UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FISIOLOGIA E CONTROLE DO CICLO ESTRAL EM FÊMEAS DE CATETO (*Tayassu tajacu, Linnaeus*, 1758) MANTIDAS EM CATIVEIRO NO SEMI-ÁRIDO BRASILEIRO

KEILLA MOREIRA MAIA

Médica Veterinária

MOSSORÓ – RN – BRASIL

Junho – 2011

KEILLA MOREIRA MAIA

FISIOLOGIA E CONTROLE DO CICLO ESTRAL EM FÊMEAS DE CATETO (*Tayassu tajacu, Linnaeus*, 1758) MANTIDAS EM CATIVEIRO NO SEMI-ÁRIDO BRASILEIRO

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Rodrigues Silva

MOSSORÓ – RN – BRASIL

Junho – 2011

Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e catalogação da Biblioteca "Orlando Teixeira" da UFERSA

M217f Maia, Keilla Moreira.

Fisiologia e controle do ciclo estral em fêmeas de cateto (Tayassu tajacu Linnaeus, 1758) mantidas em cativeiro no semi-árido brasileiro. / Keilla Moreira Maia. -- Mossoró, 2011.
92f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal. Área de concentração: Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação.
Orientador: Prof. Dr. Alexandre Rodrigues Silva
Co-orientador: Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira
1. Ultrassonografia ovariana 2. Citologia vaginal 3. Sincronização de Estro. 4. Sustentabilidade. I. Título.
CDD: 636.089

Bibliotecária: Vanessa Christiane Alves de Souza
CRB-15/452

KEILLA MOREIRA MAIA

FISIOLOGIA E CONTROLE DO CICLO ESTRAL EM FÊMEAS DE CATETO (*Tayassu tajacu, Linnaeus, 1758*) MANTIDAS EM CATIVEIRO NO SEMI-ÁRIDO BRASILEIRO

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

APROVADA EM 03 DE JUNHO DE 2011

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Alexandre Rodrigues Silva (UFERSA)
Orientador

Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira (UFERSA)
Primeiro Conselheiro

Profa. Dra. Sheyla Farhayldes Souza Domingues (UFPA)
Segundo Conselheiro

Profa. Dra. Aracely Rafaelle Fernandes Ricarte (UFERSA)
Terceiro Conselheiro

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

KEILLA MOREIRA MAIA – Nascida no Município de Tabuleiro do Norte-CE no dia 02/02/1984, filha de Aldonso Trajano Maia e Isaura Moreira da Silva, concluiu o ensino fundamental na Campanha Nacional de Escolas da Comunidade (CNEC) de Tabuleiro do Norte e o ensino médio no Colégio Diocesano Padre Anchieta de Limoeiro do Norte-CE. Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) em 2007.1, onde foi bolsista de PIBIC pelo período de dois anos e de PICI por seis meses. Durante a graduação desenvolveu trabalhos com nutrição de ruminantes, determinando a composição químico-bromatológica e a digestibilidade de plantas nativas da Caatinga (Flôr de seda, Jitirana), bem como exóticas (Algaroba) e resíduos industriais (pseudofruto do cajueiro) por ovinos. Em dezembro de 2009 foi selecionada pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela UFERSA. Durante o período do mestrado, foi colaboradora nas disciplinas de Ovino-caprinocultura e Obstetricia Veterinária do curso de Medicina Veterinária da UFERSA.

À Deus, pela força que me deu para caminhar em mais uma jornada, minha mãe pelo apoio e ao meu filho Henrique, meu maior incentivo.

Dedico

"Quem espera que a vida
Seja feita de ilusão
Pode até ficar maluco
Ou morrer na solidão
É preciso ter cuidado
Pra mais tarde não sofrer
É preciso saber viver

Toda pedra do caminho
Você pode retirar
Numa flor que tem espinhos
Você pode se arranhar
Se o bem e o mal existem
Você pode escolher
É preciso saber viver

É preciso saber viver
É preciso saber viver
É preciso saber viver
Saber viver! "

Titãs

AGRADECIMENTOS

Á Deus que iluminou minha vida, me dando forças para lutar pelos meus objetivos.

Minha família, pelo apoio, principalmente minha mãe, Isaura Moreira, que sempre esteve ao meu lado me amparando nos momentos de angústia bem como nos de vitória. Minha irmã, Keilianne Moreira, que por vezes "segurou as pontas" na minha ausência. Meu pai, Aldonso Trajano, pela paciência e seu fantástico "senso de realidade" e meu esposo Mardônio Maia, pela compreensão e apoio.

Ao meu filho "pequenininho" Henrique Maia, que esteve literalmente presente em boa parte desse processo, desde a geração, passando os oito meses de gestação até o presente momento, sendo meu principal incentivo na busca de um futuro melhor, procurando sempre investir em educação, que é a maior herança que eu quero proporcionar a ele.

A meus amigos que sempre estiveram ao meu lado principalmente a minha prima Mariana Moreira (*in memorian*) que infelizmente partiu durante esse período importante da minha vida e à Humberto Augusto e toda sua família (Dona Luísa, Zina e seu Francisco Cavalcante) que sempre foram meu ponto de apoio.

A todos os integrantes do Laboratório de Conservação de Germoplama Aqnimal (LCGA), que apareceram como uma "Grande família", principalmente Gislayne Peixoto e Aracelly Ricarte, que além de colegas de trabalho se comportaram como irmãs me dando apoio quando eu mais precisava e também a Gabriela liberalino que me ajudou na etapa final deste trabalho.

Aos mestres (doutores) Moacir Franco de Oliveira, Sidney Sakamoto, Benito Soto Blanco, Jael Soares Batista, Alex Maia, Roberto Silva e Débora Moraes que fizeram parte de mais essa etapa da minha vida e especialmente ao professor Alexandre Rodrigues Silva que além de um grande mestre, me recebeu em seu laboratório, que conduz com grande sabedoria e direcionou nosso trabalho permitindo concluí-lo com êxito.

Aos membros da banca pela gentileza de aceitar nosso convite e por tudo que vieram a contribuir com o presente estudo.

FISIOLOGIA E CONTROLE DO CICLO ESTRAL EM FÊMEAS DE CATETO (*Tayassu tajacu, Linnaeus, 1758)*) MANTIDAS EM CATIVEIRO NO SEMI-ÁRIDO BRASILEIRO

MAIA, K. M. **Fisiologia e controle do ciclo estral em fêmeas de cateto (*tayassu tajacu, Linnaeus, 1758)*) mantidas em cativeiro no semi-árido brasileiro 2011. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Produção e Reprodução Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2011.**

RESUMO – O objetivo do presente trabalho foi estudar a fisiologia do ciclo estral de fêmeas de cateto mantidas em cativeiro no semi-árido brasileiro e desenvolver um protocolo para a sincronização de estro nesta espécie. Em um primeiro experimento, buscou-se descrever e correlacionar as alterações no perfil hormonal (estrógeno e progesterona), citologia vaginal e padrão ultra-sonográfico dos ovários durante o ciclo estral de quatro fêmeas de catetos. Foram observados 1,5 ciclo estral por animal em 45 dias de avaliação, com duração média de 21 ± 5,7 dias, o estrógeno apresentou um valor de pico de 55,57 ± 20,47 pg / mL e durante a fase lútea, os valores de pico de progesterona foram de 35,3 ± 4,4 ng / mL. O diâmetro dos folículos ovarianos foi de 0,23 ± 0,1 cm no momento do pico de estrógeno e corpos lúteos mediram 0,36 ± 0,2 cm, identificados durante a fase lútea, por imagem ultrassonográfica. Não foram observadas relações significativas entre o perfil hormonal e citologia vaginal, durante nenhum momento do ciclo estral ($P > 0.05$), sugerindo-se que o segundo método não é exato para o monitoramento do estro na espécie. No segundo experimento, foi testado um protocolo de sincronização de estro em cinco fêmeas de cateto, utilizando duas doses de 0,8 mL (60 μg) do análogo da prostaglandina, com intervalo de nove dias, realizando-se paralelamente dosagem de estrógeno para o acompanhamento do ciclo estral. Obtendo-se ocorrência de pico de estrógeno em todos os animais após a segunda aplicação em 9,2 ± 1,1 dias, com em média, 28,05 ± 10,41 pg/mL de estrógeno, sendo observados sinais externos de estro, como abertura vulvar, mucosa vaginal hiperêmica e presença de muco vaginal em quatro animais (80%). Os resultados sugerem que a aplicação do análogo da prostaglandina, cloprostenol, foi eficiente para sincronização de estro nesta espécie.

Palavras-Chave: cateto, perfil hormonal, citologia vaginal, ultrassonografia ovariana, sincronização de estro.

PHYSIOLOGY AND CONTROL OF ESTROUS CYCLE IN FEMALE COLLARED PECCARY (*Tayassu tajacu, Linnaeus*, 1758)) KEPT IN CAPTIVITY IN SEMI-ARID REGION

MAIA, K.M. **Physiology and control of estrous cycle in female collared peccary (*Tayassu tajacu, Linnaeus*, 1758)) kept in captivity in semi-arid region. 2011. 92p. Thesis (Master's degree In Animal Science: Animal Production and Reproduction) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2011.**

ABSTRACT - The aim of this research was to study the estrous cycle physiology of female collared peccaries bred in captivity at Semiarid. At the first experiment, the changes in hormonal status (estrogen and progesterone), vaginal cytology and ovarian ultrasonographic patterns were described and correlated in four mature females. It was monitored 1.5 estrous cycle per animals during 45 days evaluation, with an average duration of 21 ± 5.7 days, estrogen presented a peak value of 55,57 ± 20,47 pg/mL and during the luteal phase, the peak values for progesterone were 35.3 ± 4.4 ng/mL. The diameter of the ovarian follicles was 0.23 ± 0.1 cm during the moment of the estrogen peak and corpora lutea measured 0.36 ± 0.2 cm identified during the luteal phase, through ultrasound evaluation. No relations amongst the hormonal profiles and vaginal cytology were identified during any moment of the cycle ($P > 0.05$), it was suggested that the second method was not accurate for estrus monitoring in the above mentioned species. In the second experiment, we tested a protocol for synchronization of estrus in five female collared peccaries, using two doses of 0.8 mL (60 µg) of the prostaglandin analogue, cloprostenol, with an interval of nine days, performing alongside the dosage of estrogen to monitor the estrous cycle. The occurrence of estrogen peak was verified in all the animals after the second application at 9.2 ± 1.1 days, with an average of 28.05 ± 10.41 pg / ml estrogen, and the external signs of estrus, as opening vulvar, vaginal mucosa hyperemic and vaginal mucus were observed in four animals (80%). Therefore, it was proved the efficiency of the application of a prostaglandin analogue, cloprostenol, on estrus synchronization in this species.

Keywords: collared peccary, hormonal profile, vaginal cytology, ovarian ultrasonography, oestrus synchronization .

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	Marca registrada
º	Graus
ºC	Graus Celsius
’	Minutos
CEMAS	Centro de Manipulação de Animais Silvestres
CIDR	*Controlled Internal Drug Release*
CL	Corpo lúteo
cm	Centrímetro
cm^3	Centímetros cúbicos
DP	Desvio Padrão
E2	Estradiol
ELISA	*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
E.P	Erro Padrão
FGA	Acetato de fluorogestona
FIV	Fertilização “in vitro”
FSH	Hormônio foliculo estimulante
g	Grama
G	Gravidade
GLM	*General Linear Model*
GNRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
h	Horas
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
hMG	Gonadotrofina menopáusica humana
IA	Inseminação artificial
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
kg	Quilogramas
km^2	Quilometro quadrado
L	Litro
LH	Hormônio luteinizante
m	Metro
MAP	Acetato de medroxiprogesterona
mg	Miligrama
MHz	MegaHertz
min.	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mm^3	Milímetros cúbicos
Modo B	Modo Brilho
n	Amostra
P	Probabilidade
P4	Progesterona

PGF	Prostaglandina
PMSG	Gonadotrofina de Égua Prenhe
s	Segundos
SAS	*Statistical Analysis System*
SNC	Sistema Nervoso Central
TE	Transferência de Embriões
UECE	Universidade Estadual do Ceará
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-árido
UI	Unidades internacionais
US	Ultrassom
USTR	Ultrassonografia em tempo real
ηg	Nanograma
ηm	Nanômetro
ρg	Picograma
μg	Micrograma
μL	Microlitros
μm	Micrômetro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Ordem do pico de estradiol, duração do ciclo estral e valores de 17β estradiol durante o pico em fêmeas de cateto (n=4) criadas em cativeiro sob clima semi-árido 49

Tabela 2: Morfometria ovariana detectada por avaliação ultrassonografica de fêmeas de cateto (n=4) durante diferentes fases do ciclo estral..... 51

Tabela 3: Intervalo entre a aplicação da segunda dose de cloprostenol (Dia 3) e a manifestação do estro, e valores de pico do 17β estradiol durante estro em fêmeas de cateto (*Tayassu tajacu*) criadas em cativeiro sob clima semi-árido (n=5)..... 64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Catetos (*Tayassu tajacu*) criados em cativeiro no semi-árido brasileiro. Fonte: Arquivo pessoal 19

Figura 2: Fotografia da vista ventral do útero e ovário esquerdo de fêmea cateto (*Tayassu tajacu*), demonstrando as relações entre o corno uterino esquerdo (c), o ovário esquerdo (o), a tuba uterina esquerda (t) e as fímbrias (f). Fonte: Santos (2000)..... 22

Figura 3: Aparência vulvar de cateto em estro, mostrando vulva avermelhada e intumescida e secreção mucosa. Fonte: Mayor et al., (2007b) adaptado 26

Figura 4: Citologia vaginal de cateto, mostrando células superficiais Diff-Quick® stain. Fonte: Mayor et al., (2007b) adptado..... 29

Figura 5: Níveis séricos de estradiol (pg / ml) e progesterona (ng / ml) nos perfis cíclicos de fêmeas de cateto (*Tayassu tajacu*) avaliadas por 45 dias. Cada gráfico representa uma das fêmeas (n = 4) 49

Figura 6: Proporção de células epiteliais vaginais classificadas como parabasais (PB), intermediárias (I), superficiais nucleadas (SN) e superficiais anucleadas (AS) de fêmeas de cateto (*Tayassu tajacu*) cíclicas avaliadas por 45 dias. Cada gráfico representa uma fêmea (n = 4)..... 50

Figura 7: Valores percentuais de células epiteliais vaginais classificadas como parabasais (PB), intermediárias (I), superficiais nucleadas (SN) e superficiais anucleadas (AS) de fêmeas de cateto (*Tayassu tajacu* - n = 4) durante as fases folicular (preto) e luteal (cinza) do ciclo estral (P> 0,05)..... 51

