a peça intermediária dobrada com e sem gota citoplasmática, cauda dobrada e fortemente enrolada e alterações no acrosomo (PUKAZHENTHI *et al.*, 2000).

Em um estudo realizado por Morato *et al.* (2001) foi feita a comparação entre o ejaculado de animais de uma mesma espécie de felídeo silvestre de vida livre e aqueles que estão em cativeiro. Comprovou-se que o ejaculado dos animais de vida livre possuíam melhores parâmetros de motilidade, concentração e número de espermatozoides por ejaculado em relação aos dos animais em cativeiro. Apenas o volume do ejaculado, foi o único parâmetro que se apresentou maior nos animais de cativeiro em relação aos de vida livre.

### Métodos de coleta de sêmen

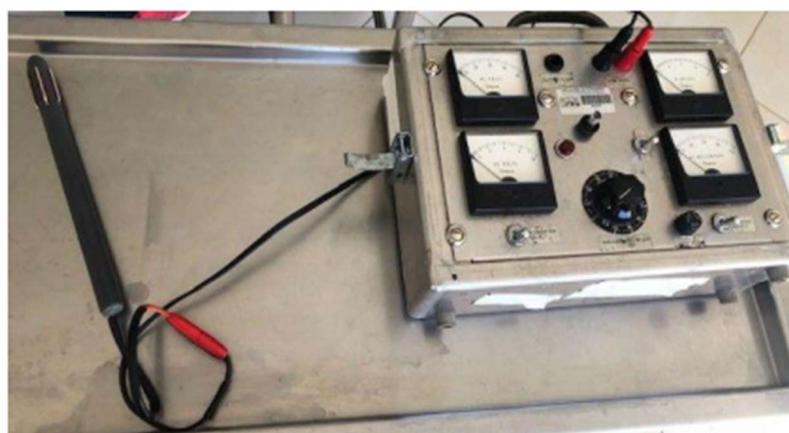
Em uma coleta de sêmen eficiente, causando o mínimo de estresse ao animal, é essencial que o ejaculado forneça parâmetros satisfatórios de motilidade e concentração espermática. Para isso, em animais domésticos, o método mais utilizado é a vagina artificial.

Entretanto, devido ao comportamento predador dos felídeos silvestres, esse método torna-se impraticável tendo em vista a integridade do coletor. Assim, a coleta de sêmen dos felídeos silvestres pode ser realizada a partir de eletro-ejaculação e coleta farmacológica através da cateterização uretral (MOREIRA, 2017).

É importante salientar que antes da realização da coleta, seja qual for o método, deve ser feito um exame físico geral e específico do aparelho reprodutor do animal, buscando avaliar as seguintes características: comprimento, largura, consistência e mobilidade dos testículos, bem como aspectos do pênis, sendo a cor, avaliação do ejaculado e presença de espículas no pênis (RIBEIRO *et al.*, 2019).

A eletro-ejaculação, descrita pela primeira vez em felinos domésticos durante a década de 1970, consiste na técnica de coleta de sêmen mais utilizada em animais silvestres devido a sua vantagem de não necessitar da presença de uma fêmea em estro ou de treinamento condicionado do animal. Para realização do procedimento é necessário que o animal esteja sob efeito de anestésicos, adicionando mais uma vantagem desse método, a segurança do animal e do coletor (MOREIRA, 2017).

