<https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n02a746.1-8>

Monitoramento endócrino para identificação da puberdade em gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*) e gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*)

Alexandra de Souza^{1*}, Érico Boffo², Felipe Azzolini³, Nei Moreira⁴, Marcos José Oliveira⁵, Rodrigo Neca Ribeiro⁶, Renato Herdina Erdmann⁷

¹Graduanda do Curso de Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - Campus Toledo, Toledo - PR Brasil.

²Médico Veterinário graduado pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná - Campus Toledo, Toledo - PR Brasil.

³Médico Veterinário, M.Sc., responsável pelo Zoológico da UNISEP, Dois Vizinhos - PR - Brasil

⁴Médico Veterinário, Dr.Sc., docente da Universidade Federal do Paraná, Palotina - PR - Brasil

⁵Biólogo, M.Sc., Refúgio Bela Vista, Itaipu Binacional - Foz do Iguaçu - PR - Brasil

⁶Médico Veterinário M.Sc., Zoológico Municipal de Cascavel - PR - Brasil

⁷Médico Veterinário; Dr.Sc., docente da Pontifícia Universidade Católica do Paraná Campus Toledo, Toledo - PR Brasil

*Autor para correspondência, E-mail: ale.kamimura@hotmail.com

Resumo. Entender sobre a fisiologia e comportamento das espécies é de grande importância para a reprodução *ex situ*, desta forma o objetivo deste trabalho foi identificar o início da puberdade em animais da espécie *Herpailurus yagouaroundi* e *Leopardus guttulus* de forma não invasiva, utilizando dados obtidos da extração dos andrógenos fecais, assim como verificar a eficácia de um kit comercial (Testosterona EIA DRG-1559[®]) para identificação das variações de andrógenos fecais. Foram utilizadas amostras fecais de machos de *H. yagouaroundi* (n=2) cativos no Zoológico da UNISEP – Dois Vizinhos – PR e no Zoológico Municipal de Cascavel - PR e *L. guttulus* (n=1) cativo no Refúgio Biológico Bela Vista da Itaipu Binacional – Foz do Iguaçu – PR. As amostras fecais coletadas foram mantidas em freezer a -20°C até o final das coletas. Para a dosagem dos andrógenos fecais as amostras passaram por um processo de desidratação a 80°C por 72 horas, em seguida foram moídas e peneiradas, retirado 0,20 g de amostra e adicionados 5 mL de metanol a 90%, em seguida passou por processo de agitação durante 15 minutos e centrifugação por mais 15 minutos, ao final foram coletados 2 mL do sobrenadante para a dosagem dos andrógenos extraídos. Para a dosagem dos metabólitos de andrógenos foi realizada a diluição de 1:4 em pink PBS e realizada a técnica de ensaio imunoenzimático, utilizando kit comercial (DRG Testosterone EIA-1559[®] - EUA) com leitura em equipamento de ELISA (Biotek ELISA ELx800, fabricado em Winooski - EUA). A identificação das variações de andrógenos fecais foi realizada através de gráficos que indicaram picos (média + 1,5 desvios padrões). A utilização do kit DRG (Testosterone EIA-1559[®]) foi eficaz para detectar variações de andrógenos em amostras fecais das espécies *H. yagouaroundi* e *L. guttulus*, permitindo o monitoramento endócrino de forma não invasiva. Foi possível identificar picos nos três gráficos que representam os animais testados, indicando que todos tiveram início do aumento das concentrações de andrógenos fecais em idades entre 10 a 12 meses, sendo condizente com a literatura encontrada referente a de gatos domésticos, a qual pode ser utilizada como base de comparação pelo porte aproximado das espécies destes felídeos, caracterizando o início da puberdade nestas espécies.

