Biotecnologias da reprodução aplicadas na conservação da espécie *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758: uma revisão de literatura (2014- 2024)

Reproductive biotechnologies applied to the conservation of the species Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758: a literature review (2014- 2024)

Geovana Pereira de Carvalho[1], Helder Silva e Luna[2]

[1] Discente de graduação Ciências Biológicas, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Três Lagoas, MS, Brasil

[2] Laboratório de Morfogenética e Conservação, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Três Lagoas, MS, Brasil

Resumo

Esforços para conservação do *Myrmecophaga tridactyla t*êm sido realizados. Esta espécie sofre com incêndios, atropelamentos nas rodovias, diminuição e a perda de conectividade do *habitat* e isso contribui para o aumento do declínio nas populações, aumentando assim o risco de sua extinção. A presente revisão de literatura apresenta os esforços envidados na conservação do tamanduá-bandeira, com ênfase nas biotecnologias aplicadas à reprodução.

Palavras-chave: *Myrmecophaga tridactyla*; reprodução; tamanduá-bandeira, tecnologias da reprodução.

Abstract

Efforts to conserve Myrmecophaga tridactyla have been made. This species suffers from fires, road accidents, decrease and loss of habitat connectivity and this contributes to an increase in population decline, thus increasing the risk of its extinction. This literature review presents the efforts made to conserve the giant anteater, with an emphasis on biotechnologies applied to reproduction.

Keywords*: Myrmecophaga tridactyla; reproduction; giant anteater, reproduction technology*

Introdução

O tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) é um mamífero único da família *Myrmecophagidae*, conhecido por sua morfologia distinta e adaptações alimentares especializadas. Mede cerca de 2,20 metros, pesa até 45kg, tem uma cauda grande, com pelos grossos e um focinho longo. Nativo das florestas tropicais da América Central e do Sul, o tamanduá-bandeira usa suas garras dianteiras para escavar formigueiros e cupinzeiros ao longo do dia para capturar, com sua língua extensível, até 30 mil insetos. Desempenha um papel ecológico significativo ao controlar populações de formigas e cupins além de contribuir para a dispersão de sementes. A diminuição e a perda de conectividade do habitat levam ao aumento do declínio existente nas populações de animais, aumentando assim o risco de sua extinção. A transformação de um *habitat* contínuo em fragmentos pode afetar a biodiversidade, com mudanças no número de espécies, distribuição, reprodução e sobrevivência (*WWF*, 2020; Sartori et al., 2020).

Desde 2019, o Brasil é o quarto país do mundo com maior número de mamíferos incluídos na lista vermelha da *International Union for Conservation of Nature* (IUCN). O tamanduá-bandeira é classificado como "vulnerável" o que indica que a espécie está em risco de extinção se as tendências atuais de perda de *habitat* continuarem. As principais ameaças incluem não apenas a destruição de seu ambiente natural, mas também atropelamentos e caça ilegal que agravam ainda mais sua situação (Cáceres et al., 2012; Moura et al., 2021; *IUCN*, 2024).

Em relação aos aspectos reprodutivos desta espécie, escassos estudos sobre a reprodução foram realizados, portanto necessita-se de grande empenho por parte dos pesquisadores que melhorem a compreensão morfológica e também dos ciclos reprodutivos para o sucesso dos desafios da conservação desta espécie, em especial dos trabalhos ligados à área de biotecnologias da reprodução (Bartmann et al., 1991; Patzl et al., 1998; Shauerte e Osmann, 2012).

Descrições morfológicas e histopatológicas dos tratos reprodutivos desta espécie são altamente relevantes na determinação das características típicas ou no reconhecimento de alterações clinicamente significativas nestes órgãos, que podem

interferir na fertilidade individual do animal. É importante salientar que, certamente, efeitos ambientais, genéticos, nutricionais e sanitários influenciam de forma direta nos parâmetros reprodutivos – considerando ainda sua situação de vida livre ou de cativeiro (Collevatti et al., 2007; Miranda 2008; Tessari et al., 2022; De Moura et al., 2024).

Trabalhos científicos de revisão em tamanduás-bandeira mostram a aplicação de biotecnologias da reprodução como colheita de sêmen, sexagem, inseminação artificial, indução da ovulação, fecundação *in vitro*, transferência de embriões, criopreservação e clonagem, associadas a estudos endocrinológicos ou até mesmo de variabilidade genética populacional. Entretanto, observa-se que o sucesso destas biotecnologias são bastante variáveis, sendo muito importante a realização de novas pesquisas e atualizações de protocolos (Luna et al., 2014).

