



Biotécnicas reprodutivas em carnívoros neotropicais

Reproductive biotechniques in neotropical carnivores

Herlon Victor Rodrigues Silva[‡]

Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

Resumo

Os carnívoros neotropicais incluem um grande número de espécies ameaçadas de extinção. É fundamental desenvolver esforços de conservação para garantir a sustentabilidade das populações *in situ* e *ex situ*. As principais prioridades são proteger os habitats naturais e entender melhor a biologia destas espécies. Os esforços de conservação também devem ser direcionados à implementação de programas de preservação da variabilidade genética e ao desenvolvimento de biotecnologias reprodutivas aplicáveis a realidade das instituições mantenedoras como zoológicos e bioparques. Também é fundamental criar bancos de germoplasma que contribuam para manter a diversidade genética em populações pequenas e ameaçadas. O presente artigo tem como objetivo revisar as biotécnicas reprodutivas aplicadas em carnívoros neotropicais e discutir sobre os resultados já obtidos na conservação dessas espécies.

Palavras-chave: conservação, animais selvagens, extinção.

Abstract

*Neotropical carnivores include a large number of endangered species. Development of resources to guarantee sustainability of *in situ* and *ex situ* populations are fundamental. The main priorities are to protect natural habitats and understand about biology of these species. Conservation efforts should also be directed towards the implementation of breeding programs and development of reproductive biotechnologies applicable to reality of animal welfare institutions such as zoos and bioparks. It is also essential to establish genebanks that help maintain genetic diversity in small and endangered populations. Present article aims to review reproductive biotechniques on neotropical carnivores and to discuss results obtained in conservation of these species.*

Keywords: conservation, wildlife, extinction.

Introdução

As espécies silvestres vêm sofrendo um declínio acentuado nas últimas décadas por causa de ações antrópicas, como desmatamento, queimadas e caça furtiva (Renctas, 2016). A interferência humana nos ecossistemas contribui para o desaparecimento de espécies em uma intensidade maior que as causas naturais (Ceballos et al., 2015). Especificamente, a extensa biodiversidade neotropical (área desde o México passando pela América Central, até a América do Sul) é altamente degradada pela atividade humana presente em países emergentes, e exige estratégias urgentes de conservação *in situ* e *ex situ* (Salvador et al., 2011).

Os carnívoros são as espécies mais afetadas pela perda do habitat natural. Por outro lado, a presença destes animais em seus habitats representa a estabilidade do ecossistema, uma vez que os carnívoros têm o potencial de controlar a população de espécies inferiores na cadeia alimentar (Salvador et al., 2011). Também devido à redução cada vez mais intensa do habitat, ocorre a reprodução entre pequenos grupos consanguíneos, assim reduzindo a variabilidade genética, refletindo em uma redução na performance reprodutiva e na baixa qualidade dos gametas (Wildt et al., 1983). Assim, é necessário o desenvolvimento de estratégias para o estudo e sustentabilidade de espécies carnívoras, favorecendo uma utilização mais dinâmica dos gametas e contribuindo para aumento da diversidade genética, conseqüentemente, influenciando de forma positiva na sua conservação.

Para o sucesso da conservação, é necessário o desenvolvimento de biotecnologias reprodutivas como: criopreservação de gametas, controle de ovulação, inseminação artificial, fertilização *in vitro* e transferência de embriões, possibilitando sua integração ao manejo genético de populações em centros de reprodução, zoológicos e parques (Wildt, 1992; Comizzoli e Holt, 2014; Comizzoli, 2017). Assim, o objetivo desta revisão foi descrever as biotécnicas reprodutivas já relatadas em algumas espécies de carnívoros neotropicais, discutindo seus principais resultados.

[‡]Correspondência: herlonvrs@hotmail.com

Recebido: 11 de dezembro de 2018

Aceito: 18 de fevereiro de 2019



Criopreservação de sêmen

As principais técnicas descritas para a criopreservação estão relacionadas ao uso de amostras do gameta masculino em vez do gameta feminino, com as metodologias variando amplamente entre as espécies. Cães e gatos geralmente, são os modelos experimentais ideais para estas biotecnologias, embora grandes adaptações sejam necessárias para o desenvolvimento da técnica em questão (Silva et al., 2004).