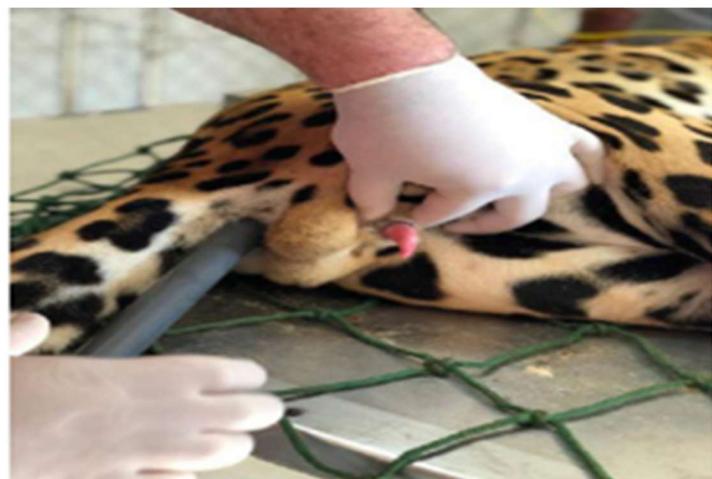
O protocolo de eletro-ejaculação mais utilizado em felídeos selvagens foi criado por Howard em 1993, usado em pumas (DECO-SOUZA *et al.*, 2010), em jaguatiricas (ÁVILA *et al.*, 2012; ERDMANN *et al.*, 2013), tigre, onça parda e onça pintada (RIBEIRO *et al.*, 2019). A técnica consiste na introdução de uma sonda retal conectada ao aparelho de eletro-ejaculação (Fig. 02) visando a exposição do pênis (Fig. 03) e a realização de 80 estímulos elétricos entre 2 e 5V, divididos da seguinte forma: 30 estímulos iniciais de 2 a 4V, mais 30 estímulos de 3 a 5V e 20 estímulos finais de 4 a 5V (RIBEIRO *et al.*, 2019)



(Fonte: Ribeiro *et al.*, 2019)

**Figura 02:** Sonda retal e aparelho de eletro-ejaculação felina.

Para realização da anestesia, necessária para o procedimento, é imprescindível que seja feita uma avaliação de risco anestésico para o animal e exames pré-anestésicos, tendo em vista que a ela poderá afetar a saúde do animal (GRAIPEL *et al.*, 1993; RIBEIRO *et al.*, 2019). A escolha do protocolo anestésico pode influenciar a técnica e a qualidade do sêmen coletado, quando utilizado um fármaco  $\alpha$ -adrenérgico visando a indução anestésica, como a medetomidina, por exemplo, a ejaculação ocorre de forma espontânea (ZAMBELLI *et al.*, 2008; ZAMBELLI *et al.*, 2010; LUEDERS *et al.*, 2012; LUEDERS *et al.*, 2014; ARAÚJO *et al.*, 2018).



(Fonte: Ribeiro *et al.*, 2019)

**Figura 03:** Introdução da sonda retal e exposição do pênis para a coleta de sêmen.

Entretanto, o método de eletro-ejaculação possui algumas desvantagens, das quais destaca-se a possibilidade de contaminação por urina do material espermático coletado (LUEDERS *et al.*, 2012). A contaminação acontece devido a sensibilidade muscular provocada pelo eletro-ejaculador, que faz com haja o relaxamento muscular da vesícula, consequentemente ocorre um extravasamento de urina que contamina o sêmen (RIBEIRO *et al.*, 2019). A fim de evitar uma possível contaminação é aconselhável que seja feita uma drenagem da urina por sonda uretral ou cistocentesse antes da realização do procedimento de eletro-ejaculação (PAULA, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2019).

A coleta farmacológica através da cateterização uretral foi descrita por LUERDERS *et al.* (2012) para o gato doméstico e felídeos selvagens, como o gato-maracajá (Fig. 04), por exemplo.



(Fonte: Ribeiro *et al.*, 2019)

**Figura 04:** Técnica de cateterização uretral realizada em gato-maracajá (*Leopardus wiedii*).

Essa técnica consiste na obtenção do sêmen através da introdução de um cateter na uretra em conjunto com a administração de anestésicos  $\alpha_2$ -agonista, como a medetomidina,

associado com a cetamina, sendo possível também a utilização eventual de ultrassonografia transretal para auxiliar na localização da próstata. A medetomidina é um dos fármacos de escolha devido a sua ação de contração nos ductos deferentes, provocando assim a ejaculação no animal (TURNER *et al.*, 1995; LUEDERS *et al.*, 2014; PROCHOWSKA *et al.*, 2014; KHEIRKHAH *et al.*, 2017; ARAÚJO *et al.*, 2018).