Neste sentido, a realização de estudos que mostrem a situação atual do desenvolvimento destas biotecnologias da reprodução em tamanduás-bandeira é muito importante. Assim, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão de literatura das biotecnologias da reprodução aplicadas na conservação da espécie *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 nos últimos dez anos (2014 a 2024).

Metodologia

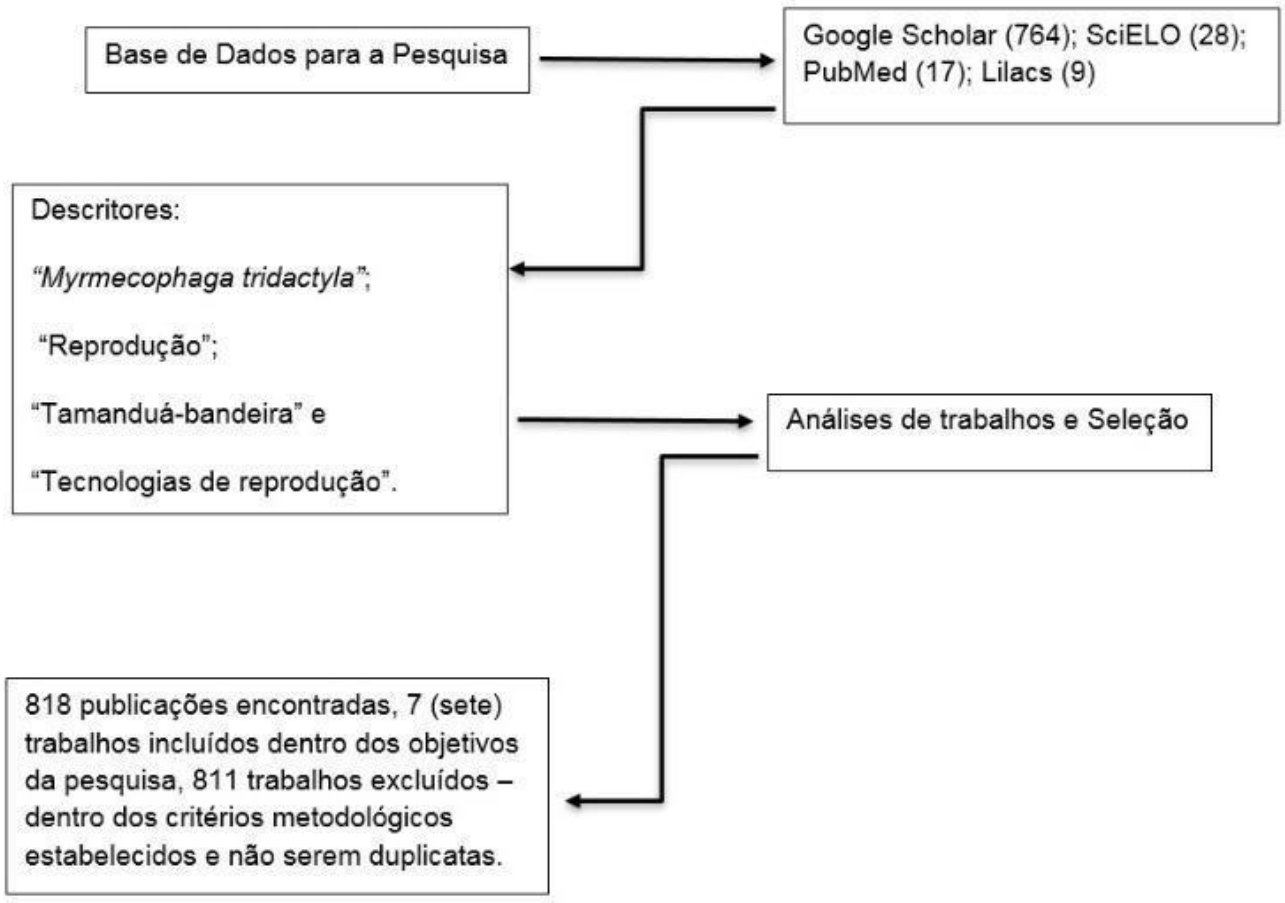
Foi realizada uma revisão integrativa de literatura identificando os trabalhos dentro da área da reprodução e conservação dos tamanduás-bandeira. Para isso os seguintes bancos de dados foram acessados: *Google Scholar; Scientific Eletronic Library Online (SciELO); National Library of Medicine National Institute of Health (PubMed)*; Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs). Foram utilizados os descritores: "*Myrmecophaga tridactyla"*; "Reprodução"; "Tamanduá-bandeira" e "Tecnologias de reprodução".