Primeiramente, é necessário se estabelecer o protocolo de obtenção das amostras para dar continuidade ao desenvolvimento da técnica. A eletroejaculação é o método mais utilizado para a coleta de sêmen em espécies carnívoras (Wildt et al., 1983). Este método permite a coleta segura tanto para o animal, quanto para a equipe executora, uma vez que é necessário a anestesia do animal para tal procedimento, como também, geralmente é o método de primeira escolha para obtenção de amostras em qualquer espécie selvagem. Entretanto, outros métodos de coleta alternativos já foram testados em carnívoros neotropicais.

A manipulação digital, que é o método mais comum de coleta de sêmen em cães, já foi realizada com sucesso em lobos-guará (*Chrysocyon brachyurus*) (Teodoro et al., 2012). Já a recuperação epididimária, um método capaz de recuperar espermatozoides de indivíduos que vieram a óbito, ou passaram por procedimento de esterilização, já foi realizado para coleta de amostras de várias espécies de carnívoros neotropicais como lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), urso andino (*Tremarctos ornatus*), puma (*Puma concolor*) e onça-pintada (*Panthera onca*) (Jewgenow et al., 1997; Maksudov et al., 2008), porém, devido as condições de coleta realizada na maioria das vezes em animais senis ou mortos, ocorre o comprometimento da qualidade da amostra. Por fim, métodos mais atuais para obtenção de amostra de sêmen já vêm sendo desenvolvidos, se destacando a coleta farmacológica, onde são utilizadas substâncias anestésicas derivadas da medetomidina, que promovem a ejaculação sem a necessidade de estímulos elétricos, no qual já foram obtidos excelentes resultados em onças-pintadas (*Panthera onca*) preconizando a dose de 0,08 a 0,1 mg/kg (Araújo et al., 2017).

Após o sêmen coletado, previamente a criopreservação é importante que tenha uma avaliação criteriosa sobre a qualidade da amostra, como também a descrição das particularidades presentes na espécie estudada. Por exemplo, em procionídeos como o quati (*Nasua nasua*) e o guaxinim (*Procyon cancrivorus*) é verificada a presença de um capuz acrossomal diferenciado, que este não é encontrado nos outros carnívoros (Silva et al., 2014; Silva et al., 2015), já nos felídeos em geral, há um grande percentual de células apresentando defeitos morfológicos (Araújo et al., 2015; Araújo et al., 2017).

Após o sêmen coletado, é fundamental que este seja preparado para a criopreservação. Primeiramente há necessidade do uso de meios diluidores capazes de suprir as necessidades do espermatozoide durante a refrigeração até a criopreservação, como também evitar que a célula sofra alterações deletérias durante o procedimento (Silva et al., 2018).

Vários diluidores já foram testados, porém àqueles que possuem em sua composição o TRIS (Tris-hidroximetil-aminometano) obtiveram maior sucesso em espécies carnívoras como jaguatiricas (*Leopardus pardalis*), gato do mato (*Leopardus tigrinus*) (Araujo et al., 2015), onças-pintadas (*Panthera onca*) (Silva et al., 2017), pumas (*Puma concolor*) (Deco-Souza et al., 2013) e quatis de cauda anelada (*Nasua nasua*) (Paz e Ávila, 2015). Diluidores alternativos são uma opção para a composição do meio, dentre estes, temos o derivado de água de coco em pó (ACP-117c), que já apresentou resultados similares ao Tris até a etapa de refrigeração, em onças-pintadas (*Panthera onca*) (Silva et al., 2017).

Outros componentes também são fundamentais, para complementar o meio diluidor, dentre estes, a gema de ovo possui fundamental importância, pois funciona protegendo a membrana celular de alterações na bicamada fosfolipídica, sendo utilizada geralmente na proporção de até 20% (Amstislavsky et al., 2012).