É um método que possibilita a obtenção de amostras concentrada de sêmen sem que haja perdas na qualidade espermática. O procedimento acontece entre o intervalo de 20 a 40 minutos após a administração dos anestésicos no animal (LUEDERS *et al.*, 2012).

### Parâmetros do ejaculado

Assim como em outras espécies, o sêmen desses animais deve ser analisado utilizando-se de parâmetros quantitativos e qualitativos, sendo alguns desses parâmetros a cor, o volume total, a concentração, a motilidade e as patologias espermáticas (SILVA *et al.*, 2019).

Em um experimento realizado através de coletas em 10 onças-pintadas, através dos valores dos parâmetros seminais dos indivíduos, foi calculada a média de cada um deles. Alguns desses valores podem ser vistos na Tab. 01-A. Visando a realização das coletas de sêmen dos animais, foi utilizada a técnica da eletro-ejaculação, realizando-se 80 estímulos elétricos progressivos divididos em 3 séries de 10 estímulos a cada progressão de voltagem, variando de 2, 3 e 4 volts no primeiro ajuste, seguido de descanso de 3 a 5 minutos, 3, 4 e 5 volts no segundo ajuste, com o mesmo tempo de descanso e 4, 5 e 6 volts no terceiro e último ajuste (MORATO *et al.*, 2001).

**Tabela 01:** Valores médios das características seminais de onça pintada (*Panthera onca*).

Parâmetros	(A) Média ± DP	(B) Média ± DP
<b>Volume (mL)</b>	7,4±3,6	6,2±0,8
<b>Concentração espermática (<math>10^6/\text{mL}</math>)</b>	6,2±3,0	142,0±25,6
<b>Motilidade (%)</b>	62,6±11,0	93,0±1,5
<b>Vigor (0-5)</b>	2,7±0,5	4,8±0,1
<b>DMa – cabeça (%)</b>	20,0±7,7	9,0±1,7
<b>DMe – Acrossomo anormal (%)</b>	3,6±2,0	1,0±0,5
<b>DMa – Cauda fortemente enrolada (%)</b>	4,7±3,2	2,6±1,0
<b>DMe – Na peça intermediária (%)</b>	3,6±2,0	1,4±0,5
<b>Fonte</b>	MORATO <i>et al.</i> , 2001.	SILVA <i>et al.</i> , 2019.

**Obs.:** DMa = defeito maior/ DMe = defeito menor; DP = desvio padrão

Foram coletadas 5 amostras seminais de onças-pintadas, também realizadas por meio da técnica da eletro-ejaculação e seguindo o mesmo protocolo de 80 estímulos divididos em 3 séries e 10 estímulos por ajuste de voltagem, anteriormente descrito. Entretanto, neste estudo foram utilizadas voltagens maiores, iniciando em 5, 6 e 7 volts, seguido de um segundo ajuste de 6, 7 e 8 volts e um terceiro e último ajuste de 8 e 9 volts, havendo descanso médio de 5 minutos entre as séries. Melhores resultados foram obtidos, com valores médios dos parâmetros seminais (Tab. 01-B) e diferenças significativas. Apenas o volume médio (mL) apresentou um

valor menor quando comparado aos resultados de MORATO *et al.* (2001), com uma diferença de 1,2mL (SILVA *et al.*, 2019).

O ejaculado do macho das espécies felídeas deve ter cor esbranquiçada, porém, dependendo do método de colheita, podem ocorrer alterações relacionadas à baixa concentração de células espermáticas, tornando-o transparente. Também é possível ocorrer a contaminação por urina, que dará a ele uma coloração amarelada ou mesmo avermelhada se estiverem presentes células vermelhas do sangue. A exemplo, na coleta por eletro-ejaculação, é comum que o ejaculado seja mais diluído, devido ao estímulo das glândulas anexas, tornando-o transparente ou mesmo que haja contaminação por urina devido a erros de coleta (MORATO *et al.*, 1998).

