

BIOTÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA APLICADAS À CONSERVAÇÃO DA ONÇA-PINTADA (*Panthera onca*)

Erika Cristina Barbosa Silva¹

Luiza Dias Marcucci¹

Bruno Ferreira Carneiro²

Resumo: A onça-pintada (*Panthera onca*) é classificada como o maior felídeo das Américas. É um animal que vive presente no topo da cadeia alimentar, sendo assim considerada um importante bioindicador de equilíbrio do ecossistema em que habita. Porém, essa espécie se encontra ameaçada de extinção, alertando a comunidade científica a buscar meios e alternativas que visem conservar a espécie. Portanto, uma das soluções vigentes é realizar a utilização das biotecnologias de reprodução assistida aplicadas em cativeiro, sendo as principais: Inseminação artificial e Criopreservação de sêmen, objetivando um maior espectro de variedade genética desses animais. Atualmente, diversas pesquisas estão voltadas para a conservação da espécie, sendo de grande importância que haja conhecimento amplo da anatomia, fisiologia e hábitos reprodutivos, além da utilização de métodos seguros de colheita de amostras, que deve ser estudada e desenvolvida de tal forma que garanta o bem-estar desses animais, e consequentemente, tranquilidade para a equipe responsável pela prática. Tais requisitos são essenciais na aplicação dessas técnicas reprodutivas, a fim de que haja sucesso e traga resultados significativos ao objetivo principal de conservar a espécie no ecossistema. Reforçar sobre a importância que a preservação do habitat da onça-pintada (*Panthera onca*) carrega, também é crucial, visando evitar impactos ainda maiores não apenas para a espécie, mas consequentemente, para a biodiversidade do ecossistema onde ela habita.

Palavras-chave: Criopreservação, Felídeo selvagem, Inseminação artificial.

ASSISTED REPRODUCTIVE BIOTECHNOLOGIES APPLIED TO THE CONSERVATION OF THE JAGUAR (*Panthera onca*)

Abstract: The jaguar (*Panthera onca*) is classified as the largest feline in the Americas. It occupies a position at the top of the food chain, making it an important bioindicator of the balance within its ecosystem. However, this species is currently threatened with extinction, prompting the scientific community to seek means and alternatives for its conservation. One of the viable solutions is the use of assisted reproduction biotechnologies applied in captivity,

¹ Erika Cristina Barbosa Silva, discente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Goiás Uni-Goiás. Lattes: <https://lattes.cnpq.br/6127553174876004> . E-mail: erikacristinabs@outlook.com.

² Luiza Dias Marcucci, discente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Goiás Uni – Goiás. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6503934265663639> . E-mail: luludmarcucci@hotmail.com.

³ Professor Auxiliar Nível II do Centro Universitário de Goiás. Doutor em Ciência Animal pela Universidade Federal de Goiás (EVZ-UFG). Mestre em Ciência Animal pela UFG (EVZ-UFG). Residência em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Selvagens pela UFG (EVZ-UFG). Lattes: <https://lattes.cnpq.br/2921901220429214> . Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9185-0021> . E-mail: bruno.carneiro@unigoias.com.br.

primarily artificial insemination and semen cryopreservation, aimed at increasing the genetic diversity of these animals. Currently, various research efforts are focused on species conservation, emphasizing the need for comprehensive knowledge of their anatomy, physiology, and reproductive habits, as well as the use of safe sample collection methods. These methods must be studied and developed to ensure the welfare of the animals and provide reassurance to the teams involved in these practices. Such requirements are essential for the successful application of reproductive techniques, with the ultimate goal of conserving the species within its ecosystem. It is also crucial to highlight the importance of preserving the jaguar's habitat (*Panthera onca*) to avoid even greater impacts, not only on the species itself but also on the biodiversity of the ecosystem in which it resides.

Keywords: Artificial insemination, Cryopreservation, Wild feline.

INTRODUÇÃO

Na América Latina podem ser encontradas até dez espécies de felídeos, sendo eles, jaguatirica (*Leopardus pardalis*), gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*), gato-do-matogrande (*Leopardus geoffroyi*), gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*), suçuarana (*Puma concolor*), gato-palheiro (*Leopardus colocolo*), onça-pintada (*Panthera onca*), gato-montês-andino (*Leopardus jacobita*) e guinha (*Leopardus guigna*), cujo as duas últimas não são encontradas no Brasil. Porém, esses felídeos, estão classificados como ameaçados de extinção, seja devido a destruição de seus habitats ou por meio da prática ilegal de caça (NOWELL & JACKSON, 1996).

A extinção ou redução populacional de grandes felinos pode levar a um desequilíbrio ecológico, que a longo prazo, tende afetar a integridade e a diversidade biológica dos seus habitats. Conforme a “hipótese da diversidade de predadores”, o controle natural que a onça-pintada, situada no topo da cadeia alimentar, faz da densidade de vários animais, é fundamental para estabelecer e manter a qualidade do ambiente. Tal felino é considerado um bioindicador, logo, sua presença é a garantia de um ecossistema conservado e equilibrado (CULLEN e VALLADARES – PÁDUA, 1999).