Figura 8: Imagens ultrassonográficas dos ovários (setas brancas), de fêmeas de cateto cíclica durante a fase folicular (A) com um grande folículo antral (círculo) projetada na superfície do ovário e durante a fase luteal (B), mostrando a presença de um corpo lúteo (elipse)..... 52

Figura 9: Esquema demonstrando protocolo de sincronização de estro em fêmeas de cateto, utilizando duas doses de análogo da prostaglandina, com intervalo de nove dias..... 63

Figura 10: Dosagem de estrógeno (pg/mL) no soro, ao longo do ciclo estral de fêmeas de cateto (*Tayassu tajacu*) (n=5), durante trinta e quatro dias de coleta, sendo o Dia 0, a data da primeira aplicação de prostaglandina (11.08.2010) e no Dia 3, foi realizada a segunda aplicação do mesmo hormônio (20.08.2010)..... 65

SUMÁRIO

Página

1 CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS..... 17
1.1 INTRODUÇÃO..... **17**
1.2 REVISÃO DE LITERATURA **19**
1.2.1 ASPECTOS GERAIS DO CATETO..... **19**
1.2.2 ASPECTOS REPRODUTIVOS DOS CATETOS **20**
1.2.3 CICLICIDADE REPRODUTIVA **23**
1.2.4 PERFIL HORMONAL..... **26**
1.2.5 CITOLOGIA VAGINAL..... **28**
1.2.6 ULTRASSONOGRAFIA **30**
1.2.7 MÉTODOS DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO **33**
1.2.8 OBJETIVOS..... **36**
1.2.8.1 Geral 36
1.2.8.2 Específicos 36
1.2.9 REFERÊNCIAS..... **37**

2 CAPÍTULO 2 – MUDANÇAS NO PERFIL HORMONAL, CITOLOGIA VAGINAL E PADRÃO ULTRA-SONOGRÁFICO OVARIANO DURANTE O CICLO ESTRAL DE FÊMEAS DE CATETOS (TAYASSU TAJACU) EM CATIVEIRO 43

2.1 RESUMO..... **43**
2.2 INTRODUÇÃO..... **44**
2.3 MATERIAL E MÉTODOS..... **45**
2.3.1 Animais..... 45
2.3.2 Contenção..... 45
2.3.3 Ensaio hormonal..... 46
2.3.4 Citologia vaginal..... 47
2.3.5 Ultrassonografia ovariana..... 47
2.3.6 Análise Estatística..... 47
2.4 RESULTADOS..... **48**
2.4.1 Ensaio hormonal..... 48
2.4.2 Citologia vaginal..... 50
2.4.3 Ultrassonografia ovariana..... 51
2.5 DISCUSSÃO..... **52**
2.6 REFERÊNCIAS..... **56**

3 CAPÍTULO 3 – SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO EM CATETO *(TAYASSU TAJACU)* UTILIZANDO ANÁLOGO DA PROSTAGLANDINA (PGF2α)..... 60

3.1 RESUMO..... **60**
3.2 INTRODUÇÃO..... **61**
3.3 MATERIAL E MÉTODOS..... **62**
3.3.1 Desenvolvimento do experimento..... 62
3.3.2 Sincronização de estro..... 62
3.3.3 Acompanhamento do estro..... 63
3.3.3.1 Ensaio hormonal 63

3.3.4 Análise Estatística **63**
3.4 RESULTADOS..... **64**
3.5 DISCUSSÃO..... **65**
3.6 REFERÊNCIAS..... **67**

ANEXOS..... 70

ANEXO 01 - CARTA DE SUBMISSÃO DO ARTIGO "CHANGES IN THE HORMONAL PROFILE, VAGINAL CYTOLOGY AND OVARIAN ULTRASONOGRAPHIC PATTERN DURING THE ESTRUS CYCLE OF CAPTIVE FEMALE COLLARED PECCARIES (*TAYASSU TAJACU*)"À REVISTA *ANIMAL REPRODUCTION SCIENCE*……. **70**

ANEXO 02 - CHANGES IN THE HORMONAL PROFILE, VAGINAL CYTOLOGY AND OVARIAN ULTRASONOGRAPHIC PATTERN DURING THE ESTRUS CYCLE OF CAPTIVE FEMALE COLLARED PECCARIES (*TAYASSU TAJACU*) ……... **71**

1 CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

Tayassu tajacu, também conhecido como cateto, caititu ou porco-do-mato, é uma espécie exclusiva das Américas, que habita desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina. Vive em grupos, ocupando habitats semidesérticos, savanas, florestas tropicais e florestas de altitude. É um onívoro que consome principalmente itens de origem vegetal e complementa sua dieta com pequenos invertebrados (SANTOS et al., 2000).

A caça predatória do cateto tem representado, ao longo dos tempos, uma importante fonte de recurso alimentar. Atualmente, esses animais estão sendo criados em cativeiro com objetivos econômicos, podendo representar, em algumas regiões do Brasil, uma importante forma de desenvolvimento sustentável (CRUZ et al., 2009). Visto que a reprodução é a base para sobrevivência de qualquer espécie, seu estudo é fundamental para conservação das mesmas (GUIMARÃES, 2008). A reprodução de animais silvestres compreende uma área tão nova quanto ampla, tanto sob o aspecto da conservação como para a criação comercial, sendo evidente a relevância da aplicação de técnicas de reprodução assistida, aplicadas à espécie de interesse, visando melhorar o seu desempenho reprodutivo. No Brasil, considerado a maior reserva floro-faunística do mundo, a criação de animais silvestres em cativeiro é ainda incipiente, devendo ser realizada observando-se a legislação federal que a regulamenta sob fiscalização direta do órgão responsável, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (GUIMARÃES, 2008). A Reprodução em cativeiro de espécies selvagens poderia desempenhar um papel interessante na redução dos efeitos da caça intensiva nas áreas onde esta atividade não é mais sustentável (JORI et al., 1998).

Técnicas de reprodução assistida como inseminação artificial (IA), fertilização in vitro (FIV), transferência de embriões (TE) e criopreservação de gametas são essenciais ao melhoramento do desempenho reprodutivo, preservação da biodiversidade e desenvolvimento de pesquisas básicas (GOBELLO; CORRADA, 2003). Para tanto, é necessário que se tenha conhecimento da biologia reprodutiva, visando aperfeiçoar o desempenho zootécnico dos catetos, fato que ainda é pouco conhecido, além disso,

ressalta-se que práticas de gestão adequadas ainda não foram desenvolvidas para esta espécie (MAYOR et al., 2007a).

Portanto há necessidade de se estudar os aspectos reprodutivos do cateto (*Tayassu tajacu*), principalmente no que diz respeito a sua ciclicidade reprodutiva, em virtude da deficiência de estudos nesse sentido. Além disso, o referido conhecimento é necessário quando do emprego de biotécnicas que promovam aumento da produtividade, como os métodos de controle dos ciclos estrais, haja vista a crescente importância da criação comercial desses animais, podendo trazer boa rentabilidade para o proprietário rural, aliado ao fato da importância da conservação, visando à exploração racional, evitando que a mesma, corra risco de extinção.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 ASPECTOS GERAIS DOS CATETOS

O *Tayassu tajacu,* conhecido como cateto ou caititu, é um mamífero da família Tayassuidae pertencente à ordem Artiodactyla que se divide em dois gêneros: o *Tayassu* com duas espécies, *T. tajacu* (cateto) e *T. pecari* (queixada), e o *Catagonus* com *C. wagneri* (SOWLS, 1984; CARTER et al., 2005).

Os catetos são animais gregários e rústicos que produzem carne e couro de excelente qualidade, para os quais existe grande demanda internacional. São semelhantes ao porco doméstico e ao javali (BODMER et al, 1997; COSTA et al, 2004). Entretanto, várias características anatômicas os tornam diferentes, tais como, a presença de uma glândula odorífera na região dorsal e de uma cauda vestigial, o osso da perna fundido ao do pé, que resulta em três dígitos na pata posterior, a ausência de vesícula biliar e a presença de um estômago compartimentalizado em estômago glandular, bolsa gástrica e dois sacos cegos (SOWLS, 1997).

Figura 1. Catetos (*Tayassu tajacu*) criados em cativeiro no semi-árido brasileiro. Fonte: Arquivo pessoal

Sua alimentação é composta, principalmente, por itens de origem vegetal complementada com pequenos invertebrados, não competindo com outras espécies por alimento como ruminantes e suínos (OJASTI, 1993; QUESNEL; PRUNIER, 1995).

A distribuição do *T. tajacu* ocorre desde o estado do Texas, no sul dos Estados Unidos, até o norte da Argentina, ocorrendo em todo o território brasileiro. Esta espécie é capaz de ocupar uma grande diversidade de hábitat podendo ocorrer desde áreas semidesérticas e savanas até florestas tropicais e de altitude, bem como nas áreas de transição entre esses ambientes (SOWLS, 1997).

São animais de pequeno porte. Quando adultos, medem de 75 a 100 cm de comprimento e aproximadamente 45 cm de altura, com o peso variando de 14 a 30 kg. Possui um focinho alongado com disco móvel terminal, patas curtas e delgadas e pés pequenos proporcionalmente ao resto do corpo (KILTIE, 1982; NOWAK; PARADISO, 1983). A pelagem é longa e áspera geralmente de tonalidade cinza mesclado de preto, com uma faixa de pêlos brancos ao redor do pescoço que dá o aspecto de um colar (SOWLS, 1997). A glândula de cheiro, localizada na região dorsal, produz uma substância oleaginosa de forte odor, que é utilizada em contextos sociais e não sociais, como por exemplo, quando é esfregada em árvores e outros objetos para a marcação territorial. Os machos geralmente são maiores que as fêmeas (NOWAK; PARADISO, 1983).

Não há dimorfismo sexual aparente, com exceção da presença do saco escrotal, que pode ser observado à curta distância (SOWLS, 1997; NOGUEIRA FILHO, 1999). Em ambiente natural, nos trópicos, o cateto tem atividade predominantemente diurna e, em cativeiro, seu padrão de atividade pode variar de acordo com as condições de manejo (VENTURIERI; LE PENDU, 2006).

Devido à suas características reprodutivas e sua capacidade de adaptação a diversos tipos de ambientes, os catetos podem ser explorados racionalmente, através de um plano de manejo que favoreça a sobrevivência no seu habitat natural ou em cativeiro tanto em sistemas intensivos quanto semi-intensivos (NOGUEIRA FILHO, 1999; VENTURIERI; LE PENDU, 2006). Para Mayor et al., (2007a.), a manutenção do bom desempenho reprodutivo dos catetos, mesmo em cativeiro, traduz-se em potencial desenvolvimento da produção comercial desses animais. Desse modo, o desenvolvimento de novas técnicas de criação de catetos é uma atividade que possibilitaria a diversificação e a integração das atividades agropecuárias, de forma sustentável (SILVA et al., 2002; NOGUEIRA FILHO et al., 2004).

1.2.2 ASPECTOS REPRODUTIVOS DOS CATETOS

De acordo com Santos et al., (2000), os ovários nos catetos e queixadas acham-se no teto da cavidade abdominal suspensos por uma prega de peritônio. Sua forma é variável, mas são geralmente ovalados, e de superfície irregular quando há corpo lúteo ou folículo em desenvolvimento. Possuem duas faces, uma medial, voltada para o interior da cavidade abdominal, e outra lateral, voltada para a parede da cavidade

abdominal, na região sublombar. São visíveis duas margens, uma livre e outra mesovárica, e duas extremidades, tubárica, que é a porção próxima ao infundíbulo, e a uterina, que se une ao útero pelo ligamento próprio do ovário. Relacionam-se craniolateralmente com as tubas uterinas, com as quais mantêm contato por meio das fímbrias do infundíbulo, caudalmente, com a extremidade cranial dos cornos uterinos. A bolsa ovárica é formada por uma prega dupla de peritônio que se abre em um largo orifício elíptico, e mais desenvolvida cranialmente, deixando uma das extremidades do ovário livre.

O volume médio dos ovários em fêmeas não gestantes em fase luteínica é de 489,1 ± 37,2 mm^3, na fase folicular é de 366,9 ± 118,7 mm^3 e nas fêmeas prenhes é de 722,8 ± 414,5mm^3. Folículos primários em diferentes fases de desenvolvimento são localizados na periferia do córtex ovariano; o folículo antral apresenta diâmetro de 2.252,7 ± 558,2 μm, sendo que o oócito nele contido tem diâmetro de 111,5 ± 60,4 μm. A média de folículos antrais por fêmea na fase folicular é de 30,4 ± 1,7, com presença de, aproximadamente 14,4 folículos grandes e 5,2 folículos pequenos. Há evidências de que ondas foliculares ocorram e determinem crescimento folicular sincronizado na espécie. A taxa média de ovulação é de 2,3 ± 0,6 ovulações por ciclo, ocorrendo de forma uni ou bilateral. O corpo lúteo é ovóide e sobressai na superfície dos ovários, em fêmeas não prenhes, pode atingir o volume de 397,1 ± 569,3mm^3 (MAYOR et al., 2006a; GARCIA et al., 2009).

As tubas uterinas são longas, finas e enoveladas e terminam na extremidade tubárica dos ovários, nas fímbrias e a comunicação com o útero ocorre de maneira contínua (GARCIA et al., 2009). Percorrem uma prega dupla de peritônio – o mesossalpinge, que por sua vez constitui o ligamento sustentador das tubas. Curvam-se craniocaudalmente sobre os ovários levando consigo os ligamentos que ajudam na formação da bolsa ovárica. O istmo é bem visível externamente pela diminuição abrupta no diâmetro da extremidade do corno uterino; a ampola caracteriza-se por uma dilatação na tuba uterina quando esta se encontra na extremidade cranial do ovário e o infundíbulo por numerosas pregueações que se projetam sobre a superfície do ovário – as fímbrias. Na fêmea jovem de cateto, encontrou-se para a tuba uterina direita, um comprimento de 5,5 cm e para a tuba uterina esquerda 4,5 cm. Para a fêmea gestante, o comprimento da tuba uterina direita e esquerda foi de 9,5 cm (SANTOS et al., 2000).

