

Ética e condicionamento de animais selvagens para a aplicação de técnicas de reprodução assistida

Ethics and conditioning of wild animals for the application of assisted reproduction techniques

Cristiane Schilbach Pizzutto^{1,2*}, Pedro Nacib Jorge-Neto^{1,2}

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

²Instituto Reprocon, Campo Grande, MS, Brasil

Resumo

A relação humano-animal é conhecida desde o período Mesolítico e vem evoluindo ao longo dos anos pela busca de interações cada vez mais positivas. A forma como os animais e os ambientes são tratados abre muitas discussões éticas e morais em várias correntes filosóficas. O fato é que a biodiversidade vem apresentando uma redução expressiva dentro de um contexto de sexta extinção em massa do planeta e, para muitas espécies, trabalhar manejo populacional envolvendo coleções *ex situ*, seria a única alternativa de sobrevivência. As informações sobre a biologia das espécies selvagens ainda são muito insipientes e, portanto, faz-se necessário desenvolver pesquisas básicas que colaborem com as Técnicas de Reprodução Assistida (ARTs). A possibilidade de se trabalhar dentro do conceito de Conservação Única possibilita uma interconexão entre os planos de ação *in situ* e *ex situ*, as ações antrópicas no meio ambiente (sustentabilidade) e as pesquisas que englobam a conservação. Para tanto, utilizar as técnicas de condicionamento, que são prática voltada ao manejo de bem-estar, associadas às biotecnologias reprodutivas tem sido um manejo cada vez mais utilizado, com sucesso para muitas espécies ameaçadas. Animais manejados dentro dos protocolos de boas práticas são grandes candidatos a fazer parte dos programas de conservação integrada.

Palavras-chave: Conservação; manejo; bem-estar; fauna

Abstract

The human-animal relationship has been known since the Mesolithic period and has evolved over the years in search of increasingly positive interactions. How animals and environments are treated opens up many ethical and moral discussions in various philosophical currents. The fact is that biodiversity has been showing a significant reduction within the context of the sixth mass extinction on the planet, and, for many species, working on population management involving ex situ collections would be the only alternative for survival. Information on the biology of wild species is still very incipient; therefore, it is necessary to develop basic research that collaborates with Assisted Reproduction Techniques (ARTs). Working within the One Conservation concept enables an interconnection between in situ and ex situ action plans, anthropic environmental actions (sustainability), and research that encompasses conservation. Therefore, using conditioning techniques—a practice aimed at welfare management—associated with reproductive biotechnologies has been increasingly used, with success for many endangered species. Animals handled within suitable practice protocols are great candidates to be part of integrated conservation programs.

Keywords: Conservation; management; welfare; fauna

Introdução

As diferentes formas pelas quais afetamos as populações de animais e todo equilíbrio ecossistêmico estão levando ao processo da sexta extinção em massa da vida selvagem (Ceballos et al., 2015), trazendo uma preocupação ainda maior no panorama da conservação de espécies. Segundo dados da IUCN - União Internacional para Conservação da Natureza (maio/2023), o status “ameaçado de extinção” chega a níveis alarmantes com 42.100 espécies, dentre aves, répteis, mamíferos, aves e outros grupos de seres vivos.

Um dos maiores desafios de trabalhar a reprodução com espécies da fauna é o desconhecimento de informações, muitas delas envolvendo a regulação dos diversos modelos fisiológicos e comportamentais

*Correspondência: cspizzutto@yahoo.com.br

Recebido: 10 de maio de 2023

Aceito: 25 de maio de 2023

que evoluíram de diferentes estratégias de adaptação, como resultado de pressões seletivas exercidas pelo ambiente modificado ou não, tanto *in situ* quanto *ex situ* (Pizzutto et al., 2021a). Além disso, existe uma grande lacuna na comparação de resultados de diferentes estudos pela falta de padronização dos protocolos de investigação *in situ* e *ex situ*, e a abordagem da Conservação Única ou *One Conservation* servirá para padronizar tais protocolos e permitir a comparação de dados de populações selvagens e fornecer dados científicos mais robustos para promover a conservação de espécies (Yarto-Jaramillo et al., 2022).