A inclusão de um crioprotetor também se torna importante, pois este é responsável pela proteção contra a formação dos cristais de gelo, no qual geralmente é utilizado o glicerol em concentrações variáveis de 2 a 10%, porém outros crioprotetores como o DMSO já foram utilizados (Johnson et al., 2014a, Silva et al., 2018).

O sêmen pós-diluído, deve passar pelas etapas de refrigeração até a criopreservação, podendo então ser armazenadas em taques de nitrogênio por tempo indeterminado, entretanto, apenas poucas espécies já possuem protocolos descrevendo a criopreservação de sêmen com sucesso, como em jaguatiricas (*Leopardus pardalis*), gato do mato (*Leopardus tigrinus*) (Araujo et al., 2015), onças-pintadas (*Panthera onca*) (Paz et al., 2007), pumas (*Puma concolor*) (Deco-Souza et al., 2013) e quatis de cauda anelada (*Nasua nasua*) (Paz e Ávila, 2015), sendo necessário ainda o estudo em novas espécies, bem como o aprimoramento dos protocolos já descritos.

Indução da atividade ovariana

A indução da atividade ovariana com o uso de gonadotrofinas exógenas já é uma realidade bastante usual no controle da reprodução em diferentes espécies de felídeos visando a utilização de outras biotécnicas como a sincronização, a inseminação artificial, a fertilização *in vitro*, além da transferência e criopreservação de embriões. (Lima Neto et al., 2017).

Protocolos utilizando a gonadotrofina coriônica equina (eCG) e a gonadotrofina coriônica humana (hCG) são bastante usuais pois possuem uma prolongada meia vida na circulação (24 – 48h). Também podem ser utilizados métodos alternativos como o uso do foliculo estimulante suíno (pFSH), ou o hormônio luteinizante suíno (pLH) e



seus derivados, estes possuem a biodisponibilidade inferior aos anteriormente citados, sendo de aproximadamente 2h (Paz, 2013).

Os protocolos estipulados com eCG e hCG para estimulação ovariana, visando inseminação artificial e FIV, já foram utilizados em vários felídeos como: jaguatirica (*Leopardus pardalis*), gato do mato pequeno (*Leopardus tigrinus*) (Swanson et al., 2002; Paz et al., 2006); puma (*Puma concolor*) (Barone et al., 1994); e onça-pintada (*Panthera onca*) (Jimenez et al., 1999; Morato et al., 2000). Em canídeos apenas em lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*), foi realizado um estudo por Johnson et al., 2014b, realizando a indução ovariana pelo uso de LH, e foi percebido que dentre as espécies de canídeos já estudadas, apenas no lobo guará, há necessidade da presença do macho para que ocorra a ovulação.

Inseminação artificial

O sucesso da inseminação artificial em carnívoros está diretamente ligado ao local de deposição do sêmen no trato reprodutivo da fêmea. Os resultados relacionando os métodos de inseminação com deposição do sêmen na vagina e por meio cirúrgico diretamente no útero, demonstram que a deposição direta no útero apresenta resultados mais satisfatórios (Howard, 1993). Outro fator que pode interferir diretamente no sucesso da técnica é a qualidade do sêmen, no qual é visto uma resistência menor do sêmen descongelado quanto comparado a amostra fresca.

Em felídeos, já é possível realizar a técnica da inseminação artificial em algumas espécies com o resultado de gestação e filhotes ao complemento da técnica. As espécies que já foram descritas são: puma (*Puma concolor*) (Barone et al., 1994), no qual foi possível produzir um filhote saudável, utilizando a técnica da inseminação artificial por vídeo-laparoscopia; em jaguatirica (*Leopardus pardalis*) (Swanson et al., 1996) também da mesma forma, foi possível produzir um filhote saudável; em gato do mato pequeno (*Leopardus tigrinus*) (Moraes et al., 1997). Recentemente, uma parceria da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Mata Ciliar e o Zoológico de Cincinnati/EUA foi possível obter um filhote sadio através da técnica de inseminação artificial por vídeo-laparoscopia em onça-pintada (*Panthera onca*) (Cincinnati, 2019).

