

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 13/12/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**“MORFOMETRIA ESPERMÁTICA COMO FERRAMENTA
PARA DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DE CERVÍDEOS
NEOTROPICAIS”**

Cláudia Maria Herédias Ribas

Médica Veterinária

2024

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**“MORFOMETRIA ESPERMÁTICA COMO FERRAMENTA
PARA DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DE CERVÍDEOS
NEOTROPICAIS”**

Cláudia Maria Herédias Ribas

Orientadora: Profa. Dra. Lindsay Unno Gimenes

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em Medicina
Veterinária, área de Reprodução Animal.**

2024

H542m

Herédias-Ribas, Claudia Maria

Morfometria espermática como ferramenta para diferenciação de espécies de cervídeos neotropicais / Claudia Maria Herédias-Ribas. -- Jaboticabal, 2024

68 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Lindsay Unno Gimenes

1. Cervídeos neotropicais. 2. Espécies crípticas. 3. Espermatozoides. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A tese de doutorado que investigou o uso da morfometria espermática como ferramenta para diferenciar espécies de cervídeos neotropicais possui impactos significativos em diversas áreas da biologia e conservação. A confirmação de que a morfometria espermática pode ser utilizada para identificar com precisão as espécies *Mazama jucunda* e *M. rufa*, mas não *M. nana*, demonstra a eficácia da técnica e abre novas possibilidades para a taxonomia e sistemática desses animais. Além disso, o reconhecimento da existência de complexo de espécies crípticas, como ocorre em *M. americana*, ressalta a importância de métodos precisos de identificação para evitar a subestimação da biodiversidade. A aplicação da morfometria espermática pode, portanto, auxiliar na detecção de novas espécies e no entendimento das relações evolutivas entre elas, promovendo uma maior compreensão da diversidade genética e ecológica dos cervídeos neotropicais.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The doctoral thesis that investigated the use of sperm morphometry as a tool to differentiate Neotropical deer species has significant impacts in various areas of biology and conservation. The confirmation that sperm morphometry can be used to accurately identify the species *Mazama jucunda* and *M. rufa*, but not *M. nana*, demonstrates the efficacy of the technique and opens new possibilities for the taxonomy and systematics of these animals. Moreover, the recognition of the existence of cryptic species complexes, as occurs in *M. americana*, highlights the importance of precise identification methods to avoid underestimating biodiversity. The application of sperm morphometry can, therefore, assist in detecting new species and understanding the evolutionary relationships between them, promoting a greater understanding of the genetic and ecological diversity of Neotropical deer.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: MORFOMETRIA ESPERMÁTICA COMO FERRAMENTA PARA DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DE CERVÍDEOS NEOTROPICAIS

AUTORA: CLÁUDIA MARIA HEREDIAS RIBAS

ORIENTADORA: LINDSAY UNNO GIMENES

COORDINADORA: CYNTHIA PERALTA DE ALMEIDA PRADO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Medicina Veterinária, área: Reprodução Animal pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br LINDSAY UNNO GIMENES
Data: 14/12/2024 09:51:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. LINDSAY UNNO GIMENES (Participação Presencial)
Departamento de Patologia Reprodutiva e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
gov.br MARCILIO NICHÍ
Data: 18/12/2024 09:41:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. MARCILIO NICHÍ (Participação Virtual)
Departamento de Reprodução Animal / USP FMVZ São Paulo/SP

Documento assinado digitalmente
gov.br JOSÉ MAURÍCIO BARBANTI DUARTE
Data: 14/12/2024 14:34:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. JOSÉ MAURÍCIO BARBANTI DUARTE (Participação Presencial)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
gov.br AMANDA PRUDÊNCIO LEMES
Data: 19/12/2024 07:47:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. AMANDA PRUDÊNCIO LEMES (Participação Virtual)
Departamento de Reprodução Animal / Universidade Brasil (UB) - Fernandópolis/SP