A Ética e a Senciência Animal

A existência da relação humano-animal pode ser considerada desde o período Mesolítico, através da caça e da pesca para a sobrevivência. A história revela um grande fascínio dos homens pelos animais e a necessidade de tê-los como prestígio de uma distinção social, símbolo de status real e orgulho nacional, observado entre os faraós egípcios, nas civilizações antigas do México, China, Grécia, Roma, Índia (Hancocks, 2010) e nas famílias reais da Europa e Oriente Médio (Young, 2003).

Mas será que podemos afirmar que, durante milhares de anos, esta relação colocou os animais à revelia de valores éticos e morais? A ética é uma ciência humana e pode ser entendida como uma reflexão crítica sobre como e por que devemos agir; além disso, o bem e o mau são construções culturais e que variam em diferentes contextos sociais (Pulina, 2020). Todas estas questões entram em aspectos filosóficos múltiplos e abrem discussões exaustivas sobre os valores morais dos animais e a importância deles como sujeitos de direito, principalmente nas áreas da ciência animal e do direito animal.

Algumas correntes de pensamento conferem direitos morais aos animais pelas suas capacidades de sentirem emoções positivas e negativas; já outras negam um valor moral a eles pelo fato de não serem dotados de racionalidade e, portanto, não serem capazes de avaliar os motivos e consequências de determinadas ações (Gremmen, 2020). Estes últimos, assumem um papel antropocêntrico na sociedade atual, colocando os seres humanos como centro do Universo e conferindo a eles um valor intrínseco maior do que para outras espécies.

Foi no século XIX, que Darwin (1872) trouxe informações essenciais sobre os primeiros indícios de sentiência animal, onde afirmou que a diferença entre a mente de um ser humano e de um animal superior era certamente em grau e não em tipo. Informações como estas despertaram ainda mais interesse por estudos com animais selvagens mantidos em ambientes rígidos e com instalações precárias. Foi quando em 1950, o biólogo Heini Hediger (1950), propôs a utilização de estruturas nos recintos e do condicionamento animal como formas de terapia ocupacional, isto porque ele acreditava que um dos problemas dos zoológicos seria a falta de ocupação e atividades dos animais. O entendimento da sentiência animal trouxe uma grande reflexão sobre a complexidade dos diversos modelos fisiológicos e comportamentais que evoluíram a partir de diferentes estratégias de adaptação a ambientes variados (Pizzutto, 2020). Para Prada (2008), os animais são seres sencientes porque “sentem” sensações e porque são capazes de, cognitivamente, processar estímulos de maneira a “convertê-los” em emoções.

A evolução das mudanças nas práticas de manejo dos animais tem acompanhado a grande quantidade de informações técnicas e científicas que se multiplicam diariamente envolvendo a biologia dos animais e suas relações com os ambientes onde estão inseridos (de Azevedo et al., 2023).

O bem-estar começa a integrar o pensamento de muitos pesquisadores e ganha uma definição em 1965, no Comitê Brambell do Reino Unido; em 1979, as recomendações de boas práticas de manejo determinadas pelo FAWC (Farm Animal Welfare Council) trouxeram as cinco liberdades (livre de fome e sede, livre de desconforto, livre de dor, desconforto e doenças, livre para expressar comportamentos normais, livre de medo e angústia) como condições básicas para a manutenção de animais.

