

Desafios na andrologia de espécies selvagens, com ênfase em felídeos *Challenges in wild species andrology, with an emphasis on felids*

Nei Moreira^{1*}

¹Departamento de Biociências, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Palotina, PR, Brasil

Resumo

Na prática, compreender a anatomia reprodutiva, a fisiologia e o comportamento do macho, da espécie selvagem com a qual se está trabalhando, é essencial para a avaliação andrológica e para a reprodução bem sucedida. Neste artigo damos especial ênfase à andrologia de felídeos selvagens. O profissional pode ser chamado para solucionar problemas quando a espécie apresenta dificuldade de reprodução em cativeiro e/ou encontra-se ameaçada de extinção. Baixas taxas de fertilidade e de prenhez podem estar associadas ao macho, com influências do estresse pelo cativeiro, nutrição inadequada e erros de manejo reprodutivo. E também, as instituições que mantêm essas espécies sob cuidado humano poderão ser auxiliadas no manejo reprodutivo com o exame andrológico periódico, que pode ser acompanhado de criopreservação de sêmen para formação ou manutenção de um banco de reserva genômica. Como componente de um programa holístico de conservação, incluindo os estudos de ecologia de campo, esta estratégia fortalece ainda mais o vínculo entre as populações *ex situ* e *in situ*.

Palavras-chave: Exame andrológico; Animais silvestres; Sêmen; Eletroejaculação.

Abstract

In practice, understanding the male reproductive anatomy, physiology and the behavior, of the wild species that you are working, is essential for andrological assessment and successful reproduction. In this article we give special emphasis to the andrology of wild felids. The professional can be called to solve problems when the species has difficulty reproducing in captivity and/or is threatened with extinction. Low fertility and pregnancy rates may be associated with the male, with influences from stress in captivity, inadequate nutrition and reproductive management errors. Also, the institutions that keep these species under human care can be assisted in reproductive management with periodic andrological examination, which can be accompanied by semen cryopreservation for the formation or maintenance of a genome resource bank. As a component of a holistic conservation program, including field ecology studies, this strategy further strengthens the link between ex situ and in situ populations.

Keywords: Andrological examination; Wild animals; Semen; Electroejaculation.

Introdução

Um grande desafio na andrologia de animais selvagens é a grande diversidade de espécies, muitas vezes com parâmetros andrológicos ainda não descritos. No caso de espécies ainda pouco conhecidas, buscamos na literatura informações sobre a espécie doméstica filogeneticamente mais próxima como, por exemplo, é o caso do equino para a anta-brasileira (*Tapirus terrestris*; Moreira et al., 2016). Para a realização do exame andrológico, na maioria das vezes é necessária a contenção farmacológica, que já deve ser realizada levando-se em consideração o protocolo anestésico que tem apresentado melhores resultados para a obtenção de sêmen, seja na coleta por eletroejaculação ou na coleta farmacológica. Conforme nossa experiência, protocolos anestésicos que conferem uma sedação profunda geralmente proporcionam melhor qualidade da coleta, com menor probabilidade de contaminação por urina na eletroejaculação.

Excepcionalmente é realizada a coleta de sêmen por vagina artificial, pois há a necessidade de condicionamento dos machos, o que é bem mais difícil no caso de animais selvagens, além do risco potencial para quem realiza a coleta. O objetivo deste artigo é fornecer uma visão geral da andrologia em animais selvagens, com ênfase em felídeos e desafios associados, com base na experiência do autor, principalmente com felídeos e anta-brasileira (*Tapirus terrestris*; Moreira et al., 2016) e na literatura. Serão discutidos aspectos como puberdade, anatomia reprodutiva e práticas de manejo reprodutivo para aumentar a fertilidade; além de técnicas de coleta de sêmen, como também opções de protocolos de sedação/anestesia.

*Correspondência: neimoreira@ufpr.br

Recebido: 28 de abril de 2023

Aceito: 08 de maio de 2023

Na prática, compreender a anatomia reprodutiva normal e a fisiologia do macho da espécie é essencial para a avaliação andrológica e para a reprodução bem sucedida. O profissional pode ser chamado ou buscado para solucionar problemas quando a(s) espécie(s) apresentam dificuldade de reprodução em cativeiro e/ou encontram-se ameaçadas de extinção. Baixas taxas de fertilidade e de prenhez podem estar associadas neste caso ao macho, com influências do estresse pelo cativeiro, nutrição inadequada e erros de manejo reprodutivo. Conhecendo os parâmetros fisiológicos para a espécie em questão, assim como o comportamento reprodutivo em vida livre, o profissional estará mais bem preparado para avaliar casos de sub ou infertilidade.