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

CLÁUDIA MARIA HERÉDIAS RIBAS - Nascida no dia 22 de março de 1983 na cidade de São Caetano do Sul, SP. Filha de Maria Francisca Herédias Ribas e Afonso Sebastião Ribas. Recebeu o título de bacharel e licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Metodista de São Paulo (UMESP) em 2006. Teve uma passagem pelo Instituto Butantan (2004-2008) onde trabalhou com ecologia reprodutiva de serpentes. Em maio de 2008 foi contratada como bióloga da empresa de consultoria Wildlife Management (WLM) para quem prestou serviços na área de levantamento, manejo, monitoramento e captura de fauna até dezembro de 2011. Em março de 2012 ingressou no curso de Medicina Veterinária, modalidade bacharelado da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal. Durante a graduação foi estagiária do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) onde realizou a iniciação científica “Validação Fisiológica de Ensaio Imunoenzimáticos para dosagem de cortisol e seus metabólitos fecais em Cervídeos Neotropicais”, sendo bolsista FAPESP sob orientação do Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte com parte das atividades realizadas na University of Veterinary Medicine, Vienna – Áustria, pelo programa de Bolsa de Estágio em Pesquisa no Exterior (BEPE) sob supervisão do Prof. Dr. Rupert Palme. Em março de 2018 ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área Reprodução Animal, sob orientação do Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte. Em outubro de 2018 realizou apresentação oral do trabalho “Efeito de ocitocina e cloprostenol sobre a qualidade seminal do veado-mateiro-do-sul (*Mazama rufa*)”, extraído da dissertação de mestrado, durante o XXVIII Encontro e XXII Congresso da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens (ABRAVAS), pelo qual recebeu o prêmio “Alcides Picinatti” de melhor trabalho na categoria profissional. Em março de 2020, ingressou no curso de doutorado do mesmo programa sob orientação da Profa. Dra. Lindsay Unno Gimenes. Tanto no mestrado como doutorado, foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Além disso, durante o curso de mestrado e doutorado atuou como representante discente nas reuniões do conselho de curso e nas comissões permanente de pesquisa.

"A mulher deve ser livre para escolher seu
próprio destino, para ser dona de si
mesma e de sua vida."

"Para a mulher vencer na vida, ela tem
que se atirar. Se erra uma vez, tem que
tentar outras cem."

Bertha Lutz

DEDICO

Aos meus pais, Afonso e Maria Francisca,
e ao meu irmão, Celso, que nunca
mediram esforços para que os meus
sonhos pudessem ser realizados.
Obrigado por tanto e por tudo.

AGRADECIMENTOS

As pessoas aqui citadas são aquelas a quem eu agradeço por acreditarem em mim, por todo apoio e companhia durante todos esses anos.

À Deus, por iluminar meus passos durante essa jornada.

Aos meus pais, Afonso e Maria Francisca que sempre me incentivaram e me apoiaram a persistir na realização desse sonho. Vocês são meus maiores exemplos. Amo vocês.

Ao meu irmão Celso que esteve sempre comigo, do jardim de infância ao título de doutora. Você estava comigo sempre. Você quem me levava até a sala de aula no jardim de infância e com você eu fiz essa tese, afinal você conseguiu o seu título de doutor apenas alguns meses antes de mim! Obrigada por ser meu irmão, algumas vezes financiador, mas sempre me apoiando e incentivador.

À minha cunhada Alcilene por sempre entender a dedicação do meu irmão comigo.

Aos meus sobrinhos Arthur e Malu por me mostrarem o que é esse amor de tia.

Ao meu irmão Bruno e minha cunhada Daniela por todo apoio e algumas risadas. As vezes tropeçamos, mas o importante é seguirmos juntos.

À Profa. Dra. Lindsay Unno Gimenes não só pela orientação, mas pela amizade que vem sendo construída desde quando eu estava na graduação. Obrigada por aceitar a me orientar mesmo quando o projeto era com anfíbios, animais muito diferentes dos bovinos. Você sempre acreditou em mim e viu em momentos em que eu não me enxergava. Você é um exemplo de mulher, professora e pesquisadora. Fico muito feliz de dizer que sou uma das suas “filhas científicas”.