Outro parâmetro macroscópico importante é o volume total. Esse parâmetro, analisado de forma isolada, é pouco significativo, pois sabe-se que inúmeros fatores podem modificar o volume do ejaculado. Um deles é o volume do plasma seminal, resultante da hiperestimulação das glândulas anexas pelos pulsos elétricos do eletro-ejaculador. O método de mensuração do volume, é feito por meio de um tubo graduado (mL), tendo como base os índices fisiológicos de cada espécie. Já a concentração, é obtida através da diluição do sêmen idealmente da proporção de 1:3 e analisado em câmara hematimétrica de Neubauer (MORATO *et al.*, 2001).

A motilidade, que é a capacidade que o espermatozoide tem de locomover-se pela propulsão da cauda de forma controlada. Este parâmetro é estimado de forma subjetiva por meio de microscopia óptica, a partir de um pequeno volume do ejaculado, entre lâmina e lamínula de vidro pré-aquecida a 37 °C. Apesar dessa análise subjetiva ainda ser amplamente utilizada, há também métodos de avaliação automatizados, como os “Computer Assisted Sperm Analyses – CASA” que são sistemas que se baseiam no processamento de informações da cinética individuais das células e valores globais da população global de espermatozoides. (AMANN e KATZ, 2004).

Em um estudo feito em onças-pardas (*Puma concolor*), comparou-se a coleta por eletro-ejaculação com a farmacológica, utilizando medetomidina (0,08-0,1mg/kg) um anestésico alfa-dois-agonista associado a cetamina (5mg/kg). Foi obtida uma concentração maior através do método farmacológico, sem perda da qualidade de motilidade e sem influência sobre a morfologia espermática. A partir desses resultados, o uso do eletro-ejaculador pode ser dispensado, facilitando assim a coleta e o processamento do sêmen em animais *in situ*, por meio de um protocolo de contenção química seguro e eficaz (Tab. 02) (ARAÚJO *et al.*, 2020).

**Tabela 02:** Avaliação do sêmen colhido por sondagem uretral após aplicação de medetomidina (C.F.; n=3) e por eletroejaculação (E.E.; n=4) em onças-pardas.

Parâmetros	Coleta farmacológica	Eletroejaculação
Volume (µL)	106,7±30,5	450,0±0,1
Concentração (sptz x 10 <sup>6</sup> /mL)	524,1±54,3	205,0±141,8
Vigor (0-5)	3,0±0,0	3,5±0,6
Motilidade (%)	70,0±0,0	75,0±13,0
Patologias espermáticas	59,5±7,8	53,9±15,5

(Fonte: SILVA *et al.*, 2019)

Quanto às patologias espermáticas, ocorrem normalmente em altas proporções, tanto os defeitos maiores quanto os menores. Acredita-se que isso se deve a baixa variabilidade genética dos grupos restantes na natureza, causando problemas na espermatogênese. Dentre os defeitos encontrados, os de cabeça foram os mais encontrados, com o estreitamento da cabeça (18,4%) sendo o mais frequente. Em seguida, os defeitos de cauda, sendo a de maior incidência a cauda fortemente enrolada (4,7%) (MORATO *et al.*, 1998).

Os animais também podem apresentar bons resultados quanto a presença dos defeitos maiores e menores, entretanto, com variação considerável entre eles. Aqueles com os melhores resultados tiveram 82,5% de células morfológicamente normais, e os com pior desempenho com 66% de espermatozoides normais. Dentre os defeitos encontrados tem-se: os defeitos de cabeça (9%), na peça intermediária (1%) e de cauda (12,5%), apresentando um valor médio de 24% de células com problemas morfológicos nos ejaculados (SILVA *et al.*, 2019).

