



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA – FAV
Curso de Medicina Veterinária

**INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL APLICADA NA CONSERVAÇÃO DE
FELÍDEOS SILVESTRES: Revisão de Literatura**

Ana Clara Cid Lopes Ferreira de Britto
Orientador: Ivo Pivato

BRASÍLIA – DF
OUTUBRO/2021



ANA CLARA CID LOPES FERREIRA DE BRITTO

**INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL APLICADA NA CONSERVAÇÃO DE
FELÍDEOS SILVESTRES: Revisão de Literatura**

Trabalho de conclusão de curso de
graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília

Orientador: Ivo Pivato

BRASÍLIA – DF
OUTUBRO/2021

CB862i Cid Lopes Ferreira de Britto, Ana Clara
Inseminação Artificial Aplicada na Conservação de Felídeos
Silvestres: Revisão de Literatura / Ana Clara Cid Lopes
Ferreira de Britto; orientador Ivo Pivato; co-orientador
Líria Queiroz Luz Hirano. -- Brasília, 2021.
52 p.

Monografia (Graduação - Medicina Veterinária) --
Universidade de Brasília, 2021.

1. Conservação Animal. 2. Biotecnologias da Reprodução
Animal. 3. Inseminação Artificial. 4. Felídeos Silvestres. I.
Pivato, Ivo, orient. II. Queiroz Luz Hirano, Líria, co
orient. III. Título.

Cessão de Direitos

Nome do Autor: Ana Clara Cid Lopes Ferreira de Britto

Título do Trabalho de Conclusão de Curso: Inseminação Artificial Aplicada na
Conservação de Felídeos Silvestres: Revisão de Literatura

Ano: 2021

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Ana Clara Cid Lopes Ferreira de Britto

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: BRITTO, Ana Clara Cid Lopes Ferreira de

Título: Inseminação Artificial Aplicada na Conservação de Felídeos Silvestres:
Revisão de Literatura

Trabalho de conclusão do curso de
graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília

Aprovado em __/__/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. Ivo Pivato

Instituição: UnB

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Profa. Dra. Líria Queiroz Luz Hirano

Instituição: UnB

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira

Instituição: UnB

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Dedicatória

*Dedico este trabalho ao meu pai,
que não pode estar aqui para ver-
me formando na faculdade pública.
Sei que ele estaria muito orgulhoso
e feliz com essa conquista.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao apoio dado pela minha família, que me apoiou e incentivou na busca pelo conhecimento desde criança, e também durante a produção deste trabalho. Agradeço principalmente à minha mãe Aura, que me incentivou na escrita, e sempre cobrou o meu melhor; ao meu falecido pai Álvaro, que me deu dicas valiosas de escrita, e sempre me inspirou por meio de seus escritos e poemas; ao meu avô Wilson, que provavelmente é o melhor avô do mundo; e à minha avó Elza, que cuidou de mim desde meu nascimento, e sempre acreditou em mim (e também sempre fez meus pratos preferidos quando fui visitá-la). Sem eles, eu não seria quem sou hoje.

Também agradeço a todos os meus amigos, que me incentivaram durante o curso de veterinária, e me apoiaram quando eu não tinha mais forças para continuar: Paula, minha amiga mais antiga e querida, que sempre tem um ombro amigo e um bom conselho pra dar; Gabriel, um amigo sem comparação, sempre disposto a fazer o possível para ajudar os amigos; Pedro (Bochechas), que conheci no primeiro ano do ensino médio e se tornou um amigo para todos os momentos; Letícia (Apple), que foi a melhor amizade e companhia que conheci na veterinária e com quem compartilhei inúmeros almoços, viagens de carro e conversas divertidas; e todas as pessoas que conheci na UnB, que me deram os melhores horários de almoço e rolês. Também menciono Bia, Larissa e Marta, as amigas com quem nunca terminam os assuntos e o afeto, e que sempre me apoiaram. E também todos os demais que não mencionei aqui. Agradeço também a todos os animais que passaram pela minha vida, por despertarem em mim o amor e carinho por todas as formas de vida.

Agradeço a Aura Cid Lopes Flório Ferreira de Britto, pela revisão de língua portuguesa deste trabalho.

E por fim, agradeço a todos os professores do curso de Medicina Veterinária da UnB, pelo conhecimento compartilhado com maestria. Principalmente os professores Ivo Pivato, Rodrigo Arruda e Líria Hirano, que despertaram respectivamente meu interesse em reprodução animal e clínica de animais silvestres, e me auxiliaram ao final do curso.

“Nenhuma escuridão dura para sempre, e, mesmo nela, há estrelas.”

Ursula K. Le Guin

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. METODOLOGIA.....	4
3. REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1 Família Felidae.....	5
3.2 Ameaças à conservação de felídeos silvestres	7
3.3 <i>Status</i> de conservação de felídeos silvestres.....	10
3.4 Programas de conservação	12
3.5 Fisiologia e comportamento reprodutivo de felídeos silvestres	16
3.6 Inseminação artificial em felídeos silvestres	19
3.7 Monitoramento não-invasivo	22
3.8 Coleta seminal e exame andrológico	23
3.9 Criopreservação.....	28
3.10 Inseminação artificial por laparoscopia	31
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IA – Inseminação artificial

IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

SSPs – Planos de Sobrevivência de Espécies

CITES – Convenção do Comércio Internacional de Espécies ameaçadas de Extinção

CCF – Cheetah Conservation Fund

SWCCF – Small Wild Cat Conservation Foundation

AGA – Alianza Gato Andino

CENAP – Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Mamíferos Carnívoros

PAN – Plano de Ação Nacional

TRIS – Tris-hidroximetil-aminometano

eCG – Gonadotrofina coriônica equina

hCG – Gonadotrofina coriônica humana

RESUMO

A maioria das espécies de felídeos silvestres se encontra em risco de extinção, principalmente devido a consequências da ação humana. Esta causa eventos tais como mudança climática, degradação dos *habitats* naturais de diversas espécies, depleção das populações de animais por meio de biopirataria e caça desenfreada, dentre outros. Para se preservar a biodiversidade, e garantir a sobrevivência das espécies, é necessário realizar diversas intervenções o quanto antes, dentre estas a reprodução de animais silvestres *ex situ*. A reprodução *ex situ* pode apresentar diversos entraves, como a impossibilidade de indivíduos se reproduzirem naturalmente por diversos fatores, e a grande distância entre instituições que abrigam indivíduos que se deseja reproduzir para aumentar a diversidade genética dentro da espécie. Diante disto, as biotécnicas reprodutivas, principalmente a inseminação artificial, se apresentam como soluções auxiliares no processo de reprodução *ex situ* dentro de programas de conservação animal.

PALAVRAS-CHAVE: conservação animal, felídeos silvestres, inseminação artificial

ABSTRACT

Most species of wild felines are at risk of extinction, due mainly to the consequences of human action. Events such as climate change, degradation of the natural *habitats* of various species, depletion of animal populations through biopiracy and unregulated hunting affect negatively, and in large scale, the conservation status of animal populations. To preserve biodiversity, and assure the survival of species, it is necessary to perform various interventions as soon as possible, among those the reproduction of wild animals *ex situ*. *Ex situ* reproduction can present various limitations, like the impossibility of natural reproduction between individuals due to multiple factors, and the large distance between institutions that house animals that need to reproduce to increase genetic diversity in the species in question. Given these factors, assisted reproduction techniques, mainly artificial insemination, present themselves as auxiliary solutions in the task of *ex situ* reproduction in animal conservation programs.

KEYWORDS: animal conservation, artificial insemination, wild felines

1. INTRODUÇÃO

A influência humana, assim como os fatores naturais, afeta direta e indiretamente as taxas de extinção de espécies silvestres. Fatores como derramamentos de petróleo marinhos, urbanização de novas áreas, biopirataria, caça descontrolada e indiscriminada, aquecimento global e a consequente acidificação do oceano, assim como eventos climáticos extremos, afetam um grande número de espécies. Desse modo, faz-se necessária a formulação de várias estratégias para reverter a tendência à extinção por parte de espécies ameaçadas, e gerar populações sustentáveis (BUENO & PEREIRA, 2008; COMIZZOLI et al., 2019).

A principal tarefa da conservação animal é a manutenção da diversidade genética dentro de cada população, mantendo um número suficiente de indivíduos para que esta população seja sustentável. É importante manter essas populações viáveis em seu *habitat* natural (conservação *in situ*), mas também se faz necessário manter populações em cativeiro (conservação *ex situ*) para a realização de programas de reabilitação à natureza (PELICAN et al., 2006; PAULA, 2011; COMIZZOLI, 2015; COMIZZOLI & HOLT, 2019), uma atividade que tem sido cada vez mais necessária para a conservação *in situ*.

Uma das áreas do conhecimento empenhadas no desenvolvimento de estratégias de mitigação do aumento das taxas de extinção é a biologia da conservação, que tem como objetivo entender e sustentar a biodiversidade do planeta, pois o desaparecimento de qualquer espécie, seja esta animal ou vegetal, poderia comprometer por completo um ecossistema (COMIZZOLI & HOLT, 2019). A preservação de populações silvestres saudáveis é um processo complexo que envolve diversas disciplinas, dentre elas o uso de técnicas da medicina veterinária reprodutiva, na qual técnicas como inseminação artificial (IA), fertilização *in vitro* (FIV) e transferência de embriões (TE) são vistas como opções válidas para auxiliar em planos de conservação de espécies ameaçadas (BUENO & PEREIRA, 2008; HOWARD & WILDT, 2009).

Independentemente do tipo de população (*in situ* ou *ex situ*), a reprodução é um elemento de grande importância para a sobrevivência e a multiplicação de todas as espécies. Entretanto, a compreensão dos processos reprodutivos permanece complexa e variam muito entre diferentes grupos de animais. É necessário conhecer desde a gametogênese, a fertilização e o desenvolvimento embrionário até a diferenciação sexual, a endocrinologia e os aspectos comportamentais de cada espécie que se pretende estudar, para que se possa realizar pesquisas mais aprofundadas (MICHELETTI et al., 2011; COMIZZOLI et al., 2019). Animais são adaptados ao seu ambiente e modo de vida, o que envolve elementos como temperatura, fotoperíodo e dieta, elementos que interferem direta ou indiretamente em sua reprodução. O conhecimento e o estudo desses elementos, assim como sua interação, são fatores importantes para o desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida.

A expressão genética, a síntese proteica e o sistema imune dos animais, assim como outros fatores, afetam os processos envolvidos na reprodução, o que torna importante seu conhecimento e estudo, possibilitados pelo surgimento de novos avanços tecnológicos. Apesar do surgimento de novas técnicas e métodos, ainda se sabe pouco a respeito da reprodução de espécies ameaçadas. Por tal razão, existem poucos protocolos reprodutivos espécie-específicos para a maior parte dessas espécies (HERRICK, 2019). Há maior número de estudos e também maior interesse, principalmente monetário, nas espécies tradicionais de laboratório e de criação, pois essas estão mais diretamente envolvidas com a saúde humana, em detrimento às outras espécies animais (WILDT et al., 2010). Pelas razões apresentadas, faz-se necessário o aprofundamento dos estudos reprodutivos em espécies ameaçadas, para que seja possível formular programas reprodutivos efetivos que permitam a multiplicação desses animais e a futura reintrodução de indivíduos na natureza, restaurando assim o equilíbrio populacional *in situ*.

Várias técnicas de reprodução assistida já são utilizadas rotineiramente em humanos e animais domésticos em todo o mundo, como, por exemplo, a IA na pecuária leiteira, e o congelamento de sêmen humano para tratamentos reprodutivos. Em populações silvestres e ameaçadas, os resultados dessas técnicas mostram sucesso inconsistente, pois o conhecimento da biologia

reprodutiva e do comportamento de várias espécies ainda é incompleto, e, para se utilizar essas técnicas, é necessário um conhecimento profundo das espécies em si, e não somente das metodologias de reprodução assistida (BUENO & PEREIRA, 2008; HOLT, 2009). Há também um problema de percepção com relação à reprodução assistida dentro dos grupos que estudam a vida silvestre e a sua conservação, pois esses métodos são vistos como demasiado ‘técnicos’, podendo tornar-se uma possível razão para desvio de fundos monetários que poderiam ser melhor empregados na conservação dos *habitats* dos animais (HOLT, 2009).

A IA e outras biotécnicas reprodutivas devem ser estudadas e seus protocolos desenvolvidos em diferentes espécies de animais silvestres. Essas não têm objetivo de substituir a reprodução natural, e sim complementar ações nos planos de conservação e reprodução de espécies, principalmente nas populações em cativeiro, quando a reprodução natural sozinha não for o suficiente para atingir as metas de sustentabilidade populacional (PELICAN et al., 2006; HERRICK, 2019).