Para selecionar os trabalhos investigados nesta revisão adotou-se o seguinte critério de inclusão: trabalhos publicados nos últimos dez anos (2014-2024) e como critérios de exclusão: pesquisas que não estivessem diretamente relacionadas com os objetivos deste trabalho, trabalhos duplicados e artigos de revisão.

Desenvolvimento

Foram encontradas 818 publicações e destas selecionadas sete. A seguir é apresentado na FIGURA 1 o fluxograma realizado para a elaboração desta revisão integrativa de literatura.

FIGURA. 1 - Fluxograma realizado para o desenvolvimento deste trabalho.



Os sete trabalhos incluídos nesta pesquisa estão apresentados no QUADRO 1, incluindo os autores, ano e os tipos de contribuições dos trabalhos sobre tecnologias de reprodução em tamanduás-bandeira.

QUADRO. 1 - Características gerais dos trabalhos incluídos nesta pesquisa.

Autores	Ano de publicação	Títulos dos trabalhos
Araújo et al.	2023	Pharmacological semen collection in giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*): A feasible option for captive and free-living animals.
Bento et al.	2019	Sexagem em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) por meio do teste da reação em cadeia da polimerase.
Luba et al.	2015	Semen characteristics and refrigeration in free-ranging giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*).
Mendonça et al.	2021	Spermatic profile of captive giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*): Knowing more to preserve better.
Meunier et al.	2022	Use of a simplified non-invasive technic to monitor fecal progesterone metabolites and reproduction function in several zoo species: Efficacy of mini VIDAS® automate (bioMérieux).
Salomão-Júnior et al.	2021	Coleta farmacológica de sêmen de tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*).
Tsuneda et al.	2015	Análise seminal e padronização da coloração eosina-nigrosina em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*).

Os artigos foram agrupados e discutidos a seguir a partir de temáticas similares. Neste sentido, sabe-se que a coleta de sêmen é crucial para programas de reprodução assistida, no entanto, a coleta de sêmen em tamanduás é desafiadora devido à sua biologia reprodutiva e comportamento. Assim, Araújo et al. (2023) avaliaram a viabilidade do uso de técnicas farmacológicas para a coleta de sêmen de tamanduás-bandeira, tanto em animais cativos quanto de vida livre, como uma alternativa segura e prática. Os resultados mostraram que o protocolo farmacológico foi eficaz em todos os animais, permitindo a coleta de sêmen. A qualidade do sêmen variou, mas foi possível obter amostras com características adequadas para uso em biotecnologias reprodutivas, como criopreservação e inseminação artificial. A pesquisa indica que a coleta farmacológica é uma ferramenta promissora para melhorar a diversidade genética em programas de conservação de tamanduás-bandeira, facilitando a reprodução assistida (Araújo et al., 2023).

Embora o estudo não tenha apontado diferenças estatisticamente significativas entre os animais cativos e os de vida livre em termos de qualidade do sêmen, destaca-se a importância da técnica para coleta de material genético de animais em vida livre, o que é fundamental para aumentar a diversidade genética em programas de reprodução. O estudo ainda indica a ampliação da utilização desta metodologia para auxiliar na preservação da espécie e reforça a importância dessa abordagem para a conservação *ex situ* e *in situ* dos tamanduás-bandeira, promovendo a preservação da variabilidade genética e o sucesso reprodutivo em cativeiro (Araújo et al., 2023).