Em onças-pardas, as patologias foram classificadas em maiores e menores, encontrando-se uma porcentagem global de defeitos espermáticos, comparando-se os métodos de coleta, um resultado médio 59,5% nas coletas farmacológica e 53,9% nas coletas por eletroejaculação (Tab. 03) (ARAÚJO *et al.*, 2020).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A coleta de sêmen em felídeos selvagens se mostra como uma etapa essencial para a realização das atividades de conservação dessas espécies. Os estudos comparativos de métodos de coleta indicam o interesse da ciência reprodutiva e dos pesquisadores da área, em buscar métodos cada vez mais eficientes e, por meio deles, se obter resultados que auxiliem na condução dessas espécies a um nível de segurança que a extinção não seja se quer uma possibilidade, garantindo assim a diversidade genética animal, a preservação dos ecossistemas e de um meio ambiente sustentável. Outro aspecto a ser considerado diante da variedade de métodos de coleta, é a preocupação com o bem-estar dos animais, seja por questões éticas como para a preservação da qualidade da amostra. É possível perceber uma necessidade de se estudar mais profundamente os métodos assim como desenvolver novos, visto que até mesmo aqueles mais utilizados por seu custo/benefício, são responsáveis por gerar certo grau de estresse que influenciam diretamente nos parâmetros seminais e consequentemente na qualidade da amostra.

Em suma, é de extrema importância que os pesquisadores tenham conhecimento dos impactos que cada método tem sobre os resultados de suas pesquisas, principalmente em animais selvagens e em especial, os da família felidae, que possuem grande sensibilidade a fatores estressantes e que mesmo em seus habitats naturais e em condições ideais, possuem restrições quanto a sua capacidade reprodutiva.

## REFERÊNCIAS

ADANIA, C.H.; SILVA, J.C.R.; FELIPPE, PA.AN. Carnivora – Felidae (Onça, Suçuarana, Jaguatirica e Gato-do-mato). In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária**. 2. ed., São Paulo: Roca, 2014. p.779-818.

AMANN, R.; KATZ, D.F. Reflections on CASA after 25 years. **Journal of Andrology**, v.25, p.317-325, 2004

ARAUJO, G.R.; PAULA, T.A.R.; DECO-SOUZA, T. Comparison of semen samples collected from wild and captive jaguars (*Panthera onca*) by urethral catheterization after pharmacological induction. **Animal Reproduction Science**, v.195, n.1, p.1-7, 2018.

ARAUJO, G.R.; PAULAT.A.R.; DECO-SOUZA, T.; MORATO, R.G.; BERGO, L.C.F.; SILVA, L.C.; JORGE-NETO, P.N.; SAMPAIO, B.F.B. Colheita farmacológica de sêmen de onças-pardas (*Puma concolor*: Mammalia: Carnivora: Felidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.72, n.2, p.437-442, 2020.

ÁVILA, E.C.; DECO-SOUZA, T.; TRINDADE, T.F.S.L.; MASCARENHAS, R.M.; PAULA, T.A.R. Protocolos de coleta de sêmen por eletro-ejaculação em jaguatiricas (*Leopardus pardalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.36, n.4, p.260-263, 2012.

AZEVEDO, S.C.; YOUNG, R.J. Treinamento de emas para evitar predadores: Uma estratégia conservacionista. **Science Press**, 2005. Disponível em: [http://www.scienonet.com.br/backup/site\\_portugues/sciencepress/science49/scipress\\_49\\_emas.htm](http://www.scienonet.com.br/backup/site_portugues/sciencepress/science49/scipress_49_emas.htm). Acessado em: 15 abr. 2024.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº 76, de 27 de junho de 2014. **Plano de ação nacional para a conservação da onça parda. PAN Onça parda, 2014**. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-oncaparda/portaria-onca-parda-76-2014.pdf>. Acessado em: 15 abr. 2024.

CHEIDA, C.C.; OLIVEIRA, E.N.; COSTA, R.F.; MENDES R.F.; QUADROS, J. **Ordem Carnívora**. 1. ed., Londrina: UEL, 2006.

CHIARELLO, A.G. Influência da caça ilegal sobre mamíferos e aves das matas de tabuleiro de norte do estado do Espírito Santo. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, v.11/22, p.229-247, 2000.

COLLINGE, S.K. Spatial ecology and biological conservation. **Biological Conservation**, v.100, p.1-2, 2001.