A família Felidae é uma das que apresenta maior diversidade dentro da ordem Carnivora, sendo constituída por 41 espécies. A maior parte dessas espécies está listada como ameaçadas ou em risco de extinção (HOWARD & WILDT, 2009; KITCHENER et al., 2017; BELLANI, 2020). Por essa razão, esse grupo de animais é um dos principais focos da biologia da reprodução.

Objetivou-se realizar uma revisão da literatura a respeito da prática de inseminação artificial em felídeos silvestres, e como essa técnica se encaixa nos programas de conservação existentes para diversas espécies, e qual o possível futuro dessa técnica dentro da estrutura maior de estudos de conservação animal.

2. METODOLOGIA

Para esta revisão de literatura foram utilizados os sites: www.icmbio.gov.br/cenap, www.scholar.google.com, www.sciencedirect.com e www.jstor.org. Os termos de busca utilizados foram: conservação felídeos silvestres, conservação felinos silvestres, inseminação artificial, felinos silvestres, felídeos selvagens, inseminação artificial felinos, inseminação artificial felídeos silvestres, eletroejaculação felídeos silvestres, inseminação artificial onças pintadas, inseminação artificial onça parda, wild feline conservation, wild cat conservation, artificial insemination, artificial insemination wild felines, artificial insemination wild cats, artificial insemination cats, laparoscopy wild felines, electroejaculation wild felines, artificial insemination lions, artificial insemination jaguars, artificial insemination cheetahs.

Foram selecionados principalmente artigos publicados entre o ano 2000 e o ano 2021, que foram inclusos se possuíam informações relevantes em relação à conservação de felídeos silvestres e ao procedimento de inseminação artificial em felídeos silvestres.

Ao total, foram utilizados 82 artigos, livros e periódicos nesta revisão de literatura.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Família Felidae

Atualmente, a subdivisão mais aceita da família Felidae é de duas subfamílias, Pantherinae e Felinae). A principal característica escolhida para diferenciar as duas é o formato da laringe dos felídeos da subfamília Pantherinae, que permite que estes rujam e não ronronem (KITCHENER et al., 2017; BELLANI, 2020).

A subfamília Pantherinae se divide em dois gêneros (*Panthera* e *Neofelis*), e esses conjuntamente reúnem sete espécies, incluindo o tigre (*Panthera tigris*), o leão (*Panthera leo*) a onça-pintada (*Panthera onca*), o leopardo-das-neves (*Panthera uncia*), o leopardo (*Panthera pardus*), o leopardo-nebuloso-de-bornéu (*Neofelis diardi*) e o leopardo-nebuloso (*Neofelis nebulosa*). Por outro lado, a subfamília Felinae se divide em doze gêneros, sendo estes *Acinonyx*, *Puma*, *Herpailurus*, *Lynx*, *Prionailurus*, *Leopardus*, *Otocolobus*, *Pardofelis*, *Catopuma*, *Caracal*, *Leptailurus* e *Felis*. Esses gêneros reúnem 34 espécies, incluindo o guepardo (*Acinonyx jubatus*), a onça-parda (*Puma concolor*), a jaguatirica (*Leopardus pardalis*), e outras espécies de felídeos pequenos. Sendo assim, existem 41 espécies de felídeos atualmente no planeta, sendo uma delas o gato doméstico (*Felis catus*).

Os felídeos são encontrados em todos os continentes, exceto na Antártida, e variam muito em tamanho corporal. Eles são os carnívoros especializados na caça, possuindo uma dieta exclusivamente baseada em proteína, sendo classificados como hipercarnívoros ou carnívoros obrigatórios. Possuem particularidades como visão aguçada adaptada para pouca luminosidade, olfato bastante desenvolvido e mandíbulas curtas e musculosas (PELICAN et al., 2006; BELLANI, 2020; WU, 2021).

Representantes da família Felidae costumam ser animais solitários e territorialistas, marcando seus territórios com urina contendo feromônios. Possuem garras retráteis, com exceção do guepardo (*Acinonyx jubatus*), que

possui garras curtas e semi-retráteis (MARKER et al., 2018), e colunas vertebrais robustas e flexíveis.

Com poucas modificações, o modelo corporal dos felídeos pode ser adaptado para uma gama consideravelmente grande de *habitats* e nichos ecológicos, sendo encontrados em diversos ambientes, desde desertos e florestas tropicais até ambientes frios e montanhosos. Com relação ao modo de vida, variam bastante, com espécies que vivem em grupos, como os leões, ou solitários como as onças-pintadas e grande parte dos felídeos. Eles variam também em técnicas de caça, desde a perseguição utilizada pelos guepardos (*Acinonyx jubatus*), até a caça aquática das onças-pintadas (*Panthera onca*) (BELLANI, 2020).

Por serem predadores, felídeos muitas vezes apresentam conflitos com populações humanas quando há presença de habitações e propriedades em suas áreas de ocorrência, pois costumeiramente atacam animais domésticos. Esse tipo de caça por retaliação costuma ser o tipo mais comum de caça de felídeos silvestres. Também têm suas populações reduzidas por meio de outros tipos de caça, em decorrência da grande procura por partes de suas carcaças, como a pele, as presas e os ossos (NOWELL & JACKSON, 1996; BAUER et al., 2014; MARKER et al., 2018; BELLANI, 2020).

O fato de os felídeos serem hipercarnívoros, com 70 a 100% de suas dietas compostas de carne, e possuírem adaptações em seu sistema digestivo para digerir o ácido úrico presente na carne, com produção da enzima digestiva uricase, faz com que estes animais precisem de territórios extensos e com baixa densidade populacional de outros carnívoros. Isso decorre da competição por presas e em razão da predação de felídeos menores por felídeos de maior porte (predação intraguilda), fenômeno que afeta principalmente pequenos felídeos da América do Sul, que costumam ser raros em locais de ocorrência da jaguatirica (*Leopardus pardalis*) (BELLANI, 2020; VIAU et al., 2020).

3.2 Ameaças à conservação de felídeos silvestres

A crise global relacionada à diversidade animal requer ação urgente, e a decisão de onde concentrar esforços é difícil tanto para cientistas quanto para a sociedade em geral (DICKMAN et al., 2015). Um dos métodos amplamente utilizados na conservação animal envolve selecionar e estabelecer áreas protegidas que irão oferecer os melhores resultados para as espécies ameaçadas e para a biodiversidade local, sendo que, na maioria dos países, essas áreas têm menores taxas de desflorestamento quando comparadas às desprotegidas (DICKMAN et al., 2015; MENA, 2020).

Dentre os vertebrados, os carnívoros de grande porte são considerados embaixadores para a conservação animal. Dentre estes, os grandes felídeos recebem muita atenção, por estarem no topo da cadeia alimentar, precisando assim de grande quantidade de presas, e por serem espécies guarda-chuva. As espécies guarda-chuva regulam diretamente as relações predador-presa, e indiretamente a relação presa-vegetação (PAULA, 2011; DICKMAN et al., 2015; MELO, 2016; SILVA, 2018; BELLANI, 2020; MENA, 2020).

As espécies classificadas como espécies guarda-chuva costumam enfrentar múltiplas ameaças, e considera-se que as ações tomadas para sua conservação ativa irão beneficiar outras espécies presentes na mesma região. Isso inclui outros felídeos, pois como demonstrado nos planos de conservação de felídeos silvestres, as ameaças para diferentes espécies costumam ser similares e ocorrer nos mesmos lugares. Esforços de conservação utilizados para espécies guarda-chuva irão auxiliar na preservação dos ecossistemas e da biodiversidade (BRANTON & RICHARDSON, 2011; DICKMAN et al., 2015; BELLANI, 2020).

Além de serem animais de extrema importância para suas respectivas cadeias alimentares, os felídeos também recebem muita atenção e apoio do público em relação a esforços de conservação. Dessa forma, podem, influenciar positivamente na conservação de espécies menos populares, que por serem menos conhecidas e estudadas, correm o risco de desaparecer antes que algo possa ser feito (BELLANI, 2020).

Por estarem cada vez mais próximos a habitações humanas em decorrência do crescente desmatamento de seus *habitats* naturais e da urbanização desenfreada, os felídeos silvestres têm suas presas naturais em quantidades mais escassas, tanto por questões ambientais quanto pela caça direta. Essa escassez de alimento faz com que os felídeos silvestres caçam animais domésticos que se encontrem em seus territórios. Desse modo, por serem ameaças aos rebanhos de gado e demais animais domésticos, os felídeos silvestres sofrem caça predatória por parte dos fazendeiros donos desses rebanhos, pois estes os consideram um risco financeiro a ser eliminado (JORGE-NETO, 2019; DECHNER, 2020).

Além da caça gerada pela interação com rebanhos de animais domésticos e com populações humanas, muitos felídeos também sofrem com a caça esportiva (legalizada para algumas espécies em alguns países), e a caça motivada por partes de suas carcaças, principalmente pelas pelagens de alto valor econômico. Além disso, também têm seus números reduzidos pela procura de órgãos utilizados na medicina tradicional (GRAHAM et al., 2006; BRIONES-SALAS et al., 2016; BELLANI, 2020).

Outras ameaças sofridas por esses animais incluem a cinomose em diversas populações de leões (*Panthera leo*) no continente africano; a depleção genética e o efeito gargalo em populações muito isoladas, como as populações da puma-norte-americana (*Puma concolor cougar*) e dos guepardos (*Acinonyx jubatus*); a alta mortalidade de filhotes de leopardos (*Panthera pardus*) e guepardos (*Acinonyx jubatus*); múltiplas subespécies altamente ameaçadas por conta de falhas em sua conservação em certos países; depleção de suas presas típicas por conta da caça e desflorestamento; e atropelamentos ocorridos próximos a áreas ocupadas por seres humanos (PUKAZHENTHI et al., 2006; MARKER et al., 2018; BELLANI, 2020).

O tamanho populacional de uma espécie é um dos parâmetros mais importantes para determinar as ações necessárias em programas de conservação. Esse parâmetro é influenciado por diferentes fatores bióticos e abióticos que satisfazem os requerimentos das espécies, e permitem que elas sobrevivam, se reproduzam e se perpetuem. Muitas espécies de felídeos

silvestres têm seu tamanho populacional desconhecido por serem de pequeno porte, hábitos crípticos, locais de ocorrência extensos ou *habitats* de difícil acesso (BRODIE, 2009; BROEKHUIS & GOPALASWAMY, 2016; PÉREZ-IRINEO et al., 2019).

Por conta da fragmentação de *habitats* e de populações de felídeos, e da consequente redução da diversidade genética em diversas espécies, aumentam os riscos de sua extinção, seja devido a um possível aumento de homozigose, a gargalos populacionais (que causam maior vulnerabilidade de cada espécie a alterações ambientais e doenças), ou mesmo a desordens reprodutivas e teratospermia. A teratospermia é um fenômeno comum em felídeos (20 de 23 espécies de felídeos avaliados em um estudo demonstraram menos de 60% espermatozoides morfologicamente normais em cada ejaculado) (BUENO & PEREIRA, 2008; HOWARD & WILDT, 2009; JORGE-NETO, 2019).

Espécies ou populações geograficamente isoladas e/ou com pouca variabilidade genética tendem a ser mais suscetíveis a doenças e a produzir uma maior quantidade de espermatozoides defeituosos do que espécies com maior diversidade genética, além de também demonstrarem uma diminuição na fertilidade e um desbalanceamento endócrino de hormônios reprodutivos. Um dos exemplos mais evidentes desse fenômeno ocorre com o puma-norte-americano (*Puma concolor couguar*), uma espécie com muito pouca variabilidade genética que tende a produzir mais de 90% de esperma pleiomórfico, enquanto espécies, como o gato doméstico (*Felis catus*) e tigre siberiano (*Panthera tigris tigris*), apresentam uma quantidade adequada de espermatozoides normais por ejaculado, sendo esta mais de 60% do total (HOWARD & WILDT, 2009; PAULA, 2011).

Felídeos silvestres têm expectativa de vida curta, baixa produção de filhotes (um a quatro por ninhada), e início precoce da senescência reprodutiva (sete a dez anos de idade), tornando-se difícil a manutenção de populações geneticamente viáveis em cativeiro. Além disso, a maior parte dos felídeos silvestres em cativeiro não se reproduzem, há baixa variabilidade genética e também alta tendência de *inbreeding* (MOREIRA, 2017).

De um modo geral, as populações de felídeos em cativeiro estão envelhecendo, ficando assim mais vulneráveis a doenças. Isso gera a redução na qualidade de seus gametas e conseqüente redução da sua efetividade reprodutiva (MOREIRA, 2017).