Sabe-se que a criação de populações de animais selvagens em cativeiro tornou-se um importante mecanismo para a conservação de espécies, visto à crescente destruição dos ecossistemas do mundo e à consequente ameaça à vida selvagem (ADANIA, et. al., 2005). É essencial ressaltar que a preservação dos animais e a biodiversidade, estão diretamente relacionadas. Portanto, caso medidas protetivas não sejam instauradas, muitos animais poderão

se extinguir e conseqüentemente deixar de cumprir seu papel ecológico. Por isso, alguns tipos de biotécnicas de reprodução estão sendo selecionadas e aplicadas como aliadas ao sucesso da conservação animal (BRASIL, 2013 apud GIANFELICE, 2019).

De maneira geral, as tecnologias de reprodução assistida possibilitam o transporte e a troca de material genético, sendo uma ferramenta complementar essencial a ser utilizada em programas de conservação. Diante do grau de ameaça crescente à qual a maioria das populações de felídeos selvagens é continuamente submetida, é necessário direcionar esforços conjuntos e interdisciplinares para conservação dessa espécie, e no intuito de buscar o controle dos efeitos da rápida perda de diversidade genética, alguns esforços devem ser direcionados para a conservação da fauna em várias frentes estratégicas, tais como a reprodução de animais em cativeiro como ferramenta auxiliar (CUBAS, et. al., 2014).

Ademais, visando a conservação, algumas estratégias como formação de bancos de amostras biológicas, criação em cativeiro e técnicas de reprodução assistida são técnicas importantes utilizadas para o manejo das populações, além da preservação e conservação do material biológico desses animais, tanto de maneira *in vivo* (vida livre e em cativeiro) quanto de maneira *in vitro* (criopreservação) (MOREIRA & MORATO, 1966).

Objetivou-se com este trabalho abordar a respeito das principais técnicas mais utilizadas de reprodução assistida em cativeiro de onças-pintadas (*Panthera onca*), além de discorrer sobre as características e o funcionamento da fisiologia reprodutiva desses animais para melhor compreensão de tais condutas, e com isso, analisar a importância que essas técnicas reprodutivas carregam sobre a preservação dessa espécie ameaçada de extinção.

METODOLOGIA

O tipo de pesquisa abordado para essa revisão de literatura, se deu por fontes bibliográficas tanto brasileiras quanto internacionais. Através da internet, selecionamos artigos científicos, revistas científicas e livros que retratam sobre o estado crítico de extinção em que felídeos selvagens se encontram, sobretudo a onça-pintada, e os meios elegidos para salvar essa espécie do desaparecimento. Além disso, coletar informações sobre a anatomia e fisiologia do sistema reprodutor desses animais também foi essencial para melhor compreensão e entendimento sobre como funcionam as biotecnologias reprodutivas aplicadas.

Os estudos analisados retratam sobre a conservação de felídeos silvestres, especificamente na onça-pintada, com a utilização de inseminação artificial, reprodução *ex situ*, ciclo reprodutivo e reprodução natural desses felídeos selvagens, biotécnicas da reprodução assistida aplicadas a conservação, características gerais como o comportamento da espécie, indução de atividade ovarina, coleta de sêmen, criopreservação de sêmen, desafios da reprodução assistida em cativeiro, e por fim, revisões sobre a fisiologia e anatomia reprodutiva desses felídeos selvagens.

Ao total foram utilizados 20 materiais de estudo neste projeto de pesquisa, dentre eles livros, artigos científicos e revistas científicas.

1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR (*Panthera onca*)

1.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR FEMININO (*Panthera onca*)

Os felinos, embora apresentem hábitos solitários são animais considerados poligâmicos, ou seja, tanto machos quanto fêmeas copulam com mais de um indivíduo do sexo oposto para maior chance de perpetuação da espécie (KITCHENER, 1991).

Diversos autores sugerem que a maturidade sexual na onça-pintada ocorre na fêmea entre 24 e 30 meses (WILDT et al., 1998), embora Henderson (2010) indique que seja atingida aos 36 meses de idade. Essas diferenças podem ser devido a fatores como horas de luz do dia (latitude), longitude e até disponibilidade de presas, sendo influenciados pelo fotoperíodo consequentemente.

Nas fêmeas de *Panthera onca* mantidas em cativeiro o ciclo estral pode variar de 22 a 65 dias, sendo o inter - estro durando de 22 a 65 dias, enquanto o estro 6 a 17 dias (TEWES; SCHIMIDLY, 1987).

As estruturas presentes no sistema reprodutivo da fêmea são um par de ovários, seguidos dos ovidutos, útero, vagina e vulva. Os ovários são cercados pela bolsa ovariana formada pela mesossalpinge e pelo mesovário. Assim como em outras espécies de carnívoros, os ovários da onça-pintada estão localizados caudalmente aos rins, em uma posição dorsal na cavidade abdominal (MAYOR E LOPEZ, 2010). Figura 1.

