



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**AMANDA GABRIELE ALBUQUERQUE OLIVEIRA**

**COLETA SEMINAL DE CASCAVEL (*CROTALLUS DURISSUS CASCAVELLA*  
WAGNER IN SPIX, 1824) MANTIDA EM CATIVEIRO**

**AREIA**

**2024**

**AMANDA GABRIELE ALBUQUERQUE OLIVEIRA**

**COLETA SEMINAL DE CASCAVEL (*CROTALLUS DURISSUS CASCAVELLA*  
WAGNER IN SPIX, 1824) MANTIDA EM CATIVEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso em Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

**Orientador:** Prof. Abraão Ribeiro Barbosa.

**AREIA**

**2024**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

O48c Oliveira, Amanda Gabriele Albuquerque.  
Coleta seminal de cascavel (*Crotallus durissus*  
*cascavella* Wagner in spix, 1824) mantida em cativeiro /  
Amanda Gabriele Albuquerque Oliveira. - Areia:UFPB/CCA,  
2024.  
29 f. : il.

Orientação: Abraão Ribeiro Barbosa.  
TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Ciências Biológicas. 2. Reprodução animal. 3.  
Herpetologia. 4. Conservação. I. Barbosa, Abraão  
Ribeiro. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 573(02)

AMANDA GABRIELE ALBUQUERQUE OLIVEIRA

COLETA SEMINAL DE CASCAVEL (*CROTALLUS DURISSUS CASCAVELLA*  
WAGNER IN SPIX, 1824) MANTIDA EM CATIVEIRO

Trabalho de Conclusão de Curso em  
Bacharelado Ciências Biológicas da  
Universidade Federal da Paraíba, como  
requisito parcial à obtenção do título de  
Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 23 de agosto de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente  
gov.br ABRAÃO RIBEIRO BARBOSA  
Date: 23/08/2024 13:57:09-0300  
Verifique em <https://validar.itu.gov.br>

---

Prof. Abraão Ribeiro Barbosa (Orientador)  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

*Cristiane M. Furtado*

Prof. Dra. Cristiane Miranda Furtado  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

*Walter Henrique Cruz Pequeno*  
Prof. Msc. Walter Henrique Cruz Pequeno  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Dedico este trabalho, todo e qualquer sucesso meu, aos meus pais Adriana e Alisson que sob muito sol, me fizeram chegar até aqui na sombra.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida, por toda a proteção, por todos os momentos vividos, por ter me presenteado com a minha vocação e ter me dado a possibilidade de descobri-la.

A minha mãe, Adriana Albuquerque, por ser meu porto seguro, por apoiar desde o primeiro minuto a minha vida acadêmica, por sempre me incentivar e acreditar em mim até quando eu mesma não acreditei, por ter sido uma mulher exemplar na qual eu me espelho todos os dias, por todo o amor e acalento dado sempre.

Ao meu pai, Alisson Magno, por ser forte, por ter se desdobrado num momento tão difícil pra que eu vivesse meu sonho, por apoiar minhas ideias malucas e sonhar elas junto comigo, por me incentivar e me fazer querer ser melhor, por todo o amor e calma dada sempre.

Aos meus irmãos, Alisson Filho e Maria Alice, que me fazem querer ser melhor todos os dias, que me motivam a ser uma irmã mais velha na qual possam se orgulhar e se inspirar, por serem minha motivação para nunca desistir.

Aos meus avós Terezinha Albuquerque (*in memoriam*), Aluísio Oliveira e Marineide Silva, por todo o amor e cuidado.

Aos meus familiares que mesmo sem compreender a paixão por cobras, sempre me aplaudiram e comemoraram minhas conquistas.

A toda a turma do Zoológico Museu Vivo Repteis da Caatinga, em especial Silvaney Medeiros (meu chefinho), por ter me apresentado o incrível mundo da herpetologia, por não medir esforços para ajudar com o que fosse necessário, por sempre falar mais que o homem da cobra e me encher de ideias, por ter feito eu ser uma profissional mais completa.

Ao meu orientador e coordenador, Abraão Ribeiro, por todo o ensinamento, por ter me acolhido quando eu estava sem rumo.

A minha primeira orientadora, Luciana Rola, por ter dado comigo o pontapé inicial para a minha pesquisa.

A minha colega de quarto, Thais Barros, por ter se tornado família ao longo desses anos, por ter vivido comigo a experiência maluca de morar sozinha em outra cidade e ter sido casa.