A seleção de quais espécies e áreas priorizar depende não somente de fatores ambientais e políticos, como também de fatores econômicos. É necessário avaliar todas as particularidades da espécie e da região escolhida para desenvolver um plano de conservação com maiores chances de sucesso (DICKMAN et al., 2015). Deve-se também levar em conta que ecossistemas se estendem além das áreas protegidas e das fronteiras entre países, tornando-se assim imprescindível garantir a conectividade desses ambientes (MENA, 2020).

3.3 Status de conservação de felídeos silvestres

Para categorizar as espécies de acordo com sua vulnerabilidade à extinção, a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) utiliza uma classificação que divide as espécies em categorias que indicam o estado de sua conservação na natureza: Pouco Preocupante, Quase Ameaçada, Vulnerável, Em Perigo, Criticamente Em Perigo, Regionalmente Extinta, Extinta na Natureza e Extinta. Algumas espécies ainda pouco estudadas são classificadas como Dados Insuficientes ou Não Avaliada (NOWELL & JACKSON, 1996; KITCHENER et al., 2017).

Dentre as espécies de felídeos, classificadas de acordo com seu risco de extinção, 15% estão Em Perigo ou Criticamente em Perigo, 15,5% Quase Ameaçadas e 37% Vulneráveis (PÉREZ-IRINEO et al., 2019).

Na África sub-saariana, as espécies que correm maior risco de extinção são o gato-bravo-de-patas-negras (*Felis nigripes*), o gato-dourado-africano (*Caracal aurata*) e o guepardo (*Acinonyx jubatus*). No norte da África e no sudoeste da Ásia, as espécies mais ameaçadas são o leão asiático (*Panthera leo leo*) e o guepardo (*Acinonyx jubatus*). Na Ásia tropical, as espécies mais ameaçadas são o tigre (*Panthera tigris*), o gato-vermelho-de-bornéu (*Catopuma badia*) e o leopardo-nebuloso (*Neofelis nebulosa*). Na Eurásia, as espécies mais

ameaçadas são o leopardo-das-neves (*Panthera uncia*) e o gato-chinês-do-deserto (*Felis bieti*). Nas Américas, as espécies de felídeos silvestres mais ameaçadas são o gato-chileno (*Oncifelis guigna*), o gato-andino (*Leopardus jacobita*) e a onça-pintada (*Panthera onca*) (NOWELL & JACKSON, 1996; KITCHENER et al., 2017).

Várias espécies de felídeos silvestres que podem ser encontradas no Brasil:

QUADRO 1 – Espécies de felídeos silvestres brasileiros e seus *status* de conservação de acordo com a IUCN

Espécie	Status de acordo com a IUCN
Onça-pintada (<i>Panthera onca</i>)	Quase Ameaçada
Gato-do-mato-pequeno (<i>Leopardus tigrinus</i>)	Vulnerável
Gato-maracajá (<i>Leopardus wiedii</i>)	Quase Ameaçada
Gato-do-mato-grande (<i>Leopardus geoffroyi</i>)	Pouco Preocupante
Onça-parda (<i>Puma concolor</i>)	Pouco Preocupante
Jaguatirica (<i>Leopardus pardalis</i>)	Pouco Preocupante
Gato-palheiro (<i>Leopardus pajeros</i>)	Quase Ameaçada
Gato-mourisco (<i>Herpailurus yagouaroundi</i>)	Pouco Preocupante
Gato-do-mato-pequeno-do-sul (<i>Leopardus guttulus</i>)	Vulnerável

Dentre essas, a maioria sofre ameaça de extinção, com previsão de que sofram cada vez mais ameaças no futuro, devido à invasão e à destruição de seus *habitats*, a conflitos com seres humanos, e a caça e o tráfico ilegal desses animais (NOWELL & JACKSON, 1996; PAZ, 2004; KITCHENER et al., 2017; BELLANI, 2020).

Como grande parte das espécies de felídeos sul-americanos ocorre no território brasileiro, torna-se necessário desenvolver programas de monitoramento

e de conservação dessas espécies, assim como estudos aprofundados a respeito de seu comportamento e sua reprodução, para que seja possível conservar essas espécies, que são cada vez mais ameaçadas pela ação antrópica (JORGE-NETO, 2019).

3.4 Programas de conservação

Atualmente, muitas espécies presentes em zoológicos se encontram ameaçadas de extinção. Em decorrência disso, sua reprodução não é mais uma questão da simples manutenção de sua presença em zoológicos, e sim um componente de grande importância na conservação dessas espécies. Sua reprodução contribuirá com a manutenção de populações sustentáveis que garantirão a sobrevivência dessas espécies, e auxiliará em projetos de conservação para evitar sua extinção. Também tornará possível manter uma população em cativeiro, caso a espécie seja extinta na natureza (SWANSON, 2006; HERRICK, 2019)

A maior parte dos programas de administração populacional e de Planos de Sobrevivência de Espécies (Species Survival Plans – SSPs) define uma população *ex situ* geneticamente sustentável como uma na qual 90% da diversidade genética presente nos animais fundadores (preferivelmente mais de 20 indivíduos) possa ser mantida por até 100 anos, enquanto também se esforçam para proteger essas espécies em vida livre. Estima-se que populações *ex situ*, para serem sustentáveis, devem ser compostas de 170 a 460 indivíduos (MOREIRA, 2017; HERRICK, 2019).

Para alcançar esses objetivos, curadores, tratadores, veterinários, biólogos, zootecnistas, e pesquisadores em zoológicos e criadouros trabalham de forma colaborativa para manejar as populações em cativeiro. Esses profissionais também conduzem pesquisas que identificam e abordam fatores críticos que afetam a sobrevivência *ex situ* ou *in situ* das espécies (MOREIRA, 2017).

Nessa tarefa, esses profissionais enfrentam diversos desafios, dentre esses: o espaço disponível, muitas vezes demasiado pequeno na grande maioria

dos zoológicos já existentes; o estresse sofrido pela maioria dos animais em cativeiro; deficiências nutricionais; e alterações genéticas e comportamentais. Além disso, retirar animais da natureza para serem animais fundadores que introduziriam na população em cativeiro genes diferentes é contraproducente na tarefa de conservação, geralmente ilegal, estressante para os animais em questão, e perigoso. Somando-se a isso, também há fatores individuais, de compatibilidade entre indivíduos, e de fertilidade que podem afetar negativamente a reprodução natural em cativeiro (PAZ, 2004; KOESTER et al., 2015; HERRICK, 2019).

As técnicas de reprodução assistida aplicadas a programas de conservação trazem muitos benefícios, tais como a simplificação do processo de troca genética entre zoológicos e instituições, a inclusão de animais com deficiências físicas, ou psicológicas, com genética valiosa nos programas de reprodução, e a agilização do crescimento populacional em cativeiro (PAZ, 2004).

Em 1973, foi assinada em Washington a Convention on International Trade of Species Threatened by Extinction (CITES), com o objetivo de regular o comércio internacional de fauna e flora em risco de extinção, com a presença de 183 países signatários. Esta convenção determinou que as espécies mais ameaçadas de felídeos silvestres devem ser protegidas em *stricto sensu*, ou seja, qualquer comércio desses animais deve ser proibido, e seu uso deve ser autorizado somente em circunstâncias excepcionais; e o comércio de espécies mais comuns deve ser submetido a um controle, e deve ser compatível com sua sobrevivência. Esta convenção é mais um dos meios criados por cientistas e políticos ao redor do mundo para tentar frear alguns problemas que afetam diretamente a proteção de espécies ameaçadas de extinção.

A IUCN é uma organização não-governamental (ONG) dedicada à conservação animal, e uma das suas principais atividades é a elaboração da lista vermelha IUCN. Essa lista classifica os organismos em diferentes *status* de conservação, levando-se em consideração diversos fatores: tamanho populacional, raridade, distribuição, taxa de declínio populacional, principais ameaças à sua sobrevivência, e probabilidade de extinção, auxiliando assim na

elaboração de programas de conservação para garantir sua continuada sobrevivência.

Um dos grandes problemas em relação a programas de conservação de felídeos silvestres é que grande parte do investimento monetário na conservação de espécies é direcionado para a proteção de felídeos de grande porte, como o leão (*Panthera leo*), o tigre (*Panthera tigris*), a onça-pintada (*Panthera onca*), a onça-parda (*Puma concolor*) e o guepardo (*Acinonyx jubatus*). Já as espécies de pequeno porte, muitas das quais ocorrem em grande número no Brasil, são muito pouco estudadas e recebem pouco investimento nos seus programas de conservação (BRODIE, 2009; KITCHENER et al., 2017).

Uma das mais conhecidas espécies de felídeos, e que também recebe bastante atenção de vários programas de conservação, a onça-pintada (*Panthera onca*), perdeu mais de 50% de seu *habitat* histórico, sendo que, até o início do século XX, esse território de estendia desde o sul dos Estados Unidos até boa parte do território argentino. Apesar disso, a onça-pintada (*Panthera onca*) ainda está presente em 18 países, do México à Argentina. Além da perda em extensão, este território também sofreu intensa fragmentação, devido à expansão contínua da população humana, ao esgotamento de suas presas, e à caça destes felídeos, principalmente quando eles entram em conflito com práticas agropecuárias, e são mortos por fazendeiros que querem proteger seus rebanhos (KITCHENER et al., 2017).

A onça-pintada (*Panthera onca*) também sofre com a caça motivada pela obtenção de seus pelos, unhas, dentes e filhotes. Outro tipo de caça que afeta o tamanho populacional deste animal é a caça descontrolada de suas presas típicas, privando os animais de seus alimentos de preferência (KITCHENER et al. 2017; BELLANI, 2020).

A fragmentação do território ocupado pelas onças-pintadas (*Panthera onca*) reduziu suas populações até níveis críticos, e, futuramente, também pode levar à subdivisão de populações, à endogamia, e a uma importante perda de variabilidade genética intrapopulacional. Para tentar reverter esse cenário, foi criado o Jaguar Corridor Initiative, que tem como objetivo preservar a integridade

genética da espécie, conectando seus diferentes locais de ocorrência com corredores de mata preservada, para que indivíduos possam transitar com segurança, e se reproduzir com indivíduos de outras populações. Isso garante uma maior diversidade genética, o que irá gerar maiores chances de sobrevivência da espécie (KITCHENER et al., 2017; JORGE-NETO, 2019; BELLANI, 2020).

Atualmente, o principal território ocupado pela espécie é a Bacia Amazônica, sendo o Brasil o país com a maior concentração populacional mundial de onças pintadas. Se for devidamente preservado, esse refúgio possui tamanho e integridade suficiente para conservar a espécie em números adequados. Entretanto, tanto esse, quanto outros locais de ocorrência da espécie, sofrem crescente risco ambiental (KITCHENER et al., 2017).

MENA et al. (2020) apontam que os territórios indígenas e as áreas de proteção ambiental têm um papel determinante na manutenção da biodiversidade em florestas tropicais. Desse modo, faz-se necessária sua manutenção e sua ampliação com o intuito de auxiliar na conservação da onça-pintada (*Panthera onca*).

Foram criados diversos projetos brasileiros de estudo e de conservação da onça-pintada (*Panthera onca*), mas ainda há grandes lacunas no conhecimento a respeito dessa espécie em diversas regiões do país, como a falta de informações a respeito da distribuição de indivíduos, de seu *status* de conservação e da presença ou ausência de indivíduos.

A principal instituição nacional encarregada de lidar com a conservação de espécies e com a manutenção da biodiversidade brasileira é o CENAP (Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Mamíferos Carnívoros), dentro do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). O CENAP organiza os Planos de Ação Nacional (PAN) para diversos grupos de espécies de mamíferos carnívoros da fauna nativa. Dentre esses planos de ação, os que dizem respeito a felídeos silvestres, já em andamento, são o Plano de Ação Nacional para Conservação da Onça Pintada, o Plano de Ação Nacional para

Conservação da Onça Parda, e o Plano de Ação Nacional para Conservação de Pequenos Felinos.

Há vários programas de reprodução *ex situ* para muitas espécies de felídeos silvestres, e uma de suas maiores prioridades é a manutenção da diversidade genética existente dentro de cada espécie, com o fim de garantir sua integridade, saúde e reprodução (HOWARD & WILDT, 2009; ROTH & SWANSON, 2018). A partir disso, torna-se evidente a necessidade da expansão dessas iniciativas, e a criação de novas, e, para tal, é necessária uma maior quantidade de estudos a respeito do comportamento reprodutivo desses animais, e de técnicas de reprodução assistida, com o objetivo de complementar os programas existentes de conservação e de reprodução natural.

3.5 Fisiologia e comportamento reprodutivo de felídeos silvestres

Um dos primeiros passos para desenvolver protocolos de biotécnicas da reprodução é estudar as características reprodutivas de cada espécie, incluindo a sua sazonalidade reprodutiva, sua duração do ciclo estral e seus mecanismos ovulatórios. O conhecimento dos padrões hormonais de cada espécie é essencial para o desenvolvimento de novas técnicas de reprodução assistida (THONGPHAKDEE et al., 2017; HERRICK, 2019).