Palavras-chave: Andrógenos fecais, *Leopardus guttulus*, puberdade, *Herpailurus yagouaroundi*

Endocrine monitoring to identify puberty in Jaguarundi (*Herpailurus yagouaroundi*) and Southern tiger cat (*Leopardus guttulus*)

Abstract. Understanding the physiology and behavior of species is of great importance for *ex situ* reproduction, so the objective of this research was to identify the onset of puberty in males of the species *Herpailurus yagouaroundi* and *Leopardus guttulus* in a non-invasive approach using data obtained from the fecal androgens, as well as checking the effectiveness of a commercial Testosterone kit (EIA DRG-1559®) for identifying fecal androgen variations. Fecal samples from captive males of *H. yagouaroundi* (n=2) at the UNISEP Zoo, Dois Vizinhos - PR, and at the Municipal Zoo, Cascavel - PR and *L. guttulus* (n=1) captive at the Bela Vista Biological Refuge, from Itaipu Binacional, Foz do Iguaçu - PR. Fecal samples were kept in a freezer at -20°C until processed. For the determination of fecal androgens, samples underwent a dehydration process at 80°C for 72 h, then they were ground and sieved, 0.20 g of sample was removed and added 5 mL of methanol 90%, then it was shaken for 15 minutes and centrifuged for another 15 minutes, at the end 2 mL of the supernatant was collected to measure the extracted androgens. For dosing, a 1:4 dilution was performed in pink PBS and the enzyme immunoassay technique was performed using the Testosterone Kit (EIA-1559®, DRG - USA) with reading on ELISA plate reader (Biotek ELISA ELx800, fabricated in Winooski - the USA). The identification of fecal androgen variations occurred through graphs where increasing concentrations (mean + 1.5 standard deviations) were observed. The use of the commercial kit (DRG Testosterone EIA-1559®) was effective in detecting androgen variations in fecal samples of *H. yagouaroundi* and *L. guttulus*, allowing non-invasive endocrine monitoring. It was possible to identify peaks in the three graphs that represent the evaluated animals, indicating that they all started to increase fecal androgen excretion between 10 and 12 months old, which is consistent with the literature regarding domestic cats, which can be used as a basis of comparison, considering the size of these felid species, characterizing the beginning of puberty.

Keywords: Fecal androgen, *Leopardus guttulus*, puberty, *Herpailurus yagouaroundi*

Monitoreo endocrino para identificar la pubertad en gato-moro (*Herpailurus yagouaroundi*) y gato-tigre-chico (*Leopardus guttulus*)

Resumen. Comprender la fisiología y el comportamiento de las especies es de gran importancia para la reproducción *ex situ*, por lo que el objetivo de este trabajo fue identificar el inicio de la pubertad en animales de las especies *Herpailurus yagouaroundi* y *Leopardus guttulus*, de forma no invasiva utilizando datos obtenidos de la extracción de andrógenos fecales, así como comprobar la eficacia de un kit comercial (Testosterona EIA DRG-1559®) para identificar variaciones en los andrógenos fecales. Fueron utilizadas muestras fecales de machos *H. yagouaroundi* (n=2) cautivos en el Zoológico de UNISEP - Dois Vizinhos - PR y en el Zoológico Municipal, Cascavel - PR y *L. guttulus* (n=1) cautivo en el Refugio Biológico Bela Vista de Itaipu Binacional, Foz do Iguaçu - PR. Las muestras fecales recolectadas fueran conservadas a -20°C hasta lo procesamiento. Para la determinación de andrógenos fecales, las muestras se sometieron a un proceso de deshidratación a 80°C durante 72 horas, luego se molieron y tamizaron, se extrajeron 0,20 g de muestra y se agregaron 5 ml de metanol 90%, luego se agitó durante 15 minutos y centrifugó durante otros 15 minutos, al final se recogieron 2ml del sobrenadante para medir los andrógenos extraídos. Para la dosificación se realizó una dilución 1:4 en PBS rosa y la técnica de inmunoensayo enzimático se realizó utilizando un Kit comercial (Testosterona EIA-1559®, DRG - EUA) con lectura en equipo ELISA (Biotek ELISA ELx800, fabricado en Winooski- EUA). La identificación de las variaciones de andrógenos fecales se produjo a través de la formulación de gráficos donde indicaban picos (media + 1,5 desviaciones estándar). El uso del kit (DRG Testosterone EIA-1559®) fue eficaz en la detección de variaciones de andrógenos en muestras fecales de las especies *H. yagouaroundi* y *L. guttulus*, lo que permitió un control endocrino no invasivo. Fui posible identificar picos en

las tres gráficas que representan a los animales probados, indicando que todos ellos comenzaron a incrementar la excreción de andrógenos fecales en edades entre los 10 y 12 meses, siendo consistente con la literatura encontrada referida a gatos domésticos, la cual puede ser utilizada como base de comparación, por el tamaño aproximado de las especies de estos felídeos, caracterizando el inicio de la pubertad en estas especies.