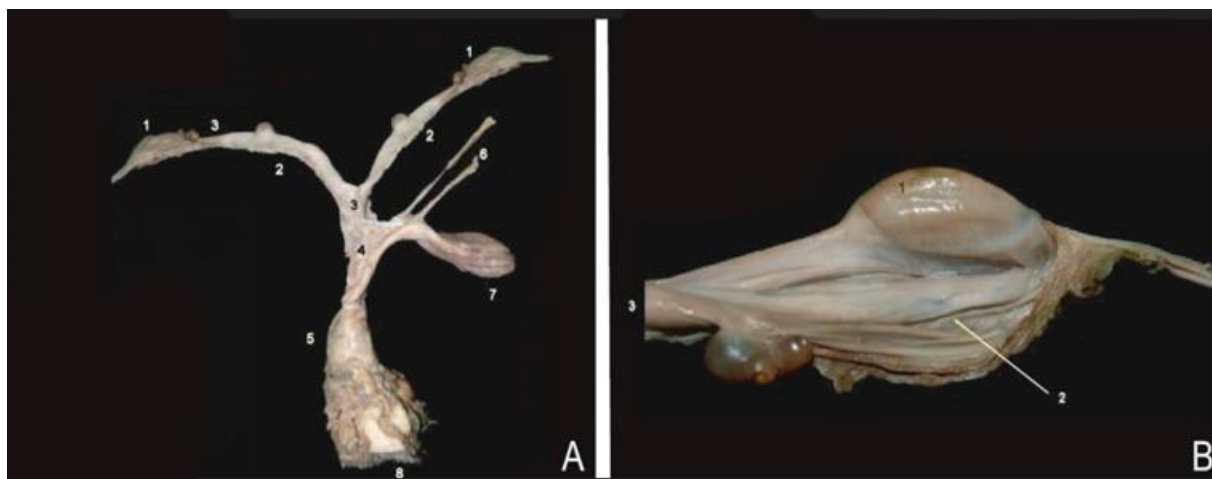


FIGURA 1: Em A: Parte ventral do órgão genital feminino: 1) ovários, 2) cornos uterinos, 3) corpo do útero, 4) cérvix, 5) vagina, 6) uretra, 7) vesícula urinária, 8) vulva.
Em B: Bolsa ovariana aberta: 1) ovário, 2) bolsa ovariana, 3) cérvix.

FONTE: MAYOR E LOPEZ, 2010.

Os ovidutos são estruturas tubulares e sinuosas encontrados na mesossalpinge, ocorrendo uma considerável atividade peristáltica durante o estro. Os ovidutos transportam os ovócitos para os cornos uterinos para que ocorra a implantação no útero (BARRUETA, 2012).

O útero é bicórneo e a gestação pode ocorrer em ambos os cornos, o corpo do útero é reduzido, seu colo possui uma parede muscular espessa que isola o útero do meio exterior. Enquanto a vagina é mais alongada que o seu vestíbulo, este é compartilhado pelos tratos genitais e urinários. A vulva é formada por dois lábios que se unem nas comissuras vulvares dorsal e ventral. O clitóris tem uma glândula rudimentar e está centralmente localizado dentro da fossa clitoriana entre os lábios vulvares (MAYOR E LOPEZ, 2010).

Na família dos jaguares, estudos foram conduzidos para avaliar os perfis hormonais (estradiol e progesterona) dos ciclos estrais e puberdade, coletando amostras fecais, resultando em uma duração média do ciclo entre $38,28 \pm 2,52$ dias, variando de 25 a 44 dias, enquanto a maturidade sexual era alcançada dentro de 22 meses (WILDT et al., 1998; VIAU et al., 2020), o ciclo estral é dividido em cinco estágios predominantes, o proestro, o estro, o diestro, o interestro e o anestro, em que cada um desses estágios são caracterizados por eventos comportamentais específicos. No proestro, ocorrem vocalizações, fricção em objetos inanimados para atrair machos, mas sem aceitação da cópula para o acasalamento. No estro, a fêmea aceita a cópula e os sinais observáveis são, vocalizações em forma de grunhidos para

chamar a atenção do macho, além de se esfregar contra objetos inanimados, lordose, comportamento de rolamento no chão, permitindo que o macho cheire a vulva e a acomode para realizar o acasalamento (YESCAS E RAMIREZ, 2013). No estro, a fertilização pode ocorrer, caso os corpos lúteos se desenvolvam e secretem progesterona para manutenção da gestação. No entanto, existem fêmeas que ovulam, mas os ovócitos não são fertilizados e assim podem apresentar pseudociese, desencadeando um comportamento semelhante ao da fêmea grávida, causado pela produção de progesterona. A duração média do estro de 194 períodos estrais em sete fêmeas de onça-pintada, foram medidos por dosagem hormonal na corrente sanguínea e a média variou entre $6,5 \pm 0,3$ dias (BARNES et al., 2016).

No inter-estro, também conhecido como período de repouso sexual, a fêmea não atrai machos, sendo muito comum os sinais de estro desaparecerem. Após este período, a fêmea retoma a atividade sexual ou entra em anestro caso a temporada reprodutiva se finde. Por fim, o anestro ocorre durante a época de não reprodução e se caracteriza pela ausência total de atividade ovariana, sem variações hormonais importantes e ausência de aceitação da cópula com machos de sua espécie (STORNELLI, 2007; BARRUETA, 2012).