Há uma grande diversidade nas dinâmicas ovarianas dentre as diferentes espécies de felídeos silvestres. Várias espécies, especialmente aquelas ocorrentes em locais mais frios, exibem sazonalidade reprodutiva, ciclando apenas em alguns períodos do ano, como o leopardo-das-neves (*Panthera uncia*), o gato-de-pallas (*Felis manul*) e as quatro espécies do gênero *Lynx*. Outras espécies, como a jaguatirica (*Leopardus pardalis*), o tigre (*Panthera tigris*), a onça-parda (*Puma concolor*), o gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*), o gato-maracajá (*Leopardus wiedii*) e o guepardo (*Acinonyx jubatus*) ciclaram durante o ano todo. A ovulação dos guepardos é induzida, enquanto espécies como a onça-pintada (*Panthera onca*) e o leão (*Panthera leo*) podem ovular espontaneamente sem sazonalidade, com incidência variável entre diferentes espécies e indivíduos, por meio de mecanismos ainda desconhecidos (MORATO

et al., 1999; MOREIRA, 2001; PELICAN et al., 2006; MICHELETTI et al., 2011; BARNES et al., 2016; GONZALEZ et al., 2016; CROSIER et al., 2018; HERRICK, 2019; BELLANI, 2020; JORGE-NETO et al., 2020).

JORGE-NETO et al. (2020) observaram que as onças-pintadas (*Panthera onca*) podem ovular de duas formas diferentes: por indução, por meio de estímulos durante o coito, e por meio de estímulos sensoriais (contato visual, olfatório e auditivo) causados pela proximidade de um macho abrigado em outro recinto. Além disso, também observou-se que as fêmeas da onça-pintada (*Panthera onca*) foram incapazes de ovular na ausência de qualquer estímulo vindo de machos da mesma espécie.

Também já se observou que algumas leas (*Panthera leo*) e fêmeas de leopardo (*Panthera pardus*) ovularam espontaneamente, sem a proximidade de um macho, mas com contato e estímulo por parte de outras fêmeas da mesma espécie (JORGE-NETO et al. 2020).

A sazonalidade pode também comprometer a obtenção de espermatozoides viáveis para a realização de técnicas reprodutivas, principalmente em algumas espécies de felídeos que possuem variações em sua produção espermática, que costumam viver locais com estações do ano mais frias (MICHELETTI et al., 2011; TAJIMA et al., 2016). MORATO et al. (1999, 2004) não encontraram variações sazonais no ejaculado de onças-pintadas (*Panthera onca*) em cativeiro no Brasil. CROSIER et al. (2007) também não encontraram variação sazonal no ejaculado de guepardos (*Acinonyx jubatus*) durante o ano.

O estro de felídeos selvagens costuma variar de seis a 17 dias, e, após a ovulação, o corpo lúteo costuma permanecer por tempo variável dependendo da espécie, podendo resistir até a metade da gestação. Em lincos ibéricos (*Lynx pardinus*), o ciclo é monoéstrico, e seu corpo lúteo pode permanecer por vários anos, constantemente produzindo progesterona em níveis elevados. Alguns comportamentos de estro envolvem a vocalização aumentada e a marcação territorial com jatos de urina (VARGAS et al., 2008; PAINER et al., 2014; BARNES et al., 2016; BELLANI, 2020; VIAU et al., 2020).

SWANSON et al. (2003), em sua pesquisa a respeito do *status* reprodutivo de espécies de felídeos em zoológicos da América Latina, observaram que 71% dos 185 machos das oito diferentes espécies avaliadas tinham espermatozoides em seus ejaculados. Indivíduos aspérmicos foram observados em todas as espécies, em diferentes porcentagens. Em geral, a concentração espermática foi baixa em todas as espécies, com 47% dos indivíduos tendo pelo menos 1×10^6 espermatozoides/ejaculado, e 29% com mais de 10×10^6 espermatozoides totais. Felídeos de menor porte apresentaram menor volume de sêmen, mas maior concentração com relação aos de grande porte. Os índices de motilidade espermática foram similares, e a proporção de espermatozoides pleiomórficos foi variável entre as espécies.

Uma observação importante feita por SWANSON et al. (2003) foi que a dieta fornecida pelas instituições latino-americanas que colaboraram com a pesquisa eram em grande maioria inadequadas, sendo que apenas 31% dos felídeos machos pesquisados recebiam dietas adequadas, com fornecimento de presas inteiras ou suplementação vitamínico-mineral mais de uma vez na semana. A dieta inadequada, conjuntamente com o desconhecimento das particularidades de cada espécie, pode ajudar a explicar parte das alterações fisiológicas dos animais (PELICAN et al., 2006).

MOREIRA (2001) analisou os padrões reprodutivos de felídeos do gênero *Leopardus*, que possui espécies que geralmente não se reproduzem bem em cativeiro. Esse autor avaliou o período de estro de diferentes espécies de felídeos silvestres, baseado no intervalo entre os picos de estrógeno fecal. A duração média do ciclo estral de cada espécie foi de $18,4 \pm 1,6$ dias para a jaguatirica (*Leopardus pardalis*), de $16,7 \pm 1,3$ dias para o gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*), e de $17,6 \pm 1,5$ dias para o gato-maracajá (*Leopardus wiedii*). Não se identificou influência do fotoperíodo nesses ciclos. Durante esse estudo, também se observou que a jaguatirica (*Leopardus pardalis*) e o gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*) não ovulam espontaneamente, diferentemente do gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), que apresentou ovulação espontânea. Isso demonstra como pode haver uma grande variação espécie-específica nos processos de ovulação.

A fisiologia reprodutiva e o comportamento da maior parte dos felídeos silvestres de pequeno porte, muitos dos quais ocorre no Brasil e em outras regiões neotropicais, ainda não foram estudados. Essa falta de informação dificulta esforços de melhorar a reprodução natural ou assistida em cativeiro (MOREIRA 2001; MICHELETTI et al., 2011).

3.6 Inseminação artificial em felídeos silvestres

A inseminação artificial, dentre outros protocolos de reprodução assistida, pode ser utilizada para enfrentar os desafios apresentados pela tarefa de administrar populações pequenas e isoladas de espécies ameaçadas em cativeiro. Ela apresenta diversas vantagens, como a utilização de sêmen resfriado ou criopreservado, tornando desnecessário o transporte de animais entre locais para gerar novos filhotes, e tornando possível a reprodução de indivíduos com deficiências físicas ou que sejam incompatíveis com outros indivíduos da mesma espécie, e assim impossibilitados de se reproduzir naturalmente (PELICAN et al., 2006; MICHELETTI et al., 2011; THONGPHAKDEE et al., 2017; HERRICK, 2019).

O primeiro procedimento de inseminação artificial a obter sucesso em um felídeo selvagem foi realizado em 1981, na Zoological Society of London, por meio do qual conseguiram produzir um filhote de onça-parda (*Puma concolor*) pela deposição intrauterina de espermatozoides durante uma laparotomia. Desde então, vários outros procedimentos foram realizados com taxas variáveis de sucesso (HOWARD & WILDT, 2009).

Em felídeos selvagens, a inseminação artificial depende de várias técnicas complementares para ser implementada. Em machos é necessário utilizar-se de técnicas como a eletroejaculação, a avaliação do ejaculado e a criopreservação de sêmen, e em fêmeas utiliza-se a detecção do estro, a manipulação do ciclo hormonal e a laparoscopia. O local de escolha para a deposição do sêmen no processo de inseminação artificial é de grande importância e tem influência na efetividade do procedimento. Demonstrou-se que, em felídeos, a inseminação por laparoscopia é a que gera maior probabilidade de sucesso (SWANSON, 2012; MOREIRA, 2017; SILVA, 2018).

Todas essas técnicas dependem de um profundo conhecimento da biologia reprodutiva de cada espécie em que se deseja aplicar estes procedimentos. Assim sendo, é necessário ter informações a respeito dos aspectos comportamentais, anatomo-funcionais e bioquímico-estruturais das espécies e dos indivíduos a serem escolhidos, e muitas dessas informações podem ser obtidas somente por meio de estudos realizados com animais silvestres em cativeiro. Como diversas espécies de felídeos silvestres são pouco estudadas, ainda não há protocolos padrões de inseminação artificial elaborados para a grande maioria delas (BUENO & PEREIRA, 2008; COMIZZOLI & HOLT, 2019; HERRICK, 2019).

Geralmente, se decide por utilizar métodos de monitoramento não-invasivos em felídeos silvestres, nos quais se mede metabólitos de esteroides nas fezes ou urina dos animais. Por meio desses metabólitos, é possível adquirir conhecimento a respeito de diversos aspectos do indivíduo avaliado e de sua espécie, tais como mecanismos ovulatórios, sazonalidade ou ausência desta em relação aos seus ciclos hormonais, prenhez e infertilidade. Também é possível utilizar essas informações para guiar a manipulação do ciclo hormonal, como na superovulação ou sincronização de estro (MOREIRA, 2017).

Após a detecção do estro, por meios comportamentais, endócrinos ou por ultrassom, e a realização da coleta do sêmen, é necessário determinar quando que se deve realizar a inseminação em relação à época da ovulação. Também se deve determinar onde o sêmen deve ser depositado, a fim de maximizar as chances de prenhez (HOWARD & WILDT, 2009; HERRICK, 2019).

Além do monitoramento não-invasivo, também é possível treinar e condicionar animais para que eles permitam avaliações por ultrassom, citologia vaginal e colheitas de sangue ou sêmen (utilizando-se vagina artificial), sem precisarem de sedação ou imobilização. Porém, geralmente é difícil realizar qualquer tipo de condicionamento com felídeos selvagens, por serem espécies predadoras e perigosas para quem lida diretamente com elas nestes tipos de procedimento (MOREIRA, 2017; HERRICK, 2019).

Apesar de já terem sido descritos em mais de 50 espécies animais diferentes, protocolos de IA foram totalmente desenvolvidos e incorporados em programas de conservação de somente duas espécies ameaçadas, sendo elas o panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) e a doninha-de-patas-pretas (*Mustela nigripes*). Em felídeos silvestres, a taxa de sucesso de técnicas de reprodução assistida ainda é pequena, estando por volta de 20%. Apesar dos baixos índices, foi possível gerar filhotes em várias espécies, incluindo o gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*) e a jaguatirica (*Leopardus pardalis*) (PAZ, 2004; PELICAN et al., 2006; MICHELETTI et al., 2011; COMIZZOLI & HOLT, 2019; HERRICK, 2019).

Mesmo com a laparoscopia sendo o método mais utilizado de inseminação artificial, vários pesquisadores tentam encontrar outras metodologias que não submetam o animal ao estresse e ao risco gerados pelo processo cirúrgico. GOERITZ et al. (2012) conseguiram realizar inseminação artificial não-cirúrgica em quatro leões (*Panthera leo*), por meio do uso de ultrassonografia transabdominal, e de um catéter inserido transvaginalmente até adentrar a cérvix uterina em leas anestesiadas com medetomidina e cetamina. Foi possível recuperar embriões por lavagem uterina cirúrgica, e posteriormente criopreservá-los.

CALLEATA et al. (2019) também realizaram uma técnica de inseminação artificial não-cirúrgica em leões (*Panthera leo*), utilizando um análogo exógeno de GnRH para induzir ovulação em fêmeas que apresentassem comportamento de estro. O sêmen utilizado foi coletado por eletroejaculação, e depositado por rotas intravaginal e transcervical após avaliação do trato reprodutivo por meio de ultrassonografia, com taxa final de prenhez de 33,3%. Estudos para melhorar a eficácia da inseminação artificial em felídeos indicam que o uso de progestinas orais (Altrenogest) é um método efetivo de suprimir a atividade ovariana endógena. Adicionalmente, injeções de gonadotrofinas após a pausa na administração de progestinas geram uma resposta folicular consistente, corpos lúteos normais e ovócitos viáveis. Além disso, sugere-se que sejam desenvolvidas técnicas não-cirúrgicas de inseminação artificial para eliminar o efeito da elevação

de cortisol após a cirurgia laparoscópica (MICHELETTI et al., 2011; HERRICK, 2019).

3.7 Monitoramento não-invasivo

Historicamente, a frequência necessária de colheita de amostras de soro ou plasma sanguíneo para caracterizar eventos hormonais no ciclo reprodutivo tornou muito difícil a realização de estudos a respeito desses aspectos em animais silvestres. Essa dificuldade ocorre tanto pelos fatores de risco, dor e estresse dos animais (o que também pode alterar os resultados), quanto por questões de segurança dos pesquisadores (BUENO & PEREIRA, 2008; HERRICK, 2019).