CRAWSHAW, P.G., MAHLER, J.K., INDRUSIAK, C.I., CAVALCANTI, S.M., LEITE-PITMAN, M.R.P., SILVIUS, K.M. Ecology and conservation of the jaguar (*Panthera onca*) in Iguaçu National Park, Brazil. **People in Nature**, v.14, p.286-296, 2004.

CROOKS, K.R. Relative sensitivities of mammalian carnivores to habitat fragmentation. **Conservation Biology**, v.16, p.488-502, 2002.

CULLEN JÚNIOR, L.; BODMER, R.E.; PÁDUA, C.V. **Ecological consequences of hunting in Atlantic forest patches**, São Paulo, Brazil. *Oryx* 35: 137-144, 2001.

DEBINSKI, D.M.; HOLT, R.D. A survey and overview of habitat fragmentation experiments. **Conservation Biology**, v.14, n.2, p.342-355, 2000.

- DECO-SOUZA, T.; PAULA, T.A.R.; COSTA, D.S.; ARAÚJO, G.R.; GARAY, R.M.; VASCONCELOS, G.S.C.; CSERMAK JR, A.C.; SILVA, L.C.; BARROS, J.B.G. Coleta e avaliação de sêmen de pumas (*Puma concolor* Linnaeus, 1771) adultos mantidos em cativeiro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.34, n.4, p.252- 259, 2010.
- DICKMAN, A.J.; HINKS, A.E.; MACDONALD, E.A.; BURNHAM, D.; MACDONALD, D.W. Priorities for global felid conservation. **Conservation Biology**, v.29, n.3, p.854–864, 2015.
- ERDMANN, R.H.; MOREIRA, N.; CUBAS, Z.S.; MORAIS, W.; OLIVEIRA, M.J. Contenção farmacológica da jaguatirica, *Leopardus pardalis*, para coleta de sêmen, pela associação de tiletamina-zolazepam e xilazina. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.29, n.1, p.1731-1737, 2013.
- DECHNER, A. Predicting the tangible and intangible costs of co-occurring with wildlife. **Global Ecology and Conservation**, v.23, n.1/9, p.e01091, 2020.
- DYCE, KM. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 5. ed., Editora: Elsevier, 2019.
- FRANKEL, O.H.; SOULÉ, M.E. Conservation and evolution. **Cambridge University**, v.16, n.14, p.58, 1981. (resumo)
- GARCIA PEREIRA, R.J.; BLANK, M.H.; ROISMANN, J. A contribuição das biotecnologias reprodutivas na conservação de espécies selvagens. In: Anais da VIII Reunião Anual da Associação Brasileira de Andrologia Animal, Campo Grande/MS, 2024.
- GRAIPEL, M.E.; OLIVEIRA-SANTOS, L.G.R.; GOULART, F.V.B.; TORTATO, M.A.; HOWARD, J.G. Semen collection and analysis in nondomestic carnivores. **Zoo and Wild Animal Medicine**, v.3, p.390-399, 1993.
- GRAIPEL, M.E.; OLIVEIRA-SANTOS, L.G.R.; GOULART, F.V.B.; TORTATO, M.A.; MILLER, P.R.M.; CÁCERES, N.C. The role of melanism in oncillas on the temporal segregation of nocturnal activity. **Brazilian Journal of Biology**, v.74, n.3, p.142-145, 2014.
- JACKSON, P.; NOWELL, K. **Wild Cats: Status survey and conservation action plan**. 1. ed., IUCN/SSC, Gland, Switzerland, 1996.
- JOHNSTON, S.D.; KUSTRITZ, M.V.R.; OLSON, P.N.S. **Canine and feline theriogenology**. 1. ed., Philadelphia (PA): W.B. Saunders, 2001.
- JORGE-NETO, P.N.; PIZZUTTO, C.S.; ARAÚJO, G.R.; DECO-SOUZA, T.; SILVA, L.C.; SALOMÃO JR, J.A.; BALDASSARE, H. Copulatory behavior of the Jaguar *Panthera onca* (Mammalia: Carnivora: Felidae). **Journal of Threatened Taxa**, v.10, p.12933–12939, 2018.
- KHEIRKHAH, M.S.; MOHAMMADSADEGH, M.; MOSLEMI, H.R. Sperm evaluation of Jungle Cat (*Felis chaus*) obtained by urethral catheterization (CT) after medetomidine administration. **Theriogenology**, v.91, n.1, p.17-20, 2017.
- LAURENCE, W.F.; VASCONCELOS, H.L.; LOVEJOY, T.E. Forest loss and fragmentation in the Amazon: implications for wildlife conservation. **Oryx**, v.31, n.1, p.39-45, 2000.