Aos amigos que a Universidade me presenteou, Shayanne, Karolainy, Ester, Wanessa, Lian, Lázaro Matheus, Melissa, Gabriela, João Antônio e tantos outros por terem me dado as melhores risadas e os momentos mais divertidos, por terem me ouvido, por todos os conselhos, por acreditarem em mim, por terem permanecido e feito desses anos de graduação um pouco mais leves.

A minha amiga e irmã do coração, Isabele Rodrigues, por sempre me botar pra cima, por torcer por mim quando eu não consigo, por ficar imensamente feliz a cada conquista minha, por ser meu Norte quando eu achei que estava perdida, por ter me ajudado mais que ninguém na conclusão desta etapa, por ser o meu coração quando eu só sei ser razão, por ficar.

Ao meu trio favorito, Jessica Hasna, Rodrigo Carvalho e Thalia Figueiredo (as fífis), por estarem presentes em toda e cada lembrança minha desde que iniciei na graduação, por terem me dado rugas de tanto rir, por terem sido minha família de coração quando a de sangue estava distante, por ainda serem minha família apesar de tudo.

As minhas queridas amigas do MSL (Movimento dos Sem Laboratório) que me adotaram sem nem pensar duas vezes, a Mirta pelos ensinamentos, a Milena pela descontração.

A Matheus Henrique, por toda ajuda desde o início das minhas coletas, por ser a melhor duplinha pra viajar de moto para Puxinanã, que além de mentor, foi coorientador, professor e um amigo sem igual, serei eternamente grata por tudo que fez e faz por mim.

A toda a equipe do LECAS (Laboratório de Ecologia e Conservação de Animais Selvagens) por partilharem a paixão por selvagens comigo e sempre faze-la aumentar.

A minha família EJC, por todo o carinho e apoio, nada tenho a temer pois sei que tenho vocês comigo amarelinhos.

A todos que passaram pela minha vida nesses anos e me marcaram de alguma forma me fazendo ser quem sou hoje.

Sou imensamente grata por ter tido a sorte de esbarrar com pessoas tão incríveis, a todos meu muitíssimo obrigada, vocês terão para sempre um lugar no meu coração.

“O correr da vida embrulha tudo.  
A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e  
daí afrouxa, sossega e depois desinquieta.  
O que ela quer da gente é coragem.”

Guimarães Rosa

## RESUMO

A cascavel (*Crotalus durissus*) apresenta ampla distribuição no território brasileiro, e encontra-se em status de conservação pouco preocupante, no entanto, com o aumento expansão humana esses animais apresentam uma redução significativa do número de indivíduos, fazendo-se necessário meios que possam auxiliar na conservação da espécie, como por exemplo, o desenvolvimento de técnicas de coleta de material reprodutivo para a aplicação de biotecnologias da reprodução, por isso, este trabalho teve como objetivo, coletar e avaliar o sêmen de um macho de cascavel mantido em cativeiro. O animal utilizado neste experimento, é um macho idoso, mantido no Museu Vivo dos Répteis da Caatinga, localizado na cidade de Puxinanã, na Paraíba, para a coleta o animal foi contido em um tubo de acrílico, em seguida foi realizada a aplicação de anestesia local na região cloacal, após o anestésico realizar o relaxamento da cloaca do animal, foi realizado a massagem interdigital no terço final do animal, a afim de estimular a exposição do hemipênis e a ejaculação, com o hemipênis exposto, um tubo capilar foi inserido na região da papila genital e o sêmen foi aspirado, após coletado, o material seminal foi avaliado para as características de coloração, aspecto, odor, vigor, motilidade, concentração, pH, morfologia e defeitos espermáticos. O sêmen apresentou uma coloração marfim, e aspecto cremoso e viscoso, possui odor *sui generis*. Quanto as características microscópicas, o sêmen apresentou parâmetros semelhantes com outras espécies. Portanto, este exemplar se encontra devidamente apto a integrar plantéis de programas de conservação da espécie, visando assim o aumento do número desses animais na natureza.