Palabras clave: Andrógenos fecales, *Leopardus guttulus*, pubertad, *Herpailurus yagouaroundi*

Introdução

Dentro do território brasileiro o gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi* classificado por É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803) ocorre amplamente distribuído pelo país, porém com uma densidade populacional baixa e o gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus* classificado por Trigo et al., 2013) ocorre na região sul, sudeste e centro-oeste do país. Como consequência da destruição de seus habitats estas espécies, assim como outros felídeos, estão sofrendo diminuição em suas populações (ICMBio, 2014).

Segundo Caso et al. (2015), a espécie *H. yagouaroundi* está classificada na IUCN Red list como pouco preocupante (*least concern*), porém o número de indivíduos vem diminuindo a cada ano que passa, a estimativa é que a espécie seja reduzida em 10% em 15 anos (Almeida et al., 2013). Já o *L. guttulus* está classificado como vulnerável e sua população também vem sofrendo perdas, sendo estimado 30% de redução da população do gato-do-mato-pequeno em 15 anos (Oliveira et al., 2016).

A reprodução *in situ* e *ex situ* tem um grande papel para a manutenção da variabilidade genética das populações. Desta forma, a reprodução em cativeiro é uma ferramenta para a conservação, porém devido a problemas relacionados ao ambiente de cativeiro, estresse, manejo incorreto, relação social, torna-se difícil e diminui a chance de sucesso (Micheletti, Cubas, Moraes, Oliveira, & Moreira, 2012).

Sendo assim, informações fisiológicas e comportamentais da espécie são essenciais para técnicas de reprodução assistida, como a criação de bancos de reserva genômica, coleta de sêmen, inseminação artificial e fertilização *in vitro* (Erdmann, 2014). Identificar a puberdade do macho e sua viabilidade para reprodução é um ponto importante, podendo ser utilizados métodos não invasivos para a obtenção desta informação, utilizando o monitoramento hormonal não invasivo através dos metabólitos fecais (Micheletti, Cubas, Moraes, Oliveira, Kozicki, et al., 2012).

Esta pesquisa teve como objetivo identificar o início da puberdade do gato-mourisco e do gato-do-mato-pequeno através de exames não invasivos, utilizando amostras fecais para identificação da variação dos níveis de andrógenos. Visto que há poucas informações sobre a endocrinologia reprodutiva destas espécies (Brown, 2006; Morais et al., 2002; Moreira et al., 2001), justificando então sua execução.

Segundo Erdmann (2014), a utilização de um kit comercial (Testosterona EIA DRG-1559) foi eficaz para avaliar alterações dos níveis hormonais de andrógenos fecais nas espécies *L. wiedii*, *L. pardalis* e *L. tigrinus* que foram estimulados com GnRH e responderam com aumento da excreção de andrógenos. Este projeto de pesquisa obteve aprovação do CEUA de número 01026B/2017 em 23/11/2017.

Material e métodos

Foram utilizadas fezes de filhotes machos de gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*, n=2) e de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*, n=1), conforme Tabela 1.

Tabela 1. Espécie, idade e local onde o animal estava.

Espécie	Idade	Local
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	9 meses	Zoológico de Cascavel -PR
<i>Herpailurus. yagouaroundi</i>	4 meses	Zoológico UNISEP – Dois Vizinhos - PR
<i>Leopardus guttulus</i>	4 meses	Refúgio Biológico Bela Vista – Foz do Iguaçu - PR

Todos os animais encontravam-se sozinhos nos recintos, sendo orientada aos funcionários dos zoológicos a coleta das fezes três vezes por semana no período mínimo de cinco meses, considerando que os animais podem não defecar todos os dias, ou não ser possível realizar a coleta programada. As rotinas dos zoológicos não foram alteradas para esse experimento, os animais recebiam dieta balanceada para pequenos felídeos, a base de pintainho, frango, miúdos fígado, coração, carne bovina, ratos do biotério e suplementação de cálcio, sem restrição hídrica.