Ao Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte obrigada pelo apoio e por aceitar a parceria para a realização deste trabalho. Você foi meu orientador de iniciação científica, de mestrado e colaborador e sou muito grata por todos os ensinamentos e momentos vividos.

Ao Prof. Dr. Gilson Hélio Toniollo que todas as vezes que me encontrava me perguntava quando seria minha defesa. Suas brincadeiras eram incentivos e me lembravam qual era meu sonho e meu objetivo final. Obrigada por todos os ensinamentos, conversas e carinho.

Aos meus amigos do LABOR que foram companhia nessa trajetória. À Fernanda Aidar, Marina, Joice, Aline e Alessandra por terem sido presentes mesmo durante a pandemia onde o contato era só online. À Nelise, Thalís, Victória e Marina pela companhia, pelos cafés e por aguentarem juntos as loucuras da vida. Quero levar todos vocês para a minha vida.

À Profa. Dra. Maíra Bianchi Rodrigues Alves, Profa. Dra. Fernanda Jordão Affonso e ao Tiago do Bem pela convivência, por todos os ensinamentos e dúvidas sanadas.

À Roberta e Seu Edson pelo convívio, risadas e momentos pipoca com pimenta.

Aos meus queridos amigos do NUPECCE de todas as gerações. Obrigada por todos os momentos vividos e por tudo que aprendi com vocês. Em especial a Marina Cursino que sempre esteve comigo (mesmo do outro lado do planeta) me ajudou e me incentivou na realização deste trabalho. À Bianca, Laís, Thaylane e Eveline que foram companheiras e fundamentais para que todas as colheitas fossem realizadas.

À Agda e Pedro que foram vizinhos fantásticos (mesmo quando o Pedro escutava “sertanejo”) e que se tornaram amigos que eu quero levar para sempre comigo. Obrigada por todas as brejas, churrascos, jantares, risadas, pelas conversas e pela companhia durante a pandemia.

À Bel que foi uma das minhas maiores incentivadoras durante os últimos anos. Obrigada por todas as “cirandas de maluco” que não eram em Pernambuco, mas foram tão intensas quanto. Obrigada por reafirmar o quanto as mulheres nordestinas são “porretas”.

À Thaís Guedes que sempre esteve comigo na minha trajetória acadêmica. Você é um dos meus maiores exemplos de resiliência e de que nós podemos conquistar tudo o que a gente quiser. Obrigada por todos os conselhos, puxadas de orelha, palavras de apoio e amizade.

À Ana Maria que é foi companheira sempre. Obrigada por entender as minhas maluquices, pela empatia e ajuda em todos esses anos. Começamos juntas e terminamos quase juntas. Obrigada por permitir a convivência com seus filhos que me ensinaram tanto. Obrigada Ponto, Cléo, Tobias, Buiu e Cocoa.

Ao Matheus Zochio, amigo querido que quero levar sempre comigo. No dia que te encontrei perdido no câmpus da FCAV alguns anos atrás não tínhamos a ideia que uma simples indicação de caminho iria se tornar uma grande amizade que tenho certeza que é para sempre.

Aos amigos que fiz ao longo de todos esses anos. Em especial ao Jardel, Bruno, Sérgio (e Fiona), Valentina, Marisol, Larissa Temp, Noélia, Luís, Larissa Braga e Daniel por todas as risadas e por tornado a caminhada mais leve.

A FCAV-Unesp e todos os professores que me acompanharam durante a graduação e pós-graduação. Vocês foram verdadeiros mestres e grande exemplo de profissionais. Tenho orgulho de ser aluna desta instituição, com certeza escolhi a melhor. Agradeço em especial ao Prof. Estevam Lux Hoppe que esteve presente nessa trajetória desde o meu primeiro dia como aluna da FCAV-Unesp e que sempre foi um grande incentivador e exemplo.

Aos funcionários da Seção Técnica de Pós-graduação por toda ajuda e paciência em todos esses anos.