Essas definições, em constante evolução, resultaram no Modelo dos Cinco Domínios (Mellor et al., 2020), como o alicerce nas boas práticas de manejo com animais. Este modelo é dividido em quatro domínios físicos-funcionais que buscam atender às necessidades do animal e suas experiências vividas em relação a ambiente, nutrição, saúde, interações comportamentais (outros animais, coespecíficos ou não, com o ambiente onde está inserido e com os humanos) e um domínio mental, que representa o equilíbrio das emoções positivas e/ou negativas vividas pelo animal nos quatro domínios anteriores. Sendo assim, o bem-estar pode ser caracterizado, na sua versão mais atual, pelo estado físico e mental do animal, que se modifica a partir de suas experiências positivas e negativas, em relação ao seu ambiente, à sua nutrição, à sua saúde e aos seus comportamentos e interações inter e intraespecíficas (Mellor, 2016; Mellor et al., 2020).

O papel da reprodução na conservação das espécies

Manter animais *ex situ* representa o compromisso ético em seguir protocolos rigorosos de manejo de bem-estar que proporcionem qualidade de vida aos animais, para que eles possam prosperar e se tornar exemplares viáveis dentro dos programas de conservação. Isto significa que os animais precisam receber experiências enriquecedoras que atendam as suas necessidades físicas e comportamentais para que eles adquiram competências e habilidades para solucionar situações desafiadoras (Pizzutto et al., 2021a).

Animais com bem-estar ideal, apresentam maior variabilidade comportamental, mais comportamentos naturais e típicos da espécie e desfrutam de boa saúde, fatores estes essenciais ao sucesso dos programas de reprodução (Edwards et al., 2019). Para Greggor et al. (2018), a reprodução voltada para a conservação deve encontrar um equilíbrio entre a promoção de alto bem-estar e, ao mesmo tempo, minimizar os efeitos do *ex situ* para aumentar a sustentabilidade da população.

Quando asseguramos os protocolos de bem-estar a uma espécie mantida sob cuidados humanos, estamos assegurando a minimização dos efeitos deletérios do estresse na reprodução. O estresse, através da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, pode ser responsável pela ruptura do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal com consequente inibição do GnRH (Uphouse, 2011), afetando a reprodução com alterações no desenvolvimento folicular, na ciclicidade ovariana, na implantação, nos níveis de esteroides sexuais, além de afetar o desenvolvimento de características sexuais secundárias, os comportamentos reprodutivos como proceptividade e receptividade, entre outros (Uphouse, 2011).

Ao falar de conservação da vida selvagem precisamos trabalhar pela manutenção da diversidade genética para garantir a sustentabilidade e a resiliência das populações animais (Comizzoli and Holt, 2019). Isso pode ser alcançado protegendo as espécies em seu habitat natural (conservação *in situ*), além de manter populações viáveis em ambientes artificiais (*ex situ*) para reintroduções na natureza ou até mesmo como populações *backup* (Comizzoli, 2021).

A utilização de animais mantidos sob cuidados humanos dentro de programas de conservação só é possível se a espécie for viável, além de ter a possibilidade de realizar a troca genética com espécies de vida livre e vice-versa. Portanto, estudos da saúde reprodutiva e dos parâmetros de animais sob cuidados humanos podem ajudar a entender o impacto de várias mudanças ecológicas e facilitará a propagação de tal espécie em ambiente *ex situ* (Yarto-Jaramillo et al., 2022). O conceito de Conservação Única é um processo integrador para a conservação da biodiversidade e abrange a reprodução ética de espécies, conectando populações *in situ*, *ex situ* e ações antrópicas, além de inserir todos os segmentos da sociedade como agentes da conservação (Pizzutto et al., 2021b). A Conservação Única foi demonstrada viável por Luczinski et al. (2023), que descreve o nascimento de um filhote de onça-pintada nascido de uma fêmea resgatada ao *ex situ* dos devastadores incêndios florestais no Pantanal. A abordagem integrativa da Conservação Única possibilitou a adaptação bem-sucedida desta fêmea e o nascimento de um filhote que deverá ser reintroduzido à natureza.