LINNELL, J.D.C.; SWENSON, J.E.; ANDERSEN, R. Conservation of biodiversity in Scandinavian boreal forests: large carnivores as flagships, umbrellas, indicators, or keystones? **Biodiversity and Conservation**, v.9, p.857-868, 2000.

LITTLE, S.E. **O gato: Medicina Interna**. 1. ed., Rio de Janeiro: Roca, 2015.

LUEDERS, I.; LUTHER, I.; SCHEEPERS, G.; VAN DER HORST, G. Improved semen collection method for wild felids: Urethral catheterization yields high sperm quality in African lions (*Panthera leo*). **Theriogenology**, v.78, n.3, p.696-701, 2012.

LUEDERS, I.; LUDWIG, C.; SCHROEDER, M. Successful nonsurgical artificial insemination and hormonal monitoring in an Asiatic golden cat (*Catopuma temmincki*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.45, n.2, p.372-379, 2014.

MASSONE, F. **Anestesiologia Veterinária: Farmacologia e Técnicas**. 7. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

MELO, L.F.; SILVA, D.; VIEIRA, F.; MELLO, W. Histórico e perspectiva da conservação dos felinos silvestres ocorrentes no Brasil com estudos realizados entre os anos de 1945 a 2014. **Statewide Agricultural Land Use Baseline**, v.1, n.4, p.42–57, 2015.

MIRANDA, E.E. **Natureza, conservação e cultura: ensaios sobre a relação do homem com a natureza no Brasil**. 1. ed., São Paulo: Metalivros, 2003.

MORATO, R.G.; GUIMARÃES, M.A.B.V.; NUNES, A.L.V.; CARCIOFI, A.C.; FERREIRA, F.; BARNABE, V.H.; BARNABE, R.C. Colheita e avaliação do sêmen em onça pintada (*Panthera onca*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.35, n.4, p.178-181, 1998.

MORATO, R.G.; CONFORTI, V.A.; AZEVEDO, F.C.C.; JACOMO, A.T.A.; SILVEIRA, L.; SANA, D.; NUNES, A.L.V.; GUIMARÃES, M.A.B.V.; BARNABE, R.C. Comparative endocrine-ejaculate characteristics of captive versus free living jaguars (*Panthera onca*). **Reproduction**, v.122, n.5, p.745-751, 2001.

MOREIRA, N. **Reprodução e estresse em fêmeas de felídeos do gênero Leopardus**, 2001. Total páginas (Tese de Doutorado em Ciências Biológicas, Zoologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, CPGZOO/UFPR, 2001.

MOREIRA, N. Exame andrológico e criopreservação de sêmen em felídeos selvagens. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.41, n.1, p.312-315, 2017.

NOWELL, K.; JACKSON, P. Wild cats. Status survey and conservation action plan, **Open Journal of Ecology**, v.4, n.4, p.134-141, 1996.

OLIVEIRA, T.G.; CASSARO, K. **Guia de campo dos felinos do Brasil**. 3. ed., Instituto Pró-carnívoros, Sociedade de Zoológicos do Brasil, Fundação Parque Zoológico de São Paulo, 2005.