Após a coleta das fezes era realizado o armazenamento em embalagens tipo “zip-lock” e mantido em *freezer* a -20°C até serem efetuadas as dosagens no laboratório da PUCPR - Campus Toledo – PR. Posterior à obtenção de todas as amostras, foram realizadas as extrações hormonais, utilizando técnicas laboratoriais adaptadas de (Brown, 2008), conforme descrito por Erdmann (2014).

As amostras foram primeiramente colocadas em tubos de ensaios identificados conforme o animal e a data da coleta e deixadas durante 72 horas em estufa a 80°C (Figura 1A). Após a secagem na estufa as amostras foram moídas com o auxílio de um graal e pistilo (Figura 1B) em seguida peneiradas e pesadas 0,20 g de cada amostra, adicionado então 5 mL de metanol 90%, logo após foram homogeneizadas durante 15 minutos em um agitador de tubos de ensaio (Figura 1C), e centrifugadas por mais 15 minutos a 3000 rpm (Figura 1D). Sendo obtida uma solução alcoólica contendo os metabólitos de andrógenos das fezes que ficaram decantadas no fundo do tubo de ensaio.

Figura 1. Processo para extração e leitura dos andrógenos fecais das amostras. **A-** Tubos com amostras identificados na estufa a 80°C . **B-** Graal e pistilo para moagem das amostras fecais. **C-** Amostras com 5ml de metanol no agitador de tubos de ensaio. **D-** Centrífuga utilizada para decantar e separar a amostra. **E-** Leitora de microplacas (Biotek ELISA ELx800 - EUA).

Imediatamente após a centrifugação foram retirados 2 mL do sobrenadante de cada amostra e armazenados em criotubos de preservação, previamente identificados conforme animal e data da coleta, e mantidos no *freezer* para posterior realização do ensaio imunoenzimático (EIA).

Conforme Erdmann (2014), o método de EIA para dosagem de metabólitos fecais de andrógenos utilizando determinado *kit* comercial (DRG Testosterone EIA-1559[®]) foi eficaz para felídeos do gênero *Leopardus*. Previamente à realização do EIA, as amostras foram diluídas 1:4 em solução *pink* PBS,

sendo 1 parte de amostra e 3 de solução, o EIA foi realizado logo após as diluições, conforme as instruções do *kit* (DRG Testosterone EIA-1559®) e imediatamente realizada a leitura no equipamento (ELISA ELx800; [Figura 1E](#)).

Para avaliação dos níveis de andrógenos fecais obtidos em cada amostra foram utilizados a estatística básica descritiva e a realização de gráficos temporais.

De acordo com Morato et al. (2004), um pico é o equivalente à média somada a dois desvios padrões (DP), já Young et al. (2004) consideraram um pico quando os valores ultrapassam a média somado mais 1,5 DP.

Resultados e discussão

Utilizando o *kit* comercial (DRG Testosterone EIA-1559®), os valores obtidos na leitura variaram entre 20 e 320 ng/g para *H. yagouaroundi* e entre 20 e 500 ng/g para *L. guttulus*. O aumento dos níveis de andrógenos fecais, representando uma ascendência da curva, foi observado a partir das idades de 325 dias em *H. yagouaroundi* e 309 dias em *L. guttulus*.

Após a avaliação dos resultados obtidos com o EIA, foi possível verificar que o *H. yagouaroundi* cativo no Zoológico da UNISEP – Dois Vizinhos – PR apresentou picos de andrógenos fecais conforme identificado no [Gráfico 1](#), em amarelo foi identificado o primeiro pico, segundo Young et al. (2004) aos 365 dias, em vermelho picos subsequentes.

Gráfico 1. Níveis de andrógenos fecais (ng/g) de gato-mourisco (*H. yagouaroundi*, n=1) cativo no Zoológico da UNISEP em Dois Vizinhos – PR.