O condicionamento para uso das biotecnologias reprodutivas

Para Pizzutto et al. (2021b), o desenvolvimento de biotecnologias reprodutivas para espécies selvagens engloba o conhecimento básico, desde a biologia e ecologia da espécie, até o comportamento, a anatomia e a fisiologia. Apesar dos avanços na área da reprodução, sabemos muito pouco sobre biologia reprodutiva na vida selvagem. Segundo Comizzoli e Holt (2019) a grande maioria dos esforços são concentrados principalmente em aves e mamíferos e estes totalizam em torno de 250 espécies com descrições sobre a reprodução.

A obtenção de informações reprodutivas sobre as espécies, muitas vezes está atrelada a acessos difíceis e que colocam em risco a vida dos animais, além de aumentar os níveis de estresse pela contenção, seja ela física ou química (Lueders e Allen, 2020).

Segundo Bloomsmith et al. (2015), o condicionamento operante com reforço positivo é uma prática na qual o treinador ensina o animal a cooperar, recompensando-o depois que ele demonstra o comportamento desejado. Um princípio fundamental do condicionamento operante é que o comportamento é influenciado por suas consequências. Se um animal é recompensado (dado algo que o animal “deseja”) depois de realizar um comportamento específico e direcionado, é mais provável que o animal execute esse comportamento novamente. Sob esse paradigma, o animal não é coagido de forma alguma, mas pode optar por participar ou não. Técnicas de condicionamento operante, juntamente com a técnica clássica de condicionamento de dessensibilização sistemática, têm sido usadas para ensinar animais a cooperar com certos procedimentos veterinários, principalmente os invasivos.

As experiências vividas pelos animais ao longo de seu dia podem ter influência positiva ou negativa em seu bem-estar e, por esta razão, é importante avaliar constantemente todos os procedimentos de manejo, observando o que é oferecido ao animal em termos de nutrição, saúde, ambiente e interações comportamentais. De acordo com o Modelo dos Cinco Domínios (Mellor et al., 2020), o domínio “interações comportamentais” compreende tudo o que ocorre no dia a dia dos animais, incluindo as interações com os seres humanos, demonstrando a importância de estabelecer experiências positivas com práticas de manejo em que os animais confiem nas pessoas que trabalham diretamente nos seus cuidados, garantindo também um ambiente mais seguro e confortável para todos.

A utilização de técnicas que facilitam o acesso aos animais e viabilizam a realização de procedimentos com maior agilidade e segurança contribui de forma expressiva com o bem-estar dos animais. Sendo assim, o condicionamento operante pode facilitar o trabalho diário de um zoológico ou aquário, e contribuir significativamente na obtenção de imagens ultrassonográficas e/ou amostras biológicas como sangue, sêmen, saliva, urina, swab vaginal, proporcionando a padronização de parâmetros fisiológicos e de saúde, além de contribuir com o armazenamento de materiais para futuros projetos de reprodução assistida (Azevedo et al., 2022)

A possibilidade de acesso seriado aos animais sem impactar nos níveis de estresse, associando a experiências positivas vividas por eles é de extrema importância aos protocolos de ARTs. Em algumas espécies como furão-de-pata-negra (Howard e Wildt, 2009; Holt, 2016), panda gigante (Martin-Wintle et al., 2019), elefante africano e asiático (Hermes et al., 2007), e o golfinho nariz-de-garrafa (Robeck et al., 2005), o sucesso de IA se deu graças à estas práticas.

Apesar da dificuldade de desenvolvimento das ARTs para as espécies selvagens e de todas as limitações para a obtenção de informações sobre a biologia reprodutiva destas, a utilização de protocolos de boas práticas é a melhor alternativa e deve ser praticada por todas as instituições que mantêm animais selvagens sob seus cuidados.