1.2 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO (*Panthera onca*)

O sistema reprodutor do macho da onça-pintada é composto por um pênis cônico, o qual se divide em raiz corpo e glândula, sendo a glândula, após a puberdade, composta por papilas cornificadas e numerosas que dependem de androgênio para se formarem. O pênis é localizado dentro de um prepúcio o qual está orientado caudalmente, mas durante o coito sua posição se inverte (MAYOR E LOPEZ, 2010). Figura 2.

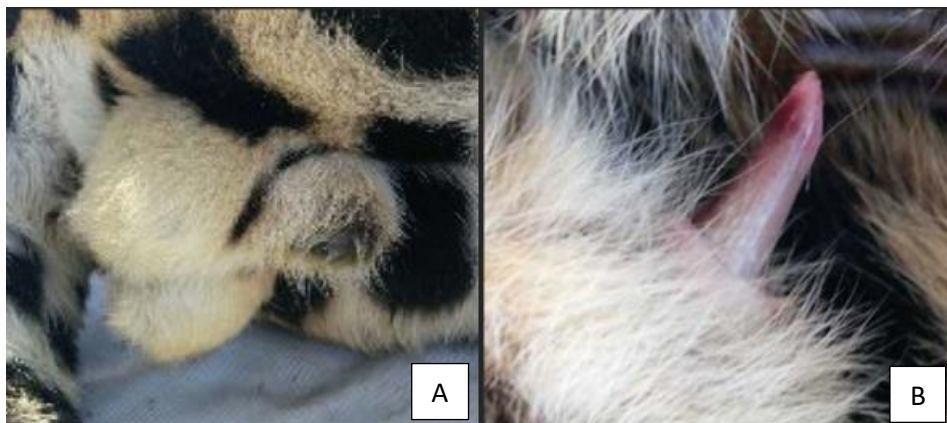


FIGURA 2: Em A, prepúcio e testículos. Em B, pênis.

FONTE: MAYOR E LOPEZ, 2010.

Os testículos se localizam na região perineal com orientação craniocaudal, sendo compostos por tecido testicular, epidídimo (cabeça, corpo e cauda), ductos eferentes, ductos deferentes, veias e artérias testiculares, cordão espermático, e músculo cremáster. Os ductos deferentes estão envolvidos a cada um dos testículos direcionados cranialmente penetrando o cordão espermático. Há também a próstata e um par de glândulas bulbouretrais ligadas aos testículos que auxiliam na produção do líquido seminal (MAYOR E LOPEZ, 2010). Figura 3.



FIGURA 3: 1) Testículo, 2) cabeça do epidídimo, 3) corpo do epidídimo, 4) ducto deferente, 5) vasos e nervos testiculares.

FONTE: MAYOR E LOPEZ, 2010.

A regulação do processo reprodutivo ocorre de acordo com diversos fatores externos como a temperatura, espaço geográfico em o animal se situa, disponibilidade de alimentos, e o fotoperíodo (FELDMAN E NELSON, 1996).

Na espermatogênese ocorre uma sequência de eventos citológicos das células germinativas masculinas (multiplicação e diferenciação), resultando na formação dos

espermatozoides. Ocorre ciclicamente no epitélio dos túbulos seminíferos do testículo, desde o início da puberdade. No final do processo de espermatogênese, os espermatozoides são liberados no lúmen dos túbulos seminíferos e levados ao epidídimo, onde completam o processo de maturação e adquirindo capacidade de adentrar o ovócito 2, com enzimas e substâncias essenciais ao processo de fertilização (GILBERT, 2005). A membrana espermática é capaz de absorver diferentes substâncias produzidas nos túbulos seminíferos, epidídimo, ducto deferente e glândulas sexuais acessórias (sêmen). Outro aspecto relevante é que, ao contrário de outros mamíferos, a capacitação do espermatozoide dos felinos é mais simples e leva menos tempo (HOLSTEIN et al., 2003).

Segundo os pesquisadores o fotoperíodo além de influenciar as fêmeas também afeta os machos, os quais mostram uma variação sazonal nos níveis de andrógenos durante cada período do ano. O aumento nesses níveis hormonais parece estar ligado tanto a quantidade de alimento disponível, quanto à estação do ano em felinos diversas espécies de felinos, além da onça-pintada (*Panthera onca*), ocorre nos felinos domésticos (*Felis catus*), gato de Pallas (*Otocolobus manul*), leopardo-das-neves (*Uncia uncia*), entre outros. Segundo Swanson e Brown (1996) as mudanças na espermatogênese estão relacionadas ao fotoperíodo. Com essa descoberta foi analisado e comprovado variações significativas na quantidade e qualidade do espermatozoide, além dos níveis hormonais no sangue também terem mudado em diferentes épocas do ano. Em relação aos felinos selvagens, especialmente jaguares, Morato et al. (2001), conduziram um estudo sobre os aspectos reprodutivos desse felino em cativeiro, em que o volume médio de ejaculado foi de $8,6 \pm 1,3$ mL ($n = 28$), com uma concentração de $3.9 \pm 0.7 \times 10^6$ espermatozoides por mL.