Figura 2. Fotografia da vista ventral do útero e ovário esquerdo de fêmea cateto (*Tayassu tajacu*), demonstrando as relações entre o corno uterino esquerdo (c), o ovário esquerdo (o), a tuba uterina esquerda (t) e as fímbrias (f). Fonte: Santos (2000)

O útero é bicórneo e possui corpo curto e cérvix longa, com projeções anulares para o canal cervical, conferindo-lhe luz espiralada. Os cornos uterinos voltam-se ventralmente em forma de hélice e são curtos (MAYOR et al., 2006a). Comunicam-se caudalmente, com o corpo uterino por meio de um curto septo e cranialmente continuam-se pelas tubas uterinas, mantêm relações dorsomedialmente com o reto, ventralmente com a vesícula urinária e cranioventralmente com as alças intestinais do intestino grosso. O corpo uterino é muito breve e encontra-se dividido por uma prega de mucosa que separa os cornos uterinos, comunica-se caudalmente com a cérvix através do óstio uterino interno, que é contínuo com a luz da cérvix, e cranialmente com a luz dos cornos uterinos. Na fêmea jovem de cateto, observou-se 5,5 cm para o corno direito e 6,3 cm para o corno esquerdo, com corpo uterino de 1,4 cm. Na fêmea gestante, o corno uterino esquerdo, não-gestante, mediu 16 cm, ao passo que o corno uterino direito, gestante, mediu 26 cm e este útero apresentou um corpo uterino de 3 cm. (SANTOS et al., 2000)

A cérvix possui uma característica peculiar, apresenta os pulvinos cervicais, que são projeções anulares para o interior do canal cervical, que conferem forma espiralada à luz (MAYOR et al., 2004). A vagina de catetos é um órgão tubular com comprimento de aproximadamente 9,19 ± 2,50 cm, o qual diminui para 8,16 ± 1,47 cm quando as fêmeas se encontram prenhes, o diâmetro vaginal também se reduz durante a gestação, de 1,33 ± 0,19 cm para 1,29 ± 0,29 cm, possui uma parede fina, epitélio não glandular, estratificado e escamoso, o qual sofre modificações de acordo com a fase reprodutiva (GARCIA et al., 2009).

Estudo semelhante ao de Santos et al., (2000), avaliando as características anatômico-histológicas dos órgãos genitais de fêmeas de queixada (*Tayassu pecari*) foi realizado por Mayor et al., (2009) na Amazônia Peruana, caracterizando a fisiologia

reprodutiva da queixada de focinho branco, através da descrição dos aspectos macroscópicos e microscópicos dos órgãos genitais desses animais.

Os catetos atingem a maturidade sexual entre os 8 e 10 meses. O cortejamento é iniciado pela fêmea. Os machos são sexualmente ativos a partir de um ano de idade e as fêmeas pouco antes de um ano (JUDAS, 1999). As fêmeas de cateto na natureza são consideradas como poliéstricas não estacionais, ou seja, produzem o ano todo (BODMER et al., 1997). Para Sowls (1997), estudando catetos em condições de clima temperado, a duração do ciclo estral nesses animais varia de 22-28 dias, apresentando receptividade sexual de 2 a 4 dias. O tempo médio de gestação é de 138 ± 5 dias e o tamanho da ninhada é em média de 1,7-1,9 (MAYOR et al., 2004). Podem apresentar estro sete dias após o parto, sendo possível que mesmo durante o aleitamento, possam tornar-se cíclicas e férteis (MAYOR et al., 2006b).

As espécies silvestres, como o cateto, se diferenciam tanto na forma reprodutiva (morfologia) como na função (mecanismos que regulam o sucesso reprodutivo) das espécies domésticas, limitando a aplicabilidade prática para a produção de descendentes. Assim, um fator limitante é a falta de conhecimento básico sobre as espécies não estudadas (SILVA et al., 2002)

As biotécnicas da reprodução, tais como a sincronização e/ou indução do estro, tecnologia do sêmen, inseminação artificial e transferência de embriões têm se constituído em valiosos instrumentos à disposição do sistema produtivo. Entretanto, a utilização destes, está condicionada ao desenvolvimento de outras técnicas complementares, que possam fornecer informações que os tornem adequados ao sistema produtivo (CRUZ; FREITAS, 2001). De modo geral, é necessário um conhecimento prévio da fisiologia reprodutiva da espécie em questão, para a aplicação bem sucedida dessas biotécnicas.

1.2.3 CICLICIDADE REPRODUTIVA

A puberdade é o resultado de um ajuste gradativo entre o aumento da atividade gonadotrófica e a habilidade das gônadas em assumir simultaneamente a esteroidogênese e a gametogênese. O seu aparecimento determina o inicio da atividade sexual, desse modo, as fêmeas atingem a puberdade quando ocorre o primeiro estro (HAFEZ, 2004). De acordo com Mcdonald (2003), a mesma é definida como o início da ciclicidade reprodutiva. Após esse fenômeno, a fêmea desenvolve um padrão rítmico de

eventos fisiológicos que promovem alterações morfológicas no sistema reprodutor e mudanças comportamentais no animal, que são cíclicas e contínuas, sendo interrompidas pela gestação ou alguma condição patológica.

O controle da secreção das gonadotrofinas, durante o ciclo estral, exige um delicado balanço entre as complexas interações hormonais. Núcleos hipotalâmicos secretam o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), que através do sistema porta hipotalâmico-hipofisário, estimulam a adenohipófise a secretar o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo estimulante (FSH), que promovem a síntese de progesterona e estrógeno, respectivamente, pelos ovários. Estes dois últimos exercem influências, através de mecanismos de "feedback" positivo ou negativo, diretamente na hipófise ou no hipotálamo, tornando possível a continuidade dos eventos que caracterizam o ciclo estral (MORAES et al., 2001; MCDONALD, 2003; HAFEZ, 2004)

O ciclo estral é o ritmo funcional dos órgãos reprodutivos femininos que se estabelece a partir da puberdade, compreendendo modificações cíclicas na fisiologia e morfologia dos órgãos genitais e também no perfil dos hormônios relacionados (GRANADOS et al., 2006). É subdividido em quatro fases, caracterizado por manifestações ou modificações orgânicas específicas e diferentes períodos de duração. O proestro e o estro ocorrem na fase de desenvolvimento folicular, quando predominam as ações estrogênicas, com manifestações teciduais do tipo proliferativo; o metaestro e o diestro ocorrem na fase luteínica, com predomínio das ações progesterônicas, com manifestações de secreção das glândulas epiteliais (GRUNERT et al., 2005). Este tipo de ciclo é observado na maioria dos mamíferos (HAFEZ, 2004).

O proestro é caracterizado pela aceleração do crescimento folicular sob influência do FSH. O folículo começa a secretar estrógeno o qual influencia os órgãos genitais (BANKS, 1991). Nessa fase, as fêmeas começam a alterar seu comportamento em virtude da maior concentração de estradiol, ficam mais agitadas, saltam umas sobre as outras, apresentam edema e hiperemia vulvar, mas ainda não aceitam a monta (BORTOLLOZO et al., 2008).

O estro é um complexo de sinais fisiológicos e comportamentais que ocorre logo antes da ovulação. Os sinais de estro são induzidos pela elevada concentração de estradiol na circulação, proveniente do folículo pré-ovulatório, que atua nos centros cerebrais e medulares. Os níveis elevados de 17 β-estradiol e decrescente de progesterona são responsáveis pelo comportamento de estro (MORAES et al., 2008). Portanto, no momento em que a concentração de estradiol atinge certo limiar por

determinado tempo, são manifestados os sinais de estro, as fêmeas suínas ficam mais agitadas, caminham mais, reduzem o consumo de alimentos, saltam e toleram o salto das outras, apresentam edema e hiperemia vulvar e há presença de muco vaginal, nesse período a fêmea aceita o macho (BORTOLLOZO et al., 2008; OSTERSEN et al., 2010). Este tipo de ciclo é observado em todos os mamíferos com exceção de alguns primatas, os quais apresentam um ciclo menstrual (HAFEZ, 2004).

Metaestro é um estágio em transição, no qual os níveis de estrógeno em declínio são contrabalanceados pelos níveis de progesterona em crescimento. Após a ovulação ocorre, na fossa da ovulação, a formação do corpo lúteo, que em 3 ou 4 dias desenvolve-se, formando uma glândula hormonal funcionalmente capaz (BANKS, 1991)

O diestro é definido como o período compreendido do fim do metaestro até o tempo durante o qual a progesterona é secretada pelo corpo lúteo. Período que está sob forte influência da progesterona (BANKS, 1991). Se não houver fecundação, após esse período os corpos lúteos, normalmente regridem. Os ovários sofrem novo estímulo e se reinicia o ciclo com o pró-estro (GRANADOS et al, 2006)

Anestro é o período que compreende o final da fase luteal e o início da fase folicular. É a fase do ciclo reprodutivo feminino que segue o diestro, durante o qual o útero involui e o eixo ovário-hipofisário está, aparentemente, em quiescência (BANKS, 1991). Faz parte do ciclo estral das cadelas, nas demais espécies, só ocorre durante a estacionalidade reprodutiva ou decorrente de alguma patologia (MCDONALD, 2003).

Em suínos, durante o ciclo estral e particularmente durante a fase lútea, há um contínuo crescimento dos folículos, sem aparência de surgimento de folículo dominante ou ondas foliculares (MADEJ et al., 2009). Segundo Knox (2005), em marrãs, o número de folículos grandes superior a 6,9 milímetros começa a aumentar no dia 15 do ciclo estral, atingindo um máximo durante o primeiro dia do estro.

A ciclicidade reprodutiva de fêmeas de cateto foi estudada por meio da citologia vaginal por Mayor et al., (2007b), e pelo acompanhamento do perfil hormonal, estrógeno e progesterona, nas diferentes fases do ciclo estral (MAYOR et al., 2006b, 2007b). Na Amazônia brasileira, as fêmeas de cateto em fase de estro apresentaram maior abertura vaginal, intumescimento e vermelhidão da vulva, além de secreção de fluido mucoso após o pico de estrógeno. Houve correlações positivas entre a concentração de estrógeno sérico, as mudanças no epitélio vaginal e as características da aparência vulvar no período de estro com completa coincidência dos métodos avaliados

em 62,5% dos estros detectados. As células superficiais alcançaram máxima proporção (45% do total de células) 0,8 ± 0,5 dias após o pico de estrógeno. Após o estro, houve notável redução de células superficiais e intermediárias, a genitália externa se tornou pálida, não intumescida, e a abertura vaginal se fecha (MAYOR et al., 2007b).

Figura 3. Aparência vulvar de cateto em estro, mostrando vulva avermelhada e intumescida e secreção mucosa. Fonte: Mayor et al., (2007b) adaptado.

Entretanto, apesar do conhecimento já existente sobre os referidos aspectos da fisiologia reprodutiva desta espécie, são ainda escassos os conhecimentos sobre sua ciclicidade reprodutiva por completo, incluindo a aparência ovariana determinada por ultrassonografia, ou ainda as flutuações do hormônio progesterona durante o ciclo. Ressalta-se que o estudo concomitante dos hormônios estrógeno e progesterona, aliado a outros aspectos reprodutivos como a colpocitologia, poderiam elucidar a duração e distinção entre as fases do ciclo estral nessa espécie. O desenvolvimento de pesquisas no intuito de conhecer a ciclicidade desses animais, envolvendo as mudanças hormonais, anatômicas e morfológicas, que ocorrem durante as diferentes fases do ciclo estral, além da influência climática da região em que são criadas é de fundamental importância, para que se possa implantar qualquer biotécnica aplicada à reprodução em catetos.

1.2.4 PERFIL HORMONAL

De acordo com Hafez (2004), o ciclo estral nas diferentes espécies é regulado por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, principalmente os hormônios hipotalâmicos, as gonadotrofinas e os esteróides secretados pelos ovários. A regulação da secreção de gonadotrofina durante o ciclo estral requer um balanceamento entre

complexas interações hormonais. O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) desempenha importante função nesse balanceamento.

Os sinais de estro são induzidos pela elevada concentração de estradiol na circulação, proveniente do folículo dominante que secreta mais que 80% dessa substância e pelos níveis decrescentes de progesterona, nesse estágio. A ação do estradiol é potencializada pela pré-exposição à progesterona, com significativas implicações na indução do estro. Após o pico de LH, que ocorre síncrono ao começo do estro, ocorre a luteinização das camadas celulares da parede folicular e a ruptura do folículo ovulatório, culminando com ovulação e posterior formação do corpo lúteo, a partir do qual será produzido progesterona, em níveis crescentes, caracterizando o período de diestro (MORAES et al., 2008)

A progesterona é produzida pelo CL, placenta e córtex adrenal. A secreção é controlada pelo LH no animal não prenhe, possuindo a função de promover o crescimento de glândulas endometriais do tecido lóbulo-alveolar na glândula mamária, estimular a atividade secretora da tuba uterina, evitar a contração uterina durante a gestação e por fim, regular a secreção de gonadotrofinas, controlar o aparecimento do comportamento de estro em algumas espécies, em conjunto com os estrógenos, provocar a inibição do cio e do pico pré-ovulatório de LH, quando em níveis elevados, desempenhando papel fundamental na regulação hormonal do ciclo estral (BANKS, 1991; HAFEZ, 2004).

Rodrigues et al., (2007) dosaram a concentração plasmática de progesterona, duas a três vezes por semana, durante um ano, para verificar a ocorrência de ovulação com manifestação de estro, em borregas lanadas e deslanadas, sob condição subtropical.

Os estrógenos possuem como local de produção o ovário, unidade feto placentária e o córtex adrenal. Sendo representados pelo 17β-estradiol, estriol e estrona. Atuam diretamente no anabolismo protéico e epiteliotrófico, liberação de prostaglandina F 2α (PGF- 2α) tanto no útero gravídico ou não, crescimento dos ductos mamários e das glândulas endometriais, início da receptividade sexual e atuam no SNC induzindo o comportamento de cio (HAFEZ, 2004)

Mayor et al (2006b) estudaram as concentrações de 17β-estradiol e progesterona no soro de catetos no período pós-parto precoce, pelo método de radioimunoensaio quimioluminescente competitivo de enzima, e observaram que os níveis séricos do 17β-estradiol foram baixos do parto até o 5 º dia pós-parto, e um pico de estradiol foi registrado no dia 7 após o parto, observando-se nesse período sinais de estro. Os níveis

de progesterona foram de 1,0 ± 0,5 ng / mL, em média e aumentou linearmente até o dia 11 (30,8 ± 4,9 ng / mL) após o pico de estradiol.

Mayor et al (2007b) correlacionaram os níveis de estrógeno no soro com as modificações do epitélio vaginal e aparências vulvares de cateto, na região amazônica, indicando ser um método útil para identificar o período de estro e de aceitação do macho pela fêmea. Porém, os mesmos não identificaram todas as fases do ciclo estral, o que poderia ser auxiliado através de uma possível avaliação dos níveis séricos de progesterona.

Outra técnica que pode ser utilizada para titulação de estrógeno e progesterona é o teste ELISA (Enzyme – Linked Immunosorbent Assay), que foi desenvolvido como uma alternativa ao radioimunoensaio, para detecção de antígenos e anticorpos. Pelas características de elevada sensibilidade e especificidade, bem como rapidez, baixo custo, simplicidade, versatilidade, objetividade de leitura e possibilidade de adaptação a diferentes graus de automação, esse teste é empregado em um número grande de sistemas (FERREIRA; ÁVILA, 2001).