**Palavras-Chave:** reprodução animal; herpetologia; conservação.

## ABSTRACT

The rattlesnake (*Crotalus durissus*) has a wide distribution in Brazilian territory, and is in a conservation status of little concern, however, with the increase in human expansion these animals present a significant reduction in the number of individuals, making it necessary to use means that can assist in the conservation of the species, such as the development of techniques for collecting reproductive material for the application of reproductive biotechnology, therefore, this work aimed to collect and evaluate the semen of a male rattlesnake kept in captivity. The animal used in this experiment is an elderly male, kept at the Museu Vivo dos Répteis da Caatinga, located in the city of Puxinanã, in Paraíba. For collection, the animal was contained in an acrylic tube, followed by anesthesia. site in the cloacal region, after the anesthetic relaxed the animal's cloaca, interdigital massage was performed on the final third of the animal, in order to stimulate the exposure of the hemipenis and ejaculation, with the hemipenis exposed, a capillary tube was inserted into the region of the genital papilla and the semen was aspirated, after collected, the seminal material was evaluated for the characteristics of color, appearance, odor, vigor, motility, concentration, pH, morphology and sperm defects. The semen had an ivory color, and a creamy and viscous appearance, with a sui generis odor. Regarding microscopic characteristics, the semen presented similar parameters to other species. Therefore, this specimen is duly capable of being part of species conservation program squads, thus aiming to increase the number of these animals in the wild.

**Keywords:** animal reproduction; herpetology; conservation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Hemipênis de Cascavel ( <i>Crotalus durissus</i> ) .....	18
Figura 2 - Cascavel ( <i>Crotalus durissus cascavella</i> ) .....	19
Figura 3 - Aplicação de lidocaína .....	20
Figura 4 - Massagem no terço final do animal.....	21
Figura 5 - Coleta de material seminal em Cascavel ( <i>Crotalus durissus cascavella</i> ).	21
Figura 6 - Amostra de sêmen de Cascavel ( <i>C. durissus cascavella</i> ) .....	23

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características microscópicas do sêmen da <i>C. durissus cascavell</i> .....	24
Tabela 2 - Porcentagens de células normais e células defeituosas do sêmen da cascavel.....	24

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PBS Solução salina tamponada com fosfato

SPTZ Espermatozoides

## LISTA DE SÍMBOLOS

% Porcentagem

Kg Quilogramas

ml Mililitro

$\mu$ L Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>15</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1 Espécie</b> .....	<b>16</b>
<b>3.2 Conservação em cativeiro</b> .....	<b>16</b>
<b>3.3 Reprodução</b> .....	<b>17</b>
<b>3.4 Biotecnologia aplicada a animais selvagens</b> .....	<b>19</b>
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>21</b>
<b>4.1 Local</b> .....	<b>21</b>
<b>4.2 Animal</b> .....	<b>21</b>
<b>4.3 Coleta seminal</b> .....	<b>21</b>
<b>4.4 As análises</b> .....	<b>23</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>25</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>28</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os répteis estão inseridos no Filo Chordata e na Classe Reptilia, que se divide na Ordem Crocodylia, Ordem Chelonia e na Ordem Squamata, em que estão incluídos anfisbenas, lagartos e serpentes. Segundo Greene, existem cerca de 2.700 espécies de serpentes espalhadas por todo o mundo, com exceção das regiões polares e das áreas de grande altitude.

As cascavéis pertencem a Família Viperidae, a Subfamília Crotalinae e ao Gênero *Crotalus*, é característica dos animais dessa família a presença de um órgão termorreceptor de cada lado da cabeça, chamado de fosseta loreal (MARINHO, 2007 *apud*. CAMPBELL & LAMAR, 2004). *Crotalus durissus* é a única espécie de cascavel que ocorre no Brasil (MEDEIROS et al., 2024). Normalmente optam e preferem campos abertos, como as áreas de caatinga e cerrado, ainda assim, a cascavel pode ser encontrada em quase todo o território brasileiro, como áreas arenosas, desérticas, florestas e zonas úmidas (MEDEIROS et al., 2024 *apud*. PLACE & ABRAMSON, 2004).

A crescente degradação do hábitat das cascavéis acarreta inúmeras consequências, não só para essas serpentes, mas também para o ecossistema como um todo, que necessita desses animais para a manutenção de seu equilíbrio (MEDEIROS et al., 2004). Além da importância ambiental, as cascavéis possuem grande importância médica devido a grande frequência e gravidade dos acidentes ofídicos causados por elas (ZACARIOTTI, 2004).

A pesquisa sobre os aspectos reprodutivos de serpentes, em específico a cascavel, é de grande importância, pois fornece informações que podem ser aplicadas para aprimorar os métodos de reprodução em cativeiro, seja ela com a finalidade da conservação das espécies ou com o propósito de pesquisas farmacológicas e produção de soro antiofídico (ZACARIOTTI, 2004).