Também as instituições que mantêm essas espécies sob cuidado humano poderão ser auxiliadas no manejo reprodutivo com o exame andrológico periódico, que pode ser acompanhado de criopreservação de sêmen para formação ou manutenção de um banco de reserva genômica. Dessa forma, os machos poderão ser avaliados antes do acasalamento ou do transporte entre instituições para fins reprodutivos, podendo dessa forma, evitar perda de tempo, estresse e risco de veiculação de doenças com machos estéreis ou subférteis. Sob o ponto de vista conservacionista, a seleção e a utilização de machos com maior potencial reprodutivo poderão produzir descendentes com maior aptidão reprodutiva, evitando-se também o uso de reprodutores com defeitos que podem ter origem genética, como por exemplo criptorquidas ou portadores de hérnia umbilical ou escrotal. Machos com melhor qualidade de sêmen também poderão ser selecionados para a formação de bancos de reserva genômica, com melhores resultados pós-descongelamento. Na prática, a coleta de sêmen por eletroejaculação geralmente é mais difícil em canídeos do que em felídeos, pelo fato da contaminação por urina ser mais frequente, como ocorre no lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) e no cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), mas fornece informações importantes na comparação entre machos (Paz, 2015; Assumpção et al., 2017).

Anatomia

Um diagrama da anatomia reprodutiva de um macho felídeo pode ser visto na Figura 1.

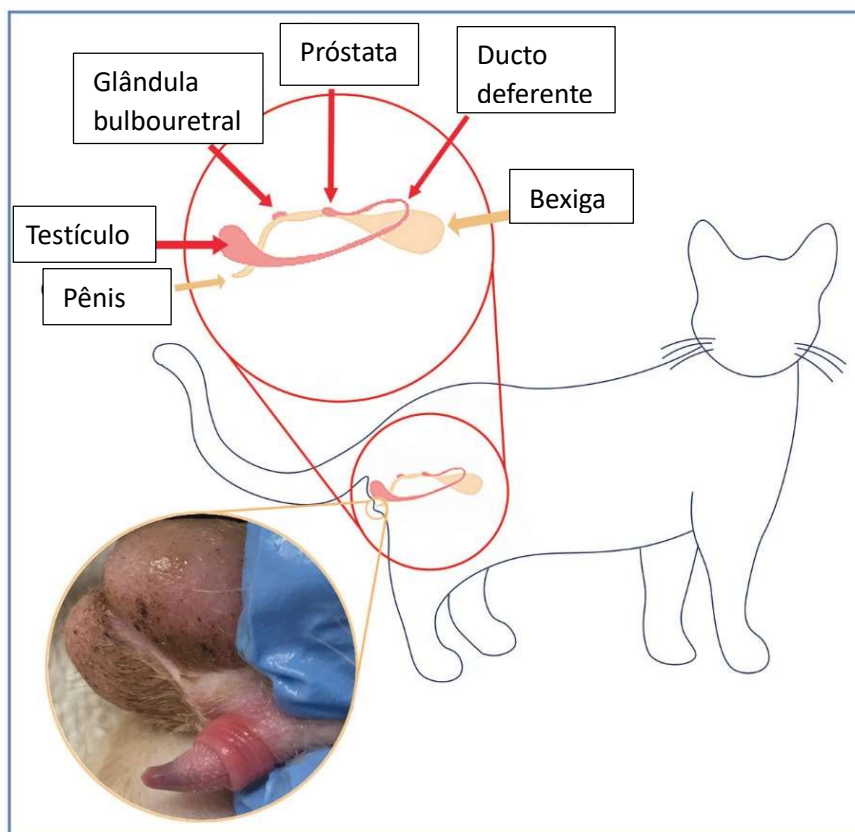


Figura 1. Anatomia reprodutiva do gato doméstico. Fonte: Johnson, 2022.