Para evitar os problemas envolvidos na colheita sanguínea em animais silvestres, foram desenvolvidos métodos de análise de concentração de metabólitos esteroidais em amostras fecais ou de urina. Essa prática permite a coleta diária e não-invasiva durante o momento de manutenção dos recintos dos animais, e se tornou imprescindível para o estudo reprodutivo de felídeos silvestres em cativeiro, e para o desenvolvimento de protocolos de reprodução assistida (HERRICK, 2019).

O monitoramento de esteroides fecais em felídeos silvestres é utilizado para diversas análises, tanto em machos quanto em fêmeas. Dentre essas análises, encontram-se: identificação do tipo e momento da ovulação, flutuações na atividade reprodutiva de acordo com a estação, ciclicidade de cada espécie, momento de puberdade, senescência ou senilidade reprodutiva, correlação da dosagem de testosterona e qualidade do sêmen, diagnóstico de sub ou infertilidade, e comparação do perfil endócrino de vários indivíduos, tanto na reprodução assistida quanto na natural (MOREIRA, 2001; PAZ, 2004; BROWN, 2006; GRAHAM et al., 2006; KIRBERGER et al., 2011; MICHELETTI et al., 2011; MOREIRA, 2017; MARKER et al., 2018; HERRICK, 2019).

O cortisol também pode ser medido por meio de análise de metabólitos esteroidais nas fezes dos animais, e essa informação pode ser analisada para

determinar se um animal está sofrendo estresse elevado, situação que pode afetar seu desempenho reprodutivo, diminuindo inclusive a concentração de testosterona em machos. Alguns fatores que causam a elevação de cortisol são a falta de espaço, a proximidade do recinto de felídeos pequenos a recintos de felídeos maiores, a falta de locais para se esconder e de regularidade nos horários de alimentação. Além disso, contenções e procedimentos anestésicos frequentes também aumentam o cortisol sérico, e isso afetará negativamente a fertilidade do animal (MORATO et al., 2004; BROWN, 2006; PELICAN et al., 2006).

Paralelamente à análise de esteroides fecais, os animais podem ser monitorados e têm seu comportamento observado para auxiliar na detecção do estro. Em felídeos silvestres, alguns comportamentos de fêmeas no estro são o aumento na frequência e na intensidade de vocalização, o roçar e o farejar de outros indivíduos ou partes do recinto, o rolar, e a marcação de locais com jatos de urina. Entretanto, muitos indivíduos não apresentam essas mudanças comportamentais por viverem em cativeiro e terem níveis elevados de estresse e cortisol sérico, uma condição que muitas vezes causa alterações hormonais e comportamentais, podendo também gerar padrões de comportamento estereotipados. Além disso, a grande variação na frequência de ovulação em felídeos dificulta prever o estro natural (MOREIRA, 2001; PAZ, 2004; BUENO & PEREIRA, 2008; MICHELETTI et al., 2011; COMIZZOLI, 2015; CROSIER et al., 2018; HERRICK, 2019).

3.8 Coleta seminal e exame andrológico

A eletroejaculação é o método mais seguro e mais frequentemente utilizado em felídeos silvestres para se coletar sêmen. Já foram realizados alguns experimentos com vagina artificial em gatos domésticos (*Felis catus*) e guepardos (*Acinonyx jubatus*), mas esse método necessita do condicionamento prévio dos animais, e sua habituação aos coletores. Também pode ser realizada a cateterização uretral associada a fármacos que possam promover a ejaculação

(ZAMBELLI & CUNTO, 2006; MOREIRA, 2017; CROSIER et al., 2018; SILVA, 2018; HERRICK, 2020).

Por requerer anestesia em felídeos selvagens, a eletroejaculação não é um procedimento que pode ser realizado com muita frequência, pois o uso de fármacos anestésicos apresenta diversos riscos, especialmente para animais idosos. Portanto é preciso fazer uma avaliação detalhada de um animal antes de submetê-lo à anestesia, levando em consideração sua idade, seu peso corporal, e seu estado de saúde, para evitar submeter indivíduos a procedimentos que possam colocar sua integridade em risco (MOREIRA 2017; HERRICK, 2019).

O histórico do animal é de grande importância, não se recomendando coletar sêmen de animais de idade avançada, com histórico de cardiopatia, com histórico de doenças renais, bastante comum em felídeos, ou com complicações anestésicas prévias. Todos os parâmetros fisiológicos devem ser monitorados durante a anestesia para permitir rápida intervenção caso haja algum problema, devendo-se também manter um acesso venoso (MOREIRA, 2017).

O número de espermatozoides que serão colhidos depende da voltagem e do número de estímulos elétricos aplicados, sendo que, quanto maior a voltagem, maior o número de espermatozoides obtidos. Entretanto, a voltagem mais intensa e o posicionamento muito cranial do transdutor retal propiciam a contaminação do sêmen por urina. Geralmente, os estímulos elétricos utilizados variam de 1 a 8 volts e de 50 a 100 miliamperes, sendo que as maiores voltagens propiciam a contaminação do ejaculado por urina. São aplicados até 100 estímulos elétricos de voltagem crescente, em três sequências durando aproximadamente 30 minutos (ZAMBELLI & CUNTO, 2006; MOREIRA, 2017; CROSIER et al., 2018).

A quantidade e qualidade do sêmen coletado pela eletroejaculação irá determinar quais procedimentos podem ser realizados com o ejaculado. A avaliação desse sêmen permitirá a seleção de indivíduos aptos para se reproduzirem naturalmente, e para fornecerem sêmen para uso imediato, para refrigeração ou para conservação (MOREIRA, 2017; HERRICK, 2019).

Apesar de a eletroejaculação ser o método mais utilizado para a coleta seminal em felídeos silvestres, ela tem algumas limitações. O equipamento é

caro, há risco de contaminação da amostra com urina, e os animais sofrem fortes contrações musculares durante e após o procedimento. Vários fatores como a voltagem utilizada, colheitas sequenciais, tempo prolongado e fluxo retrógrado do líquido seminal também podem afetar a qualidade do sêmen (ARAÚJO et al., 2017; MOREIRA, 2017).

A aplicação de anestesia de forma repetitiva e as descargas de impulsos elétricos causadas pelo procedimento de eletroejaculação não parecem alterar a capacidade ejaculatória dos indivíduos ou causar efeitos nocivos. Também costuma melhorar a qualidade do sêmen de machos que estiveram em repouso sexual por tempo prolongado (ZAMBELLI & CUNTO, 2006; MOREIRA, 2017).

Não se sabe o quanto que as amostras de sêmen colhidas por eletroejaculação se parecem com o ejaculado produzido durante a cópula. O sêmen obtido por eletroejaculação costuma ter pH mais alcalino, maior volume e menor concentração espermática do que o sêmen colhido por vagina artificial (MOREIRA, 2017; HERRICK, 2019).

O fluxo retrógrado de espermatozoides para o interior da bexiga gera uma perda considerável. Esse fato ocorre também durante a monta natural ou colheita por vagina artificial, não sendo uma consequência da estimulação elétrica da eletroejaculação ou da anestesia unicamente, e sim um evento natural do processo ejaculatório em felídeos (ZAMBELLI & CUNTO, 2006; MOREIRA, 2017).

É também possível colher espermatozoides obtidos pela compressão ou pelo fatiamento do epidídimo, após a morte de um animal, ou após cirurgia de orquiectomia. Esse tipo de colheita costuma ser recomendado em espécies ameaçadas de extinção, uma vez que nelas todo material genético é valioso. Essas técnicas são utilizadas, mas geralmente rendem uma pequena quantidade de espermatozoides, especialmente em felídeos pequenos (ZAMBELLI & CUNTO, 2006; MICHELETTI et al., 2011; MOREIRA, 2017).

Também há a coleta farmacológica, que consiste na inserção de um catéter na uretra, e na administração de um fármaco anestésico que estimule a liberação de sêmen. Geralmente são utilizados fármacos da classe $\alpha 2$ -agonistas, como a medetomidina, associados a outro anestésico. Já foram obtidos bons

resultados com a coleta farmacológica em onças-pintadas (*Panthera onca*) e onças-pardas (*Puma concolor*), para as quais se preconiza a dose de 0,08 a 0,1 mg/kg de medetomidina, e também em leopardos-de-amur (*Panthera pardus orientalis*) e leões (*Panthera leo*) (LUEDERS et al., 2012; ARAÚJO et al., 2017; MOREIRA, 2017; JEONG et al., 2018; SILVA, 2018; CROSIER et al., 2018).

Um dos grandes entraves no desenvolvimento de protocolos efetivos de inseminação artificial em felídeos selvagens é a alta incidência de teratospermia. Essa consiste na produção de mais de 60% de espermatozoides com morfologia anormal por ejaculado, com sua conseqüente diminuição na habilidade de fertilização em grande parte dessas espécies. Sua etiologia ainda é desconhecida, mas há evidências que apontam para uma das causas ser a redução da diversidade genética nessas espécies, sendo que as com menor variabilidade genética têm a tendência a produzir mais espermatozoides com deformidades (MORATO et al., 1999; PUKAZHENTHI et al., 2006; CROSIER et al., 2007; HOWARD & WILDT, 2009; CROSIER et al., 2018). A média de espermatozoides morfologicamente anormais encontrados por ARAÚJO et al. (2017) em coleta farmacológica realizada em onças-pardas (*Puma concolor*) foi de 59,5%.

Também há evidências de que, além da falta de diversidade genética, há outros fatores que afetam a qualidade do ejaculado, com presença de baixa concentração espermática e formação de espermatozoides anormais. Esses podem ser oriundos de dieta e manejo inadequados, recinto demasiado pequeno, falta de estímulos e exercícios, bem como distresse (MORATO et al., 1999; FASCETTI et al., 2000; BECHERT et al., 2002; CHATDARONG et al., 2006; PUKAZHENTHI et al., 2006; CROSIER et al., 2018; WU, 2021).

Dentre as espécies que possuem baixa variabilidade genética em suas populações e costumam apresentar altas taxas de teratospermia, podem-se citar o puma-norte-americano (*Puma concolor cougar*), o guepardo (*Acinonyx jubatus*), o leão asiático (*Panthera leo leo*), o leopardo-nebuloso (*Neofelis nebulosa*) e o gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*). Além de espermatozoides defeituosos, também há uma maior taxa de defeitos congênitos,

como criptorquidismo, em algumas dessas espécies (BECHERT et al., 2002; PUKAZHENTHI et al., 2006).

Uma característica interessante do guepardo (*Acinonyx jubatus*) é que este possui uma proporção muito alta de espermatozoides defeituosos, com mais de 70% por ejaculado. Mesmo assim eles mantêm sua fertilidade, obtendo-se maior sucesso quando submetidos a procedimentos de inseminação artificial quando comparado com outras espécies de felídeos (PUKAZHENTHI et al., 2006; KOESTER et al., 2015; MARKER et al., 2018).

Espermatozoides obtidos de doadores com altas taxas de teratospermia têm várias de suas funções e sua fertilidade comprometidas, incluindo sua capacitação, reação acrossômica, penetração da zona pelúcida, capacidade de fertilização e sobrevivência à criopreservação. Gametas pleiomórficos não participam do processo de fertilização, e espermatozoides aparentemente normais em ejaculados teratospérmicos também sofrem defeitos funcionais e estruturais. Felídeos teratospérmicos produzem uma maior quantidade de espermatozoides, porém estes são de menor qualidade que os produzidos por indivíduos que não têm essa deficiência na produção espermática (PUKAZHENTHI et al., 2006).

Antes de ser utilizado em algum procedimento, o sêmen colhido, independentemente do método utilizado, passa por uma análise de suas características. Essas envolvem a aparência, volume, pH, concentração espermática, motilidade, motilidade progressiva, osmolaridade, viabilidade (por meio do uso do corante eosina-nigrosina), integridade de membrana (por meio de microscópio eletrônico de transmissão ou microscópio de fluorescência) e morfologia. Devido ao baixo volume do ejaculado de felídeos, alguns procedimentos diagnósticos rotineiramente aplicados ao ejaculado de outras espécies costumam ser difíceis ou impossíveis de serem aplicados (ZAMBELLI & CUNTO, 2006; LUEDERS et al., 2012; LUTHER et al., 2017; MOREIRA, 2017).

O ejaculado deve ser branco creme e homogêneo, podendo ter sua cor e pH alterados pela contaminação por urina. O volume é avaliado por pipetas, a motilidade em escala de 0 a 100% e a motilidade progressiva em escala de 0 a 5.

Essas características devem ser avaliadas no ejaculado não diluído, por microscopia de contraste de fase com uma placa aquecedora (com aumento de 100 a 400x), e analisadas subjetivamente (ZAMBELLI & CUNTO, 2006).