Em canídeos, apenas no lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*), estão sendo realizados protocolos para a inseminação, onde o Smithsonian Conservation Biology Institute realiza estudos avançados para o desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas que favorecem a conservação desta espécie, entretanto, estes ainda estão em fase inicial.

Fertilização *in vitro*

A fertilização *in vitro* (FIV) é uma técnica bastante útil para a preservação de espécies ameaçadas, uma vez que pode ser realizada previamente a recuperação de oócitos por meio de laparoscopia em animais que tiveram de passar por procedimento de ovariectomia, ou em indivíduos pós-morte que ainda possuam tempo hábil para recuperação, não havendo comprometimento do material biológico (Paz, 2013).

Nos felídeos a maturação oocitária ocorre dentro de 24 a 32 horas no meio de cultivo, porém destes que atingem a maturação, 70% são capazes de serem fertilizados, e apenas 20 a 30% conseguem o desenvolvimento até blastocisto (Johnston et al, 1989). Nos canídeos como citado anteriormente, a taxa de sucesso é ainda menor devido principalmente, ao desenvolvimento do oócito ser mais tardio que em outras espécies (Santos et al., 2006).

Nos carnívoros neotropicais, um dos primeiros trabalhos realizados foi em puma (*Puma concolor*), no qual foi possível a recuperação de 106 oócitos, com 43,8% maturados, e destes 40% sendo fertilizados com espermatozoide coespecífico e 26,5% com espermatozoide de gato doméstico (Miller et al., 1990). Já em 1998, Pope et al., produziu embriões de gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*) com taxa de sucesso de 55,6%.

Os primeiros trabalhos envolvendo a produção *in vitro* de embriões no Brasil foram realizados em onça pintada (*Panthera onca*), onde por meio de estimulação ovariana utilizando pFSH e LH, foram obtidos 25 folículos viáveis/fêmea. Entretanto, em menos de 25% foi possível a realização da fertilização (Morato et al., 2000). Já em jaguatirica (*Leopardus pardalis*) e em gato do mato pequeno (*Leopardus tigrinus*), no qual as fêmeas foram tratadas com eCG/hCG, a obtenção média foi de 10 folículos viáveis/fêmea. Destes folículos 60% foram possíveis de realizar a FIV, sendo ao final obtidos 76 embriões de jaguatirica (*Leopardus pardalis*) e 52 de gato do mato pequeno (*Leopardus tigrinus*) (Swanson e Brown, 2004).

Transferência de embriões

As técnicas relacionadas à transferência de embriões realizadas nas espécies carnívoras neotropicais têm uma baixa taxa de sucesso. Este fato pode estar relacionado com a baixa porcentagem de clivagem embrionária pós descongelamento, como por exemplo em felinos, que possuem taxas inferiores a 70% (Pope, 2000). Tal fator pode estar associado devido uma baixa resistência dos embriões a criopreservação, ou até mesmo à uma sincronização inadequada da fêmea receptora a fim de manter a sobrevivência fetal (Swanson e Brown, 2004).

Uma tentativa de transferência de embriões de gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*) para gato doméstico foi realizada por Pope et al., (1998). Apesar de conseguir levar a técnica até a formação de embriões, não foi possível a obtenção final de filhotes.

Até o momento o único sucesso na transferência de embriões em carnívoros neotropicais foi através do trabalho em parceria do Zoológico de São Bernardo do Campo no Brasil e do Zoológico de Cincinnati nos Estados



Unidos, no qual foram produzidos filhotes de jaguatirica (*Leopardus pardalis*), através da transferência de embriões por meio de laparoscopia na tuba embrionária (Swanson, 2012).

Considerações finais

Há grande dificuldade em conservar espécies ameaçadas de extinção. Instituições como zoológicos e demais mantenedores de espécies selvagens, não estão conseguindo atingir os índices de manutenção demográfica e genética, que deveriam ter pelo menos 90% de armazenamento da diversidade genética.