Ghosal et al. (2010) desenvolveram um teste ELISA para medir a concentração fecal de metabólitos da progesterona, 5-P-3OH (allopregnanolone), visando monitorar a ciclicidade estral de elefantes asiáticos (*Elephas maximus*), também dosaram a concentração de progesterona circulante no sangue e correlacionaram seus níveis com a concentração do metabólito nas fezes, obtendo correlação positiva. Esse método foi desenvolvido com êxito, se mostrando como uma técnica não invasiva para o estudo da ciclicidade reprodutiva desta espécie.

Com base no que foi exposto, acredita-se que a dosagem de estrógeno e progesterona, por meio de um teste ELISA, e sua correlação com outros parâmetros reprodutivos, poderia ser mais um método para auxiliar a detecção do estro e o melhor momento para o acasalamento ou aplicação de biotécnicas aplicadas a reprodução animal.

1.2.5 CITOLOGIA VAGINAL

A citologia vaginal é uma técnica que possibilita a observação da variação dos tipos celulares vaginais, coincidentes com a fase hormonal correspondente, sofrendo modificações ao longo do ciclo estral sob a influência dos hormônios esteróides estradiol (E2) e progesterona (P4) (MAYOR et al., 2007b).

A citologia esfoliativa da vagina, para determinar o estádio do ciclo estral, é uma das técnicas citológicas mais utilizadas na prática veterinária. É uma técnica fácil, que pode ser utilizada pelo clínico para otimizar o acasalamento dos animais (RASKIN; MEYER, 2003). Moxon et al. (2010) estudando a qualidade da citologia vaginal canina, concluiu que obtêm-se melhores resultados quando o mesmo técnico examina os esfregaços de animais individuais, fazendo a revisão de mais células por lâmina, calculando o resultado médio e utilizando pares combinados de esfregaços, como métodos para melhorar a confiabilidade na interpretação.

Quatro tipos de células do epitélio da vagina podem ser identificados mediante citologia esfoliativa. Pela ordem, da célula mais profunda e mais imatura até a mais superficial e madura, constatam-se as células basais, parabasais, intermediárias e superficiais (RASKIN; MEYER, 2003).

As células basais localizam-se ao longo da membrana basal e originam outros tipos de células epiteliais observadas no esfregaço vaginal, apresentam núcleos arredondados e quantidade escassa de citoplasma basofílico (THRALL; OLSON, 1999).

As células parabasais são as menores observadas no exame citológico, apresentam alta proporção núcleo:citoplasma, com núcleos arredondados, uniformes e citoplasma basofílico (OLSON et al., 1984).

As células intermediárias possuem tamanhos variáveis, a proporção núcleo: citoplasma é baixa, possui bordas arredondadas a irregulares, com abundante quantidade de citoplasma azul ou azul-esverdeado (THRALL; OLSON, 1999).

As células superficiais apresentam pequenos núcleos arredondados e picnóticos, com quantidade abundante de citoplasma azul-claro a azul-esverdeado e bordos celulares angulares ou dobrados (OLSON et al., 1984).

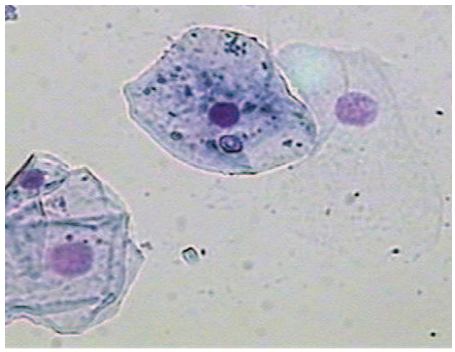

Figura 4. Citologia vaginal de cateto, mostrando células superficiais Diff-Quick® stain. Fonte: Mayor et al., (2007b) adaptado.

Em cadelas, a principal característica citológica de estro é a presença de 90% a mais de células superficiais, ao passo que as células parabasais e intermediárias caracterizam o anestro (OLSON et al., 1984). Além disso, England e Allen (1989) estudando o padrão de cristalização no fluido da vagina caudal em cadelas em estro observaram que o uso combinado da citologia vaginal e dos padrões de cristalização ajudam a distinguir o momento do pico de cornificação.

Em cabras, é possível diferenciar as fases do ciclo estral, através da citologia esfoliativa, porém, essa diferenciação não é tão segura como em cadelas. É uma técnica que pode ser mais uma alternativa utilizada para viabilizar o controle reprodutivo, o tempo ótimo para inseminação artificial, como também correlacionar com a ocorrência de possíveis distúrbios hormonais (RAPOSO et al., 1999).

Já na fêmea de catetos, é ainda limitado o uso da citologia vaginal. Mayor et al (2006b) estudando o primeiro estro pós-parto em catetos, determinaram que as proporções das diferentes células do epitélio vaginal mudaram, as células superficiais e intermediárias aumentaram entre os dias 6 e 9 pós-parto, correspondente ao pico de estradiol. Estes autores concluíram que a predominância de células vaginais superficiais e intermediárias pode ser tomada como o primeiro sinal de estro. No entanto, existe uma carência de informações acerca das modificações sofridas pelo epitélio vaginal durante todo o ciclo estral, bem como, não se sabe se o método de colpocitologia poderia ser utilizado para identificar o momento da ovulação dentro do estro e, possivelmente, ser adotado em programas de inseminação artificial.

1.2.6 ULTRASSONOGRAFIA

A ecografia ou ultrassonografia em modo B (brilho) é uma técnica que se baseia na emissão de impulsos sonoros de alta-frequência que após interagirem com tecidos ou órgãos são refletidos (ecos) para poderem ser processados num conjunto de pontos de brilho de diferentes intensidades formando uma imagem bidimensional ou sonograma. Esta imagem ecográfica representa um plano tomográfico da morfologia e anatomia dos tecidos ou órgãos explorados. Atualmente os transdutores emitem feixes sequenciais ou segmentares de ultrassons obtendo-se no mesmo instante a imagem correspondente aos seus ecos. Nestas condições denomina-se modo B em tempo real (CARTEE et al., 1993).

Os tecidos ou órgãos são constituídos por múltiplas interfaces acústicas. A capacidade de refletirem em maior ou menor grau os ultrassons denomina-se de ecogenicidade. Se no meio onde estes se propagam não houver reflexão, como ocorre com os fluidos, designa-se por anecogénico sendo os pontos apresentados a preto. Desse modo, os tecidos ou órgãos podem ser designados como hipoecogénicos - em que a intensidade dos ecos é menor que a dos tecidos adjacentes; hiperecogénicos - em que a intensidade dos ecos é maior que a dos tecidos adjacentes e isoecogénicos - em que a intensidade dos ecos é igual à dos tecidos adjacentes (SIMÕES, 2008)

A escolha apropriada do tipo de transdutor ou sonda é essencial para a execução dos exames. Além da sua freqüência, que para a generalidade dos exames de rotina do foro reprodutivo, as mais adequadas são entre 3,5 e 7,5 MHz, é necessário levar em consideração a conformação e modo de funcionamento dos vários tipos de transdutores que melhor se adaptem aos exames pretendidos (CARTEE, 1995). Os mesmos são classificados em linear, convexo, micro convexo e setorial (BARR, 1990). Os transdutores convexos e micro convexos são variações do linear, com a vantagem de necessitar de uma menor área de contato com a pele (NYLAND et al., 1995)

Dentre as técnicas de estudo a disposição da pesquisa em reprodução animal, a ultrassonografia em tempo real (USTR) tem se revelado uma técnica precisa, segura e de alta praticidade. É uma técnica de exame de estruturas onde a identificação fisiológica dos tecidos, assim como o diagnóstico de condições patológicas, é realizada de forma dinâmica através da reconstituição da anatomia seccional dos órgãos estudados (CRUZ; FREITAS, 2001). A utilização de ultrassonografia em reprodução animal veio fortalecer a explicação de diversas modificações que ocorrem durante o desenvolvimento do concepto nos mamíferos domésticos. A técnica oferece acurácia, rapidez, segurança e praticidade no diagnóstico de gestação e na determinação do número de fetos (SANTOS et al., 2004).

O exame ultrassônico em tempo real, associado a gravações em vídeo, tem sido uma ferramenta complementar para o estudo da dinâmica de estruturas reprodutivas e, particularmente, para estudos detalhados de eventos reprodutivos discretos que demandam acompanhamento seqüenciado, como é o caso da dinâmica folicular ovariana (CRUZ; FREITAS, 2001; PIERSON; GINTHER, 1986). Desse modo, a ultrassonografia em tempo real tem permitido, de forma não invasiva, o estudo da dinâmica folicular e do momento da ovulação (CRUZ; FREITAS, 2001).

No método transabdominal, o transdutor é posicionado cranialmente no flanco e próximo ao úbere, com o animal em estação (ISHWAR, 1995). Geralmente é necessário que seja realizada a tricotomia da região. O gel acústico deve ser sempre utilizado para uma boa transmissão dos ultrassons entre o transdutor e a pele, eventualmente, os animais podem ser submetidos a um prévio jejum de 12 a 24 horas de forma a evitar um excesso de alimento no trato gastrintestinal. A sonda deve ser orientada para a região pélvica, realizando-se em seguida a varredura tanto caudal e superior como cranial e inferior (GONZÁLES DEL BULNES et al., 1999)

Imagens do ovário pelo método transvaginal tem sido documentado em vacas e em cabras e sugerem que a realização de exames através desse método pode ser uma técnica efetiva para monitoramento dos eventos reprodutivos nessas espécies (PIETERSE et al., 1990; AYRES et al., 2000). O exame transretal proporciona imagens detalhadas das estruturas avaliadas, principalmente devido a proximidade entre o trato reprodutivo e a parede retal (PADILLA; HOLTZ, 2000).

O acompanhamento, de forma contínua, do fenômeno da dinâmica folicular através de imagens ultra-sônicas, possibilita a elucidação do padrão de crescimento dos folículos ovarianos. O corpo lúteo funcional pode ser detectado pela USTR, no terceiro dia após a ovulação, sendo inicialmente menos ecóico do que na fase de plena funcionalidade, onde se apresenta com estrutura ecóica, com limites demarcados, podendo apresentar uma cavidade central anecóica. O fenômeno da luteólise pode ser determinado no momento em que ocorrer a redução do seu diâmetro (CASTRO et al., 1999; CRUZ; FREITAS, 2001). Obtendo-se, desse modo, mais uma ferramenta valiosa para estudar a ciclicidade animal.

Em catetos, o uso da ultrassonografia é apenas descrito em machos, para a avaliação e mensuração dos órgãos da cavidade abdominal (PEIXOTO, 2009) e em fêmeas, para o acompanhamento da gestação (MAYOR et al., 2005). Assim, denota-se que existe ainda uma carência de informações quanto ao acompanhamento da dinâmica ovariana nas fêmeas de cateto por meio da ultrassonografia. Informação esta que seria de grande valia para uma melhor compreensão dos fenômenos reprodutivos nesta fêmea, proporcionando subsídio para a aplicação e aprimoramento de diferentes biotécnicas como a inseminação artificial e a tecnologia de embriões nas mesmas.

1.2.7 MÉTODOS DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO

A sincronização de estro é uma biotécnica reprodutiva que permite a concentração dos partos em épocas desejáveis para os distintos sistemas de produção. A falta de precisão na detecção do estro é um dos principais entraves que afetam a implementação de técnicas como a inseminação artificial e a transferência de embriões, por esta razão, muitos profissionais optam por manipular farmacologicamente o ciclo estral (GALINA; ORIHUELA, 2007). Por meio da utilização de hormônios ou associações hormonais, que induzem a luteólise ou prolonguem a vida do corpo lúteo de maneira que um grupo de fêmeas entre em estro durante um curto período de tempo (MORAES et al., 2008).

A quebra da estacionalidade reprodutiva pode ser obtida através do efeito macho, tratamentos farmacológicos, programação de luz ou combinação destes. Os agentes luteolíticos, prostaglandina e seus derivados, são utilizados para promover quebra do corpo lúteo e conseqüente diminuição da secreção de progesterona, levando ao aparecimento do estro. Os progestágenos são utilizados principalmente como esponjas vaginais de poliuretano, como o veículo responsável pelo "priming" de progesterona que precederia o tratamento hormonal de indução e/ou sincronização do estro (TRALDI et al., 2007).

O efeito macho consiste em deixar os reprodutores afastados das fêmeas por um período de 3-4 semanas, após este período de separação, os machos são introduzidos aos lotes de fêmeas. A resposta é desencadeada em 48 horas, quando as fêmeas começam a apresentar sintomas de estro (RIBEIRO et al., 1997). O mecanismo é desencadeado pela ação dos ferômonios que, pelo olfato, atingem o tálamo e o hipotálamo e determinam a liberação de LH pela adeno hipófise e por estímulo visual relacionado à presença física dos machos. É promovida a indução do pico de LH e formação de um corpo lúteo de atividade normal com o aparecimento do estro após a exposição aos machos (MORAES et al., 2008), entretanto, muitas vezes, este pico de LH é insuficiente para provocar ovulações ou formar corpos lúteos que apresentem pleno funcionamento (TRALDI et al., 2007).

Os agentes luteolíticos são utilizados nas fêmeas cíclicas a fim de provocar destruição do corpo lúteo. A diminuição da secreção de progesterona, consecutiva à luteólise é responsável por uma descarga gonadotrófica e aparecimento do estro e ovulação. O uso exclusivo de prostaglandinas para sincronização requer que os animais

estejam ciclando e apresentem corpo lúteo funcional, ficando na dependência do controle do dia do estro ou de duas aplicações seqüenciais (MORAES et al., 2001).

Para Traldi et al., (2007), estudando métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos, durante a estação reprodutiva, a sincronização dos estros pode ser efetuada com 5 a 10 mg de prostaglandina natural ou 50 a 100 μg de prostaglandina sintética, levando ao aparecimento de um novo estro cerca de 50 ± 1 hora após sua aplicação. Por esse método, poderão ser feitas duas aplicações, com intervalo de 11 dias, conforme recomendado desde 1986 por Greyling e Van niekerk. Vázquez et al., (2010) trabalhando também com caprinos, concluíram que a sincronização do estro e ovulação, pela administração de análogos da prostaglandina, com intervalos de 10 a 12 dias causa diferenças no desenvolvimento, dinâmica e funcionalidade do corpo lúteo em comparação ao estro e ovulação espontâneos.