Mesmo com variações no volume de ejaculado durante as estações do ano, como no outono em que variou de 6.0 ± 0.9 mL, 10.9 ± 4.3 mL no inverno, 9.0 ± 3.7 mL na primavera e verão 7.9 ± 0.8 mL de ejaculado, não houve diferenças sazonais significativas, porque animais em criadouros em cativeiro têm hábitos totalmente diferentes dos animais em vida livre. Em relação à testosterona, as pesquisas indicaram que não houve diferenças significativas em sua taxa presente na corrente sanguínea, mesmo sendo em diferentes estações do ano, mesmo havendo algumas variações numéricas. Por exemplo, durante o outono, a produção de

testosterona foi de 170 ± 20.7 ng dL⁻¹, enquanto no inverno e na primavera foi de 324 ± 60.4 e 287.9 ± 52.5 ng dL⁻¹, respectivamente. Quanto à qualidade do esperma, foram encontrados um percentual relevante (cerca de 51%) de malformações nos espermatozoides (MORATO et al. 1999). Pesquisadores relatam que é comum uma grande quantidade de malformações espermáticas em felinos que vivem em cativeiro, segundo Melody E. et al. (1993), a teratospermia ocorre principalmente pelo estresse em cativeiro e pela alimentação inadequada oferecida, por exemplo no caso dos gatos domésticos (*Felis catus*) e dos gatos-de-patas-negras (*Felis nigripes*), foram encontrados um pouco mais de 80% de anormalidades espermáticas no ejaculado desses felinos (HERRICK et al. 2010).

Em relação a fisiologia do sistema reprodutor da onça-pintada (*Panthera onca*), as interações neuroendócrinas entre o hipotálamo e a glândula pituitária controlam a função testicular assim como nos felinos domésticos. O GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina), secretado pelo hipotálamo, estimula as gonadotropinas na pituitária a secretar LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo-estimulante). Essas gonadotrofinas entram na corrente sanguínea para agir nos testículos para influenciando diretamente a espermatogênese, por meio de seu efeito sobre as células de Leydig e Sertoli. Há um mecanismo de regulação para secreção desses hormônios em que a concentração de testosterona secretada pelas células de Leydig aumenta no sangue, um feedback negativo é exercido no hipotálamo e consequentemente na pituitária, inibindo a secreção dos hormônios GnRH/LH, diminuindo assim, a secreção de testosterona pelas células de Leydig. Por outro lado, o FSH age diretamente na produção de espermatozoides, enquanto as células de Sertoli secretam inibina e ativina que sessam e reiniciam o ciclo respectivamente (JOHNSTON et al., 2001).

2 TÉCNICAS REPRODUTIVAS EM ONÇA- PINTADA (*Panthera onca*)

A diversidade genética das populações de onça-pintada pode ser impactada pela diminuição e fragmentação das populações, sendo essas ameaças à sua conservação. A diminuição da diversidade genética tem sido associada a efeitos adversos sobre o tamanho do testículo e o desempenho reprodutivo, além de altas taxas de espermatozoides anormais. Portanto, as estratégias de conservação devem priorizar a manutenção de populações

geneticamente viáveis, acessando e conectando recursos genéticos disponíveis em ambientes de cativeiro (*ex situ*) e vida livre (*in situ*). As tecnologias de reprodução assistida (TRA) podem potencializar o intercâmbio genético entre indivíduos em diferentes localidades, superando desafios associados à translocação animal e otimizando o acesso ao material genético (DECO-SOUZA et al., 2024).

A fim de buscar metodologias de conservação, uma das estratégias mais eficazes está no uso da reprodução. A aplicação das TRAs em felídeos selvagens avançam a cada dia, mas também são um desafio a ser enfrentado, pois a aplicação efetiva de técnicas como fertilização *in vitro* (FIV), transferência de embriões (TE) e injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) nos planos de manejo reprodutivo, visando a manutenção das espécies *ex situ*, são consideradas inexistentes. As únicas TRAs utilizadas atualmente pelos planos de manejo reprodutivo são a criopreservação de sêmen e a inseminação artificial (IA). Contudo, mesmo que as inseminações artificiais sejam utilizadas com sucesso em algumas espécies, ainda necessitam de conhecimento e adaptação das metodologias para que todas as espécies sejam beneficiadas com sua inclusão nos planos de manejo reprodutivo (PAZ, 2023).

Locais como zoológicos e criadouros funcionam como a principal fonte de coleta das amostras e dados desses animais, sendo possível utilizar de maneira mais dinâmica os recursos genéticos, além de se obter coletas de informações que podem incrementar no desenvolvimento das biotécnicas reprodutivas que futuramente possam ser aplicadas nestas mesmas espécies, porém em seu habitat natural (COMIZZOLI, 2015; SILVA, 2019).

2.1 AVALIAÇÃO REPRODUTIVA

Primeiramente, a avaliação reprodutiva precisa ser realizada. Nela, incluem exames clínico, ginecológico ou andrológico, além do histórico do animal e o manejo adotado. Outras abordagens englobam métodos não invasivos, como a monitoração de esteroides fecais e a ultrassonografia (PAZ, 2013).

A averiguação de estrógenos e progestinas fecais é geralmente utilizada na caracterização e monitoração do ciclo estral, e no diagnóstico de gestação em fêmeas. Já nos machos, esse diagnóstico tem sido utilizado na caracterização de possível sazonalidade pela

dosagem hormonal de andrógenos, e para a verificação da correlação de volume testicular, produção espermática e quantidade de metabolitos e testosterona (PAZ, 2013).