À Margarete, minha gata e companheira. Sempre serei grata a Renatha por ter me presenteado com você.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

SUMÁRIO

Páginas

CEUA –COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	i
RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	6
1 INTRODUÇÃO	6
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1 Evolução do dimorfismo de gametas	8
2.2 Diversidade morfológica dos espermatozoides.....	12
2.3 Morfometria espermática de cervídeos neotropicais.....	19
2.4 Cervídeos neotropicais e suas incertezas taxonômicas	21
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
CAPÍTULO 2 – Morfometria espermática como ferramenta para diferenciação de espécies de cervídeos do gênero <i>Mazama</i>	32
RESUMO	33
INTRODUÇÃO	34
MATERIAIS E MÉTODOS	36
1.1. Animais	37
1.2. Colheita de sêmen	38
1.3. Morfometria espermática.....	39
1.4. Análise dos dados	41
RESULTADOS.....	43
DISCUSSÃO	48
CONCLUSÃO	51
AGRADECIMENTOS.....	51
CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES.....	51

CONFLITO DE INTERESSE.....	52
FUNDING.....	52
DATA AVAILABILITY	52
REFERÊNCIAS.....	52

CEUA –COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Morfometria espermática como ferramenta para diferenciação de espécies de cervídeos neotropicais"**, protocolo nº 844/23, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Lindsay Unno Gimenes, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 15 de fevereiro de 2023.

Vigência do Projeto	16/02/2023 a 31/03/2024
Espécie / Linhagem	Cervídeos / Mazama americana, M. bororo, M. gouazoubira, M. nana, M. nemorivaga, M. rufa, Odocoileu virginianus, Ozotoceros bezoarticus.
Nº de animais	24
Peso / Idade	25 a 50 kg / 01 a 11 anos
Sexo	Machos
Origem	NUPECCE - FCAV/Unesp, Campus de Jaboticabal

Jaboticabal, 15 de fevereiro de 2023.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

MORFOMETRIA ESPERMÁTICA COMO FERRAMENTA PARA DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DE CERVÍDEOS NEOTROPICAIS

RESUMO –. O gênero *Mazama* é o mais diversificado entre os cervídeos, porém com maior controvérsia em sua classificação por apresentar grande convergência morfológica o que dificulta o entendimento evolutivo do grupo. O gênero vem sendo objeto de estudos com a finalidade de resolução das incertezas taxonômicas, sobretudo do complexo de espécies crípticas de *M. americana*. Tais incertezas fazem com que haja dificuldade na avaliação e classificação quanto ao seu estado de ameaça, dado importante para estratégias de conservação das espécies. A morfometria espermática é uma ferramenta utilizada para identificar defeitos espermáticos que podem influenciar a fertilidade do macho, podendo também ser utilizada para avaliar a biologia reprodutiva assim como para a diferenciação de espécies. O objetivo do presente estudo é responder se é possível observar diferenciação interespecífica dos espermatozoides de cervídeos do gênero *Mazama* por meio da morfometria espermática. Para isso, amostras seminais *M. jucunda* (N = 02), *M. nana* (N = 02) e *M. rufa* (N = 03), foram avaliadas quanto às medidas de cabeça (comprimento, largura, área e perímetro), comprimento de peça intermediária e cauda. Como resultados, foi encontrada diferença significativa nas medidas de cabeça e cauda, mas não nas medidas de peça intermediária. *M. rufa* e *M. jucunda* possuem os espermatozoides com maior comprimento total. Além disso, a Análise Discriminante Quadrática realizada indica que a morfometria espermática permite a predição das espécies *M. rufa* e *M. jucunda*, mas não de *M. nana*.

Palavras-chave: cervídeos neotropicais; espécies crípticas; espermatozoide.