Pênis

O pênis em felídeos é localizado ventralmente aos testículos. Antes da puberdade, o pênis não pode ser completamente exposto devido a uma adesão da dobra balanoprepucial, o que impede a completa exposição do pênis (Figura 2), o que não deve ser confundido com fimose. Com o aumento da concentração de andrógenos, que acontece a partir da puberdade, podem aparecer espículas penianas, com formatos distintos conforme as espécies de felídeos, sendo semelhantes às do gato doméstico em gato-do-mato-do-sul (*Leopardus guttulus*), mais arredondadas ou ausentes em onça-pintada (*Panthera onca*) e ausentes no gato-maracajá (*Leopardus wiedii*) e no leopardo-nebuloso (*Neofelis nebulosa*). Como as espículas são andrógeno-dependentes, após a orquiectomia, elas geralmente regredem dentro de cinco a seis semanas.



Figura 2. Adesão da dobra balanoprepucial em gato-maracajá (*Leopardus wiedii*). Fonte: arquivo pessoal.

De forma geral, o ciclo espermatogênico em felídeos dura aproximadamente 60 dias, que envolve desde a formação espermática no testículo, liberação e trânsito no epidídimo.

Glândulas sexuais acessórias

Os machos de felídeos têm apenas a próstata e as glândulas bulbouretrais como glândulas sexuais acessórias.

Coleta de sêmen

A coleta de sêmen é importante para avaliar potencial de fertilidade de um reprodutor. Pode ser usada antes da utilização dos machos dentro de um programa reprodutivo (avaliação andrológica) e também para formação de um banco de reserva genômica e/ou obtenção de sêmen para procedimentos de inseminação artificial com sêmen fresco, resfriado ou congelado; ou para procedimentos de produção *in vitro* de embriões (PIV).

Vagina artificial

É o método que permite obter a melhor amostra de sêmen, sem necessidade de contenção farmacológica, porém não pode ser usado em animais que tragam potencial risco ao ser humano, como grandes felídeos. A principal desvantagem é que o macho precisa ser treinado e permitir a manipulação por um coletor, o que na maioria das vezes não é possível com felídeos selvagens.

Eletroejaculação

É o método mais consistente, porém exige equipamento específico e requer anestesia geral. Um protocolo anestésico possível inclui dexmedetomidina e cetamina via intramuscular (IM). Deve-se ter cuidado para que o protocolo anestésico ou a inserção muito profunda do transdutor (*probe*) retal não

induzam a contaminação por urina das amostras.

Ejaculação farmacológica e cateterização uretral

Em pequenos felídeos, após sedação profunda com injeção intramuscular (IM) de medetomidina (0,13-0,14 mg/kg) ou dexmedetomidina (0,065–0,070 mg/kg); ou a associação de cetamina (0,5 mg/kg) com medetomidina (0,05 mg/kg), um cateter (*tom cat*) é inserido na uretra, o sêmen entra no cateter por capilaridade, e o cateter é removido. Após a remoção, o cateter deve ser lavado com um meio extensor e a amostra analisada. Esse método, por utilizar fármacos específicos, é também chamado de ejaculação farmacológica, e parece apresentar melhores resultados quando acompanhado de massagem retal, que pode ser feita com o próprio *probe* do eletroejaculador. O uso desses α_2 -agonistas pode produzir efeitos cardiovasculares negativos típicos (bradicardia, bradiarritmias, redução no débito cardíaco, alteração na pressão arterial), o que contraindica seu uso em pacientes idosos ou cardiopatas (Sinclair, 2003). A pré-medicação com metadona (0,2 mg/kg) seguida por uma dose mais baixa IM de dexmedetomidina (5 μ g/kg) e indução intravenosa com propofol produziu amostras de sêmen com maior volume em gatos domésticos (Pisu et al., 2017).