Recentemente, houve um aumento no número de trabalhos destinados à conservação de espécies carnívoras, mas ainda há dados insuficientes para estabelecer protocolos ideais. Espécies carnívoras neotropicais, como cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*), tara (*Eira barbara*), ariranha gigante (*Pteronura brasiliensis*), urso-de-óculos (*Tremarctos ornatus*), entre outras, não foram submetidas a pesquisas relacionadas à utilização de biotécnicas que visem a preservação destas espécies. Muitas destas não possui sequer uma descrição simples dos parâmetros de sêmen fresco, ou nem o protocolo de coleta de sêmen foi estabelecido.

Mesmo com a aplicação das biotécnicas reprodutivas, apenas em jaguatirica (*Leopardus pardalis*), foi possível o sucesso final com a produção de filhotes. Entretanto, muitas pesquisas relacionadas as espécies carnívoras neotropicais, como por exemplo na onça pintada (*Panthera onca*) e no lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*) estão em fase de desenvolvimento por Universidades brasileiras e instituições estrangeiras a fim de utilizar o recurso genético desses animais e de outras espécies ameaçadas como estratégias de conservação.

Referências

- Amstislavsky S, Lindeberg H, Luvoni GC.** Reproductive technologies relevant to the genome resource bank in carnivora. *Reprod Domest Anim*, v.47, n.1, p.164-175, 2012.
- Araujo GR, Paula TAR, Deco-Souza T, Garay RM, Bergo CFL, Csermak-Júnior AC, Silva LC, Alves SVP.** Ocelot and onchilla spermatozoa can bind hen egg perivitelline membranes. *Anim Reprod Sci*, v.163, p.56-62, 2015.
- Araujo GR, Paula TAR, Deco-Souza T, Morato RG, Bergo LCF, Silva LCD, Costa DS, Braud C.** Comparison of semen samples collected from wild and captive jaguars (*Panthera onca*) by urethral catheterization after pharmacological induction. *Anim Reprod Sci*, v.195, p.1-7, 2017.
- Barone MA, Wildt DE, Byers AP, Roelke ME, Glass CM, Howard JG.** Gonadotrophin dose and timing of anaesthesia for laparoscopic artificial insemination in the puma (*Felis concolor*). *J Reprod. Fertil*, v.101, n.1, p.103-108, 1994.
- Ceballos G, Ehrlich PR, Barnosky AD, García A, Pringle RM, Palmer TM.** Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. *Sci Adv*, v.1, n.5, e1400253, 2015.
- Cincinnati zoo.** International Collaboration Produces First Jaguar Cub Ever Born from Artificial Insemination. Disponível em: <http://cincinnati-zoo.org/news-releases/international-collaboration-produces-first-jaguar-cub-ever-born-from-artificial-insemination/>. Acessado em 30 mar 2019.
- Comizzoli P, Holt WV.** Recent advances and prospects in germplasm preservation of rare and endangered species. *Adv Exp Med Biol*, v.753, p.331-356, 2014.
- Comizzoli P.** Biobanking and fertility preservation for rare and endangered species. *Anim Reprod*, v.14, p.30-33, 2017.
- Deco-Souza T, Paula TAR, Costa DS, Costa EP, Barros JBG, Araujo GR, Carreta-Jr M.** Comparação entre duas concentrações de glicerol para a criopreservação de sêmen de suçuarana (*Puma concolor*). *Pesq Vet Bras*, v.33, p.512-516, 2013.
- Farstad W, Hyttel P, Hafne AL, Nielsen J.** Maturation and fertilization of blue fox (*Alopex lagopus*) oocytes in vitro. *J Rep Fert Suppl*, v.57, p.161-165. 2001.
- Howard JG.** Semen collection and analysis in carnivores. In: *Zoo & Wild Animal Medicine Current Therapy*, Fowler ME. 3 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, p.390-399, 1993.
- Jewgenow S, Blottner S, Lengwinat T, Meyer HHD.** New methods for gamete rescue from gonads of non-domestic felids. *J Reprod Fert Suppl*, v.51, p.33-39, 1997.
- Jimenez TG, Zuge R, Paz RCR, López JE, Crudeli GA.** Sincronización de celo e inseminación artificial por video laparoscopia en yaguaraté (*Panthera onca*) en cautiverio. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, v.4, p.67-70. 1999.
- Johnson AEM, Freeman EW, Wildt DE, Songsasen N.** Spermatozoa from the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) display typical canid hyper-sensitivity to osmotic and freezing-induced injury, but respond favorably to dimethyl sulfoxide. *Cryobiology*, v.68, p.361-370, 2014a.
- Johnson AEM, Freeman EW, Colgin M, McDonough C, Songsasen N.** Induction of ovarian activity and ovulation in an induced ovulator, the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), using GnRH agonist and recombinant LH. *Theriogenology*, v.82, n.1, p.71-79, 2014b.
- Johnston LA, O'Brien SJ, Wildt DE.** In vitro maturation and fertilization of domestic cat follicular oocytes. *Gamete Research*, v.24, n.3, p 343-356, 1989.
- Lima Neto A, Paula TAR, Santana ML, Carazo LR, Csermak Junior AC, Costa EP, Guimarães JD.** Efeito da indução da atividade ovariana e da ovulação, com gonadotropinas exógenas (eCG, hCG), na recuperação,