Para este indivíduo foi considerado pico todo valor superior a 221,57 ng/g de fezes, sendo que a média foi de 116,90 ng/g ($\pm 69,78$ ng/g DP). O primeiro pico ocorreu quando o animal apresentava aproximadamente 365 dias de vida, seguido por mais dois picos aos 452 e 474 dias de vida respectivamente. Porém, ao analisar os resultados, é possível verificar que aos 215 dias de vida o animal começou a apresentar variações de andrógenos fecais, visto que quase atingiu um pico.

Ao analisar os dados do *H. yagouaroundi* cativo no Zoológico de Cascavel -PR foi considerado pico todo valor que ultrapassasse 228,08 ng/g de fezes, considerando a média obtida de 133,6 ng/g ($\pm 62,99$ ng/g DP).

Este animal começou a apresentar atividade androgênica significativa a partir de 325 dias de idade, sendo possível identificar em amarelo no [Gráfico 2](#) o primeiro pico e observados outros picos destacados em vermelho aos 365, 409, 414, 416 e 429 dias de vida respectivamente, denotando um aumento da concentração média com o atingimento da puberdade.

Gráfico 2. Andrógenos fecais (ng/g) de gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*, n=1) cativo no Zoológico de Cascavel – PR.

Analisando os dados obtidos do animal *L. guttulus*, foi identificado o primeiro pico de andrógenos fecais a partir de 309 dias de idade destacado em amarelo (Gráfico 3) e em vermelho picos subsequentes.

Gráfico 3. Andrógenos fecais (ng/g) de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*) cativo no Refúgio Biológico Bela Vista da Itaipu Binacional, em Foz do Iguaçu – PR.

Para este animal foi considerado como pico todo valor superior a 333,97 ng/g sendo a média 173 ($\pm 107,64$ ng/g DP).

Importante ressaltar que os animais podem não defecar todos os dias, além de condições climáticas, como a chuva, poderem alterar a programação de coleta ou tornar a amostra inviável para a extração dos metabólitos.

Conforme testado anteriormente por Erdmann (2014), em outras espécies de felídeos do gênero *Leopardus*, este kit (DRG Testosterone EIA-1559®) também apresentou eficácia para detectar variações de andrógenos fecais em *H. yagouaroundi* e *L. guttulus*. Obtendo resultados compatíveis com o aumento

significativo dos andrógenos fecais próximo à idade esperada para início da puberdade, ou seja, cerca de um ano de idade.

Foi possível verificar que o primeiro pico de andrógenos fecais, no *H. yagouaroundi* cativo no Zoológico da UNISEP – Dois Vizinhos – PR, ocorreu com a idade de, aproximadamente, 12 meses. Já o *H. yagouaroundi* cativo no zoológico de Cascavel – PR obteve seu primeiro pico no segundo mês da coleta, onde o animal apresentava 10 meses de idade. O indivíduo da espécie *L. guttulus* obteve seu primeiro pico de andrógenos fecais com aproximadamente 10 meses de idade.

Segundo Hafez & Hafez (2004), o animal é considerado púbere, ou está na puberdade, quando o mesmo é capaz de liberar gametas e exibir o comportamento sexual. Conforme dito por Faraco & Soares, (2013), os gatos domésticos machos podem apresentar comportamento de monta a partir dos 4 meses de idade, porém a puberdade, a liberação dos gametas, só se dá por volta dos nove a dez meses de vida, sendo condizente com os resultados obtidos.

Considerações finais

Foi possível verificar que o kit comercial avaliado (DRG Testosterone EIA-1559®) apresentou eficácia para detectar variações de andrógenos fecais em amostras secas das espécies de felídeos *Herpailurus yagouaroundi* e *Leopardus guttulus*.

Conforme a idade estimada pelos gestores dos zoológicos, os picos de andrógenos fecais coincidiram com o período de aproximadamente um ano (entre 10 e 12 meses), indicando que este período marca o início da puberdade nestes animais.

O monitoramento hormonal não invasivo foi eficaz para determinar o início da puberdade em gato-mourisco (*H. yagouaroundi*) e gato-do-mato-pequeno (*L. guttulus*).