Esses fármacos α_2 -agonistas ligam-se, portanto, a α_2 -adrenorreceptores, que são uma subclassificação distinta dos receptores α -adrenérgicos, localizados no sistema nervoso central (SNC) e em, virtualmente, todo o tecido periférico (Vainio, 1997). Os α_2 -adrenorreceptores são compostos de numerosos subtipos: α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} , e α_{2D} , com base em estudos farmacológicos clássicos e de biologia molecular (Vainio, 1997; Ruffolo Jr et al., 1994; Scheinin et al., 1994). A diversidade nos subtipos de α_2 -adrenorreceptores, densidade e localização nas diversas espécies têm levado a consideráveis diferenças nas dosagens de fármacos e efeitos gerais dos α_2 -agonistas nas várias espécies (Sinclair, 2003). Como fármacos, como a medetomidina (Jedruch et al., 1989), que estimulam α -adrenorreceptores aumentam a contratilidade do músculo liso do útero (Rexroad & Barb, 1978), da mesma forma podem aumentar a contratilidade das células musculares lisas da cauda do epidídimo, do ducto deferente e das glândulas sexuais acessórias, promovendo dessa forma o transporte do sêmen para a uretra e possibilitando sua coleta por meio da cateterização uretral.

Avaliação do ejaculado

Em felídeos, logo após a coleta, o volume exato do ejaculado é medido em microlitros, usando uma micropipeta. A amostra pode então ser diluída ao menos 1:1-1:4 imediatamente (de forma lenta, adicionando gotas e misturando) com um meio adequado. Isso reduz o risco da utilização de toda a amostra apenas para a avaliação inicial. Como meio diluidor pode ser utilizado o Ham's F-10.

A motilidade espermática pode ser avaliada de forma subjetiva ou fazendo uma análise espermática assistida por computador (CASA) com equipamento calibrado para a espécie. Avalia-se também a concentração e o vigor.

A avaliação da morfologia espermática é uma parte importante da avaliação seminal. A teratospermia tem sido definida como mais do que 60% de espermatozoides morfologicamente anormais (Wildt, 1994) e é relativamente comum entre várias espécies da família Felidae. Tem sido observada com maior frequência em pequenas populações endogâmicas (Pukazhenthli et al., 2006), como consequência da redução na diversidade genética. Resultados demonstraram que espermatozoides de doadores teratospermicos apresentam comprometimento na capacidade de sofrer capacitação e reação acrossômica, penetrar na zona pelúcida, fertilizar oócitos coespecíficos e sobreviver à criopreservação (Pukazhenthli et al., 2006).

Comportamento reprodutivo

Vários casos de comportamento reprodutivo inadequado, incluindo casos de machos que agridem e até matam fêmeas que são colocadas no mesmo recinto para acasalar, têm sido relacionados com a criação, logo após o nascimento, sem contato com coespecíficos. Casos de machos que apresentam deficiência de libido também têm sido comunicados.

Puberdade e senescência reprodutiva

Como as espículas são andrógeno-dependentes, o desenvolvimento das mesmas significa que o macho atingiu a puberdade, porém não garante que o mesmo esteja maduro sexualmente. Não podemos

também esquecer das espécies que não apresentam espículas penianas, mesmo após a puberdade, como o gato-maracajá (*Leopardus wiedii*) e o leopardo-nebuloso (*Neofelis nebulosa*). Outras espécies, como a onça-pintada (*Panthera onca*), podem apresentar poucas ou nenhuma espícula peniana, porém apresentar comportamento copulatório (Jorge-Neto et al., 2018 e 2023) e produção de sêmen de alta qualidade (Araújo et al., 2021). As fêmeas de onça-pintada parecem apresentar também ovulações espontâneas com maior facilidade, ou sob estímulos menos intensos (como apenas a presença próxima de machos (Jorge-Neto et al., 2020) e mais frequentes do que outras espécies de felídeos, como o gato-do-mato-do-sul (*Leopardus guttulus*, antigo *Leopardus tigrinus*, Moreira et al., 2001). Esses achados nos fazem lançar a sugestão de classificar os felídeos, não classicamente em espécies que apresentam ovulação induzida ou espontânea, mas sim em espécies que podem ovular espontaneamente com menor ou maior frequência.

Muitos gatos domésticos, o que talvez possa ser usado como referência para felídeos selvagens, podem produzir sêmen adequado e permanecer férteis até 10-12 anos de idade ou mais velhos, embora gatos mais velhos tenham uma maior tendência de desenvolver degeneração testicular relacionada à idade (Johnson, 2022). Como, de forma geral, os animais têm uma maior sobrevivência (vivem mais) nos zoológicos do que na natureza, e essas instituições têm um espaço limitado (com mais espaço para poucos animais), muitas vezes esses recintos ficam ocupados com animais que não reproduzem mais.