## 2 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi coletar e avaliar o sêmen de cascavel (*Crotalus durissus cascavella*) mantido em cativeiro quanto a coloração, aspecto, odor, vigor, motilidade, concentração, pH, morfologia e defeitos espermáticos. Com finalidade conservacionista e de preservação da espécie.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Espécie

As Cascavéis pertencem a Sub-Ordem Ophidea, Família Vipridae, Subfamília Crotalinae, Gênero *Crotalus*, com 30 espécies. Dentro desse gênero, apenas a *Crotalus durissus* tem ocorrência em grande parte da América do Sul, todas as demais espécies são encontradas no extremo norte da América do Sul, América Central e Estados Unidos (MARINHO, 2007). A Cascavel (*Crotalus durissus cascavella*) é uma das 5 espécies que ocorrem no Brasil. Uma de suas características mais marcante é a presença do guizo ou chocalho na extremidade de sua cauda. A coloração de seu corpo apresenta um fundo castanho claro, com tonalidades variadas, no qual se acentua uma fileira de manchas dorsais em forma de losangos marrons escuros, margeadas de branco ou amarelo (MARINHO, 2007 apud. CAMPBELL & LAMAR, 2004).

As serpentes podem expressar atividade diurna e noturna, havendo espécies que são ativas nos dois períodos a depender de suas particularidades. Essa atividade pode estar associada com a procura de alimento e de parceiros para o acasalamento, e com a termorregulação (MARINHO, 2007). Marinho (2007) apud. Salomão *et al.*, (1995) apontam que a Cascavel apresenta atividade majoritariamente noturna de acordo com seus hábitos predatórios. Esses animais desempenham um papel crucial no equilíbrio do ecossistema no geral, controlando populações de presas, quando adultas se alimentando principalmente de pequenos mamíferos e aves; quando jovens de lagartos e anfíbios (MEDEIROS *et al.*, 2024 apud. NOGUEIRA *et al.*, 2003).

#### 3.2 Conservação em cativeiro

Com a expansão humana e a redução das áreas naturais das mais diversas espécies, o encontro de seres humanos e animais selvagens torna-se cada vez comum nos dias atuais, em sua maioria estes encontros podem ocasionar acidentes para ambas as partes, e nesses casos, alguns animais perdem a capacidade e a possibilidade de retornar ao seu hábitat natural, por diversos fatores, fazendo com que manter esses animais em cativeiro seja uma das possibilidades para a sobrevivência

dos mesmos e da sua espécie. Felipe *et al.* (2014), aponta que os zoológicos atuais passaram pela mudança de percepção sobre a importância dos animais para o planeta, fazendo com que os mesmos priorizem uma melhor qualidade de vida para os animais residentes, além de trabalhar com esses animais para a educação ambiental e consequentemente conservação da fauna.

A conservação *ex situ*, ou seja, fora do ambiente natural da espécie, vem se tornando cada vez mais útil para a sobrevivência e perpetuação da espécie, visto que, o mesmo por meio de projetos de pesquisas, desenvolve e melhora técnicas de reprodução, garantindo assim a manutenção de material e diversidade genética, educação ambiental e além de capacitar pessoas para atuar no manejo de animais selvagens, a fim de criar ações que ajudem a longo prazo na conservação animal (FELIPPE, *et al.*, 2014).

Os zoológicos têm experimentado mudanças significativas em sua estrutura, impulsionadas tanto por questões legislativas quanto pela influência da sociedade. Essas instituições estão cada vez mais focadas no bem-estar animal e na conservação da fauna e flora, adotando pilares como a pesquisa científica, a educação ambiental e a conservação de maneira integrada com a comunidade, dessa forma os zoológicos buscam desmistificar a ideia de que são "prisões" onde os animais ficam enjaulados e sem qualidade de vida. Em sua maioria os animais mantidos sob cuidados humanos, apresentam características que os impedem de retornar a vida livre, pois, são animais provenientes de atropelamentos, caça, ataques de cães e apreensões do tráfico, apesar disso, este fato não os impedem de auxiliarem na perpetuação de suas respectivas espécies, visto que, os mesmos são utilizados em pesquisas que podem contribuir para entender as necessidades e especificidades comportamentais, fisiológicas e genéticas de suas populações para que possam ser aplicada na sobrevivência *in situ* da sua espécie (PEREIRA *et al.*, 2021).