Ben Salem et al., (2010) estudaram a presença e o número de corpos lúteos, nove dias após uma injeção de cloprostenol, por ultra-sonografia transretal em ovelhas Barbarine, o qual, a função do corpo lúteo foi determinada pela avaliação dos níveis plasmáticos de progesterona em amostras de sangue realizadas a cada 72h entre 3 e 19 dias após a injeção de cloprostenol, concluindo que a dinâmica folicular pré-ovulatória, a função da hipófise e resposta ovulatória são afetadas pela luteólise induzida, e que as deficiências observadas podem estar relacionadas com a fase da onda folicular.

O tratamento com progestágenos ou progesterona permite controlar o momento do aparecimento do estro e da ovulação por meio de um mecanismo de "bloqueio", feed back negativo sobre as gonadotrofinas, seguido por "desbloqueio", resposta hipofisária após o fim do tratamento (MORAES et al., 2008). Os progestágenos mais utilizados para sincronização são o acetato de fluorogestona (FGA) e o acetato de medroxiprogesterona (MAP) ambos utilizados incorporados a esponjas intravaginais. Há ainda, dispositivos intravaginais siliconizados que contém progesterona (CIDR-G) além de implantes de silicone impregnados com progestágeno sintético (FREITAS; RUBIANES, 2008). Trabalhos realizados por Ozyurtlu et al., (2010) mostraram que é possível induzir cio fértil, gestação e parto com sucesso, em tratamentos utilizando CIDR ou esponja intravaginal em combinação com PMSG em ovelhas Awassi fora da estação de monta.

Zanetti et al., (2009) estudando dois métodos para sincronização de estro em uma espécie de veado marrom (*Mazama gouazobira*), o primeiro, utilizando esponja intravaginal com 0,33 g de progesterona (CIDR), por oito dias, seguido da aplicação de

265µg de cloprostenol ($PGF_{2\alpha}$), via intramuscular, após a remoção da esponja e o segundo, utilizando duas injeções do mesmo análogo de $PGF_{2\alpha}$, com intervalo de 11 dias, concluindo que ambos os tratamentos foram capazes de sincronizar o estro nessa espécie, com formação de corpo lúteo funcional.

De acordo com Moraes et al. (2001), a estimulação ovariana nos tratamentos de indução e sincronização de estro vem sendo obtida pelo uso de gonadotrofina coriônica (eCG e hCG), hormônios peptídeos (GnRH) ou preparações com atividade gonadotrófica (gonadotrofina menopáusica humana, hMG), sendo a gonadotrofina coriônica equina (eCG) a substância padrão utilizada na maioria dos tratamentos, no entanto, a produção de anticorpos anti-eCG, após vários tratamentos no mesmo animal, pode afetar a fertilidade e promover estros tardios.

Arias-Alvarez et al. (2009) estudando a influência de fatores hormonais e não hormonais de sincronização do estro sobre a qualidade folicular e oócitos em coelhas (*Oryctolagus cuniculus*) primíparas lactantes no período pós-parto, utilizando como tratamento hormonal, 25 UI de eCG 48 horas antes da inseminação artificial, e como tratamento aleatório, a separação dos filhotes 24 horas antes da IA, concluiram que este último, pode ser um método alternativo não-hormonal para sincronização do estro nesses animais, visto a influência negativa do eCG em alguns parâmetros reprodutivos.

As questões limitantes ao uso de progestágenos podem favorecer o uso de prostaglandinas na aplicação das técnicas de reprodução assistida, mas protocolos baseados nesses hormônios ainda precisam ser melhorados (VÁZQUEZ et al., 2010). A partir de um melhor conhecimento da fisiologia ovariana da espécie em questão, em particular da dinâmica folicular, podem ser estudados novos esquemas hormonais para o controle do estro. Em catetos, ainda não foram desenvolvidos trabalhos no sentido de empregar o método de sincronização de estro, um passo importante para a aplicação de biotécnicas da reprodução, demonstrando ser mais uma área com carência de estudos nessa espécie.

1.2.8 OBJETIVOS

1.2.8.1 Geral

Estudar a fisiologia do ciclo estral de fêmeas de cateto mantidas em cativeiro no semiárido brasileiro utilizando diferentes métodos.

1.2.8.2 Específicos

Identificar a duração das diferentes fases do ciclo estral na fêmea de catetos;

Determinar as concentrações dos hormônios estrógeno e progesterona ao longo do ciclo estral das fêmeas de catetos;

Observar a dinâmica ovariana destas fêmeas através de avaliação ultrassonográfica e constatar se é possível detectar a ovulação por meio desta técnica;

Visualizar as modificações estruturais na mucosa vaginal e na vulva destas fêmeas ao longo do ciclo estral;

Descrever as mudanças nos grupos celulares observadas através do estudo da citologia vaginal de acordo com cada fase do ciclo estral;

Estabelecer um protocolo de sincronização de estro utilizando-se um análogo da prostaglandina nesta espécie.

1.2.9 REFERÊNCIAS

ARIAS-ALVAREZ, M.; GARCIA-GARCIA, R.M; TORRES-ROVIRA, L. GONZALEZ-BULNES, A; REBOLLAR, P.G.; LORENZO, P.L. **Influence of hormonal and nonhormonal estrus synchronization methods on follicular and oocyte quality in primiparous lactating does at early postpartum period.** Theriogenology xxx xxx-xxx, 2009. Article in press

AYRES, S. L.; NIMS, S.; PORTER, C.; CAMMUSO,C.; GAVIN, W. **Evaluation of follicular development and early pregnancy in goats using transvaginal ultrasound**. In: 7th International Conference on Goats. Tours, p.481, 2000.

BANKS, W.J.; **Histologia veterinária Aplicada**. São Paulo: Manole, 1991.

BARR, F. Principles of diagnostic ultrasound. In: **Diagnostic ultrasound in the dog and cat**. London: Blackwell Scientific Publications, p. 1-20, 1990.

BEN SALEM, I.; REKIK, M.; GONZALEZ-BULNES, A.; LASSOUED, N.; KRAÏEM, K. **Differences in preovulatory follicle dynamics and timing of preovulatory LH surge affect fertility of maiden sheep reared in semi-arid extensive conditions.** Animal Reproduction Science 117, 60–66, 2010.

BODMER, R.E., AQUINO, R., PUERTAS, P., REYES, C., FANG, T., GOTTDENKER, N. **Manejo y Uso Sustentable de Pecar´ıesen la Amazon´ıa Peruana. Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission**. No. 18. IUCN-Sur, Quito, Equador. 1997.

BORTOLOZZO, F.P; BERNARDI, M.L.; BENNEMANN, P.E.; WENTZ, I. Inseminação Artificial em Suinos. In: GONÇALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 2ª ed. – São Paulo: Roca, 2008.

CARTEE, R.E. **The physics of ultrasound**. In Practical Veterinary ultrasound. Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 1-8, 1995.

CARTEE, R.E.; HUDSON, J.A.; FIN-BORNER, S. **Ultrasonography. Veterinary Clinics of North America.** SmalL Animal Practice, 23, 345-377, 1993.

CARTER D.C.P.; ANDERSSON, S.; JONES, J.K. **Orders and families of recent mammals.** Wiley, New York: 549-562, 2005.

CASTRO, T.; RUBINAES, E.; MENCHACA, A.; RIVERO, A. **Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterona concentrations during the ovulatory interval in goats**. Theriogenology, v. 52, p. 399-411,1999.

COSTA, D.S.; HENRY, M; PAULA, T.A.R.. **Espermatogênese de catetos (*Tayassu taj*acu)**. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. vol.56, n.1, pp. 46-51, 2004. ISSN 0102-0935.

CRUZ, J. F.; FREITAS, V.J.F. **A ultra-sonografia em tempo real na reprodução de caprinos**. Ciência Animal, 11(1):53-61, 2001

CRUZ, M.P.; WARKEN; L.J.; SOUZA,D.C.; TEIXEIRA,V.L.B.; NASCIMENTO JUNIOR, A.F. **Estudo do cateto (*Tayassu tajacu*) e queixada (*Tayassu pecari*) no Parque Municipal das Araucárias (Guarapuava- Paraná) : Regime semicativeiro** - Universidade Paranaense-UNIPAR, 2009.

ENGLAND, G.C.W.; ALLEN, W.E. **Crystallization patterns in anterior vaginal fluid from bitches in oestrus.** J. Reprod. Fert. 86, 335-339, 1989.

FERREIRA, A.W; ÁVILA, S.L.M. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes.** 2ª Ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

FREITAS, VJF. RUBIANES, E. Detecção e Controle do Estro e da Ovulação. In: AISEN, EG. **Reprodução Ovina e Caprina**. 1ª. ed. – São Paulo: MedVet, 2008.

GALINA,C.S.; ORIHUELA, A. **The detection of estrus in cattle raised under tropical conditions: What we know and what we need to know.** Hormones and Behavior 52, 32 –38, 2007.

GARCIA, A.R; KAHWAGE, P.R; OHASHI, O.M. **Aspectos reprodutivos de caititus (*Tayassu tajacu*).** Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.33, n.2, p.71-81, abr./jun, 2009.

GHOSAL, R; SUKUMAR, R; SESHAGIRIB, P.B. **Prediction of estrus cyclicity in Asian elephants (Elephas maximus) through estimation of fecal progesterone metabolite: development of an enzyme-linked immuno-sorbent assay**. Theriogenology 73, 1051–1060, 2010.

GOBELLO, C.; CORRADA, Y. **Biotechnology in canine reproduction: an update**. Analecta Veterinaria, v.23, n.1, p.30-37, 2003.

GONZÁLES DEL BULNES, G. A.; MORENO, S. J.; LÓPEZ S. A. **Exploración del apararato genital femenino.** Bovis, 61, 21-33, 1999.

GRANADOS, L.B.C.; DIAS, A.J.B; SALES, M.P. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos.** 1º ed. Campos dos Goytacazes- RJ: Projeto PROEX/UENF, 2006.

GREYLING JPC, VAN NIEKERK CH. **Synchronization of oestrus in the Boer goat doe: dose effect of prostaglandin in the double injection regime**. S Afr J Anim Sci, v.16, p.146-150, 1986.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H.; VALE, W.G.; BIRGEL JÚNIOR, E.H. **Patologia e Clínica da Reprodução dos Animais Mamíferos Domésticos – Ginecologia.** – São Paulo: Livraria Varela, 2005.

GUIMARÃES, M.A.B.V; Reprodução de Animais Silvestres. In: GONÇALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 2ª ed. – São Paulo: Roca, 2008.

HAFEZ, E.S.E; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ª ed. – Barueri-SP: Manole, 2004.

ISHWAR, A. K. **Pregnancy diagnosis in sheep and goats: a review.** Small Rum. Res. v. 17, p. 37-44, 1995.

JORI, F.; LÓPEZ-BÉJAR, M.; HOUBEN, P. **The biology and use of the African brush-tailed porcupine (*Atherurus africanus*, Gray, 1842) as a food animal**. A review. Biodivers. Conserv. **7**, 1417–1426, 1998.

JUDAS, J. **Écologie du Pécari à collier Tayassu tajacu en forêt tropicale humide de Guyane française** (pp. 115-130). Tese (Doutorado em Sciences de la Nature et de la Vie). Université François Rabelais Tours, 1999.

KNOX, R.V. **Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig**. Domest Anim Endocrinol, 29:385-397, 2005.

KILTIE, R.A. **Bite force as a basis of niche differentiation between rain forest peccaries (*Tayassu tajacu* and *T. pecari*).** Biotrópica 14: 188-195, 1982.

MADEJ, A.; BRANDT, Y.; EINARSSON, S. **Endocrine dynamics associated with follicle development in pigs: a review.** Anim. Reprod., v.6, n.1, p.135-143, Jan./Mar, 2009.

MAYOR, P; BODMER, R.E; SCHETTINI, L; MARINO, G.O; LOPEZ-BEJAR, M. **Anatomicohistological Characteristics of the Female Genital Organs of the White-lipped Peccary (Tayassu pecari) in the Peruvian Amazon.** Anat. Histol. Embryol. 38, 467–474, 2009.

MAYOR P, FENECH M, BODMER RE, LOPEZ-BEJAR M. **Ovarian features of the wild collared peccary (Tayassu tajacu) from the northeastern Peruvian Amazon.** Gen Comp Endocrinol, v.147, p.268-275, 2006a.

MAYOR, P.; GALVEZ, H.; GUIMARÃES, D.A; LÓPEZ-GATIUS, F.; LÓPEZ-BÉJAR, M. **Serum estradiol-17beta, vaginal cytology and vulval appearance as predictors of estrus cyclicity in the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the eastern Amazon region.** Anim Reprod Sci, in press. 2007b.

MAYOR, P.; GUIMARÃES, D.A; LE PENDU, Y; SILVA, J.V; JORI, F.; LOPEZ-BEJAR, M. **Reproductive performance of captive collared peccaries (Tayassu tajacu) in the eastern Amazon.** Anim Reprod Sci. 102(1-2):88-97 Nov, 2007a.

MAYOR, P; GUIMARÃES, D.A; LOPEZ-GATIUS, F; LOPEZ-BEJAR, M. **First postpartum estrus and pregnancy in the female collared peccary (Tayassu tajacu) from the amazon**. Theriogenology 66, 2006b

MAYOR, P.; JORI, F.; LÓPEZ-BÉJAR, M. **Anatomicohistological characteristics of the tubular genital organs of the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from North-eastern Amazon**. Anat Histol Embryol. **33**, p. 65–74, 2004.

MAYOR, P; LOPEZ-GATIUS, F; LOPEZ-BEJAR, M. **Integrating ultrasonography within the reproductive management of the collared peccary (Tayassu tajacu).** Theriogenology 63, 1832–1843, 2005.

McDONALD, L. E. **Veterinary endocrinology and reproduction.** 5th. Ed., PINEDA, M.H & DOOLEY, M.P. Iwoa-USA, 2003.

MORAES, J.C.F; SOUZA, C.J.H; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONÇALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal** – São Paulo: Livraria Varela, 2001.

MORAES, J.C.F; SOUZA, C.J.H; GONÇALVES, P.B.D.; FREITAS, V.J.F; LOPES JÚNIOR, E.S. Controle do estro e da ovulação em ruminantes. In: GONÇALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 2ª ed. – São Paulo: Roca, 2008.

MOXON, R.; COPLEY, D.; ENGLAND, G.C.W. **Quality assurance of canine vaginal cytology: A preliminary study.** Theriogenology 74, 479–485, 2010.

NYLAND, T.G; MATTOON, J.S; WISNER, E.R. Physical principles, instrumentation and safety of diagnostic ultrasound. In: NYLAND, T.G; MATTOON, J.S. **Veterinary diagnostic ultrasound**. Philadelphia: W.B Saunders, p. 3-18, 1995.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G. **Criação de catetos e queixadas**. Viçosa: Ed. Centro de Produções Técnicas. 56p, 1999.