Exame andrológico

O exame andrológico é recomendado uma vez por ano para avaliar quaisquer alterações que, eventualmente, ocorram no macho. Também é indicado na seleção de machos que entrarão para um programa reprodutivo, ou no caso de problemas de fertilidade, em que as causas se dividem entre machos e fêmeas. Especialmente no caso de felídeos, em que a maioria das espécies apresenta ovulação induzida pelo coito, um macho subfértil ou estéril (como é o caso de machos vasectomizados) irá causar ovulação, mas não levará à prenhez. A fêmea então entrará em uma pseudogestação, que dura de 1/3 a 2/3 do período normal de gestação para a espécie. Se isso ocorrer repetidamente, a fêmea será exposta a períodos prolongados de progesterona elevada não acompanhada de gestação, o que aumenta o risco de hiperplasia endometrial e ainda reduz sua fertilidade. Temos que pensar nisso no caso, por exemplo, de manter leões vasectomizados junto com leas, como muitas vezes podemos ver em zoológicos. Como a juba é testosterona dependente, utiliza-se a vasectomia como método contraceptivo, porém não podemos esquecer do risco acima mencionado da hiperplasia endometrial.

Uma sugestão de etapas sequenciais para o exame andrológico ou exame de sanidade reprodutiva é apresentada no Quadro 1.

Quadro 1. Sugestão de passos para o exame andrológico em felídeos selvagens.

Contenção	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Física ➤ Farmacológica
Coleta de sangue	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Hemograma completo ➤ Dosagem de testosterona sérica
Exame clínico	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Exame físico geral ➤ Exame da genitália, incluindo testículos (palpação e medida), pênis e prepúcio
Ultrassom	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Avaliação ultrassonográfica de ambos os testículos
Coleta de sêmen	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Eletroejaculação ou ➤ Cateterização uretral
Avaliação do sêmen	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Volume total ➤ Motilidade e vigor ➤ Concentração espermática ➤ Número total de espermatozoides ➤ Morfologia espermática

Recintos e alojamento

Recintos adequados, com enriquecimento ambiental (troncos, plantas, gramínea) local para esconderijo, afastamento do público e de ruídos excessivos, diminuem o estresse do cativo e com isso favorecem melhor qualidade seminal. Machos alojados em grupo geralmente apresentam pior qualidade seminal, principalmente no caso de espécies de hábitos solitários na natureza. Devemos, portanto, procurar

mimetizar em cativeiro (*ex situ*) as condições em que esses animais vivem em vida livre (*in situ*).

Nutrição

A suplementação mineral e vitamínica mostra-se como de fundamental importância como complementação à dieta carnívora que esses felídeos recebem sob cuidado humano, interferindo positivamente na qualidade seminal. Os suplementos podem conter carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, microminerais e vitaminas. O oferecimento de presas inteiras abatidas parece favorecer a higiene dental, além de fornecer vitaminas do complexo B (presentes no fígado), cálcio e fósforo (ossos), proteína, ácidos graxos e estimular o comportamento natural.

Variabilidade genética

Exemplos de perda de variabilidade genética associada à teratospermia foram descritos no guepardo (*Acinonyx jubatus*; Pukazhenti et al., 2006) e no puma-da-Flórida (*Puma concolor coryi*; Roelke et al., 1993).

O coeficiente de endogamia ou de *inbreeding* (COI) pode ser determinado para qualquer casal reprodutor em potencial. O COI é um número entre 0 e 1, onde 0 indica que os animais não têm ancestrais em comum e 1 representa o acasalamento de irmãos próprios. O COI pode também ser expresso como uma porcentagem (0-100%). Esse parâmetro mostra o quão geneticamente próximos os pais são um do outro e, portanto, o que se espera dos descendentes. Um COI <0,05 (5%) é o ideal. Um COI >0,1 (10%) tem sido associado a características genéticas negativas e decréscimo da viabilidade dos filhotes. O COI pode ser facilmente obtido usando calculadores disponibilizados *on line* (Labgenvet, 2023).