### **3.3 Reprodução**

As serpentes são animais que não apresentam dimorfismo sexual evidente, logo, não é possível se distinguir as diferenças entre machos e fêmeas, uma vez que, seus órgãos reprodutivos se encontram na cavidade celomática, devido ao formato alongado e do corpo os órgãos sexuais desses animais apresentam características únicas, onde o órgão copulatório do macho se denomina-se hemipênis e fica recolhido na base da cauda, e apresenta formato duplo, além de possuir tamanhos e aparências

variadas entre as espécies, os testículos encontram-se na região abdominal entre o rim e a vesícula biliar, sendo o testículo direito mais caudal, que o esquerdo, as fêmeas apresentam duas vaginas ligadas a ovidutos longos, e assim como os testículos, os ovários encontram-se entre o rim e a vesícula biliar (GREGO *et al.*, 2014).

Grego e colaboradores (2014) apontam que as serpentes apresentam duas formas de reprodução, a viviparidade, onde os filhotes se desenvolvem internamente da fêmea e a oviparidade, onde os filhotes se desenvolvem no meio externo, sendo que em ambas as formas deve ocorrer a fecundação interna, o tipo de reprodução varia com a espécie e o ambiente onde vivem, no entanto, a maioria das serpentes são ovíparas.

O período reprodutivo das serpentes, seja cópula ou nascimentos é variável entre as espécies e é influenciado por diversos fatores biológicos, como fotoperíodo, umidade, temperatura e disponibilidade de alimento, o número de filhotes também é variável e está estritamente relacionado ao tamanho da fêmea, outro ponto a se considerar sobre a reprodução das serpentes é ausência de cuidado parental com os filhotes e os ovos, assim que nascem ou são chocados, as fêmeas abandonam a ninhada. Antes da época reprodutiva, tanto machos, como fêmeas passam por um processo de aquisição de alimento, no entanto, o gasto energético para machos na época reprodutiva não é tão evidente como machos, já que as fêmeas necessitam de um aumento da gordura corporal para dar início ao processo de vitelogênese (produção do vitelo) e consequente desenvolvimento e crescimento folicular, durante a vitelogênese, as fêmeas liberam substâncias químicas, feromônios, que por sua vez atraem os machos, em algumas espécies os machos chegam a disputar por meio de dança-combate pela fêmea, o macho vencedor dessa forma acasala com a fêmea, em algumas espécies como os boídeos, os machos apresentam esporões que são utilizados como estímulo tátil para fêmea, testando assim a receptividade da mesma, outra característica das serpentes é a capacidade das fêmeas de armazenar internamente os espermatozoides, para que possam ser utilizados em outras épocas reprodutivas (GREGO *et al.*, 2014; ZACARIOTTI, 2014; ZACARIOTTI *et al.*, 2010).



**Figura 1.** Hemipênis de Cascavel (*Crotalus durissus*).

**Foto.** Anne Ketyla (2024)

### **3.4 Biotecnologia aplicada a animais selvagens**

Com o aumento da população humana e expansão das cidades, os animais encontram-se cada vez mais isolados em regiões menores, o que ocasiona no aumento da endogamia (Cruzamento entre indivíduos aparentados), e conseqüentemente redução da variabilidade genética, fazendo-se necessário o desenvolvimento de meios que auxiliem na conservação das espécies, uma das ferramentas que pode auxiliar neste quesito é o uso de biotecnologias da reprodução (BUENO *et al.*, 2008).

Para Pizzutto *et al.* 2021, o uso de biotecnologias para é de suma importância para garantir a sobrevivência das espécies selvagens, e os mesmos destacam que as populações que vivem em condições *ex situ* são um ponto importante para os programas de conservação, levando-se em consideração que o ponto principal da conservação de animais selvagens é garantir a manutenção da diversidade genética, com a finalidade de garantir a sobrevivência e permanência de determinadas populações. Uma das principais formas de manutenção de material biológico é a formação de bancos de germoplasma, que podem ser utilizados para armazenar por tempo indeterminado diversos tipos de amostras, como pele, sangue, ou material reprodutivo como sêmen, óvulos e embriões, portanto, a associação de biotecnologias da reprodução com os bancos de germoplasma, torna-se uma grande aliada na conservação da fauna (BUENO *et al.*, 2008).