NOGUEIRA FILHO, S., NOGUEIRA, S., MENDES, A., JORI, F. **A large scale commercial farming of collared peccary (*Tayassu tajacu*) in North Eastern Brazil.** Game Wildl. Sci. 21, 413–420, 2004.

NOWAK, D. M.; PARADISO, J. L. **Walker.s Mammals of the Word**. 2ed. Baltimore: The Hopkins University Press, 1184-1185, 1983.

OJASTI, J. **Utilización de la fauna silvestre en America Latina.** Guia FAO Conservation, 1993.

OLSON, P.N; THRALL, M.A; WYKES, P.M. **Vaginal Citology: Part I – A useful toll for staging the canine estrous cycle.** Compend. Contin. Educ. Pract. 6: 288-297, 1984.

OSTERSEN, T.; CORNOU, C.; KRISTENSEN, A.R. **Detecting oestrus by monitoring sows' visits to a boar.** Computers and Electronics in Agriculture 74, 51–58, 2010.

OZYURTLU, N; KUCUKASLAN, I; CETIN, Y. **Characterization of Oestrous Induction Response, Oestrous Duration, Fecundity and Fertility in Awassi Ewes During the Non-breeding Season Utilizing both CIDR and Intravaginal Sponge Treatments.** Reprod Dom Anim 45, 464–467, 2010.

PADILLA, G.; HOLTZ W. **Follicular dynamics in cycling Boer goats.** In: 7th International Conference on Goats.Tours, p.479, 2000.

PEIXOTO, G.C.X. **Avaliação da cavidade abdominal de catetos (*Tayassu* tajacu, Linnaeus, 1758) por ultrassonografia.** Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-árido – UFERSA. Departamento de Ciências Animais para a obtenção do título de Médica Veterinária, 2009.

PIERSON, R. A; GINTHER, O. J. **Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers.** Theriogenology, v. 26, p. 649, 1986.

PIETERSE, M. C.; TAVERNE,M.A.M.; KRUIP, Th.A.M.; WILLEMSE, A. H. **Detection of corpora lutea and follicles in cows. A comparasion of transvaginal ultrasonography and rectal palpation.** Vet. Rec. v. 126, p. 552, 1990.

QUESNEL, H.; PRUNIER, A. **Endocrine bases of lactational anoestrus in the sow**. Reprod. Nutr. Dev. 35:395-414, 1995.

RAPOSO, R.S; SILVA, L.D.M; LÔBO, R.N.B; FREITAS, V.J.F; DIAS, F.E.F. **Perfil citológico vaginal de cabras cíclicas da raça Saanen.** Ciência Animal 9(2):75-79, 1999.

RASKIN, R.E; MEYER, D.J. **Atlas de Citologia em Cães e Gatos.** – São Paulo: Roca, 2003.

RIBEIRO, S.D.A. **Caprinocultura: Criação Racional de Caprinos**. – São Paulo: Nobel, 1997.

RODRIGUES, P.A; COELHO, L.A; NONAKA, K.O; SASA, A; VICENTE, W.R.R; BALIEIRO, J.C.C; SIQUEIRA, E.R; **Annual characteristics of estrous activity in wool and hair ewe lambs under subtropical conditions.** Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.), v.64, n.5, p.468-475, September/October, 2007.

SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M. A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de Gestação na Ovelha e na Cabra. –** São Paulo: Livraria Varela,157p, 2004.

SANTOS, Tatiana Carlesso. **Morfologia dos ovários, tubas uterinas e útero em catetos (*Tayassu tajacu*, Linnaeus, 1758) e queixadas (*Tayassu pecari*, Link, 1795)**. vol.37. n.3. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., p.00-00, 2000. ISSN 1413-9596.

SILVA, J.V., CARDOSO, D., GUIMARÃES, D.A., ALBUQUERQUE, N., LE PENDU, Y., OHASHI, O. **Biologia reprodutiva de fêmeas de caititu (*Tayassu tajacu*) criadas em cativerio na Amazônia.** Rev. Bras. Reprod. Anim. Suppl. 5, 180–182, 2002.

SIMÕES, J. **Os princípios físicos, a imagem e os artefatos na ecografia em modo B.** Sebenta electrónica, 2008.

SOWLS, L. K. **The Peccaries**. The University of Arizona, Tucson, Arizona. 251 p, 1984.

SOWLS, L. K. **Javelinas and other peccaries: their biology, management and use.** Texas A&M University, College Station, Texas. 324 p, 1997.

THRALL, M.A; OLSON, P.N. **The Vagina.** In: Diagnostic Citology and Hematology of the Dog and Cat. St. Louis, MO: Ed. Mosby Inc, p 240-248, 1999.

TRALDI, AS. LOUREIRO, MFP. CAPEZZUTO, A. MAZORRA, AL. **Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos**. Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.254-260, abr./jun, 2007.

VÁZQUEZ, MI. BLANCH, MS. ALANIS, GA. CHAVES, MA. Gonzalez-Bulnes, A**. Effects of treatment with a prostaglandin analogue on developmental dynamics and functionality of induced corpora lutea in goats.** Animal Reproduction Science 118, 42–47, 2010.

VENTURIERI, B; LE PENDU, Y. **Padrões de atividades de caititus *(Tayassu tajacu)* em cativeiro.** Rev. etol. v.8 n.1 São Paulo jun, 2006.

ZANNETI, E.S; POLEGATO, B.F; DUARTE, J.M.B. **Comparison of two methods of synchronization of estrus in brown Brocket deer (*Mazama gouazoubira*).** Animal Reproduction Science xxx xxx–xxx, 2009. Article in press

2. CAPITULO 2. MUDANÇAS NO PERFIL HORMONAL, CITOLOGIA VAGINAL E PADRÃO ULTRA-SONOGRÁFICO OVARIANO DURANTE O CICLO ESTRAL DE FÊMEAS DE CATETOS (TAYASSU TAJACU) EM CATIVEIRO

2.1 RESUMO

O objetivo do presente estudo foi descrever e correlacionar as alterações no perfil hormonal, citologia vaginal e padrão ultra-sonográfico dos ovários durante o ciclo estral de quatro fêmeas de catetos criadas em cativeiro no semi-árido brasileiro. A presença de muco vaginal, a mucosa vaginal avermelhada e a abertura vaginal (separação do lábio vulvar) foi verificada em todos os animais durante o pico estrogênico. As fêmeas apresentaram 1,5 ciclo estral em 45 dias de avaliação. O ciclo estral foi de 21 ± 5,7 dias, sendo seis dias para a fase estrogênica e 15 dias para a fase de progesterona, em média. No entanto, ciclos tão longos quanto 27 dias, e outros menores do que 15 dias também foram identificados. O estrógeno apresentou um valor de pico de 55,57 ± 20,47 pg / mL. Durante a fase lútea, os valores de pico de progesterona foram de 35,3 ± 4,4 ng / mL. Nenhuma relação entre o perfil hormonal e citologia vaginal foram identificados em qualquer momento do ciclo (P> 0,05), e nenhuma diferença significativa entre as proporções de células vaginais foram identificados ao comparar as fases folicular e lútea do ciclo estral. Através da ultra-sonografia, uma taxa de detecção de ovário de 100% foi alcançada, e os ovários se mostraram como estruturas bem definidas, de forma oval e levemente hipoecóico em relação ao tecido circundante. O diâmetro dos folículos ovarianos foi de 0,23 ± 0,1 cm no momento do pico de estrógeno. Corpos lúteos se apresentam como estruturas hiperecóicas medindo 0,36 ± 0,2 cm, identificados durante a fase lútea. Uma vez que não existem relações significativas entre o perfil hormonal e citologia vaginal, sugere-se que o primeiro método é mais apropriado para o monitoramento do estro na espécie. Além disso, padrões ultra-sonográfico do ovário e suas estruturas foram pela primeira vez demonstrados durante o ciclo estral em catetos

Palavras chaves: cateto, perfil hormonal, citologia vaginal, ultrassonografia ovariana.

2.2 INTRODUÇÃO

O cateto (*Tayassu tajacu*) é um pequeno artiodáctilo que pertence a uma família separada dos Suiformes, a Dicotylidae (GARCIA et al., 2009). Apesar da ampla distribuição dos Estados Unidos à Argentina, os catetos (*Tayassu tajacu*) são constantemente expostos a ameaças do desmatamento e da caça predatória (BODMER; SOWLS, 1993). Como conseqüência, esses animais foram recentemente classificados como vulneráveis à extinção no Brasil, e são especialmente considerados criticamente ameaçados nos biomas Caatinga e Mata Atlântica (ICMBIO, 2011). O conhecimento da biologia reprodutiva é de suma importância para otimizar a aplicação de biotécnicas reprodutivas na conservação de catetos em cativeiro (CASTELO et al., 2010). No entanto, informações sobre seus aspectos reprodutivos são escassas e práticas adequadas de manejo ainda não foram desenvolvidos para esta espécie (MAYOR et al., 2007a).

O monitoramento de rotina do sistema endócrino é visto como uma valiosa ferramenta para a tomada de decisões sobre o manejo reprodutivo de animais silvestres (BROWN, 2000). Na Floresta Amazônica, o uso de dosagem hormonal para monitorar o início do primeiro estro pós-parto foi relatado e a ocorrência de um pico de 17 β-estradiol em 7 dias após o parto foi identificado em catetos em cativeiro (MAYOR et al., 2006a). Outro estudo sugeriu que a dosagem de 17 β-estradiol apresentou concordância no diagnóstico de estro com citologia vaginal e aparência vulvar desses animais (MAYOR et al., 2007b), porém esta afirmação se baseia apenas na avaliação subjetiva do esfregaço vaginal, e não foi confirmada pela análise estatística. Além disso, há uma escassez de informações relacionadas com as flutuações de progesterona durante o ciclo estral na espécie.

O desenvolvimento de métodos confiáveis para a visualização do trato reprodutivo e monitoramento do ciclo reprodutivo de espécies silvestres é necessário para otimizar seu manejo reprodutivo em cativeiro (HILDEBRANDT et al., 2000). Nos últimos anos, o ultrassom em tempo real apareceu como uma importante ferramenta para o estudo da dinâmica ovariana durante o ciclo estral em muitos mamíferos domésticos, tais como porcas (SCHWARZ; WIERZCHOS, 2010) e cabras (SOUSA et al., 2011). Além disso, essa técnica de imagem foi adaptada para uso em animais silvestres, como o elefante (HERMES et al., 2000). Nos catetos, há apenas um estudo que relata o uso de ultrassonografia para diagnóstico de gestação (MAYOR et al.,

2005), mas não há imagens das estruturas do ovário durante o ciclo estral disponíveis para esta espécie.

O objetivo do presente estudo foi descrever e correlacionar alterações no perfil hormonal, citologia vaginal e padrão ultrassonográfico dos ovários durante o ciclo estral de fêmeas de catetos criados em cativeiro no semi-árido brasileiro.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Animais

Seis fêmeas de cateto sexualmente maduras com idade e peso (média ± DP) de 16 ± 0,4 meses e 20,6 ± 1,1 kg, respectivamente, foram utilizadas. Os animais pertencem ao Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, localizado no nordeste do Brasil (Mossoró, RN, Brasil, 5 ° 10 = S, 37 ° = 10 W). O clima é típico do semi-árido, com temperatura anual variando de 21 a 36 ° C e uma variação diária de temperatura 7 - 14 º C, com umidade relativa média de 68%. Os animais foram isolados dos outros 3 meses antes do início do estudo, sob fotoperíodo natural de 12 h. Eles foram mantidos em piquetes (20 m x 3 m) com uma área coberta (3 x 3 m), sendo alimentos com ração para suínos e frutas (com água "ad libitum"). A comissão de ética da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, em Mossoró, Brasil aprovou os protocolos experimentais e procedimentos adotados para os animais (Processo Ufersa nº 23091.000250/2011-34).

2.3.2 Contenção

Os animais foram mantidos em jejum de 12 horas antes do primeiro dia do experimento. Nesta ocasião, foram contidos fisicamente com auxílio de um puçá e anestesiados com administração intravenosa de propofol (Propovan ®, Cristália, Fortaleza, Brasil), em "bolus" (5 mg / kg) (SOUZA et al., 2009). Quando o animal mostrava sinais de despertar doses adicionais de propofol (cerca de 1,25 mg / kg) eram aplicadas para prolongar a anestesia. Durante o procedimento, um cateter venoso foi inserido na veia cefálica para fluidoterapia (0,9% de solução fisiológica), e os sinais

vitais foram monitorados. Este procedimento foi conduzido a fim de realizar a tricotomia abdominal dos animais, para facilitar a ultra-sonografia ovariana.

Após este procedimento inicial, os animais foram contidos manualmente apenas pelo uso de um puçá, a cada três dias. Os procedimentos foram sempre iniciados as 05:00 e finalizados às 08h00, de junho a agosto de 2010. Nestas ocasiões, coletas de amostras de sangue, esfregaços vaginais e ultrassonografias ovarianas foram realizadas. Além disso, alterações na genitália externa foram avaliadas como descrito por Mayor et al. (2007b).

2.3.3 Ensaio hormonal

Para medir as concentrações séricas de 17β-estradiol e progesterona, as amostras de sangue foram obtidas sem sedação a cada três dias. O sangue foi coletado em tubos siliconizados por venopunção cefálica ou safena e centrifugado a 2000 G por 15 min dentro de 2 h da coleta. O soro foi separado e armazenado a -18 ° C até a dosagem hormonal.

A dosagem de estradiol foi realizada através da utilização de um kit comercial (Max-Planck-Ring 21-D 65205, Human GmbH, Wiesbaden, Alemanha), com 12 tiras de microtitulação (MIC), com 8 furos cobertos com anticorpo anti-estradiol (coelho). O procedimento foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante do kit, pela medição da absorbância a 450 nm, utilizando como referência de comprimento de onda 630-690 nm. Uma curva padrão foi utilizada para interpretar a concentração de estradiol nas amostras provenientes de absorbância média das duplicatas. As reações cruzadas foram identificadas com estrona e estriol - 0,2%; cortisol, testosterona e progesterona - 0,01%. A sensibilidade analítica foi determinada para cerca de 3-6 pg / mL de estradiol.

A dosagem de progesterona foi realizada utilizando Kit Max Planck Ring 21-D 65205 (Human GmbH, Wiesbaden, Alemanha), com 12 tiras de microtitulação (MIC), com 8 furos cobertos com anticorpo anti-progesterona (coelho). A absorbância foi cuidadosamente mensurada em 450 nm até 30 minutos após o término da reação, usando um comprimento de onda 630-690 nm como referência. As reações cruzadas foram a razão de 3,5% para 17a-OH-progesterona, corticosterona, 11-11-desoxicorticosterona, desoxicortisol e pregnenolona e <0,1% para 17 β-estradiol, testosterona, estriol, DHEA-S, cortisol e cortisona. A sensibilidade analítica foi determinada para cerca de 0,03-0,07 ng / ml de progesterona.