PAGLIA, A.P.; DA FONSECA, G.A.B.; RYLANDS, A.B.; HERRMAN, G.; AGUIAR, L.M.S.; CHIARELLO, A.G.; LEITE, Y.L.R.; COSTA, L.P.; SICILIANO, S.; KIERULFF, M.C.M.; MENDES, S.L.; TAVARES, V.C.; MITTERMEIER, R.A.; PATTON, J.L. Reprodução de carnívoros silvestres. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.2, p.130-132, 2011.

PROCHOWSKA, S.; NIZANSKI, W.; OCHOTA, M.; PARTYKA, A. Effect of dilution rate on feline urethral sperm motility, viability, and DNA integrity. **Theriogenology**, v.82, n.9, p.1273-1280, 2014.

PUKAZHENTHI, B.S.; WILDT, D.E. Which reproductive technologies are most relevant to studying, managing and conserving wildlife? **Reproduction, Fertility and Development**, v.16, n.1/2, p.33-46, 2004.

RABINOWITZ, A. **Why conserve jaguars? El jaguar en el nuevo milenio** (C. Medellin et al., eds.). 1. ed., Universidade Nacional Altonoma de México/Wild life Conservation Society, México, 2002.

REECE, W.O.; DUKE, S. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

RIBEIRO, R.N.; ALMEIDA, A.R.G.; MARTINEZ, A.C. Métodos de coleta de sêmen em felídeos. **Enciclopédia Biosfera**, v.16, n.29, p.1-15, 2019.

ROCHA, E.F.; TÁVITA, N.A.S.; DIAS, R.F.F.; DINIZ, J.A.R.A.; SANTOS, J.R.S.; MENEZES, D.J.A. Anatomia macroscópica dos órgãos reprodutores do Puma yagouaroundi (Geoffroy, 1803) macho. **PUBVET Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.11, n.8, p.667-670, 2017.

SILVA, H.V.R.; NUNES, T.G.P.; RIBEIRO, L.R.; FREITAS, L.A.; OLIVEIRA, M.F.; NETO, A.C.A.; SILVA, A.R.; SILVA, L.D.M. Morphology, morphometry, ultrastructure, and mitochondrial activity of jaguar (*PANTHERA ONCA*) sperm. **Animal Reproduction Science**, v.203, p.84-93, 2019.

SWANSON, W.F., BROWN, J.L. International training programs in reproductive sciences for conservation of Latin American felids. **Animal Reproduction Science**, v.82/83, p.21-34, 2004.

SWANSON, W.F.; PAZ, R.C.R.; MORAIS, R.N. Influence of species and diet on efficiency of in vitro fertilization in two endangered Brazilian felids – the ocelot (*Leopardus pardalis*) and tigrina (*Leopardus tigrinus*). **Theriogenology**, v.57, p.593, 2002. (Abstract).

TERBOROUGH, J. Maintenance of diversity on tropical forests. **Biotropica**, v.24, n.2b, p.283-292, 1992.

TURNER, R.M.O.; McDONNELL, S.M.; HAWKINS, J.F. Use of pharmacologically induced ejaculation to obtain semen from a stallion with a fractured radius. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.206, n.12, p.1906-1908, 1995.

VIEIRA, R.L.A.; BARROS, C.H.S.C.; COSTA, T.S.O.; FELICIANO, M.A.R.; NOGUEIRA-FILHO, S.L.G. Protocolos para contenção química e eletroejaculação para coleta de sêmen de queixadas (Tayassu pecari). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.49, pub.1802, p.1-8, 2021.

WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. Zoo animal and wildlife immobilization and anesthesia. **Canadian Veterinary Journal**, v.51, n.6, p.622-622, 2010. (resumo)

ZAMBELLI D, P.F.; CUNTO, M.; IACONO, E.; MERLO, B. Quality and in vitro fertilizing ability of cryopreserved cat spermatozoa obtained by urethral catheterization after medetomidine administration. **Theriogenology**, v.69, p.485-490, 2008.

ZAMBELLI, D.; RACCAGNI, R.; CUNTO, M. Sperm evaluation and biochemical characterization of cat seminal plasma collected by electroejaculation and urethral catheterization. **Theriogenology**, v.74, p.1396-1402, 2010.