Apesar das biotecnologias apresentarem uma solução para eminente crise da biodiversidade, sua aplicação ainda enfrente alguns desafios, pois diferente das espécies domésticas, as espécie selvagens ainda apresentam lacunas no que se correspondem a características comportamentais e fisiológicas, onde essas mesmas características podem ser influenciadas por fatores externos, fazendo-se necessário o desenvolvimento de estudos e aprimoramento das biotécnicas aplicadas aos animais selvagens (PIZZUTO *et al.*, 2021).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Local

A coleta do material seminal foi realizada no Zoológico do Museu Vivo dos Répteis da Caatinga, que se encontra localizado no município de Puxinanã, no estado da Paraíba. As análises microscópicas do sêmen foram realizadas no Laboratório de Ecologia e Conservação de Animais Selvagens (LECAS UFPB/CCA) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, que fica localizado na cidade de Areia, na Paraíba.

### 4.2 Animal

O animal era pertencente ao plantel do Museu Vivo dos répteis da Caatinga, o indivíduo pertencia a espécie *Crotalus durissus cascavella*, popularmente conhecida como Cascavel, o animal vivia no Museu a aproximadamente 20 anos, sendo assim, considerado um animal idoso. A cascavel era mantida em um recinto 2mx3m que continha ambientação semelhante ao ambiente natural, com iluminação natural. Sua alimentação era de ratos já abatidos.



**Figura 2.** Cascavel (*Crotalus durissus cascavella*).

**Foto.** Matheus Henrique (2024)

### 4.3 Coleta Seminal

O método de coleta escolhido foi o de Mengden *et al.* (1980) e que foi adaptado por Zacariotti e colaboradores (2007), sendo este método acessível e pouco oneroso, o mesmo consistiu na massagem da região ventral do terço final da serpente, em

associação com lidocaína a 1% sem vaso constritor, sendo a dosagem recomendada de 15 mg/kg, e foi administrada por médico veterinário durante atividades de rotina clínica, de forma subcutânea em quatro pontos ao redor da cloaca, a fim de causar o relaxamento da região cloacal.

Para a realização da coleta, primeiramente o animal foi pesado para que fosse realizado o cálculo referente a aplicação da lidocaína, após a pesagem, a cascavel foi contida em tubo de acrílico transparente, a fim de garantir a segurança do animal e dos pesquisadores envolvidos, após a contenção, foi realizada a limpeza da região cloacal com álcool a 70% e feita a administração da lidocaína, em seguida, o animal foi colocado em uma caixa plástica onde ficou por 15 minutos para que o anestésico fizesse efeito. Após a dessensibilização local, o animal foi contido novamente e iniciou-se as massagens no terço final do animal para que o sêmen fosse expelido. O material seminal foi coletado diretamente da papila genital utilizando-se de tubo capilar. Após colheita, o sêmen foi diluído em Solução salina tamponada com fosfato (PBS) (1:200).



**Figura 3.** Administração de lidocaína.

**Foto.** Matheus Henrique (2024)



**Figura 4.** Massagem no terço final do animal.

**Foto.** Anne Ketyla (2024)



**Figura 5.** Coleta de material seminal em Cascavel (*Crotalus durissus cascavella*)

**Foto.** Anne Ketyla (2024)

#### 4.4 As análises

As análises seminais foram divididas em três categorias, sendo elas, físicas, químicas e microscópicas.

Entre as análises físicas foram realizadas a avaliação de coloração, de aspecto e de odor, que foram realizadas pela observação direta do material coletado no capilar.

A análise química consistiu na mensuração do pH, que foi realizada com o uso de fitas de pH.

Quanto as análises microscópicas foram realizadas em duas partes, sendo a primeira parte com os espermatozoides vivos, sendo as análises de vigor e motilidade e a segunda parte com os espermatozoides mortos, onde foram realizadas as análises de concentração e morfologia.

Quanto à motilidade, foi realizada a diluição seminal em meio de solução salina tamponada com fosfato, após a diluição, foi-se depositado 10µl deste material entre lâmina e lamínula para ser avaliado em microscópio óptico, para o valor da motilidade foi-se utilizada uma escala de 0 a 100%.

O vigor foi observado na mesma lâmina e lamínula da análise de motilidade, onde foi avaliado o movimento progressivo dos espermatozoides, sendo avaliado numa escala de zero (Ausência de movimento) a cinco (Vigoroso e veloz).