O esfregaço de células vaginais pode ser obtido pela escova ginecológica ou *swabs* com auxílio de espéculo, feito a partir da porção média da vagina e depositado, sob lâminas histológicas. Estudos a respeito das espécies selvagens de felídeos neotropicais e africanos demonstraram que essa técnica é útil para o estudo do ciclo estral e diagnóstico do estro (CUBAS et. al., 2014). O uso da ultrassonografia tem sido utilizado no diagnóstico de gestação de diversas espécies selvagens e no diagnóstico de patologias de trato reprodutor da fêmea, como piometras e neoplasias por exemplo (PAZ, 2013).

2.2 COLETA DE SÊMEN E INDUÇÃO DA ATIVIDADE OVARIANA

Para a coleta de sêmen, a eletroejaculação é uma das técnicas mais utilizadas em onças-pintadas. Porém, com anos de estudo, a colheita farmacológica de sêmen por cateter uretral passou a ser aplicada nesses animais. Essa última se baseia no fato dos agentes adrenérgicos atuarem em adrenoreceptores determinando a contração dos vasos deferentes, determinando então uma alta concentração de espermatozoides liberados na uretra, após a administração de fármacos como a detomidina, medetomidina e dexmedetomidina, tornando possível a colheita de sêmen por sonda uretral. Devido ao fato de ser uma técnica simples e rápida, também pode ser utilizada associada à eletroejaculação, sendo uma alternativa para aprimorar a colheita de sêmen em espécies selvagens com interesse reprodutivo (PAZ, 2023).

Primeiramente, a sondagem do animal é realizada, e após a retirada do cateter, uma série de eletrochoques é aplicada. Tal ação proporciona um “esgotamento” do sêmen no animal em um único evento anestésico, gerando um volume maior de sêmen e otimizando material fundamental para aplicação das TRAs. Além disso, esse “esgotamento” também é positivamente útil quando aplicado em animais de vida livre, onde capturas sistematizadas para obtenção deste material é inviável (Paz, 2020). Contudo, ao comparar a técnica de colheita farmacológica por cateterismo uretral associada a eletroejaculação em onças-pintadas, a eletroejaculação se mostra mais eficiente na realização de inseminação artificial em tempo fixo com sêmen a fresco devido ao fato de expor resultados superiores com relação a motilidade, vigor e número de espermatozoides móveis totais (PAZ, 2022).

Quanto a indução da atividade ovariana em felinos, o protocolo utilizando eCG e pLH indica produção de ovulação estável e maior sucesso de prenhez em gatas domésticas, sem que haja formação excessiva de folículos secundários ou corpos lúteos (CL), típicos do protocolo eCG/hCG (Conforti et al., 2013). Este mesmo protocolo se mostrou eficaz ao determinar gestações em jaguatiricas (*Leopardus pardalis*) e tigres (*Panthera tigris*) (Lambo et al., 2014). Da mesma forma, o tratamento antecipado com progestina oral para anular a atividade ovariana antes da administração das gonadotropinas exógenas, permite a inseminação artificial em tempo fixo com sucesso de prenhez em diversas espécies de felinos selvagens (SWANSON, 2018).

A resposta ovariana de onças-pintadas tratadas com o protocolo de supressão ovariana utilizando progestina oral, e logo após havendo aplicação de gonadotropinas exógenas (eCG-pLH), com ajuste de doses e intervalos, foi eficiente ao promover ovulações consistentes. Apesar de ainda serem necessários estudos adicionais a respeito de protocolos utilizando a progestina oral em onças-pintadas, principalmente sobre a dosagem utilizada, observou-se que seu uso pode diminuir a atividade folicular ovariana endógena durante sua administração e prevenir ou reduzir a hiperestimulação ovariana após o tratamento eCG-pLH, resultando em concentrações de estrógeno próximos a um perfil natural se comparado a não utilização da progestina oral (VANSANDT et al., 2019).

Portanto, uma maior taxa ovulatória foi constatada em onças-pintadas que receberam progestina oral antes do tratamento com gonadotropinas exógenas, analisada pela videolaparoscopia, indicando que o uso de progestina oral mostra alto potencial para melhorar protocolos de IA em felídeos selvagens (PAZ, 2022).

2.3 TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Nos felídeos, os cornos uterinos podem ser facilmente acessados e avaliados com relação à espessura, consistência e coloração. Além deles, os ovários também são estruturas facilmente acessadas e podem ser avaliadas quanto à contagem e caracterização de folículos pré-ovulatórios e corpos lúteos pós-ovulatórios. Assim, a inseminação artificial por laparoscopia pode ser efetuada pela deposição de sêmen no interior do corno uterino (IA-IU) ou deposição do sêmen na tuba uterina (IA-IT) (SWANSON, 2012; CONFORTI et al., 2013).