SPERM MORPHOMETRY AS A TOOL FOR DIFFERENTIATION OF NEOTROPICAL DEER SPECIES

ABSTRACT – The genus *Mazama* is the most diverse among deer, but it has greater controversy in its classification due to the large morphological convergence, which makes understanding the group's evolution difficult. The genus has been the subject of studies aimed at resolving taxonomic uncertainties, especially the cryptic species complex of *M. americana*. Such uncertainties lead to difficulties in assessing and classifying their conservation status, an important factor for species conservation strategies. Sperm morphometry is a tool used to identify sperm defects that can influence male fertility, and it can also be used to evaluate reproductive biology as well as species differentiation. The aim of this study is to determine whether it is possible to observe interspecific differentiation of spermatozoa of deer of the genus *Mazama* through sperm morphometry. For this purpose, semen samples of *M. jucunda* (N = 02), *M. nana* (N = 02), and *M. rufa* (N = 03) were evaluated in terms of head measurements (length, width, area, and perimeter), intermediate piece length, and tail length. The results showed significant differences in head and tail measurements, but not in intermediate piece measurements. *M. rufa* and *M. jucunda* have the longest total sperm length. Furthermore, Quadratic Discriminant Analysis indicates that sperm morphometry allows the prediction of the species *M. rufa* and *M. jucunda*, but not *M. nana*.

Keywords: cryptic species; neotropical cervids; sperm.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Indivíduos machos de diferentes espécies de cervídeos neotropicais alojados no Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) que tiveram amostras de espermatozoides utilizados para análise de morfometria espermática.....37
- Tabela 2.** Média e desvio padrão das regiões dos espermatozoides de veados do gênero *Mazama*.43
- Tabela 3.** Média e desvio padrão das medidas realizadas na cabeça dos espermatozoides de veados do gênero *Mazama*.45
- Tabela 4.** Matriz de confusão utilizados na Análise Discriminante Quadrática que compara valores observados e preditos na capacidade do modelo predizer qual é a espécie de veado do gênero *Mazama* pertence o espermatozoide observado.....47

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1. Desenhos de Rudolf Wagner sobre espermatozoides de várias aves e mamíferos, incluindo humanos. Wagner foi o primeiro a ilustrar e comentar sobre a diferença no design dos espermatozoides entre aves passeriformes e não-passeriformes (Birkhead; Montgomerie, 2009).....14

Capítulo 2

Figura 1. Medidas a serem tomadas para o dimensionamento da cabeça para o cálculo de elipticidade (E), alongamento (Al), rugosidade (Rug) e regularidade (Cursino & Duarte, 2016).41

Figura 2. Comprimento relativo das medidas dos diferentes segmentos espermáticos em relação ao comprimento total de espermatozoides de veados do gênero *Mazama*. Sendo letras na lateral de cada barra indicando as diferenças significativas ($p < 0,001$).44

Figura 3. Box-plots com as medidas realizadas nas cabeças dos espermatozoides de veados do gênero *Mazama*. **A.** Comprimento de cabeça, μm ; **B.** Largura de cabeça, μm ; **C.** Área de cabeça, μm^2 ; **D.** Perímetro de cabeça, μm ; **E.** Elipticidade; **F.** Alongamento; **G.** Rugosidade; **H.** Regularidade. Sendo: letras acima de cada box-plot indicam as diferenças significativas ($< 0,001$); linha superior = limite superior; linha inferior = limite inferior; linha que divide o box-plot = mediana; X = média; caixa superior do box-plot = terceiro quartil; caixa inferior do box-plot = primeiro quartil. ..46

Figura 4. Gráfico de decisão para a Análise Discriminante Quadrática (ADQ) para a predição da espécie de veado do gênero *Mazama* com base das medidas morfométricas dos espermatozoides das espécies *M. jucunda* (Mj), *M. nana* (Mn) e *M. rufa* (Mr). Sendo as áreas coloridas do gráfico são as regiões de predição dos espermatozoides e os pontos são os valores observados, ou seja, quando o ponto cair na área de mesma cor a predição é correta.....48

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

A reprodução desperta fascínio e interesse e seus estudos começaram na Grécia antiga. No século IV a.C., Aristóteles já discutia sobre reprodução, que era até então conhecida como “geração”, como um processo que abrangia desde a concepção até o desenvolvimento, muitas vezes com alguns detalhes, sendo ilustrados em pinturas, porém em sua maioria como suposição já que se tratava de fenômenos que não podiam ser diretamente observados. Tais fenômenos eram descritos como eram observados, ou como se pensava ter sido observado, sendo raramente discutido ou especulado sobre as causas para as coisas serem como são (Birkhead; Montgomerie, 2009; Cobb, 2012).