A infertilidade no macho pode ser classificada da seguinte forma:

- **Primária** – o macho nunca produziu filhotes;
- **Secundária** – perda de fertilidade após ao menos a produção de um filhote.

- **Problemas na cópula** – falta de libido ou inabilidade física para acasalar;
- **Problemas de fertilização** – sem produção espermática e/ou baixa qualidade espermática.

As causas de libido inexistente ou fraca podem ser vistas a seguir (adaptado de Prochowska & Nizański, 2022):

Hormonal (baixo nível de testosterona)

- Hipoplasia testicular/degeneração/atrofia (congenita ou adquirida);
- Uso de contraceptivo (efeito prolongado);
- Idade (machos imaturos);
- Transtorno do desenvolvimento sexual;
- Genética (baixa libido hereditária).

Física

- Transtornos ortopédicos e/ou musculares agudos ou crônicos;
- Problemas genitais (fimose, anel de pelos peniano, frênulo persistente, orquite, etc.);
- Doenças agudas ou crônicas de outros sistemas (ex. respiratória ou gastrointestinal) ou problemas orais, especialmente com dor e/ou febre;
- Fraqueza geral;
- Desnutrição e/ou obesidade.

Comportamental

- Rejeição da parceira;
- Falta de interesse na fêmea que compartilha o mesmo recinto há bastante tempo;
- “Experiência negativa” relacionada a uma fêmea extremamente agressiva ou lugar (ex. algo que amedrontou o macho durante um acasalamento anterior);
- Estresse (transporte, social ou problemas de hierarquia com outros indivíduos, alterações no ambiente, estresse da visita, ruídos excessivos, etc.).

Considerações Finais

Muitas das espécies selvagens enfrentam ameaças crescentes a sua sobrevivência na natureza. Para algumas espécies, as populações mantidas em cativeiro podem fornecer uma reserva para futura reintrodução. Como as populações em cativeiro geralmente são derivadas de pequenos tamanhos de fundadores e estão sujeitas à perda de variabilidade genética ao longo do tempo, a infusão periódica de alelos fundadores é necessária para evitar as terríveis consequências da endogamia. A criopreservação de sêmen de animais em vida livre oferece uma opção viável para a introdução de novos genes em populações cativas, sem a remoção de animais da natureza. A aplicação efetiva dessa estratégia requer protocolos seguros de contenção física e química, juntamente com métodos adequados de coleta, processamento e criopreservação de sêmen em condições de campo. Como componente de um programa holístico de conservação, incluindo os estudos de ecologia de campo, esta estratégia fortalece ainda mais o vínculo entre as populações *ex situ* e *in situ* (Swanson et al., 2007).

Como desafios na andrologia de espécies selvagens temos a obtenção de protocolos que proporcionem bons resultados na coleta e criopreservação do sêmen. Porém, mesmo dentro de uma mesma família, esses protocolos podem ser espécie-específicos, o que exige estudos nas mais diversas espécies, além das diferenças individuais normalmente encontradas.

Além disso, em animais silvestres, sob o ponto de vista conservacionista, a questão não é apenas reproduzir, mas sim quais indivíduos reproduzir, com o objetivo de manter a máxima diversidade genética. A manutenção de um adequado registro genealógico (feito pelos *studbooks*) é essencial para o cálculo do coeficiente de endogamia e devida orientação do plano de manejo reprodutivo.