Cumprindo os protocolos de estimulação ovariana, as fêmeas devem ser inseminadas no período de 24 a 48 horas após a administração de hCG ou pLH, após a ovulação. Nas duas técnicas, a deposição do sêmen deve corresponder ao ovário que possui corpo lúteo pós-ovulatório. Para a inseminação artificial, primeiramente é realizada uma avaliação do corno uterino e uma contagem de folículos e corpus lúteos, após a introdução do endoscópio rígido. Uma pinça de apreensão é introduzida com o objetivo de auxiliar na elevação do corno uterino próximo a parede abdominal para realizar o depósito do sêmen na IA-IU ou para auxiliar na abertura da fimbria para que o sêmen seja deixado no óstio da tuba uterina na IA-IT (PAZ, 2023).

É importante ressaltar que o local onde sêmen em inseminações artificiais em felinos é depositado, pode ser um indicativo para seu sucesso, visto que o sêmen desses animais é inferior quando comparado a outras espécies. Assim, a desvantagem da técnica IA-IU, seria a necessidade de um maior número de espermatozoides viáveis para conseguir bons resultados. Assim, a IA-IT tem se mostrado a técnica de eleição para felinos de maneira geral, por mostrar resultados satisfatórios mesmo se houver um baixo número de espermatozoides viáveis, sendo superior à outras técnicas de inseminação artificial por proporcionar prenhez e filhotes em várias espécies de felinos selvagens (LAMBO et al., 2014; SWANSON, 2018).

2.4 TÉCNICA REPRODUTIVA DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN

Os protocolos de criopreservação se baseiam nas seguintes etapas: resfriamento da amostra espermática, cujo a temperatura é reduzida de maneira gradual; seguida da desidratação celular pela interação dos gametas com os crioprotetores penetrantes; congelamento pela submissão do material a vapores de nitrogênio líquido (-196 °C); e descongelamento, com a retomada dos espermatozoides a temperatura ambiente para utilizações futuras (MARTINS e JUSTINO, 2015).

Os estudos essenciais relacionados a melhora dos procedimentos de criopreservação, devem incluir as características do sêmen e dos espermatozoides de cada espécie, e como eles reagem ao processo de congelamento e descongelamento, ao estresse osmótico, aos diferentes crioprotetores e diluentes que serão utilizados para melhores resultados. Sendo também

necessário avaliar quais meios de congelamento podem ser usados, e como a formação de cristais de gelo (e seus possíveis danos) afeta os espermatozoides nesse processo de congelamento (MOREIRA, 2017).

Na criopreservação de sêmen em onças-pintadas, o método mais utilizado é o TRIS – gema de ovo, em conjunto com o glicerol como crioprotetor (LUVONI et al., 2003, ERDMAN et al., 2020). Porém, a gema de ovo tem como desvantagem a variação quanto a sua composição e maiores chances de contaminação bacteriana, além da dificuldade no processo de se obter licenças para exportação, consequentemente, levando a sua substituição por meios alternativos como a lecitina de soja (VICK et al., 2011. VANSANDT et al., 2019). As técnicas tradicionais de criopreservação têm sido utilizadas, no entanto, a vitrificação de espermatozoides de felinos silvestres tem sido desenvolvida por ser uma alternativa simples e prática que permite a criopreservação do espermatozoide sem que haja a necessidade da curva de resfriamento, facilitando o processo de congelamento de sêmen na própria instituição (O'BRIEN et al., 2019).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do assunto abordado no trabalho, nota-se a relevância da preservação da espécie da onça-pintada, já que, é uma espécie classificada como ameaçada de extinção, culminando assim, com o auxílio das pesquisas em relação à espécie juntamente com as biotécnicas reprodutivas. Assim, para que haja ampliação do uso dessas biotécnicas é necessário também conhecimento acerca do nicho ecológico, fisiologia e anatomia da espécie afim de aumentar a taxa de concepção em cativeiro, atentando-se à diversificação genética da *Panthera onca*.

REFERÊNCIAS

- BARRUETA, A.F.M. (2012). **Reproducción de felinos silvestres.** <http://exzooticos.blogspot.mx/>
- COMIZZOLI, P. **Biotechnologies for wildlife fertility preservation.** Animal Frontiers, v.5, n.1, p.73-78, 2015.
- CONFORTI VA, Bateman HL, Schook MW, Newsom J, Lyons LA, Grahn RA, Deddens JA, Swanson,WF. **Laparoscopic oviductal artificial insemination improves pregnancy success in exogenous gonadotropin-treated domestic cats as a model for endangered felids.** Biol. Reprod., v.89, p.1–9, 2013.
- DECO-SOUZA, Thyara *et al.* In situ and ex situ jaguar (*Panthera onca*) reproduction: What do we have so far? . **Theriogenology Wild**, Campo Grande - Mato Grosso do Sul, ano 2024, v. 4, p. 1 – 9, 5 jan. 2024.
- FELDMAN, E. C. ; NELSON R. W. ; **Feline Reproduction in Canine and Feline endocrinology and reproduction**, Segunda edição. Philadelphia W. B. Saunders Co., p. 785, 1996.
- GILBERT, F.S. **Biología del Desarrollo**, Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana. HERRERA, B. J. A., LANDA, G. S. S., GONZÁLEZ, S. J. A., CAMARILLO, F. R., & GUAL, S.F. (2017). **Métodos para la contención de felinos silvestres en cautiverio.** No 55. CBS. Universidad Autónoma Metropolitana-X. ISBN: 978-607-28-1297-0, 2005.
- HERRICK, J. R., CAMPBELL, M., LEVENS, G. **In vitro fertilization and sperm cryopreservation in the black-footed cat (*Felis nigripes*) and sand cat (*Felis margarita*).** Biology of Reproduction, 82(3), 552-562. Doi: 10.1095/biolreprod.109.081034, 2010.
- HOLSTEIN, F.A., SCHULZE, W., DAVIDOFF, M. **Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment.** Reproductive Biology Endocrinology, 1(107), 1-16, 2003.
- JOHNSTON, S. D.; KUTRITZ, M. V. R. ; OLSON, P. N. S. **The Feline estrous cycle.** In canine and feline theriogenology. Saunders Company, 2001.