Já para a concentração uma alíquota de 10µl de sêmen *in natura* foi diluído em formol salina (1:200), e em seguida foi depositado na câmara de Neubauer, e realizada a contagem com o uso de microscópio óptico, para obter o valor da concentração utilizou-se a seguinte formula:

$$\text{Concentração} = \frac{A}{\frac{1}{b} \times \frac{1}{N} \times \frac{1}{10}} \times 10^3$$

A representa o número de espermatozoides contados, B o fator de diluição, N representa o número de quadrados contados e  $\frac{1}{10}$  representa a altura da câmara.

Para a morfologia foi avaliada em 200 células em câmara úmida com o uso de microscópio, as anormalidades espermáticas foram classificadas na porcentagem de células normais, defeitos maiores e defeitos menores.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sêmen da serpente analisada apresentou uma coloração marfim, um aspecto cremoso e consistência viscosa, dificultando a coleta do material seminal, que foi possível apenas por meio de um capilar (Figura 6). O sêmen coletado também possuía um odor forte aparentando ser *suis generis*, característico da espécie, que segundo Silva (2022) esse odor pode estar relacionado diretamente com os feromônios do animal.

Em relação ao pH, o sêmen do animal utilizado nesta pesquisa apresentou um valor de 6, classificando-o como ácido. Atualmente, não existem dados disponíveis sobre o pH seminal de serpentes, o que torna a informação deste estudo cientificamente relevante e potencialmente útil para o desenvolvimento de meios de diluição seminal.



**Figura 6.** Amostra de sêmen de Cascavel (*C. durissus cascavella*).

**Foto.** Matheus Henrique (2024)

**Tabela 1.** Características microscópicas do sêmen da *C. durissus cascavella*.

<b>Espécie</b>	<b>Vigor</b>	<b>Motilidade (%)</b>	<b>Concentração (Sptz/ml)</b>
<i>Crotalus durissus cascavella</i>	4	85%	350.000.000,00 sptz/ml

O animal apresentou vigor 4 e motilidade progressiva de 85%, valores que são semelhantes aos observados no estudo de Silva (2022), que também envolveu

serpentes mantidas no mesmo local, o que deve ser considerado. A concentração foi semelhante à de outras espécies, sendo extremamente elevada, o que dificulta tanto a pipetagem quanto a diluição (ZACARIOTTI *et al.*, 2014).

Os espermatozoides da Cascavel apresentaram morfologia filiforme, sendo observável ao microscópio óptico: a cabeça, peça intermediária e cauda bem definidas. Tal formato é similar entre outras espécies de répteis como aponta SILVA (2022), SILVA (2018) e ZACARIOTTI *et al.*, 2014. Quanto aos defeitos espermáticos, podem ser conferidos na tabela abaixo:

**Tabela 2.** Porcentagens de células normais e células defeituosas do sêmen da cascavel.

<b>Células normais</b>	<b>Cauda dobrada</b>	<b>Cauda Fortemente dobrada</b>	<b>Gota citoplasmática distal</b>	<b>Gota citoplasmática proximal</b>	<b>Defeitos de cabeça</b>
72,50%	4%	5%	4%	1,40%	14%

O número de espermatozoides normais foi superior, ao de células defeituosas, sendo estes defeitos por sua vez, mais encontrados na cabeça que consiste na alteração do formato ou ausência, os defeitos espermáticos tendem a ser encontrado no sêmen de várias espécies e podem ser ocasionados pelos mais diversos fatores, sendo estes defeitos de reduzir (defeitos menores) ou inviabilizar a fecundação (defeitos maiores) (DE ARRUDA *et al.*, 2015; GAGGINI, 2018).

O animal em questão apresentava um certo grau de senilidade, com aproximadamente 20 anos, ultrapassando assim a expectativa de vida média dessa espécie, posto que, o BUTANTAN (2021) aponta que as mesmas tendem a ter uma vida média de 15 anos, raramente ultrapassando essa idade, além disso, o animal estava com o seu escore corporal abaixo do ideal. No entanto, a condição corporal não influenciou na qualidade dos espermatozoides, fazendo com que este macho pudesse ser utilizado em programas de conservação, após um período de tempo, o animal veio a óbito, no entanto, seu material reprodutivo foi preservado, fazendo com que a genética desse animal não fosse perdida.

## 6 CONCLUSÃO

Apesar da idade avançada e do baixo escore corporal, que pode ser resultante da senilidade deste animal, o mesmo se encontrava apto para integrar projetos de conservação, e tratando-se da coleta seminal que consiste na associação da massagem no terço final ventral do animal com a aplicação de lidocaína se mostrou um método eficaz para a coleta seminal dessa espécie de serpente. Por fim, as informações provenientes da pesquisa com esse animal, poderá servir como base para desenvolver e melhorar as biotécnicas reprodutivas para a conservação das mais diversas espécies de serpentes.