Referências

- Araújo G, Jorge-Neto P, Csermak Jr AC, Pizzutto CS, Luczinski TC, Deco-Souza T.** Avanços na andrologia de grandes felinos neotropicais. *Rev Bras Reprod Anim.* v.45(4), p.219-228, 2021.
- Assumpção TI, Santos ALQ, Canelo EA.** Biometria testicular e características morfológicas dos espermatozoides de cachorros-do-mato *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 (Carnivora, Canidae). *Rev Bras Ciência Vet.* v.24, p.99-103, 2017.
- Jedruch J, Gajewski Z, Ratajska-Michalczak K.** Uterine motor responses to an α_2 -adrenergic agonist medetomidine hydrochloride in the bitches during the end of gestation and the post-partum period. *Acta Vet Scand.* v.85, p.129-134, 1989.
- Johnson AK.** Normal feline reproduction: The tom. *Journal of Feline Medicine and Surgery.* v.24(3), p.212-220, 2022.
- Jorge-Neto PN, Pizzutto CS, Araújo GR, Deco-Souza T, Silva LC, Salomão JA Jr, Baldassarre H.** Copulatory behavior of the Jaguar *Panthera onca* (Mammalia: Carnivora: Felidae). *J Threat Taxa.* v.10(15), p.12933-12939, 2018.
- Jorge-Neto PN, Luczinski TC, Araújo GR, Salomão JÁ Jr.** Can jaguar (*Panthera onca*) ovulate without copulation? *Theriogenology.* v.147, p.57-61, 2020.
- Jorge-Neto PN, Luczinski TC, Araújo GR, Requena LA, Jesus RS, Souza LSB, Zanella R, Costa e Silva EV, Deco-Souza T, Pizzutto CS.** Cryopreservation of jaguar (*Panthera onca*) sperm cells using different cryoprotectants and different thawing temperatures. *Anim Reprod.* v.20(1):e20230009, 2023.
- Labgenvet.** Inbreeding calculator. <http://labgenvet.ca/en/inbreeding-calculator/> (acessado em 24 de abril de 2023), 2023.
- Moreira N, Cubas ZS, Oliveira MJ, Moraes W, Mangini PR, Santos RC, Fontana C, Blank MH, Cabanas MAA, Chaparro FJS, Lopez ETOC, Pukazhenth, BS.** Características do sêmen de anta-brasileira (*Tapirus terrestris*) obtido por eletroejaculação. In: XXI Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2015, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 2015. p.274. Resumo.
- Moreira N, Monteiro-Filho EL, Moraes W, Swanson WF, Graham LH, Pasquali OL, Gomes ML, Morais RN, Wildt DE, Brown JL.** Reproductive steroid hormones and ovarian activity in felids of the *Leopardus* genus. *Zoo Biol.* v.20(2), p.103-116, 2001.
- Paz RCR.** Reprodução assistida em canídeos e procionídeos neotropicais. *Rev Bras Reprod Anim.* v.39, p.77-82, 2015.
- Pisu MC, Ponzio P, Rovella C, Baravalle M, Veronesi MC.** Usefulness of an injectable anaesthetic protocol for semen collection through urethral catheterisation in domestic cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery.* v.19, p.1087-1090, 2017.
- Prochowska S, Nizański W.** Infertility in Toms: Clinical approach, experiences and challenges. *Journal of Feline Medicine and Surgery.* v.24(9), p.837-846, 2022.

- Pukazhenti BS, Neubauer K, Jewgenow K, Howard J, Wildt DE.** The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and its wild relatives. *Theriogenology*. v.66, p.112–121, 2006.
- Rexroad CE, Barb CR.** Contractile response of the uterus of the estrous ewe to adrenergic stimulation. *Biol Reprod*. v.19, p.297–305, 1978.
- Roelke ME, Martenson JS, O'Brien SJ.** The consequences of demographic reduction and genetic depletion in the endangered Florida panther. *Curr Biol*; v.3, p.340–350, 1993.
- Ruffolo Jr RR, Stadel JM, Hieble JP.** α -Adrenoceptors: recent developments. *Med Res Rev*. v.14, p.229–270, 1994.
- Scheinin M, Lomasney JW, Hayden-Hixson DM.** Distribution of α_2 -adrenergic receptor subtype gene expression in rat brain. *Mol Brain Res*.v.21, p.133–149, 1994.
- Sinclair MD.** A review of the physiological effects of alpha2-agonists related to the clinical use of medetomidine in small animal practice. *Can Vet J*. v.44(11), p.885-897, 2003.
- Swanson WF, Magarey GM, Herrick JR.** Sperm cryopreservation in endangered felids: developing linkage of in situ-ex situ populations. *Soc Reprod Fertil Suppl*. v.65, p.417-432, 2007.
- Vainio O.** α_2 -Adrenergic agonists and antagonists. *6th Proc Int Cong Vet Anaes*. p.75–77, 1997.
- Wildt DE.** Endangered species spermatozoa: diversity, research, and conservation. In: Bartke A (ed). *Function of somatic cells in the testis*. New York: Springer-Verlag, p.1–24, 1994.
-