Hipócrates (460 – 375 a.C.), Aristóteles (384 – 322 a.C.) e Galeno (129 – 216 a.C.) já reconheciam a existência do sêmen, e apesar de algumas divergências, também reconheceram a importância de ambos os sexos na reprodução. Eles acreditavam que para a geração de uma nova vida era necessário a união do ejaculado masculino (sêmen) e do sangue menstrual feminino (catamenia; sêmen feminino), porém para Hipócrates e Galeno a contribuição de machos e fêmeas eram equivalentes para a formação da nova vida enquanto para Aristóteles o sangue feminino fornecia o material para a formação do feto e o ejaculado masculino era responsável por dar forma e nutri-lo. Suas visões e conceitos permaneceram até o fim do renascimento, quando os primeiros microscópios foram desenvolvidos (Birkhead; Montgomerie, 2009; Cobb, 2012).

A descoberta de que havia espermatozoides no sêmen só aconteceu após o secretário da Royal Society, Henry Oldenburg, escrever para o comerciante de tecidos Antonie van Leeuwenhoek observar em seu microscópio sêmen, saliva, suor e outros fluidos corporais. Após, o aluno de medicina, Johann Ham, entregar uma amostra de sêmen com pus para Leeuwenhoek observar no microscópio foi possível visualizar milhões de pequenos “animálculos” se movendo na amostra. Tais “animálculos” foram posteriormente batizados como espermatozoides – animais de sêmen, e são conhecidos assim até os dias atuais. Todavia, o reconhecimento que os espermatozoides são células únicas só aconteceu mais de 150 anos depois (Birkhead; Montgomerie, 2009; Cobb, 2012).

Em 1678, Leeuwenhoek escreveu para Royal Society contando suas descobertas, porém sua publicação ocorreu apenas no ano seguinte. O intervalo de tempo entre o envio da carta e sua publicação se deu principalmente, ao fato de que tanto a Royal Society como o próprio Leeuwenhoek não tinham consciência da importância da descoberta que os “animálculos” eram um exemplo do que podia ver em todas as amostras observadas. A importância dos achados só foi reconhecida após Christiaan Huygens publicar no *Journal des Sçavans* dizendo “Esta última descoberta, que foi feita na Holanda [país de Leeuwenhoek] pela primeira vez, parece-me extremamente importante e fornecerá material para aqueles que estudam seriamente a geração de animais”. Além disso, a Royal Society sugeriu que fossem observados sêmen de outras espécies o que fez ele ser o primeiro a reconhecer que existe diferença na aparência dos espermatozoides (Birkhead; Montgomerie, 2009; Cobb, 2012).

Embora Leeuwenhoek tenha sido reconhecido como um dos primeiros a reconhecer que existem diferenças na aparência dos espermatozoides dos diferentes táxons, ainda sim, tais diferenças só foram estudadas mais profundamente depois de quase um século e meio quando os pesquisadores começaram a relatar seus achados. Rudolf Wagner, por exemplo, relatou haver notado que os espermatozoides “diferiam acentuadamente entre os táxons”, encontrando diferenças inclusive entre os espermatozoides de passeriformes e não passeriformes, assim como entre mamíferos, anfíbios, peixes, lagartos e moluscos. Outros pesquisadores como Emil Ballowitz e Gustaf Retzius continuaram seus estudos, descrevendo e ilustrando a grande diversidade não só de forma, mas de tamanho também (Birkhead; Montgomerie, 2009; Cobb, 2012).