## REFERÊNCIAS

- ALENCAR, Laura Rodrigues Vieira de. **Diversificação de espécies e da morfologia em serpentes da família Viperidae: padrões e processos**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- DE ARRUDA, Rubens Paes et al. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. 2015. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.47-60, jan./mar. 2015.
- DE MEDEIROS, Marcelo Henrique Torres et al. *Crotalus durissus* Linnaeus, 1758 em São Paulo, Brasil: um estudo sobre distribuição, hábitat e desafios de preservação. **Acta Biológica Catarinense**, v. 11, n. 2, p. 20-28, 2024.
- FELIPPE, Paulo Anselmo Nunes; ADANIA, Cristina Harumi. Conservação e Bem-estar Animal. *In*: CUBAS, Zalmir Silvino; SILVA, Jean Carlos R; CATÃO-DIAS, José L. **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Roca, 2014. v. 2, cap. 1, p. 2-9. ISBN 978-85-277-2649-8. Disponível em: [https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/978-85-277-2649-8/epubcfi/6/28\[%3Bvnd.vst.idref%3Dchapter001\]!/4](https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/978-85-277-2649-8/epubcfi/6/28[%3Bvnd.vst.idref%3Dchapter001]!/4). Acesso em: 21 ago. 2024.
- GAGGINI, Thais Schwarz et al. Alta ocorrência de gota citoplasmática distal altera parâmetros relacionados ao movimento espermático de reprodutores suínos. **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 4, 2018.
- GREGO, Kathleen Fernandes et al. Squamata (Serpentes) *In*: CUBAS, Zalmir Silvino; SILVA, Jean Carlos R; CATÃO-DIAS, José L. **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Roca, 2014. v. 2, cap. 15, p. 186-218. ISBN 978-85-277-2649-8. Disponível em: [https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/978-85-277-2649-8/epubcfi/6/28\[%3Bvnd.vst.idref%3Dchapter001\]!/4](https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/978-85-277-2649-8/epubcfi/6/28[%3Bvnd.vst.idref%3Dchapter001]!/4). Acesso em: 21 ago. 2024.
- MARINHO, Camila Eduardo. **A cascavel *Crotalus durissus terrificus* (Viperidae: Crotalinae) como modelo experimental para o estudo do envolvimento de peptidases na sobrevida de espermatozoides**. 2007. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- PEREIRA, Leticia Cacho Pimenta et al. Importância do Zoológico na conservação das espécies. **Pubvet**, [S. l.], v. 15, n. 12, p. e999, 2021. DOI: 10.31533/pubvet.v15n12a999.1-11. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/436>. Acesso em: 22 ago. 2024.
- SILVA, Kalena Barros da. **Avaliação de técnicas de diluição, preservação seminal e inseminação artificial em jararacas-ilhoas (*Bothrops insularis*)**. 2018. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, University of São Paulo, São Paulo, 2018. doi:10.11606/T.10.2019.tde-22022019-102711. Acesso em: 2024-08-22.

SILVA, Matheus Henrique Andrade da. Estudo preliminar para colheita e avaliação seminal de serpentes mantidas em cativeiro. 2022.

ZACARIOTTI, Rogério Loesch. **Avaliação reprodutiva e congelamento de sêmen em serpentes**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ZACARIOTTI, Rogério Loesch; GUIMARÃES, M. A. B. V. Aplicações da biotecnologia na reprodução de serpentes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 2, p. 98-104, 2010.

ZACARIOTTI, Rogério Loesch. Reprodução e Obstetrícia em Répteis *In*: CUBAS, Zalmir Silvino; SILVA, Jean Carlos R; CATÃO-DIAS, José L. **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Roca, 2014. v. 2, cap. 119, p. 2228-2234. ISBN 978-85-277-2649-8. Disponível em: [https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/978-85-277-2649-8/epubcfi/6/28\[%3Bvnd.vst.idref%3Dchapter001\]!/4](https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/978-85-277-2649-8/epubcfi/6/28[%3Bvnd.vst.idref%3Dchapter001]!/4). Acesso em: 21 ago. 2024.

ZACARIOTTI, Rogério Loesch et al. **Semen collection and evaluation in free-ranging Brazilian rattlesnakes (Crotalus durissus terrificus)**. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2007