Referências

- Almeida, L. B., Queirolo, D., Beisiegel, B. M., & Oliveira, T. G. (2013). Avaliação do estado de conservação do Gato-mourisco *Puma yagouaroundi* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira*, 3(1), 99–106.
- Brown, J L. (2008). Wildlife endocrinology manual. *CRC Endocrine Research Laboratory. Smithsonian National Zoological Park, Conservation and Research Center (Internal Publication)*.
- Brown, Janine L. (2006). Comparative endocrinology of domestic and nondomestic felids. *Theriogenology*, 66(1), 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.03.011>
- Caso, A., Oliveira, T., & Carvajal, S. V. (2015). *Herpailurus yagouaroundi*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e. T9948A50653167*. <https://doi.org/>. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-2.RLTS.T9948A50653167.en>
- Erdmann, R. H. (2014). *Protocolos de criopreservação de sêmen em felídeos do gênero Leopardus e quantificação de metabólitos fecais de andrógenos e glicocorticóides*. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.
- Faraco, C. B., & Soares, G. M. (2013). Fundamentos do comportamento Canino e Felino. *MEDVET, São Paulo*.
- Hafez, E. S. E., & Hafez, E. S. E. (2004). Anatomia da reprodução feminina. In *Reprodução Animal* (Vol. 6, p. 513). 7ª ed. São Paulo: Editora Manole.
- ICMBio. (2014). Lista de Espécies Ameaçadas. *Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - Ministério do Meio Ambiente*. <https://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/2741-lista-de-especies-ameacadas-saiba-mais.html>
- Micheletti, T., Cubas, Z. S., Moraes, W., Oliveira, M. J., Kozicki, L. E., Weiss, R. R., & Moreira, N. (2012). Reprodução assistida em felídeos selvagens—uma revisão. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 35(4), 408–417.
- Micheletti, T., Cubas, Z. S., Moraes, W., Oliveira, M. J., & Moreira, N. (2012). Reprodução natural de

- felídeos selvagens em cativeiro: dificuldades e orientações. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 36(1), 39–43.
- Morais, R. N., Mucciolo, R. G., Gomes, M. L. F., Lacerda, O., Moraes, W., Moreira, N., Graham, L. H., Swanson, W. F., & Brown, J. L. (2002). Seasonal analysis of semen characteristics, serum testosterone and fecal androgens in the ocelot (*Leopardus pardalis*), margay (*L. wiedii*) and tigrina (*L. tigrinus*). *Theriogenology*, 57(8), 2027–2041. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00707-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00707-0)
- Morato, R. G., Bueno, M. G., Malmheister, P., Verreschi, I. T. N., & Barnabe, R. C. (2004). 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*, 37(12), 1903–1907. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2004001200017>
- Moreira, N., Monteiro-Filho, E. L. A., Moraes, W., Swanson, W. F., Graham, L. H., Pasquali, O. L., Gomes, M. L. F., Moraes, R. N., Wildt, D. E., & Brown, J. L. (2001). Reproductive steroid hormones and ovarian activity in felids of the *Leopardus* genus. *Zoo Biology*, 20(2), 103–116. <https://doi.org/10.1002/zoo.1010>
- Oliveira, T., Trigo, T., Tortato, M., Paviolo, A., Bianchi, R., & Leite-Pitman, M. R. P. (2016). *Leopardus guttulus*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e. T54010476A54010576*.
- Trigo, T. C., Schneider, A., Oliveira, T. G., Lehugeur, L. M., Silveira, L., Freitas, T. R. O., & Eizirik, E. (2013). Molecular Data Reveal Complex Hybridization and a Cryptic Species of Neotropical Wild Cat. *Current Biology*, 23(24), 2528–2533. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.10.046>
- Young, K. ., Walker, S. ., Lanthier, C., Waddell, W. ., Monfort, S. ., & Brown, J. . (2004). Noninvasive monitoring of adrenocortical activity in carnivores by fecal glucocorticoid analyses. *General and Comparative Endocrinology*, 137(2), 148–165. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2004.02.016>

Histórico:

Recebido: 1 de setembro de 2020.

Aprovado: 8 de outubro de 2020.

Disponível online: 11 de dezembro de 2020.

Licenciamento: Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.