2.3.4 Citologia vaginal

Esfregaços vaginais foram obtidos através da introdução do *swab* na porção caudal da vagina. Depois de esfregar o *swab* contra a parede vaginal, as células foram transferidas para uma lâmina de vidro, cuidadosamente, rolando o *swab*. Finalmente, o esfregaço foi secado ao ar e corado com Panótico Rápido (Instant-Pv ®, Newprov, Pinhais, PR, Brasil). Como descrito para outros animais domésticos (SCHUTTE, 1967), duas centenas de células foram contadas em microscópio optico (x 100), e os resultados foram contados e registrados, determinando-se as proporções de células parabasais, intermediárias e superficiais nucleadas e anucleadas. A aparência e as proporções relativas destes tipos de células foram correlacionados com os níveis hormonais de cada animal. Este procedimento foi realizado para identificar se a predominância de um determinado tipo celular permite a diferenciação entre as fases folicular e lútea.

2.3.5 Ultrassonografia ovariana

A dinâmica ovariana durante o ciclo estral foi monitorada por ultra-sonografia utilizando-se um transdutor microconvexo em modo-B com freqüência de 5-7,5 MHz, em tempo real, acoplado a um aparelho portátil (Aquila veterinário, Pie Medical ®, Nutricell, Campinas, Brasil). Os animais foram posicionados em decúbito dorsal. Cinco mililitros de gel de transmissão do ultra-som foram aplicados na parede abdominal. Imagens transversais e sagitais do abdome foram obtidas a partir da pélvis até o diafragma. A bexiga foi identificada primeiramente para servir como referência para os outros órgãos. O abdômen foi totalmente avaliado, e os rins foram localizados. Caudalmente aos rins, ambos os ovários foram identificados e avaliados com relação a morfometria, ecogenicidade, e ecotextura. As imagens foram armazenadas para posterior análise.

2.3.6 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas com Statview 5.0 (SAS Institute Inc., Cary, EUA). Os dados foram expressos como média e desvio padrão (SD). A existência de correlações entre o perfil de estrógeno e progesterona, e também entre diferentes tipos de células vaginais foi avaliada pelo teste de correlação de “Spearman”. Um

modelo de regressão linear simples foi utilizado para identificar as associações entre o perfil hormonal (variáveis independentes) e citologia vaginal (variável dependente). Para avaliar o efeito da fase de estro (fase folicular ou lútea) sobre a proporção de células epiteliais vaginais, os dados foram submetidos a ANOVA, utilizando o procedimento General Linear Model (GLM). Dados para a morfometria ovariana foram analisados através do teste t de "Student". Para todas as análises, $P < 0,05$ foi considerado significativo.

2.4 RESULTADOS

Das seis fêmeas de cateto utilizadas neste estudo, somente os dados de quatro fêmeas puderam ser relatados e utilizados para análise estatística. As outras duas machucaram-se durante a contenção física repetitiva e foram excluídas na metade do experimento.

A presença de muco vaginal, mucosa vaginal avermelhada e da abertura vaginal (separação do lábio vulvar) foi verificada em dois animais, três dias antes do pico de estrogênio, e permaneceu por três dias após esse pico. Para os outros dois animais, essas características foram verificadas apenas no dia do pico estrogênico.

2.4.1 Ensaio hormonal

As quatro fêmeas de cateto incluídas neste estudo apresentaram 1,5 ciclos estrais em 45 dias de avaliação. O ciclo estral foi de 21 ± 5,7 dias, sendo seis dias para a fase estrogênica e 15 dias para a fase de progesterona, em média. No entanto, ciclos tão longos quanto 27 dias, e outros tão curtos quanto 15 dias também foram identificados. A Tabela 1 resume a ocorrência de ciclos estrais nestes animais e também apresenta o número e os valores de picos estrogênicos. Durante a fase lútea, os valores de pico de progesterona foram de 35,3 ± 4,4 ng / ml, variando de 25,4-40 ng / mL.

Tabela 1. Ordem do pico de estradiol, duração do ciclo estral e valores de 17β estradiol durante o pico em fêmeas de cateto (n=4) criadas em cativeiro sob clima semi-árido

Animal	Ordem do pico de estradiol	Duração do ciclo estral (dias)	Concentração de estradiol no pico (pg/mL)
1	1	27	65,75
	2		45,34
2	1	15	75,24
	2	24	61,67
	3		50,10
3	1	27	97,70
	2		52,99
4	1	15	42,32
	2	18	38,31
	3		26,34
Média ± DP		21± 5,69	55,57 ± 20,47

Não foram verificadas correlações significativas entre os valores de 17β-estradiol e progesterona durante o ciclo (P> 0,05). A Figura 5 apresenta o perfil dos hormônios reprodutivos durante o ciclo estral de cateto.

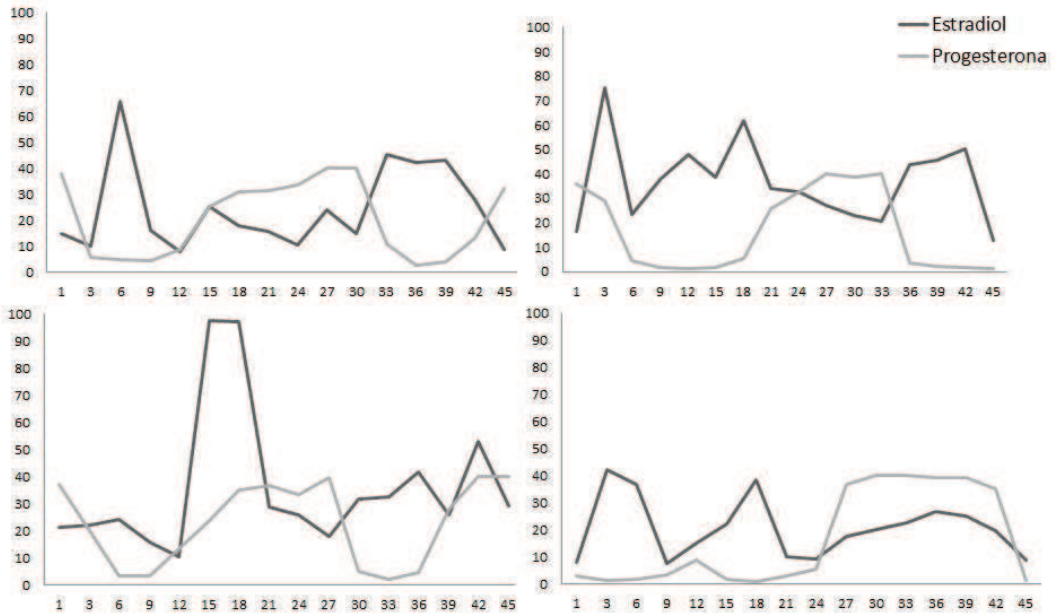

Figura 5. Níveis séricos de estradiol (pg / ml) e progesterona (ng / ml) nos perfis cíclicos de fêmeas de cateto (*Tayassu tajacu*) avaliadas por 45 dias. Cada gráfico representa uma das fêmeas (n = 4).

2.4.2 Citologia vaginal

A presença de células parabasais, intermediárias e superficiais foi identificada em todos os esfregaços vaginais, mas as células basais não foram verificadas em qualquer momento. Também a presença de hemácias e leucócitos, principalmente neutrófilos, foi verificada em alguns esfregaços próximo ao pico de estrógeno. Nenhuma relação entre o perfil hormonal e citologia vaginal foi identificada em qualquer momento do ciclo (P> 0,05). Uma leve predominância de células parabasais seguido por células superficiais anucleadas foi detectada durante todo o ciclo em todos os indivíduos (Figura 6).

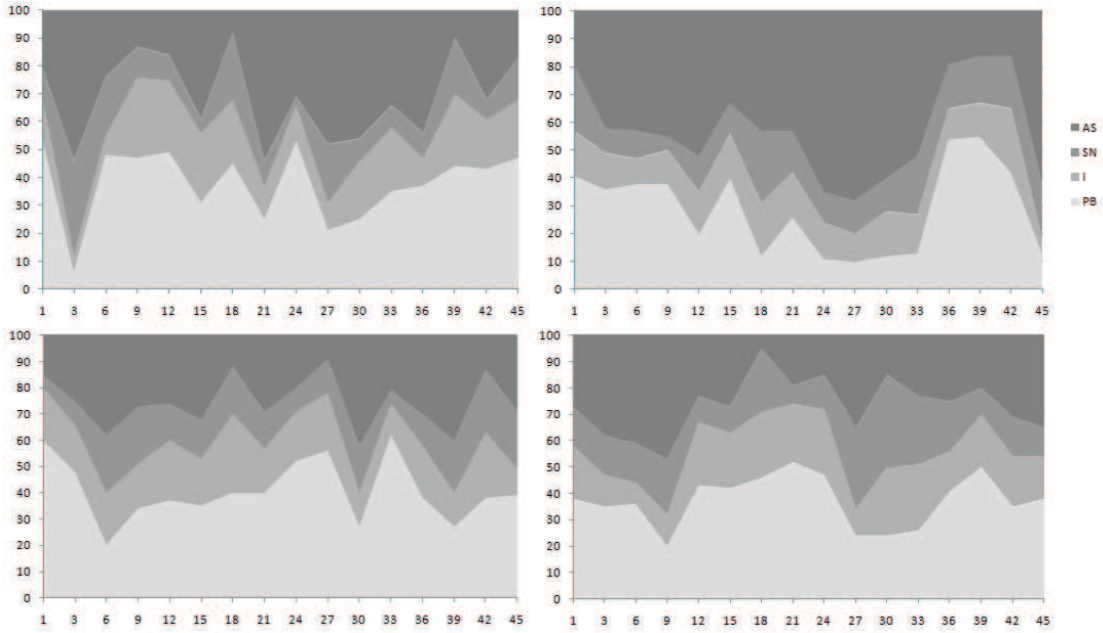

Figura 6. Proporção de células epiteliais vaginais classificadas como parabasais (PB), intermediárias (I), superficiais nucleadas (SN) e superficiais anucleadas (AS) de fêmeas de cateto (*Tayassu tajacu*) cíclicas avaliadas por 45 dias. Cada gráfico representa uma fêmea (n = 4).

Após o agrupamento dos dados de todos os animais, não foi identificada diferença significativa entre as proporções de células vaginais ao comparar as fases folicular e lútea do ciclo estral (Figura 7). Correlação negativa significativa (R = 78,4%) foi verificada entre as células parabasais e superficiais de três animais durante o ciclo estral (P <0,05).

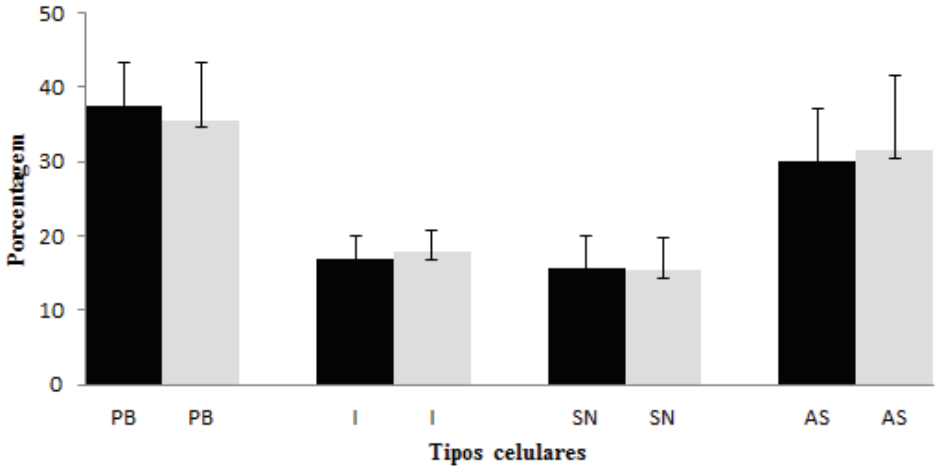

Figura 7. Valores percentuais de células epiteliais vaginais classificadas como parabasais (PB), intermediárias (I), superficiais nucleadas (SN) e superficiais anucleadas (AS) de fêmeas de cateto (*Tayassu tajacu* - n = 4) durante as fases folicular (preto) e luteal (cinza) do ciclo estral (P> 0,05).

2.4.3 Ultrassonografia ovariana

Por ocasião do exame ultra-sonográfico, todos os ovários se mostraram como estruturas bem definidas, de formato oval e levemente hipoecóicos em relação aos tecidos adjacentes (Figura 8). Os mesmos revelaram ecotextura heterogênea quando os folículos e / ou corpos lúteos estavam presentes no parênquima. A morfometria dos ovários detectados por ultra-som está resumida na tabela 2. Os ovários direito e esquerdo são estruturas simétricas (P> 0,05). O comprimento do ovário direito foi significativamente maior na fase lútea, quando comparado à fase folicular (P <0,05).

Tabela 2. Morfometria ovariana detectada por avaliação ultrassonográfica de fêmeas de cateto (n=4) durante diferentes fases do ciclo estral.

	Ovário direito		Ovário esquerdo	
	Comprimento (cm)	Largura (cm)	Comprimento (cm)	Largura (cm)
Fase follicular	1.0 ± 0.1^{a}	0.9 ± 0.1^{a}	1.0 ± 0.1^{a}	0.9 ± 0.1^{a}
Fase Luteal	1.2 ± 0.1^{b}	1.0 ± 0.1^{a}	1.0 ± 0.1^{a}	0.9 ± 0.1^{a}

[a,b] Dentro da mesma coluna, valores seguidos por sobrescritos diferentes diferem entre si (P < 0.05).

Foi possível visualização dos ovários utilizando ambas as frequências do transdutor microconvexo (5.0 - 7.5 MHz). Embora a presença de uma bursa ovárica tornasse a visualização do ovário difícil, uma taxa de detecção de ovário de 100% foi alcançada ao longo do estudo. Algumas vezes, a identificação de estruturas ovarianas não foi possível, o que dificulta o acompanhamento preciso da dinâmica ovariana ao longo ciclo estral.

Os folículos foram identificados em todos os animais durante o pico estrogênico como estruturas circulares regulares contendo líquido anecóico, às vezes, projetada na superfície do ovário. Neste momento, o diâmetro dos folículos foi de 0,23 ± 0,1 cm (Figura 8A). Corpos lúteos foram estruturas que se apresentam hiperecóicas 0,36 ± 0,2 cm (Figura 8B), identificados durante a fase lútea.