Para a análise morfológica, utiliza-se o corante rosa bengala, que permite a diferenciação das diferentes estruturas dos espermatozoides individuais. Para essa análise, devem ser contados de 100 a 200 gametas com aumento de 400 a 1.000x no microscópio de contraste de fase. As deformidades espermáticas mais comuns relatadas em felídeos são espermatozoides piriformes, micro e macrocefalia, anormalidade do acrossomo, bicefalia e espermatozoides imaturos (ZAMBELLI & CUNTO, 2006).

3.9 Criopreservação

A inseminação com sêmen fresco costuma resultar em melhores resultados do que a com sêmen criopreservado, mas, devido a questões de logística, à maior possibilidade de intercâmbio de material genético entre diferentes instituições e países, à viabilidade de utilizar o material genético de animais mortos, feridos ou com problemas comportamentais, e à disponibilidade de material para repetidas pesquisas, o uso da técnica de criopreservação de gametas é de extrema importância para a conservação *ex situ*. Desse modo, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas de criopreservação para as diferentes espécies de felídeos silvestres (ZAMBELLI & CUNTO, 2006; BARNES et al., 2011; MICHELLETI et al., 2011; LUTHER et al., 2017).

As diversas etapas da criopreservação de sêmen afetam negativamente a funcionalidade espermática, causando a perda de motilidade e de função devido à manipulação, à concentração do crioprotetor utilizado e aos danos de congelamento e descongelamento, gerando uma taxa de recuperação após descongelamento menor que 50%. Esses fatores precisam ser mitigados por meio de mais pesquisas voltadas a cada espécie e a suas particularidades, assim como em modelos animais que possuem fisiologia parecida, como o gato doméstico (SOUZA et al., 2013).

As pesquisas em modelos animais e animais domésticos são necessárias, pois auxiliam na obtenção de conhecimento sobre espécies taxonomicamente próximas, e evita alguns entraves típicos da pesquisa científica em animais silvestres, como a dificuldade da obtenção de uma quantidade significativa de amostras. Essa dificuldade geralmente se apresenta pela pouca quantidade de indivíduos disponíveis para estudos, pela dificuldade de seu manejo, ou pela reticência das instituições em fornecer espécimes para a realização de pesquisas (COSTA et al., 2006; PUKAZHENTHI et al., 2006; HOWARD & WILDT, 2009; ZAMBELLI et al., 2010; BARNES et al., 2011; MICHELETTI et al., 2011; DECO-SOUZA et al., 2013; MOREIRA, 2017; BRUSENTSEV et al., 2018).

Os estudos necessários para melhorar os procedimentos de criopreservação devem envolver as características do sêmen e dos espermatozoides de cada espécie, e como estes reagem ao processo de congelamento e descongelamento, ao estresse osmótico, aos diferentes crioprotetores e diluentes a serem utilizados para melhores resultados. Faz-se ainda necessário avaliar quais meios de congelamento podem ser utilizados, e como a formação de cristais de gelo (e seu possível dano) afeta os espermatozoides no processo de congelamento (MICHELETTI et al., 2011; MOREIRA, 2017).

Apesar de a gema de ovo atuar na proteção da membrana celular e ser o meio de congelamento mais utilizado em felídeos não-domésticos, ela causa variação entre partidas ou lotes, contaminação microbiana e possíveis restrições regulamentares no transporte internacional. Por esses motivos, tem-se pesquisado meios alternativos de congelamento, tal como a lecitina de soja (MOREIRA, 2017).

Os meios diluidores que obtiveram maior sucesso foram os que possuem TRIS (Tris-hidroximetil-aminometano) em sua composição, tendo sido utilizados em gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), onça-parda (*Puma concolor*) e onça-pintada (*Panthera onca*). O crioprotetor mais utilizado é o glicerol em concentrações variáveis (2 a 10%), sendo que sua toxicidade varia de acordo com sua concentração (DECO-SOUZA et al., 2013; SILVA, 2018).

Uma das maiores vantagens da reprodução *ex situ* e da criopreservação da para diversas espécies silvestres é a criação de bancos de germoplasma, ou seja, biorepositórios que poderão abrigar uma grande diversidade genômica por meio de amostras congeladas, como gametas ou embriões. Esses materiais poderão futuramente ser utilizados para aumentar a diversidade genética da população, por meio da introdução de material genético diversificado e irão ajudar a manter essas espécies existindo, se utilizados conjuntamente com outras medidas de conservação (LUEDERS et al., 2012; DECO-SOUZA et al., 2013; COMIZZOLI, 2015; LUTHER et al., 2017; THONGPHAKDEE et al., 2017; CROSIER et al., 2018; SILVA, 2018; COMIZZOLI & HOLT, 2019; SILVA et al., 2021).

KANEKO et al. (2014) realizaram um experimento de congelamento a seco de espermatozoides de onça-pintada (*Panthera onca*) obtidos do epidídimo e dos testículos do animal após sua morte, no qual primeiramente suspenderam os espermatozoides em 1 mL de tampão de Tris e EDTA em um tubo de microcentrífuga e depois realizaram sua centrifugação. Após esse processo, os autores transferiram a suspensão de espermatozoides para ampolas de vidro, e mergulharam-nas em nitrogênio líquido por 20s. Depois, as ampolas foram inseridas em máquina de congelamento a seco (Freeze-drying systems 77530, Labconco, Kansas City, MO, USA). A suspensão de espermatozoides foi secada por 4h a uma pressão de 0,04 hPa. Posteriormente, se estocou as ampolas a 4°C por um mês. Após esse período, demonstrou-se que os espermatozoides ainda continuavam viáveis e formavam pronúcleos quando introduzidos em ovócitos de camundongo. Esse método pode ser útil para estocar material genético por um período prolongado sem a necessidade de se utilizar nitrogênio líquido, o que se mostra uma boa solução para locais com menos infraestrutura.

A refrigeração de sêmen, por outro lado, não parece causar alteração significativa nos espermatozoides ou líquido seminal (MICHELETTI et al., 2011). ANGRIMANI et al. (2017) testaram o efeito de diferentes diluições em sêmen de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*) e concluíram que o uso de tris-citrato-gema de ovo (TEYC) é satisfatório para manter os parâmetros do sêmen de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*) por até 24 horas, refrigerado a uma temperatura de 4°C.

3.10 Inseminação artificial por laparoscopia

O primeiro relato de nascimento de um felídeo silvestre por inseminação artificial, utilizando-se laparoscopia, foi feito por DONOGHUE et al. (1993). Foi utilizada eletroejaculação para colher sêmen de um tigre siberiano (*Panthera tigris tigris*) anestesiado com cetamina. A fêmea foi tratada com gonadotrofina equina (eCG) e humana (hCG) para estimular desenvolvimento folicular e ovulação respectivamente, procedimento padrão na inseminação artificial de felídeos silvestres. Após 48 horas da aplicação de hCG, a fêmea foi anestesiada com xilazina, diazepam e cetamina, e submetida à inseminação artificial intrauterina por meio de laparoscopia. Essa fêmea pariu um filhote saudável após 111 dias da realização da inseminação artificial.

Gonadotrofinas exógenas são comumente utilizadas para induzir artificialmente o crescimento folicular e a ovulação em fêmeas de felídeos, possuindo uma meia-vida prolongada na circulação (24 a 48h). Entretanto, as respostas a essas gonadotrofinas é variável entre espécies e indivíduos, apresentando-se como solução o desenvolvimento de protocolos espécie-específicos. O acompanhamento dos hormônios esteroides após o uso dessas substâncias possibilita avaliar a atividade ovariana e a duração do estro. Como pesquisas indicam que prostaglandina F_{2α} não tem efeito luteolítico em gatas domésticas, pesquisadores tendem a evitar seu uso em felídeos silvestres (PAZ, 2004; MICHELETTI et al., 2011; CONFORTI et al., 2013; SILVA, 2018).

Para que o procedimento de inseminação artificial seja bem-sucedido, é necessário que a fêmea tenha ovulado ou esteja prestes a ovular, para que haja condições necessárias para a implantação e desenvolvimento do embrião. Geralmente, determina-se que o sêmen deva ser depositado no ápice do corno uterino ou no oviduto, o que propicia uma maior taxa de fertilidade. Para a inseminação intrauterina é necessária uma grande quantidade de espermatozoides, algo difícil de se conseguir em felídeos. Por isso, o uso do oviduto como local de deposição dos gametas pode aumentar a taxa de sucesso de fertilização, possibilitando o uso de um número menor de espermatozoides no procedimento. Entretanto, o procedimento de laparoscopia gera a necessidade de

equipamento caro e pessoal treinado para realizá-lo (MICHELETTI et al., 2011; CONFORTI et al., 2013).

O local de deposição do sêmen também é importante para o sucesso da inseminação artificial, pois se observou que o transporte de espermatozoides no trato reprodutivo de felídeos anestesiados não é muito eficiente. Por essa razão, a inseminação por meio de laparoscopia intrauterina é o método mais utilizado nesses animais. O procedimento é feito pela inserção de um laparoscópio por dentro de uma cânula em uma incisão de aproximadamente 3 cm na parede abdominal, seguida pela cateterização do lúmen uterino e deposição do sêmen na parte cranial do corno uterino. Essa deposição mais cranial é necessária, pois possibilita que um número menor de espermatozoides sejam necessários para alcançar as taxas desejadas de fertilidade (CHATDARONG et al., 2004; ZAMBELLI & CUNTO, 2005; PELICAN et al., 2006; HOWARD & WILDT, 2009; MOREIRA, 2017).

Apesar de a grande maioria dos pesquisadores realizarem a inseminação intrauterina por meio de laparoscopia em felídeos silvestres, alguns já obtiveram sucesso com inseminação artificial intravaginal e transcervical, principalmente em felídeos domésticos, uma indicação de que há possibilidades de desenvolver novos métodos que envolvam menos riscos do que a inseminação cirúrgica para a inseminação artificial em felídeos silvestres no futuro (ZAMBELLI & CUNTO, 2005; ZAMBELLI et al., 2015).

O sucesso da inseminação artificial e a ocorrência de prenhez têm sido grandemente variável. Apenas o gato doméstico (*Felis catus*) e o guepardo (*Acinonyx jubatus*) têm incidência de prenhez acima de 45%, sendo que essa incidência é abaixo de 30% para outras espécies (PELICAN et al., 2006).

A laparoscopia também é bastante utilizada para caracterizar a anatomia do trato reprodutivo de felídeos e para identificar eventos ovarianos, como o desenvolvimento de folículos e a presença de corpos hemorrágicos e corpos lúteos. Alguns autores já demonstram que também é possível utilizar a ultrassonografia transabdominal e a citologia vaginal para investigar a atividade ovariana (HOWARD & WILDT, 2009; KIRBERGER et al., 2011).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com a maior parte dos autores citados nesta revisão de literatura, um dos principais focos para pesquisas futuras na área de biotécnicas reprodutivas deve ser a investigação aprofundada do comportamento e das características fisiológicas de diferentes espécies de felídeos silvestres. Essas pesquisas irão permitir que se possa desenvolver com maiores precisão e conhecimento diferentes técnicas de reprodução assistida, que não poderão ser as mesmas para todas as espécies de felídeos, pois este grupo de animais apresenta grande variedade de características.

Além disso, também se deve investir em pesquisas a respeito do modo de vida desses animais e de seus requerimentos para viver confortavelmente em cativeiro, e em melhorias nos recintos de grande parte dos zoológicos existentes, principalmente na América Latina, onde há uma quantidade considerável de felídeos silvestres vivendo em cativeiro sob condições inadequadas. Demonstrou-se que muito do insucesso na reprodução em cativeiro de felídeos silvestres se dá pelo manejo falho, pela nutrição insuficiente ou inadequada, pela falta de locais para os animais se esconderem, pelo tamanho pequeno de recintos, e por outros fatores que afetam negativamente o estado de saúde do animal, aumentando seu cortisol sérico e diminuindo sua fertilidade.

As melhorias nas condições de vida e na fertilidade desses animais irá propiciar sua participação em maior número de diversos programas de conservação *ex situ* já existentes, uma estratégia imprescindível para a manutenção e a ampliação da diversidade genética dentro de cada espécie, e para garantir que seu risco de extinção seja reduzido.

Também é urgente o investimento no treinamento de novos cientistas, biólogos, médicos veterinários e funcionários de zoológicos e de instituições que lidam com esses animais, para que todos os profissionais possam trabalhar com maior êxito na reprodução natural e assistida de felídeos silvestres.