Foi Retzius quem mostrou que os espermatozoides de espécies relacionadas eram mais semelhantes entre si do que aqueles de espécies não relacionadas. A partir de então, vários pesquisadores começaram a demonstrar que o estudo da forma (morfometria) e ultraestruturas dos espermatozoides poderiam revelar as relações filogenéticas dos táxons estudados (Birkhead; Montgomerie, 2009; Cobb, 2012).

Mesmo que a identificação das particularidades da célula espermática seja tema de estudos desde o século XVII, explicar a diversidade morfológica dos espermatozoides continua sendo uma questão desafiadora, sendo só

recentemente alvo dos estudos de evolucionistas (Prakash *et al.*, 2014). Por exercerem papel crucial na reprodução e perpetuação da espécie, os espermatozoides provavelmente sofrem intensa pressão seletiva (Rossi *et al.*, 2018). Apesar de não haver indicativo de uma relação causal direta (Gage; Freckleton, 2003), acredita-se que há uma correlação evolutiva entre a morfologia dos espermatozoides, indicando que a evolução tanto do tamanho como da forma está relacionada à adaptação dos espermatozoides ao trato reprodutor feminino e à competição espermática (Prakash *et al.*, 2014).

Nesse sentido, compreender como se dá a diversidade da forma e das dimensões dos espermatozoides podem fornecer informações valiosas para estudos taxonômicos (Rouse; Robson 1986; Harding *et al.*, 1987; Roldan *et al.*, 1992), sobretudo para espécies crípticas em que as abordagens taxonômicas não podem ficar restritas à morfologia e devem apresentar uma abordagem integrada e multidisciplinar para a resolução de suas incertezas.

CONCLUSÃO

O resultado da ADQ pode corroborar a hipótese de que é possível distinguir os machos das espécies estudadas com base na morfometria dos espermatozoides das espécies de veados do gênero *Mazama*, exceto para a espécie *M. nana*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as equipes do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos Neotropicais (NUPECCE) pelo auxílio durante as colheitas das amostras e do Laboratório Das Biotecnologias da Reprodução (LABOR) pelo suporte e auxílio durante o procedimento e análises das amostras.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Cláudia M. Herédias-Ribas, José M. B. Duarte e Lindsay U. Gimenes conceberam a ideia do estudo e delinearão a metodologia usada. Cláudia M.

Herédias-Ribas e José M. B. Duarte coletaram as amostras. Cláudia M. Herédias-Ribas e Salvador B. Ramos realizaram as análises estatísticas. Cláudia M. Herédias-Ribas e Lindsay U. Gimenes analisaram os dados e escreveram o manuscrito. Todos os autores contribuíram criticamente para os rascunhos e deram aprovação final para publicação.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

FUNDING

Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código Financeiro 001.

DATA AVAILABILITY

Os dados que fundamentam este estudo estarão disponíveis online no Biological Journal of the Linnean Society.

REFERÊNCIAS

Beletti ME, Costa LF. 2003. A systematic approach to multispecies sperm morphometric characterization. *Analytical and quantitative cytology and histology* **25**(2): 97-107. PMID: 12746979.

Beracochea F, Gil J, Sestelo A, Garde JJ, Santiago-Moreno J, Fumagalli F, Ungerfeld R. 2014. Sperm characterization and identification of sperm sub-populations in ejaculates from pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Animal reproduction Science* **149**(3-4): 224-230.

Bernegossi AM, Borges CHD, Sandoval EDP, Cartes JL, Cernohorska H, Kubickova S, Vozdova M, Caparroz R, González S, Duarte JMB. 2023. Resurrection of the genus *Subulo* for the gray brocket deer, with designation of a neotype, *Journal of Mammalogy* 104(3): 619-633. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyac068>

CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. 2013. *Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal.*

Christofoletti MD, Pereira RJG, Duarte JMB. 2010. Influence of husbandry systems on physiological stress reactions of captive brown brocket (*Mazama gouazoubira*) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) - noninvasive analysis of fecal cortisol metabolites. *European Journal of Wildlife Research* 56: 561-568. <https://doi.org/10.1007/s10344-009-0350-8>