Segundo (Pennington e Durrant, 2019), a possibilidade de colher sêmen de maneira confiável de machos geneticamente valiosos é essencial para a otimização dos protocolos de ART existentes. Além disso, tecnologias emergentes como a Aspiração Folicular por Laparoscopia (LOPU) (Jorge Neto et al., 2018) são fundamentais para o desenvolvimento de sistemas e protocolos de cultivo *in vitro* bem-sucedidos (Jorge-Neto et al., 2023). A criopreservação desse material garantirá a disponibilidade de material genético para técnicas ainda não padronizadas, disponíveis ou inimagináveis. Os pesquisadores não devem apenas buscar o avanço das ARTs atualmente empregadas, mas também opções inovadoras, como a manipulação de células-tronco para produzir gametas (Saragusty et al., 2016), reprogramação celulares com criação de células-tronco pluripotentes para gerar gametas (Korody et al., 2017).

Faz-se cada vez mais necessário o preenchimento de lacunas em nossa compreensão sobre a fisiologia reprodutiva de inúmeras espécies. Isso só será possível se associarmos as boas práticas de manejo dos animais às biotecnologias reprodutivas. Sendo assim, animais manejados dentro destes protocolos de boas práticas e com capacidade para prosperar são, sem dúvida, forte candidatos à parceria com *in situ* e os programas de reprodução para a conservação (Pizzutto et al., 2021b).

O alcance da sustentabilidade, para muitas populações, vai depender do enfrentamento do desafio para conectar indivíduos e populações desconexas, estejam eles *in situ* ou *ex situ*, com trocas genéticas cuidadosamente avaliadas (Lacy, 2013). A integração e o avanço do manejo proativo da reprodução destes animais, usando ferramentas e tecnologias científicas, é um passo essencial para a criação e conservação sustentável da vida selvagem (Lueders e Allen, 2020).

Cabe a cada um de nós a tomada decisões diárias, dentro dos preceitos éticos que acreditamos, para o estabelecimento de relações positivas e sustentáveis com a natureza, com seus recursos naturais e com todas as formas de vida. Ainda somos regidos por uma esperança de reverter cenários tão impactantes na vida selvagem através da busca por conhecimento e formas de tratar os animais com respeito e dignidade. O entendimento do papel que cada ser vivo tem na manutenção de equilíbrios ecossistêmicos nunca esteve tão claro.

Para (Brennan e Lo, 2022), a medida que a humanidade enfrenta um futuro incerto de declínio da biodiversidade e aumento de eventos climáticos extremos impulsionados pelo aumento do aquecimento do planeta, os desafios morais e éticos parecem mais presentes do que nunca.

Considerações Finais

A manutenção de animais em condições *ex situ* representa o compromisso ético em seguir protocolos rigorosos de manejo que proporcionem elevados níveis de bem-estar e qualidade de vida aos

animais. Dentro das diretrizes de boas práticas de manejo, o condicionamento tem uma aplicabilidade prática não apenas pelas interações positivas geradas na relação humano-animal, como também pela possibilidade de realização de procedimentos veterinários, coleta de amostras biológicas e aplicação das biotecnologias reprodutivas, com minimização dos níveis de estresse. A integração de conhecimentos técnicos e científicos é um passo essencial para a manutenção e conservação sustentável da vida selvagem.

Referências

Azevedo CS de, Cipreste CF, Pizzutto CS. Fundamentos do enriquecimento ambiental. 1a. ed. São Paulo: Payá; 2022.

Azevedo CS, Cipreste CF, Pizzutto CS, Young RJ. Review of the effects of enclosure complexity and design on the behaviour and physiology of zoo animals. *Animals.* 2023;13:1277. <https://doi.org/10.3390/ani13081277>.

Bloomsmith M, Neu K, Franklin A, Griffis C, McMillan J. Positive reinforcement methods to train chimpanzees to cooperate with urine collection. *J Am Assoc Lab Anim Sci JAALAS.* 2015;54:66-9

Brennan A, Lo NYS. Environmental Ethics. *The Stanford Encyclopedia of Philosophy.* Summer 2022. Stanford: Metaphysics Research Lab, Stanford University; 2022.