Salomão Júnior et al. (2021) também realizou um trabalho para desenvolver um protocolo para a coleta de sêmen em tamanduás-bandeira, tanto de vida livre quanto em cativeiro. Neste estudo, foram utilizados tamanduás-bandeira adultos de vida livre (n=3) e cativos (n=2). A coleta de sêmen foi realizada por cateterismo uretral, após a administração de medetomidina e cetamina, apresentando eficácia de 100%. Não houve diferenças significativas entre os animais de vida livre e de cativeiro em termos de volume de sêmen, vigor, concentração, motilidade e número total de espermatozoides. O método foi considerado eficaz, prático e seguro, o que pode contribuir para futuros programas de conservação *ex situ* e *in situ* da espécie.

Em outro estudo, Luba et al. (2015), investigaram as características do sêmen e os efeitos da refrigeração do mesmo em tamanduás-bandeira de vida livre. O principal objetivo foi caracterizar o sêmen de tamanduás-bandeira de vida livre e avaliar a viabilidade do armazenamento refrigerado. A pesquisa visou determinar as melhores práticas para a conservação de sêmen e contribuir para os esforços de reprodução. Foram coletadas amostras de sêmen de oito animais de vida livre para análise e a refrigeração foi testada a 5°C com o diluente *BotuCrio*® sem crioprotetor.

Os resultados mostraram que o ejaculado é composto por duas frações distintas: uma fração esbranquiçada, rica em espermatozoides, e uma fração gelatinosa, que é viscosa e não contém espermatozoides. As principais características do sêmen foram: volume médio de 0,75 mL na primeira fração, motilidade de 75%, concentração de 108,5 milhões de espermatozoides por mL e integridade da membrana plasmática de 71%. Além disso, defeitos espermáticos foram observados em 35,5% dos espermatozoides. Durante o armazenamento refrigerado, a motilidade do sêmen e o índice de motilidade espermática diminuíram com o tempo, principalmente nas primeiras 18 a 24 horas, enquanto o vigor dos espermatozoides começou a reduzir após seis horas (Luba et al., 2015).

Ressalta-se que embora a qualidade do sêmen de tamanduás-bandeira de vida livre apresenta desafios a serem superados como a alta incidência de anomalias espermáticas, ainda é possível utilizar essas amostras para reprodução assistida se o sêmen for manipulado e preservado adequadamente. O estudo conclui que a caracterização do sêmen de tamanduás-bandeira de vida livre é um passo importante para os esforços de conservação. A refrigeração pode ser uma ferramenta útil para a preservação temporária do sêmen, mas a perda de qualidade após 24 horas sugere que alternativas de preservação de longo prazo, como a criopreservação, precisam ser estudadas com mais profundidade para eficácia dos protocolos de preservação espermática (Luba et al., 2015).

Em outra pesquisa com preservação de espermatozoides, Mendonça et al. (2021) investigaram a técnica de eletroejaculação para coletar sêmen de 13 machos em cativeiro. As amostras foram analisadas quanto ao volume, motilidade, concentração e morfologia espermática. Os resultados obtidos indicaram um volume médio de 1,28 mL por ejaculado, motilidade de 28,3% e uma concentração de 129,4

milhões de espermatozoides/mL. Além disso, 83,7% dos espermatozoides apresentaram acrossoma intactos e 81,1% tinham membranas intactas, indicando resultados promissores e mostrando uma técnica viável, prática e segura para obtenção de sêmen de tamanduás-bandeira.

Outro aspecto muito importante dentro da área de reprodução é o estudo dos perfis hormonais dos animais. Neste sentido, Meunier et al. (2022) apresentaram uma técnica não invasiva simplificada para monitorar os metabólitos de progesterona fecal em várias espécies de zoológicos, utilizando o equipamento automatizado mini VIDAS® da bioMérieux. O estudo avaliou a eficácia do ensaio de progesterona para monitorar os níveis desse hormônio nas fezes de espécies de tamanduás-bandeira e outros animais silvestres, correlacionando os perfis fecais com os perfis séricos de progesterona.

Os resultados dessa pesquisa mostraram uma forte correlação positiva ($r>0.60$) entre os ciclos estrais detectados nas análises fecais e os perfis séricos de progesterona em várias espécies, indicando que o mini VIDAS® pode ser uma ferramenta eficaz para o monitoramento reprodutivo. Este método simplificado demonstrou-se útil para o manejo reprodutivo, especialmente em espécies de difícil acesso ou manejo, como elefantes e rinocerontes que também participaram desse estudo (Meunier et al., 2022). Ainda, a técnica revelou os perfis dos ciclos estrais e diagnósticos de gravidez em algumas espécies, incluindo os tamanduás-bandeira, reforçando seu potencial como um método acessível e confiável de avaliação hormonal sem a necessidade de métodos invasivos. Estudos futuros são recomendados para validar esses resultados em um número maior de animais em diferentes estágios reprodutivos, a fim de ampliar a aplicabilidade dessa técnica (Meunier et al., 2022).