Cifuentes-Rincón A, Morales-Donoso JA, Sandoval EDP, Tomazella IM, Mantellatto AMB, de Thoisy B, Duarte JMB. 2020. Designation of a neotype for *Mazama americana* (Artiodactyla, Cervidae) reveals a cryptic new complex of brocket deer species. *ZooKeys* 958: 143-164. <https://doi.org/10.3897/zookeys.958.50300>. PMID: 32863720

Cursino MS, Duarte JMB. 2016. Using sperm morphometry and multivariate analysis to differentiate species of gray *Mazama*. *Royal Society Open Science* 3(11): 160345. <https://doi.org/10.1098/rsos.160345>

Duarte JMB, González S, Maldonado JE. 2008. The surprising evolutionary history of South American deer. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49(1): 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.07.009>

Duarte JMB, Jorge W. 2003. Morphologic and cytogenetic description of the small red brocket (*Mazama bororo* Duarte, 1996) in Brazil. *Mammalia* 67(3): 403-410. <https://doi.org/10.1515/mamm.2003.67.3.403>

Duarte JMB, Vogliotti A. 2016. *Mazama americana*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T29619A22154827.en>.

Favoretto SM, Zanetti ES, Duarte JMB. 2012. Cryopreservation of red brocket deer semen (*Mazama americana*): Comparison between three extenders. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 43(4): 820-827. <https://doi.org/10.1638/2011-0195R1.1>

Figueredo MG 2014. Filogenia e taxonomia dos veados cinza (*Mazama gouazoubira* e *M. nemorivaga*). 2014. 57f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, Brasil.

Gippoliti S, Cotterill FP, Zinner D, Groves CP. 2018. Impacts of taxonomic inertia for the conservation of African ungulate diversity: an overview. *Biological Reviews* 93(1): 115-130. <https://doi.org/10.1111/brv.12335>

Gutiérrez EE, Helgen KM, McDonough MM, Bauer F, Hawkins MTR, Escobedo-Morales LA, Patterson BD, Maldonado JE. 2017. A gene-tree test of the traditional taxonomy of American deer: the importance of voucher specimens, geographic data, and dense sampling. *ZooKeys* 697: 87-131. <https://doi.10.3897/zookeys.697.15124>.

Heckeberg NS. 2020. The systematics of the Cervidae: a total evidence approach. *PeerJ* 8: e8114. <https://doi.10.7717/peerj.8114>

Mantellatto AMB, González S, Duarte JMB. 2022. Cytochrome b sequence of the *Mazama americana jucunda* Thomas, 1913 holotype reveals *Mazama bororo* Duarte, 1996 as its junior synonym. *Genetics and Molecular Biology* **45(1)**: e20210093. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2021-0093>

Morales-Donoso JA, Vacari GQ, Bernegossi AM, Sandoval EDP, Peres PHF, Galindo DJ, de Thoisy B, Vozdova M, Kubickova S, Barbanti Duarte JM. 2023. Revalidation of *Passalites* Gloger, 1841 for the Amazon brown brocket deer *P.nemorivagus* (Cuvier, 1817) (Mammalia, Artiodactyla, Cervidae). *Zookeys* **1167**:241-264. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1167.100577>.

Rossi RV. 2000. *Taxonomia de Mazama Ranfinesque, 1817 do Brasil (Artyodactyla, Cervidae)*. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociência, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Salviano MB. 2011. Avaliação da existência de isolamento reprodutivo entre distintos citótipos de veado-mateiro (*Mazama americana*) por meio de machos híbridos. 2011. x, 63 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2010. World Health Organization laboratory manual for the examination and processing of human semen. **World Health Organization: Geneva, Switzerland**, v. 287.

Zachos FE. 2018. Mammals and meaningful taxonomic units: the debate about species concepts and conservation. *Mammal Review* **48(3)**: 153-159. <https://doi.org/10.1111/mam.12121>