Alguns dos problemas envolvidos na conservação de felídeos silvestres são de cunho político, social e econômico. A ameaça que esses animais representam aos rebanhos de fazendeiros é uma questão que deve ser pensada

com cautela, podendo ser elaboradas intervenções como a criação de projetos de educação a respeito desses animais em comunidades que têm contato constante com eles; elaboração de programas de ecoturismo; e o reembolso do valor monetário de animais que foram mortos por felídeos silvestres.

Apesar de as técnicas de reprodução assistida ainda não serem aplicadas rotineiramente na conservação animal, e também serem pouco difundidas, elas apresentam potencial futuro para a conservação de espécies. Elas permitem a facilitação da troca de material genético em animais já existentes em cativeiro, e também possuem potencial conservacionista gerado pela criação de bancos de germoplasma. Esses bancos de germoplasma irão resguardar a diversidade genética existente no presente, e irão gerar possibilidades de intervenções conservacionistas no futuro, como a introdução de novo material genético fundador em populações *in situ* e *ex situ*.

As técnicas de reprodução assistida, inclusive a inseminação artificial, ainda têm diversos entraves a serem ultrapassados antes de serem amplamente utilizadas em animais silvestres. Os mais importantes são: a pouca disponibilidade de animais para estudos; o pouco conhecimento da maior parte das espécies silvestres que necessitam de auxílio conservacionista; a idade avançada e a baixa fertilidade das populações de animais presentes em zoológicos, e a crescente insatisfação do público com zoológicos e com os procedimentos realizados com os animais. Mesmo assim, essas técnicas possuem imenso potencial presente e futuro na conservação das espécies e na manutenção da biodiversidade.

A Inseminação artificial em felídeos silvestres é um processo que envolve diversas técnicas complementares, tais como a colheita de sêmen, geralmente realizada por eletroejaculação, a criopreservação do sêmen em nitrogênio líquido e a laparoscopia, cirurgia realizada para a deposição de sêmen no corno uterino ou no oviduto da fêmea a ser inseminada. O aprimoramento dessas e de outras técnicas irá futuramente permitir que se possa realizar a inseminação artificial não somente em felídeos silvestres em cativeiro, mas também em felídeos silvestres *in situ*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGRIMANI, D. S. R.; BARROS, P. M. H.; LOSANO, J. D. A.; CORTADA, C. N. M.; BERTOLLA, R. P.; GUIMARÃES, M. A. B. V.; CORREA, S. H. R.; BARNABE, V. H.; NICHI, M. Effect of different semen extenders for the storage of chilled sperm in Tigrina (*Leopardus tigrinus*). **Theriogenology**, v. 89, p. 146–154, 2017.
- ARAÚJO, G. R.; PAULA, T. A. R.; DECO-SOUZA, T.; FERREIRA, L. B. C. F.; SILVA, L. C.; NETO, P. N. J. Coleta farmacológica de sêmen de onças-pardas (*Puma concolor*). **Anais da 2ª Reunião da Associação Brasileira de Andrologia Animal (ABRAA)**. Uberlândia: Embrapa, 2017. 201 p.
- BARNES, S. A.; CEPEDA, A. M.; PENFOLD, L. M. Effects of radiographic contrast media on domestic cat epididymidal sperm. **Theriogenology**, v. 75, n. 2, p. 329–336, 2011.
- BARNES, S. A.; TEARE, A. J.; STAADEN, S.; METRIONE, L.; PENFOLD, L. M. Characterization and manipulation of reproductive cycles in the jaguar (*Panthera onca*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 225, p. 95–103, 2016.
- BAUER, D.; SCHIESS-MEIER, M.; MILLS, D. R.; GUSSET, M. Using spoor and prey counts to determine temporal and spatial variation in lion (*Panthera leo*) density. **Canadian Journal of Zoology**, v. 92, n. 2, p. 97–104, 2014.
- BECHERT, U.; MORTENSON, J.; DIERENFELD, E. S.; CHEEKE, P.; KELLER, M.; HOLICK, M.; CHEN, T. C.; ROGERS, Q. Diet composition and blood values of captive cheetahs (*Acinonyx jubatus*) fed either supplemented meat or commercial food preparations. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 33, n. 1, p. 16–28, 2002.
- BELLANI, G. G. **Felines of the World**. 1.ed. Elsevier, 2020. 474p.
- BRANTON, M.; RICHARDSON, J. S. Assessing the Value of the Umbrella-Species Concept for Conservation Planning with Meta-Analysis: Value of the Umbrella-Species Concept. **Conservation Biology**, v. 25, n. 1, p. 9–20, 2011.
- BRIONES-SALAS, M.; LIRA-TORRES, I.; CARRERA-TREVIÑO, R.; SÁNCHEZ-ROJAS, G. Relative abundance and activity patterns of wild felids in Chimalapas rainforest, Oaxaca, Mexico. **Therya**, v. 7, n. 1, p. 123–134, 2016.
- BRODIE, J. F. Is research effort allocated efficiently for conservation? Felidae as a global case study. **Biodiversity and Conservation**, v. 18, n. 11, p. 2927–2939, 2009.
- BROEKHUIS, F.; GOPALASWAMY, A. M. Counting Cats: Spatially Explicit Population Estimates of Cheetah (*Acinonyx jubatus*) Using Unstructured Sampling Data. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, p. e0153875, 2016.
- BROWN, J. L. Comparative endocrinology of domestic and nondomestic felids. **Theriogenology**, v. 66, n. 1, p. 25–36, 2006.
- BRUSENTSEV, E.; KIZILOVA, E.; MOKROUSOVA, V.; KOZHEVNIKOVA, V.; ROZHKOVA, I.; AMSTISLAVSKY. Characteristics and fertility of domestic cat

epididymal spermatozoa cryopreserved with two different freezing media.

Theriogenology, v. 110, p. 148–152, 2018.

BUENO, A.; PEREIRA, R. E. P. Biotecnologia aplicada aos animais silvestres e seus aspectos éticos e conservacionistas. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, n. 11, 2008.

CALLEALTA, I.; GANSWINDT, A.; MALAN, M.; LUEDERS, I. Non-surgical artificial insemination using a GnRH analogue for ovulation induction during natural oestrus in African lions (*Panthera leo*). **Theriogenology**, v. 139, p. 28–35, 2019.

CHATDARONG, K.; LOHACHIT, C.; LINDE-FORSBERG, C. Distribution of spermatozoa in the female reproductive tract of the domestic cat in relation to ovulation induced by natural mating. **Theriogenology**, v. 62, n. 6, p. 1027–1041, 2004.

CHATDARONG, K.; PONGLOWHAPAN, S.; KARLSSON, A.; LINDE-FOSBERG, C. The effect of ACTH stimulation on cortisol and progesterone concentrations in intact and ovariectomized domestic cats. **Theriogenology**, v. 66, n. 6–7, p. 1482–1487, 2006.

COMIZZOLI, P. Biobanking efforts and new advances in male fertility preservation for rare and endangered species. **Asian Journal of Andrology**, v. 17, n. 4, p. 640-645, 2015.

COMIZZOLI, P.; BROWN, J. L.; HOLT, W. V. **Reproductive Sciences in Animal Conservation**. 2.ed. Springer, 2019. 558 p.

COMIZZOLI, P.; HOLT, W. V. Breakthroughs and new horizons in reproductive biology of rare and endangered animal species. **Biology of Reproduction**, v. 101, n. 3, p. 514–525, 2019.

CONFORTI, V. A.; BATEMAN, H. L.; SCHOOK, M. W.; NEWSOM, J.; LYONS, L. A.; GRAHN, R. A.; DEDDENS, J. A.; SWANSON, W. F. Laparoscopic Oviductal Artificial Insemination Improves Pregnancy Success in Exogenous Gonadotropin-Treated Domestic Cats as a Model for Endangered Felids. **Biology of Reproduction**, v. 89, n. 1, p. 1-9, 2013.

COSTA, D. S.; PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P. Cat, Cougar, and Jaguar Spermatogenesis: a Comparative Analysis. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 5, p. 725-731, 2006.

CROSIER, A. E.; MARKER, L.; HOWARD, J.; PUKAZHENTHI, B. S.; HENGHALI, J.N.; WILDT, D. E. Ejaculate traits in the Namibian cheetah (*Acinonyx jubatus*): influence of age, season and captivity. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 19, n. 2, p. 370-382, 2007.

CROSIER, A. E.; WACHTER, B.; SCHULMAN, M.; LUDERS, I.; KOESTER, D. C.; WIELEBNOWSKI, N.; COMIZZOLI, P.; MARKER, L. Reproductive Physiology of the Cheetah and Assisted Reproductive Techniques. **Cheetahs: Biology and Conservation**, Elsevier, p. 385–402, 2018.

DECHNER, A. Predicting the tangible and intangible costs of co-occurring with wildlife. **Global Ecology and Conservation**, v. 23, p. e01091, 2020.

DECO-SOUZA, T.; PAULA, T. A. R.; COSTA, D. S.; COSTA, E. P.; BARROS, J. B. G.; ARAUJO, G. R.; CARRETA, M. Comparação entre duas concentrações de glicerol para a criopreservação de sêmen de suçuarana (*Puma concolor*).

Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 33, n. 4, p. 512–516, 2013.

DICKMAN, A. J.; HINKS, A. E.; MACDONALD, E. A.; BURNHAM, D.; MACDONALD, D.W. Priorities for global felid conservation. **Conservation Biology**, v. 29, n. 3, p. 854–864, 2015.

DONOGHUE, A. M.; JOHNSTON, L. A.; ARMSTRONG, D. L.; SIMMONS, L. G.; WILDT, D. E. Birth of a Siberian Tiger Cub (*Panthera tigris altaica*) following Laparoscopic Intrauterine Artificial Insemination. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 24, n. 2, p. 185–189, 1993.

FASCETTI, A. J.; ROGERS, Q. R.; MORRIS, J. G. Dietary Copper Influences Reproduction in Cats. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 5, p. 1287–1290, 2000.

GOERITZ, F.; PAINER, J.; JEWGENOW, K.; HERMES, R.; RASMUSSEN, K.; DEHNHARD, M.; HILDEBRANDT, T. B. Embryo Retrieval after Hormonal Treatment to Control Ovarian Function and Non-surgical Artificial Insemination in African Lions (*Panthera leo*). **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 156–160, 2012.

GONZALEZS, S. J.; HOWARD, J. G.; BROWN, J.; GRAJALES, H.; PINZÓN, J.; MONSALVE, H.; MORENO, M. A.; ESCOBAR, C. J. Reproductive analysis of male and female captive jaguars (*Panthera onca*) in a Colombian zoological park. **Theriogenology**, v. 89, p. 192–200, 2017.

GRAHAM, L. H.; BYERS, A. P.; ARMSTRONG, D. L.; LOSKUTOFF, N. M.; SWANSON, W. F.; WILDT, D. E.; BROWN, J. L. Natural and gonadotropin-induced ovarian activity in tigers (*Panthera tigris*) assessed by fecal steroid analyses. **General and Comparative Endocrinology**, v. 147, n. 3, p. 362–370, 2006.

HERRICK, J. R. Assisted reproductive technologies for endangered species conservation: developing sophisticated protocols with limited access to animals with unique reproductive mechanisms. **Biology of Reproduction**, v. 100, n. 5, p. 1158–1170, 2019.

HOLT, W. V.; LLOYD, R. E. Artificial insemination for the propagation of CANDES: the reality! **Theriogenology**, v. 71, n. 1. P. 228-235, 2009.

HOWARD, J. G.; WILDT, D. E. Approaches and efficacy of artificial insemination in felids and mustelids. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 130-148, 2009.

JEONG, D.; KIM, J.; NA, K.. Characterization and cryopreservation of Amur leopard cats (*Prionailurus bengalensis euptilurus*) semen collected by urethral catheterization. **Theriogenology**, v. 119, p. 91–95, 2018.

JORGE-NETO, P. N. **Bioteecnologias reprodutivas aplicadas à produção de embriões in vitro de onça-parda (*Puma concolor*) e onças-pintadas (*Panthera onca*)**. 2019. 83 f. Tese (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

JORGE-NETO, P. N.; LUCZINSKI, T. C.; ARAÚJO, G. R.; SALOMÃO JÚNIOR, J. A.; TRALDI, A. S.; SANTOS, J. A. M.; REQUENA, L. A.; GIANNI, M. C. M.; DECO-SOUZA, T.; PIZZUTTO, C. S.; BALDASSARRE, H. Can jaguar (*Panthera onca*) ovulate without copulation? **Theriogenology**, v. 147, p. 57–61, 2020.

KANEKO, T.; ITO, H.; SAKAMOTO, H.; ONUMA, M.; MURAYAMA, M. I. Sperm Preservation by Freeze-Drying for the Conservation of Wild Animals. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. e113381, 2014.