- viabilidade e congelabilidade de embriões de gatos domésticos. *Rev Bras Reprod Anim*, v.41, n.4, p.699-709. 2017.
- Maksudov GY, Shishova NV, Katkov II.** In the cycle of life: cryopreservation of post-mortem sperm as a valuable source in restoration of rare and endangered species In Columbus AM, Kuznetsov LV., eds, *Endangered Species: New Research Edition*, Ed 1 NOVA Publishers, New York, p. 189-240. 2008.
- Miller AM, Roelke ME, Goodrowe KL, Howard JG, Wildt DE.** Oocyte recovery, maturation and fertilization *in vitro* in the puma (*Felis concolor*). *J Reprod Fertil*, v.8, p.249-258, 1990.
- Moraes W, Morais RN, Moreira N, Lacerda O, Gomes MLF, Mucciolo RG, Swanson WF.** Successful artificial insemination after exogenous gonadotropin treatment in the ocelot (*Leopardus pardalis*) and tigrina (*Leopardus tigrinus*). In: *Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians Annual Meeting*, 1997, Houston, TX. pp.334-335, 1997.
- Morato RG, Crichton EG, Paz RCR, Zugue RM, Moura CA, Nunes AVL, Teixeira RH, Porto-Filho L, Guimarães MABV, Correa SHR, Barnabe RC, Armstrong DL, Loskutoff NM.** Ovarian stimulation and successful *in vitro* fertilization in the jaguar (*Panthera onca*). *Theriogenology*, v.53, n.1, p.339, 2000. Abstract.
- Paz RCR, Dias EA, Adania CH, Barnabe VH, Barnabe RC.** Ovarian response to repeated administration of alternating exogenous gonadotropin regimens in the ocelot (*Leopardus pardalis*) and tigrinus (*Leopardus tigrinus*). *Theriogenology*, v.66, p.1787-1789, 2006.
- Paz RCR, Zuge RM, Barnabe VH.** Frozen Jaguar (*Panthera onca*) sperm capacitation and ability to penetrate zona free hamster oocytes. *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.44, p.337-344, 2007.
- Paz RCR.** Reprodução de Felinos Domésticos e Selvagens. In: *Reprodução assistida em felinos selvagens*. Cuiabá: EdUFMT, p 101-120, 2013.
- Paz RCR, Avila HBS.** Coatis (*Nasua nasua*) semen cryopreservation. *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.52, p.151-157, 2015.
- Pope CE.** Embryo technology in conservation efforts for endangered felids. *Theriogenology*, v.53, n.1, p.163-174, 2000.
- Renctas.** I relatório nacional sobre gestão e uso sustentável da fauna silvestre. Ed. Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres (RENCTAS), Brasília, DF, Brasil. 668p, 2016.
- Salvador S, Claverno M, Pitman RL.** Large mammal species richness and habitat use in an upper Amazonian forest used for ecotourism. *Mammalian Biology*, v.76, p.115-123, 2011.
- Santos LC, Rodrigues BA, Rodrigues JL.** *In vitro* nuclear maturation of bitch oocytes in the presence of polyvinyl-pyrrolidone. *Anim Reprod*, v.3, n.1, p.70-75, 2006.
- Silva AR, Morato RG, Silva LDM.** The potential for gamete recovery from non-domestic canids and felids. *Anim Reprod Sci*, v.81, p.159-175, 2004.