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.* 2015;1:e1400253. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1400253>

Comizzoli P. Advances and challenges in understanding and assisting reproduction of wild animal species. *Rev Bras Reprod Anim.* 2021;45:318-22. <https://doi.org/10.21451/1809-3000.RBRA2021.041>.

Comizzoli P, Holt WV. Breakthroughs and new horizons in reproductive biology of rare and endangered animal species. *Biol Reprod.* 2019;101:514-25. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox031>.

Darwin CR. The expression of the emotions in man and animals. 1st. ed. London: John Murray; 1872

Developmental Biology Korody ML, Pivaroff C, Nguyen TD, Peterson SE, Ryder OA, Loring JF. Four new induced pluripotent stem cell lines produced from northern white rhinoceros with non-integrating reprogramming factors. 2017. . <https://doi.org/10.1101/202499>.

Edwards KL, Edes AN, Brown JL. Stress, well-being and reproductive success. In: Comizzoli P, Brown JL, Holt WV, editors. *Reproductive Sciences in Animal Conservation*, vol. 1200. Cham: Springer International Publishing; 2019. p.91-162. . https://doi.org/10.1007/978-3-030-23633-5_5

Greggor AL, Vicino GA, Swaisgood RR, Fidgett A, Brenner D, Kinney ME, Farabaugh S, Masuda B, Lamberski N. Animal welfare in conservation breeding: applications and challenges. *Front Vet Sci.* 2018;5:323. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00323>.

Gremmen B. Ethics views on animal science and animal production. *Anim Front.* 2020;10:5-7. <https://doi.org/10.1093/af/vfz049>.

Hancocks D. The history and principles of zoo exhibition. In: Kleiman DG, Thompson KV, Baer CK, editors. *Wild Mammals in Captivity: principles and techniques for Zoo Management.* 2nd. ed. Chicago, The University of Chicago Press: Kleiman DG, Thompson KV, Baer CK; 2010. p.121-36.

Hediger H. *Wild animals in captivity.* butterworth-heinemann; 1950. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-08196-0>.

Hermes R, Göritz F, Streich W, Hildebrandt T. Assisted reproduction in female rhinoceros and elephants - current status and future perspective. *Reprod Domest Anim.* 2007;42:33-44. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00924.x>

Holt WV. The black-footed ferret recovery program: a strong advocate for establishing semen banking programs as support tools for small population welfare. *Anim Conserv.* 2016;19:116-7. <https://doi.org/10.1111/acv.12270>.

Howard JG, Wildt DE. Approaches and efficacy of artificial insemination in felids and mustelids. *Theriogenology.* 2009;71:130-48. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.046>.

Jorge Neto PN, Requena LA, Pizzutto CS, Baldassarre H. Laparoscopic ovum pick-up (LOPU): from animal production to conservation. *Spermova.* 2018;8:61-7. <https://doi.org/10.18548/aspe/0006.07>

Jorge-Neto PN, Requena LA, Araújo GR de, Traldi A de S, Luczinski TC, Deco-Souza T de, Pizzutto CS, Baldassarre H. Efficient recovery of in vivo matured oocytes from jaguars (*Panthera onca*) and pumas (*Puma concolor*) by laparoscopic ovum pick-up (LOPU). *Theriogenology Wild.* 2023;2

Lacy RC. Achieving true sustainability of zoo populations: achieving true sustainability of zoo populations. *Zoo Biol.* 2013;32:19-26. <https://doi.org/10.1002/zoo.21029>.