Em relação ao padrão de viabilidade dos materiais colhidos para formação de bancos de germoplasma as análises da qualidade espermática são de fundamental importância. Assim, Tsuneda et al. (2015) realizaram um trabalho para padronizar a técnica de coloração eosina-nigrosina para a avaliação da viabilidade espermática de tamanduás-bandeira. A coloração eosina-nigrosina foi usada para diferenciar espermatozoides vivos e mortos, uma vez que a eosina cora células mortas em rosa, enquanto a nigrosina fornece um contraste escuro de fundo. Este método mostrou-se confiável e replicável, portanto, é uma técnica útil em estudos de reprodução de

animais silvestres, especialmente para apoiar a formação de bancos de germoplasma com qualidade, em especial dos tamanduás-bandeira.

Por fim, Bento et al. (2019) investigaram a sexagem em tamanduás-bandeira utilizando o teste da reação em cadeia da polimerase (*PCR*). No caso dos tamanduás-bandeira, a determinação de sexo por métodos visuais é difícil devido à ausência de dimorfismo sexual, o que limita análises em populações de vida livre e cativas. O estudo aplicou a *PCR* para amplificar regiões específicas de DNA que diferenciam os cromossomos sexuais X e Y. Para isso, amostras de sangue foram colhidas de tamanduás-bandeira mantidos em cativeiro. A técnica mostrou-se eficaz, com 100% de precisão, e é considerada minimamente invasiva, já que requer pequenas amostras de sangue, o que facilita sua aplicação em estudos populacionais e de manejo, em especial os de cativeiro para correta formação de casais.

Considerações finais

As pesquisas relacionadas às biotecnologias da reprodução do tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) apesar de terem avançado na última década, ainda apresentam lacunas, impactando os esforços de conservação da espécie. Essas lacunas podem ser atribuídas a diversos fatores, entre os quais a biologia peculiar dos tamanduás-bandeira, seu comportamento discreto, hábitos de vida bem como os desafios logísticos e financeiros associados ao estudo de animais silvestres.

A conservação do tamanduá-bandeira exige uma abordagem abrangente, essencialmente, incluindo a preservação de seus habitats naturais, além de iniciativas de conscientização pública sobre a importância dessa espécie em seu ambiente natural. Aliado a estas ações, programas robustos de conservação aplicando tecnologias reprodutivas são igualmente essenciais para aumentar a população dos tamanduás-bandeira e assim reduzir os seus riscos de extinção.

Referências bibliográficas

Araújo GR, Jorge-Neto PN, Salomão-Júnior JA, Silva MCC, Zanella R, Csermak-Júnior AC, Francisco FM, Deco-Souza T, Pizzutto CS. Pharmacological semen

collection in giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*): A feasible option for captive and free-living animals. v. 2, 2023, 100030.

Bartmann CP, Beyer C, Wissdorf H. Topography of the organs of the pelvic cavity and macroscopic and histologic findings of the sex organs of a male giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) with regard to fertility. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, v.104, p.41-46, 1991.

Bento HJ, Rosa JMA, Morgado TO, Granjeiro MDB, Bianchini MA, Iglesias GA, Dutra V, Nakazato L, Paz RCR. Sexagem em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) por meio do teste da reação em cadeia da polimerase. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 71(2), 538–544, 2019.

Cáceres NC, Casella J, Goulart CS. Variação espacial e sazonal de atropelamentos de mamíferos no bioma cerrado, rodovia BR 262, Sudeste do Brasil. Mastozool Neotrop, v.19, p.21-33, 2012.

Collevatti RG, Leite KCE, Miranda GHB, Rodrigues FHG. Evidence of high inbreeding in a population of the endangered giant anteater Myrmecophaga tridactyla (Myrmecophagidae) from Emas National Park. Genet Mol Biol, v.30, p.112-120, 2007.