- Silva HVR, Mota Filho AC, Freitas LA, Pinto JN, Silva AR, Silva LDM.** Successful semen collection in the racoon (*Procyon cancrivorus*) by electroejaculation. In: 47th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction (SSR), 2014, Grand Rapids, MI. *Proceedings of the 47th Annual Meeting of the Society for the Study*, 2014.
- Silva HVR, Magalhães FF, Ribeiro LR, Souza ALP, Freitas CIA, Oliveira MF, Silva AR, Silva LDM.** Morphometry, Morphology and Ultrastructure of Ring-tailed Coati Sperm (*Nasua nasua* Linnaeus, 1766). *Reprod Domest Anim*, v.50, p.945-951, 2015.
- Silva HVR, Nunes TGP, Freitas LA, Ribeiro LR, Silva AR, Silva LDM.** Avaliação dos parâmetros seminais em onça-pintada (*Panthera onca*) durante a curva de resfriamento comparando os diluidores Tris e ACP-117c. In: XXII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2017, Santos, SP. *Anais do XXII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, v.41, p.589-589, 2017.
- Silva HVR, Silva AR, Silva LDM, Comizzoli P.** Semen Cryopreservation and Banking for the Conservation of Neotropical Carnivores. *Biopreserv Biobank*. 2018. (doi: 10.1089/bio.2018.0104)
- Swanson WF, Howard JG, Roth TL, Brown JL, Alvarado T, Burton M, Starnes D, Wildt DE.** Responsiveness of ovaries to exogenous gonadotrophins and laparoscopic artificial insemination with frozen-thawed spermatozoa in ocelots (*Felis pardalis*). *J Reprod Fertil*, v.106, n.1, p.87-94, 1996.
- Swanson WF, Paz RCR, Morais RN, Gomes MLF, Moraes W, Adania CH.** Influence of species and diet on efficiency of *in vitro* fertilization in two endangered Brazilian felids – the ocelot (*Leopardus pardalis*) and tigrina (*Leopardus tigrinus*). *Theriogenology*, v.57, n.1, p.593, 2002. Abstract.
- Swanson WF, Brown JL.** International training programs in reproductive sciences for conservation of Latin American felids. *Anim Reprod Sci*, v.82/83, p.21-23, 2004.
- Swanson WF.** Laparoscopic oviductal embryo transfer and artificial insemination in felids – challenges, strategies and successes. *Reprod Domest Anim*, v.47, suppl.6, p.136-140, 2012.
- Teodoro LO, Melo-Junior AA, Spencoski AA, Morais RN, Souza FF.** Seasonal aspects of reproductive physiology in captive male Maned Wolves (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1815). *Reprod Domest Anim*, v.47, p.250-255, 2012.
- Wildt DE, Bush M, Howard JG, O'Brien SJ, Meltzer D, Van Dyk A, Ebedes H, Brandes DJ.** Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. *Biol Reprod*, v.29, p.1019-1025, 1983.
- Wildt DE.** Genetic resource banks for conserving wildlife species: justification, examples and becoming organized on a global basis. *Anim Reprod Sci*, v.28, p.247-257. 1992.