Luczinski TC, Jorge-Neto PN, Ribeiro RM, De Jesus RS, Pizzutto CS, De Deco-Souza T, De Araújo

- GR, Morgado TO, Corrêa SHR, Peixer MAS, Malard PF, Bortolotto G, Fernandes KVB, Polizelle SR, Morato RG.** One Conservation concept in practice. *Theriogenology Wild.* 2023;2:100024. <https://doi.org/10.1016/j.therwi.2023.100024>.
- Lueders I, Allen WRT.** Managed wildlife breeding-an undervalued conservation tool? *Theriogenology.* 2020;150:48-54. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.058>.
- Martin-Wintle MS, Kersey DC, Wintle NJP, Aitken-Palmer C, Owen MA, Swaisgood RR.** Comprehensive breeding techniques for the giant panda. In: Comizzoli P, Brown JL, Holt WV, editors. *Reproductive sciences in animal conservation*, vol. 1200. Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 275-308. . https://doi.org/10.1007/978-3-030-23633-5_10.
- Mellor D.** Updating animal welfare thinking: moving beyond the “Five Freedoms” towards “a life worth living.” *Animals.* 2016;6:21. <https://doi.org/10.3390/ani6030021>.
- Mellor DJ, Beausoleil NJ, Littlewood KE, McLean AN, McGreevy PD, Jones B, Wilkins C.** The 2020 Five Domains Model: Including human–animal interactions in assessments of animal welfare. *Animals.* 2020;10:1870. <https://doi.org/10.3390/ani10101870>
- Pennington PM, Durrant BS.** Assisted reproductive technologies in captive rhinoceroses. *Mammal Rev.* 2019;49:1-15. <https://doi.org/10.1111/mam.12138>.
- Pizzutto CS.** Avanços na promoção do bem-estar animal nos zoológicos e aquários do Brasil. In: Hartung J, Costa MP da, Perez C, editors. *O bem-estar animal no Brasil e na Alemanha: Responsabilidade e Sensibilidade.* São Paulo: GRAFTEC - Gráfica e Editora Ltda; 2020. p.138-43.
- Pizzutto CS, Araújo GR de, Csermak-Jr AC, Jorge-Neto PN, Luczinski TC, Deco-Souza T de.** Uma visão integrada das biotecnologias reprodutivas com o conceito de One Conservation. *Rev Bras Reprod Anim.* 2021a;45:241-5. <https://doi.org/10.21451/1809-3000.RBRA2021.031>.
- Pizzutto CS, Colbachini H, Jorge-Neto PN.** One Conservation: the integrated view of biodiversity conservation. *Anim Reprod.* 2021b;18:e20210024. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-ar2021-0024>
- Prada ILS.** Os animais são seres sencientes. In: Tréz T, editor. *Instrumento animal: o uso prejudicial de animais no ensino superior.* Bauru: Canal 6; 2008.
- Pulina G.** Ethical meat: respect for farm animals. *Anim Front.* 2020;10:34-8. <https://doi.org/10.1093/af/vfz052>.
- Robeck T, Steinman K, Yoshioka M, Jensen E, O'Brien J, Katsumata E, Gili C, McBain J, Sweeney J, Monfort S.** Estrous cycle characterisation and artificial insemination using frozen–thawed spermatozoa in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Reproduction.* 2005;129:659-74. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00516>.
- Saragusty J, Diecke S, Drukker M, Durrant B, Friedrich Ben Nun I, Galli C, Göritz F, Hayashi K, Hermes R, Holtze S, Johnson S, Lazzari G, Loi P, Loring JF, Okita K, Renfree MB, Seet S, Voracek T, Stejskal J, Ryder OA, Hildebrandt TB.** Rewinding the process of mammalian extinction. *Zoo Biol.* 2016;35:280-92. <https://doi.org/10.1002/zoo.21284>.
- Uphouse L.** Stress and reproduction in mammals. In: Norris DO, Lopez KH, editors. *Hormones and Reproduction of Vertebrates.* Elsevier; 2011. p.117-38. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374928-4.10007-0>.
- Yarto-Jaramillo E, Çitaku I, Rodríguez CE, Lewy Sánchez-Aldana C, Morales MC, Moresco A.** Integrated approaches to howler monkey (*Alouatta* spp.) medicine in professional care and conservation. *Front Vet Sci.* 2022;9:897404. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.897404>
- Young RJ.** *Environmental Enrichment for Captive Animals.* Oxford: Blackwell; 2003.