De Moura FBC, Lacerda ZA, Catão-Dias JL, Navas-Suárez PE, Werther K, Simões SRJS, Santos RL, Murillo DFB, Watanabe TTN, Fonseca-Alves CE, Rocha NS. Background and common lesions in the female reproductive organs of giant anteaters (Myrmecophaga tridactyla). Front Vet Sci. 2024 Jan 24;11:1287872.

International Union for Conservation of Nature - IUCN Red List. *Myrmecophaga tridactyla*, 2024. Disponível em: https://www.iucnredlist.org/fr/search/list?query=Myrmecophaga%20tridactyla&searchType=species

Luba CN, Boakari YL, Costa Lopes AM, da Silva Gomes M, Miranda FR, Papa FO, Ferreira JC. Semen characteristics and refrigeration in free-ranging giant anteaters (Myrmecophaga tridactyla). Theriogenology. 2015 Dec;84(9):1572-80.

Luna HS, Hossotani CMS, Moreira FMA. Esforços para conservação da espécie Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758: tecnologias aplicadas à reprodução. Rev Bras Reprod Anim, v.38, p.10-14, 2014.

Mendonça MAC, Nichi M, Teixeira RHF, Braga FR, Simões R, Losano JDA, Jorge-Neto PN, Pizzutto CS. Spermatic profile of captive giant anteaters (Myrmecophaga tridactyla): Knowing more to preserve better. Zoo Biol. 2021 May;40(3):227-237.

Meunier M, Schwarzenberger F, Mulot B. Use of a simplified non-invasive technic to monitor fecal progesterone metabolites and reproduction function in several zoo species: Efficacy of mini VIDAS® automate (bioMérieux). Theriogenology. 2022 Feb;179:69-77.

Miranda, FR. Pesquisa de anticorpos contra bactérias do gênero *Brucella spp., Leptospira spp., Chlamydophila spp.* em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*, Linnaeus, 1758), da RPPN SESC Pantanal, Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC) e Parque Nacional das Emas (PNE). 2008. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) - Universidade de São Paulo, ESALq, Piracicaba, SP, 2008.

Moura F, Sampaio L, Kobayashi P, Laufer-Amorim R, Ferreira JC, Watanabe TTN, Fonseca-Alves CE. Structural and Ultrastructural Morphological Evaluation of Giant Anteater (Myrmecophaga tridactyla) Prostate Gland. Biology (Basel). 2021 Mar 17;10(3):231.

Patzl M, Schwarzenberger F, Osmann C, Bamberg E, Bartmann W. Monitoring ovarian cycle and pregnancy in the giant anteater (Myrmecophaga tridactyla) by faecal progestagen and oestrogen analysis. Anim Reprod Sci, v.53, p.209-219, 1998.

Salomão-Jùnior, JA. Colheita farmacológica de sêmen de tamanduás-bandeira (Myrmecophaga tridactyla). 2021. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-08112022-160709/.

Sartori RQ, Lopes AG, Aires LPN, Bianchi RC, de Mattos CCB, Morales AC, Castiglioni L. Identifying Priority Giant Anteater (*Myrmecophaga tridactyla*)

Populations for Conservation in São Paulo State, Brazil. *Ecology and evolution*, *11*(2), 700–713, 2020.

Shauerte N, Osmann C. Reprodução de tamanduás em cativeiro. In: Miranda F (Ed). Manutenção de tamanduás em cativeiro. São Carlos: Editora Cubo, 2012. p.134-145.

Tessari HCCP, Paludo GR, Scalon MC, Silva JMM, Hirano LQL. Investigation of Chlamydia sp., Morbillivirus sp., Parvovirus sp., Leishmania sp. and Alphacoronavirus sp. in captive giant anteaters (Myrmecophaga tridactyla). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.74, n.5, p.833-840, 2022.

Tsuneda PP, Duarte Junior MF, Silva LES, Jorge AA, Hatamoto-Zervoudakis LK, Paz RCR. Análise seminal e padronização da coloração eosina-nigrosina em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 22, n. 3-4, p. 198-201, jul./dez. 2015.

World Wildlife Fund - WWF Brasil. Disponível em: https://www.wwf.org.br/natureza_brasileira/especiais/biodiversidade/especie_do_mes/junho_tamandua_bandeira/#:~:text=Por%20sua%20versatilidade%2C%20o%20tamandu%C3%A1,Janeiro%20e%20no%20Esp%C3%ADrito%20Santo