KIRBERGER, R. M.; SCHULMAN, M. L.; HARTMAN, M. J. Ultrasonographic and laparoscopic evaluation of the reproductive tract of the captive female African lion (*Panthera leo*). **Theriogenology**, v. 76, n. 5, p. 810–818, 2011.

KITCHENER, A. C.; BREITENMOSER-WURSTEN, C.; EIZIRIK, E.; GENTRY, A.; WERDELIN, L.; WILTING, A.; YAMAGUCHI, N.; ABRAMOV, A. V.; CHRISTIANSEN, P.; DRISCOLL, C.; DUCKWORTH, J. W.; JOHNSON, W.; LUO, S. J.; MEIJAARD, E.; O'DONOGHUE, P.; SANDERSON, J.; SEYMOUR, K.; BRUFORD, M.; GROVES, C.; HOFFMANN, M.; NOWELL, K.; TIMMONS, Z.; TOBE, S. **A revised taxonomy of the Felidae. The final report of the Cat Classification Task Force of the IUCN/SSC Cat Specialist Group.** Cat News Special Issue 11, 2017.

KOESTER, D. C.; FREEMAN, E. W.; WILDT, D. E.; TERRELL, K. A.; FRANKLIN, A. D.; MEEKS, K.; CROSIER, A. E. Group management influences reproductive function of the male cheetah (*Acinonyx jubatus*). **Reproduction, Fertility and Development**, v. 29, n. 3, p. 496–508, 2017.

LUEDERS, I.; LUTHER, I.; SCHEEPERS, G.; VAN DER HORST, G. Improved semen collection method for wild felids: Urethral catheterization yields high sperm quality in African lions (*Panthera leo*). **Theriogenology**, v. 78, n. 3, p. 696–701, 2012.

LUTHER, I.; JAKOP, U.; LUEDERS, I.; TORDIFFE A.; FRANZ, C.; SCHILLER, J.; KOTZE, A.; MULLER, K. Semen cryopreservation and radical reduction capacity of seminal fluid in captive African lion (*Panthera leo*). **Theriogenology**, v. 89, p. 295–304, 2017.

MARKER, L.; BOAST, L. K.; SCHMIDT-KÜNTZEL, A. **Cheetahs: biology and conservation.** 1.ed. London: Academic press, 2018. 571p.

MELO, L. F.; SILVA, D.; VIEIRA, F.; MELLO, W. Histórico E Perspectiva Da Conservação Dos Felinos Silvestres Ocorrentes No Brasil Com Estudos Realizados Entre Os Anos De 1945 a 2014. **Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015**, v. 1, p. 42–57, 2015.

MENA, J. L.; YAGUI, H.; TEJEDA, V.; CABRERA, J.; PACHECO-ESQUIVEL, J.; RIVERO, J.; PASTOR, P. Abundance of jaguars and occupancy of medium- and large-sized vertebrates in a transboundary conservation landscape in the northwestern Amazon. **Global Ecology and Conservation**, v. 23, p. e01079, 2020.

MICHELETTI, T.; CUBAS, Z. S.; MORAES, W.; OLIVEIRA, M. J.; KOZICKI, L. E.; WEISS, R. R.; MOREIRA, N. Reprodução assistida em felídeos selvagens – uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.4, p.408-417, 2011.

MORAIS, R. N.; MUCCILOLO, R. G.; GOMES, M. L. F.; LACERDA, O.; MORAES, W.; MOREIRA, N.; GRAHAM, L. H.; SWANSON, W. F.; BROWN, J. L. Seasonal Analysis of Semen Characteristics, Serum Testosterone and Fecal Androgens in the Ocelot (*Leopardus Pardalis*), Margay (*L. Wiedii*) and Tigrina (*L. Tigrinus*). **Theriogenology**, v. 57, n. 8, p. 2027–2041, 2002.

MORATO, R. G.; BUENO, M. G.; MALMHEISTER, P.; VERRESCHI, I. T. N.; BARNABE, R. C. Changes in the fecal concentrations of cortisol and androgen metabolites in captive male jaguars (*Panthera onca*) in response to stress. **Brazilian Journal of Medical and Biological research**, v. 37, n. 12, p. 1273-1281, 2004.

MORATO, R. G.; GUIMARÃES, M. A. B. V.; FERREIRA, F.; VERRESCHI, I. T. N.; BARNABE, R. C. Reproductive characteristics of captive male jaguars (*Panthera onca*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 5, 1999.

MORATO, R. G.; VERRESCHI, I. T. N.; GUIMARÃES, M. A. B. V.; CASSARO, K.; PESSUTI, C.; BARNABE, R. C. Seasonal variation in the endocrine–testicular function of captive jaguars (*Panthera onca*). **Theriogenology**, v. 61, n. 7–8, p. 1273–1281, 2004.

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

MOREIRA, N.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A.; MORAES, W.; SWANSON, W. F.; GRAHAM, L. H.; PASQUALI, O. L.; GOMES, M. L. F.; MORAIS, R. N.; WLDT, D. E.; BROWN, J. L. Reproductive steroid hormones and ovarian activity in felids of the *Leopardus* genus. **Zoo Biology**, v. 20, n. 2, p. 103–116, 2001.

MOREIRA, N. Técnicas reprodutivas para a conservação de felídeos silvestres. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 116–120, 2017.

NOWELL, K.; JACKSON, P.; IUCN/SSC CAT SPECIALIST GROUP (Orgs.). **Wild cats: status survey and conservation action plan**. 1.ed. Gland, Switzerland: IUCN, 1996. 421p.

PAINER, J.; GOERITZ, F.; DEHNHARD, M.; HILDEBRANDT, T. B.; NAIDENKO, S. V.; SANCHEZ, I.; MUNOZ, M. A. Q.; JEWGENOW, K. Hormone-induced luteolysis on physiologically persisting corpora lutea in Eurasian and Iberian lynx (*Lynx lynx* and *Lynx pardinus*). **Theriogenology**, v. 82, n. 4, p. 557–562, 2014.

PAULA, T. A. R. Reprodução de carnívoros silvestres. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.2, p.130-132, 2011.

PAZ, R. C. R. **Bioteχνologias da reprodução utilizadas como ferramentas auxiliares no manejo e conservação de duas espécies de felinos selvagens: *Leopardus pardalis* e *Leopardus tigrinus***. Tese (Doutorado em Ciências) –

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004. 148p.

PELICAN, K. M.; WILDT, D. E.; PUKAZHENTHI, B.; HOWARD, J. Ovarian control for assisted reproduction in the domestic cat and wild felids. **Theriogenology**, v. 66, n. 1, p. 37–48, 2006.

PERÉZ-IRINEO, G.; BARRERA, C. B.; SANTOS-MORENO, A. Density, environmental suitability and ecological niche in four American feline species (Carnivora: Felidae). **Revista de Biologia tropical**, v. 67, p. 667-678, 2019.

PUKAZHENTHI, B. S.; NEUBAUER, K.; JEWGENOW, K.; HOWARD, J.; WILDT, D. E. The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and its wild relatives. **Theriogenology**, v. 66, n. 1, p. 112–121, 2006.

ROTH, T. L.; SWANSON, W. F. From petri dishes to politics – a multi-pronged approach is essential for saving endangered species. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 2588, 2018.

SILVA, H. V. R. **Biotécnicas reprodutivas em carnívoros neotropicais. Anais do IX Congresso Norte e Nordeste de Reprodução Animal (CONERA 2018)**. Belém, PA, 10 a 12 de setembro de 2018.

SILVA, A. R.; SOUZA, A. L. P.; SANTOS, E. A. A.; LIMA, G. L.; PEIXOTO, G. C. X.; SOUZA, P. C.; CASTELO, T. S. Formação de bancos de germoplasma e sua contribuição para a conservação de espécies silvestres no Brasil. **Ciência Animal**, v. 22, n. 1, p. 219-234, 2012.

SWANSON, W. F. Application of assisted reproduction for population management in felids: The potential and reality for conservation of small cats. **Theriogenology**, v. 66, n. 1, p. 49–58, 2006.

SWANSON, W. F. Laparoscopic Oviductal Embryo Transfer and Artificial Insemination in Felids - Challenges, Strategies and Successes. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 136–140, 2012.

SWANSON, W. F.; JOHNSON, W. E.; CAMBRE, R. C.; CITINO, S. B.; QUIGLEY, K. B.; BROUSSET, D. M.; MORAIS, R. N.; MOREIRA, N.; O'BRIEN, S. J.; WILDT, D. E. Reproductive status of endemic felid species in latin american zoos and implications for Ex situ conservation. **Zoo Biology**, v. 22, n. 5, p. 421–441, 2003.

TAJIMA, H.; YOSHIZAWA, M.; SASAKI, S.; YAMAMOTO, F.; NARUSHIMA, E.; OGAWA, Y.; ORIMA, H.; TSUTSUI, T.; TOYONAGA, M.; KOBAYASHI, M.; KAWAKAMI, E.; HORI, T. A trial of semen collection by transrectal electroejaculation method from Amur leopard cat (*Prionailurus bengalensis euptilurus*). **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 78, n. 6, p. 1067–1073, 2016.

TAJIMA, H.; YOSHIZAWA, M.; SASAKI, S.; YAMAMOTO, F.; NARUSHIMA, E.; TSUTSUI, T.; FUNAHASHI, T.; KUSUDA, S.; DOI, O.; TATEYAMA, Y.; KOBAYASHI, M.; HORI, T.; KAWAKAMI, E. Intrauterine insemination with fresh semen in Amur leopard cat (*Pionailurus bengalensis eutilura*) during non-breeding season. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 79, n. 1, p. 92–99, 2017.

- THONGPHAKDEE, A.; TIPKANTHA, W.; PUNKONG, C.; CHATDARONG, K. Monitoring and controlling ovarian activity in wild felids. **Theriogenology**, v. 109, p. 14–21, 2017.
- VARGAS, A.; SÁNCHEZ, I.; MARTÍNEZ, F.; RIVAS, A.; GODOY, J. A.; ROLDAN, E.; SIMON, M. A.; SERRA, R.; PEREZ, M. J.; ENSENAT, C.; DELIBES, M.; AYMERICH, M.; SLIWA, A.; BREITENMOSER, U. The Iberian lynx *Lynx pardinus* Conservation Breeding Program: IBERIAN LYNX CONSERVATION BREEDING PROGRAM. **International Zoo Yearbook**, v. 42, n. 1, p. 190-198, 2008.
- VIAU, P.; RODINI, D. C.; SOBRAL, G.; MARTINS, G. S.; MORATO, R. G.; OLIVEIRA, C. A. **Puberty and oestral cycle length in captive female jaguars *Panthera onca***. Conservation Physiology, v. 8, n. 1, 2020.
- WACHTER, B.; THALWITZER, S.; HOFER, H.; LONZER, J.; HILDEBRANDT, T. B.; HERMES, R. Reproductive history and absence of predators are important determinants of reproductive fitness: the cheetah controversy revisited: Reproductive performance of female cheetahs. **Conservation Letters**, v. 4, n. 1, p. 47–54, 2011.
- WILDT, D. E.; COMIZZOLI, P.; PUKAZHENTHI, B.; SONGSASEN, N. Lessons From Biodiversity—The Value of Nontraditional Species to Advance Reproductive Science, Conservation, and Human Health. **Molecular Reproduction & Development**, v. 77, n. 5, p. 397-409, 2010.
- WILSON, E. O. (Ed.) **Biodiversity**, 1.ed. National Academy of Sciences/Smithsonian Institution, 1988. 538 p.
- WU, G. **Amino Acids in Nutrition and Health: Amino Acids in the Nutrition of Companion, Zoo and Farm Animals**. 1.ed. Cham: Springer International Publishing, 2021. 256 p.
- ZAMBELLI, D.; BINI, C.; KÜSTER, D. G.; MOLARI, V.; CUNTO, M. First deliveries after estrus induction using deslorelin and endoscopic transcervical insemination in the queen. **Theriogenology**, v. 84, n. 5, p. 773–778, 2015.
- ZAMBELLI, D.; CUNTO, M. Semen collection in cats: Techniques and analysis. **Theriogenology**, v. 66, n. 2, p. 159–165, 2006.
- ZAMBELLI, D.; CUNTO, M. Transcervical artificial insemination in the cat. **Theriogenology**, v. 64, n. 3, p. 698–705, 2005.
- ZAMBELLI, D.; IACONO, E.; RACCAGNI, R.; MERLO, B. Quality and fertilizing ability of electroejaculated cat spermatozoa frozen with or without Equex STM Paste. **Theriogenology**, v. 73, n. 7, p. 886–892, 2010.
- ZANIN, M.; NEVES, B. S. Current felid (Carnivora: Felidae) distribution, spatial bias, and occurrence predictability: testing the reliability of a global dataset for macro.ecological studies. **Acta Oecologica**, v. 101, 2019.