LAMBO CA, Bateman HL, Swanson WF. **Application of laparoscopic oviductal artificial insemination for conservation management of brazilian ocelots and amur tigers.** Reprod Fertil Dev, v.26, p.116, 2014.

MARTINS, M.I.M.; JUSTINO, R.C. **Criopreservação espermática em felinos: estado da arte.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.39, n.1, p.129-135, 2015.

MAYOR, P., LOPEZ, C. **Atlas de Anatomía de especies silvestres de la Amazonía.** <http://atlasanatomiaamazonia.uab.cat>, 2010.

MELODY E. ROELKE, JANICE S. MATENSON, STEPHEN J. O'BRIEN. **As consequências da redução demográfica e do esgotamento genético na ameaçada pantera da Flórida,** Biologia Atual. Volume 3. Edição 6. Páginas 340-350. ISSN 0960-9822, [https://doi.org/10.1016/0960-9822\(93\)90197V](https://doi.org/10.1016/0960-9822(93)90197V), 1993.

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

O'BRIEN E, Estes MC, Castaño C, Toledano-Díaz A, Bóveda P, MartínezFresneda L, López Sebastian A, Martinez-Nevado E, Guerra R, Fernandez ML, Vega RS, Guillamon FG, Santiago Moreno JS. **Effectiveness of ultra-rapid cryopreservation of sperm from endangered species, examined by morphometric means.** Theriogenology, v.129, p.160–7, 2019.

PAZ RCR. **Aplicação de técnicas de reprodução assistida visando a conservação da onça-pintada (*Panthera onca*).** Tese (Livre Docência), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, 2022.

PAZ, Regina Celia Rodrigues da *et al.* **Colheita de sêmen e inseminação artificial em onças-pintadas (*Panthera onca*).** Revista Brasil Reprodução Animal, Belo Horizonte, Minas Gerais, ed. 47, ano 2023, n. 2, p. 140-143, 24 abr. 2023.

PAZ, Regina Célia Rodrigues da. **Reprodução de felinos domésticos e selvagens.** Cuiabá: UFMT, 2013.

PAZ, Regina Celia Rodrigues da. **Reprodução *ex situ* de felinos silvestres e seus desafios.** Revista Brasil Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 47, n. 2, p. 144-147, jun. 2023.

SILVA, H.V.R. **Biotécnicas reprodutivas em carnívoros neotropicais.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.42, n.3-4, p.141-145, 2019.

STORNELLI, M. **Evaluación de semen en el gato doméstico: análisis de rutina y metodologías especiales felino.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 1 (1), 135–140, 2007.

SWANSON WF. **Laparoscopic oviductal embryo transfer and artificial insemination in felids: Challenges, strategies and successes.** Reprod Dom Anim, v.47, n.6, p.136-140, 2012.

SWANSON WF. **Practical application of laparoscopic oviductal artificial insemination for the propagation of domestic cats and wild felids.** Reprod Fertil Dev, v.31, n.1, p.27, 2018.

VANSANDT LM, Adania CH, Yanai PR, Paulino JS, Paz RCR, Bateman HL, Swanson WF. **Ovarian Synchronization, Ovulation Induction, and Successful Artificial Insemination in the Jaguar (*Panthera Onca*).** In: 51st Annual Conference of the American Association of Zoo Veterinarians. St. Louis, Missouri. Poster presentation, 2019.

VIAU, P., CATTARUZZI R. D., SOBRAL, G., SIQUEIRA MARTINS, G., GONÇALVES MORATO, R., & ALVARENGA DE OLIVEIRA, C. **Puberty and oestral cycle length in captive female jaguars *Panthera onca*.** Conservation Physiology, 8, 1–10, 2020.

WILDT, D. E., BROWN, J. L., & SWASON, W.F. **Reproduction in cats.** En E. Knobil, J. Neill (eds.). **Encyclopedia of reproduction.** (pp. 497-510). New York, USA. Academic Press, 1998.

YESCAS, L. A., e RAMÍRES, S.F. **Etología Reproductiva del Jaguar en Cautiverio en el Parque de Conservación de Vida Silvestre Yaguar Xoo.** En M.A. Aquino, V. De la Cruz, M.A. Briones-Salas, V.A. Sánchez, M.A. Huerta (Eds.). **El Jaguar en Oaxaca** (pp. 11-129). Oaxaca de Juárez, México. Gobierno del Estado de Oaxaca. Secretaría de las Culturas y las Artes de Oaxaca, 2013.