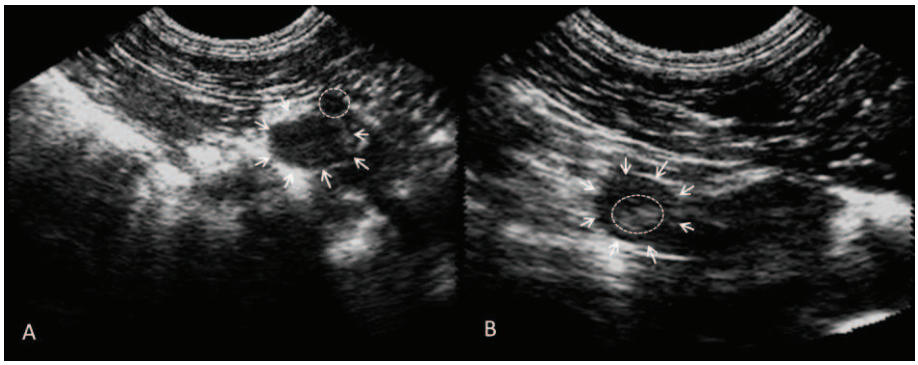

Figura 8. Imagens ultrassonográficas dos ovários (setas brancas), de fêmeas de cateto cíclica durante a fase folicular (A) com um grande folículo antral (círculo) projetada na superfície do ovário e durante a fase luteal (B), mostrando a presença de um corpo lúteo (elipse).

2.5 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstram ciclos estrais de 21 ± 5,7 dias em média, para as fêmeas de catetos criadas em cativeiro sob condições de clima semi-árido. Resultados semelhantes aos encontrados para catetos capturados na Amazônia sob o clima equatorial, em que os ciclos de 23,5 ± 2,1 dias foram descritas (MAYOR et al., 2007b). Curiosamente, ciclos estrais curtos e longos foram verificados para os animais no presente estudo. Esta condição pode ser conseqüência da variação individual entre os catetos. A existência de ciclos mais longos também foi relatada em catetos da Amazônia que apresentaram ciclos de 27 dias (MAYOR et al., 2007b.) e para outros animais desta

espécie criadas em clima temperado que apresentam ciclos estrais entre 22 a 28 dias (SOWLS, 1997).

A variação na duração do ciclo estral foi descrita para cabras Saanen criadas em clima semi-árido (LOPES JR. et al., 2001). Estes autores classificaram os ciclos de cabras como curtos (<17 dias), normal (17 a 25 dias) e longos (> 25 dias), sugerindo que os ciclos longos podem estar associados a um certo grau de anestro, como conseqüência de uma persistência do corpo lúteo. De fato, uma maior fase lútea (19,5 ± 2,1 dias) foi verificada para as fêmeas de catetos, ao apresentarem ciclos mais longos. Por outro lado, intervalos curtos entre as elevações estrogênicas poderiam, possivelmente, ser um indicativo da ocorrência de diferentes ondas foliculares durante o ciclo estral de catetos, uma vez que foi sugerido anteriormente que existem ondas de crescimento folicular envolvendo o crescimento síncrono de um grupo de folículos, dos quais vários parecem ser seleccionados para continuar o desenvolvimento nesta espécie (MAYOR et al. 2006b). A ocorrência de diferentes ondas foliculares no mesmo ciclo têm sido bem estudados em bovinos nos quais a maioria dos ciclos estrais são compostos de duas ou três ondas (ADAMS et al., 2008), mas em catetos, necessitam de mais investigações. Ou ainda, podem estar relacionados à ocorrência de outras ovulações, visto que foi relatado que os catetos podem apresentar taxa média de ovulação para espécie é de 2,3 ± 0,6 ovulações por ciclo, ocorrendo de forma uni ou bilateral (MAYOR et al., 2006a).

As alterações observadas na genitália externa durante o estro foram semelhantes àquelas relatadas para catetos da Amazônia (MAYOR et al., 2007b), e uma variação individual no que diz respeito à duração destas características foi evidenciada. De fato, essa evidência também é descrita para animais domésticos, como as porcas, e está relacionada com a ação dos níveis elevados do estrogênio no sistema genital feminino (OSTERSEN et al., 2010).

Os aspectos reprodutivos de algumas espécies podem ser bastante afetados pelas condições climáticas (KOZIOROWSKY et al., 2006;. CHEMINEAU et al., 2008). A grande maioria dos estudos sobre a reprodução de fêmeas de cateto foi realizada na Amazônia, sob clima Equatorial típico (MAYOR et al., 2006ab;. MAYOR et al., 2007ab). Em geral, não houve grandes diferenças no ciclo reprodutivo entre catetos criados em condições semi-áridas, como relatado no presente trabalho, e aqueles criados sob condições de clima equatorial (MAYOR et al., 2006ab;. MAYOR et al., 2007ab) ou estudados sob condições de clima temperado (SOWLS, 1997). Na verdade, as fêmeas

de cateto foram anteriormente classificadas como poliéstricas não estacionais (GOTTDENKER; BODMER, 1998).

Os valores encontrados para o pico de estrogênio no presente estudo, 55,6 pg / mL, foram semelhantes aos relatados para a mesma espécie, em condições equatoriais, 53,4 ± 8,1 pg / mL (MAYOR et al., 2006a). Quanto à fase lútea, os valores de pico verificados para a progesterona, 35,3 ± 4,4 ng / mL, foram semelhantes àquelas relatadas para catetos adultos da Amazônia, 30,8 ± 4,9 ng / mL (MAYOR et al., 2006a). O estresse, como conseqüência de práticas de manejo, pode interferir negativamente na dinâmica de peptídeos e hormônios esteróides envolvidos com as funções reprodutivas (DOBSON et al., 2003). Todas as pesquisas realizadas em catetos relatando dosagens hormonais (MAYOR et al., 2006a; MAYOR et al., 2007b) são baseadas em coleta de sangue, mas é possível que o sistema de contenção repetitiva do animal possa interferir negativamente nos resultados das dosagens hormonais. Portanto, sugere-se que novos estudos devam ser conduzidos a fim de monitorar o ciclo reprodutivo da espécie, utilizando metabólitos fecais como relatado para outros animais silvestres (GHOSAL et al., 2010).

Foi demonstrado anteriormente que as fêmeas de cateto na fase folicular apresentaram epitélio vaginal mais espesso do que as fêmeas prenhes e em fase lútea, detectadas pela histologia vaginal (MAYOR et al., 2004). Além disso, uma correspondência entre a citologia vaginal e o perfil de estradiol também foi sugerida para a mesma espécie, criada em clima equatorial (MAYOR et al., 2007b). Entretanto, os resultados indicam que não há mudanças significativas na proporção de células epiteliais entre as fases folicular e lútea, através de exame citológico vaginal. Além disso, nenhuma relação significativa entre as células epiteliais vaginais e esteróides reprodutivos foram encontradas durante o ciclo estral de catetos criados em cativeiro, sob condições semi-áridas. A existência de variações entre os indivíduos ou mesmo entre diferentes grupos no que diz respeito aos aspectos reprodutivos não pode ser descartada.

A eficácia da citologia vaginal como método de detecção de estro foi confirmada em diferentes espécies, como os porcos miniatura do Iucatan (RODGERS et al., 1993) e os ursos (FREDERICK et al., 2010). Nos cães, a citologia vaginal é um método eficaz largamente utilizado para o monitoramento estral e identificação das fases do ciclo (MOXON et al., 2010). Isto é devido à alta capacidade de resposta do epitélio vaginal canino a flutuações hormonais, especialmente os estrógenos, provocando alterações no

perfil celular. O aumento das concentrações de estrógeno determinam a proliferação celular, com espessamento das camadas do epitélio vaginal e conseqüente diferenciação celular (ROSZEL, 1977; CONCANNON; DIGREGORIO, 1986). A presença de grandes quantidades do receptor de estrógeno foi identificada no estroma e células superficiais do epitélio da vagina canina, comprovando a grande influência do estrógeno sobre esse tecido (VERMEIRSH et al., 2002). A intensidade da resposta do epitélio vaginal para as flutuações de estrógeno pode variar entre diferentes espécies e os catetos provavelmente apresentam uma baixa resposta a este hormônio.

A ultrassonografia foi uma ferramenta prática, confiável e precisa para a avaliação de ovário em catetos, no entanto, não foi possível o acompanhamento da ovulação por meio desse método. De acordo com Hildebrandt et al. (2000), a principal limitação de exames de ultrassom repetitivo em animais não-domésticos é o risco associado a contenção física ou química. Infelizmente, este risco era evidente e a contenção física contínua provocou ferimentos em duas fêmeas, levando a sua exclusão do experimento. Além disso, a pequena disponibilidade de material biológico é o principal fator limitante para o estudo da fisiologia reprodutiva e do conjunto de tecnologias adaptadas de espécies ameaçadas (COMIZOLLI et al., 2000).

Quanto à morfometria ovariana, as dimensões encontradas pela ultrassonografia foram semelhantes as encontradas por meio do exame dos ovários durante a necropsia de indivíduos criados nas mesmas condições, que apresentavam 1,3 ± 0,2 cm de comprimento e 1,0 ± 0,1 de largura na fase lútea, sem diferenças entre os ovários direito e esquerdo (LIMA, 2011). Entretanto, os valores atuais são superiores aos relatados por indivíduos capturados da Floresta Amazônica, submetidos à coleta do trato genital e exame de ovário em que as medidas de 0,6 ± 0,1 cm de comprimento e 0,5 ± 0,1 cm de largura, foram descritos para as fases folicular e lútea (MAYOR et al., 2006b). As discrepâncias relacionadas com a morfometria ovariana poderiam ser devido ao fato de que os animais em estudo serem criados em cativeiro desde o seu nascimento, o que lhes promoveria melhores condições de alimentação e um maior peso corporal (20,6 kg) do que as capturadas da vida selvagem na Amazônia (19 kg).

O acompanhamento preciso do ciclo sexual de catetos através de ultrassonografia foi dificultado pelas características anatômicas do ovário. Esse órgão é envolvido por uma completa bursa ovárica (MAYOR et al. 2006b), que por vezes dificultou a identificação das estruturas do ovário. As dimensões encontradas para estruturas foliculares na presente pesquisa correspondem aos descritos anteriormente

para os grandes folículos antrais (~ 0,23 centímetros), por meio de análise histológica, para a mesma espécie (MAYOR et al., 2006b). Entretanto, o diâmetro do corpo lúteo encontrado nesse mesmo estudo (~ 0,7 cm) foi maior do que os dados encontrados por ultrassonografia. Provavelmente, o ultrassom não foi capaz de avaliar a maior dimensão do corpo lúteo, uma vez que esta estrutura cresce no interior do parênquima ovariano.

O presente estudo forneceu dados relevantes para o conhecimento da fisiologia reprodutiva da fêmea de cateto, que será importante para o desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas nessa espécie. Foi demonstrado que não existem relações significativas entre o perfil hormonal e a citologia vaginal, o que sugere que o segundo método não é seguro para o monitoramento do estro na espécie. Ao melhor de nosso conhecimento, os padrões de ultra-sonografia do ovário e suas estruturas foram pela primeira vez demonstrados durante o ciclo estral em catetos.

2.6 REFERÊNCIAS

ADAMS, G. P; JAISWAL, W; SINGH, J; MALHI, P. **Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle**. Theriogenology 69, 72-80, 2008.

BODMER, R. E.; SOWLS, L. K. **Status Survey and Conservation Action Plan: Pigs Peccaries and Hippos**. IUCN, Gland, Switzerland, 202p, 1993.

BROWN, J. L. **Reproductive endocrine monitoring of elephants: an essential tool for assisting captive management**. Zoo Biology 19, 347-367, 2000.

CASTELO, T. S; BEZERRA, F. S. B; LIMA, G. L; ALVES, H. M; OLIVEIRA, I. R. S; SANTOS, E. A. A; PEIXOTO, G. C. X; SILVA, A. R. **Effect of centrifugation and sugar supplementation on the semen cryopreservation of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*)** 61, 275- 279, 2010.

CHEMINEAU, P., GUILLAUME, D., MIGAUD, M., THIÉRY, J. C., PELLICER-RUBIO, M. T., AND MALPAUX, B. **Seasonality of reproduction in mammals: Intimate regulatory mechanisms and practical implications**. Reprod. Dom. Anim. 43, 40-47, 2008.

CONCANNON, P. W; DIGREGORIO, G. B. **Canine vaginal cytology**. In 'Small animal reproduction and infertility: A clinical approach to diagnosios and treatment' Lea and Febiger: Philadelphia, Ed. T.J. Burke. 96-111, 1986.

COMIZOLLI, P; MERMILLOD, P; MAUGET, R. **Reproductive biotechnologies for endangered mammalian species**. Reprod. Nutr. Dev. 40, 493-504, 2000.

DOBSON, H; GHUMAN, S; PRABHAKAR, S; SMITH, R**. A conceptual model of the influence of stress on the female reproduction**. Reproduction 125, 151-163, 2003.

FREDERICK, C; KYES, R; HUNT, K; COLLINS, D; DURRANT, B; WASSER, S.K. **Methods of estrus detection and correlates of the reproductive cycle in the sun bear (*Helarctos malayanus*)**. Theriogenology 74, 1121-1135, 2010.

GHOSAL, R; SUKUMAR, R; SESHAGIRI, P. B. **Prediction of estrus cyclicity in Asian elephants (*Elephas maximus*) through estimation of fecal progesterone metabolite: development of an enzyme-linked immuno-sorbent assay**. Theriogenology 73, 1051–1060, 2010.

GARCIA, A. R; KAHWAGE, P. R; OHASHI, O. M. **Aspectos reprodutivos de caititus (*Tayassu tajacu*)**. Rev. Bras. Reprod. Anim. 33, 71-81, 2009.

GOTTDENKER, N; BODMER, R. E. **Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon**. J. Zool. (London) 245, 423–430, 1998.

HERMES, R., OLSON, D., GORITZ, F., BROWN, J., SCHMITT, D. L., HAGAN, D., PETTERSON, J. S; FRITSCH, G; HILDEBRANDT, T. B. **Ultrasonography of the estrous cycle in female African elephants (*Lexodonta africana*)**. Zoo Biology 19, 369-382, 2000.

HILDEBRANDT, T. B; HERMES, R; JEWGENOW, K; GORITZ, F. **Ultrasonography as an important tool for the development and application of reproductive technologies in non-domestic species.** Theriogenology 53, 73-84, 2000.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO). Seis espécies de mamíferos dotados de casco correm risco de extinção no Brasil. Disponível em <http. www.icmbio.org.br> Acesso em: 25 de fevereiro de 2011.

KOZIOROWSKI, M; SEREMAK, B; GIZEJEWSKI, Z; GILUN, P; KOZIOL, K; KOWAL, E; JAGUSZTYN, B; SULIK, M; SZELESZCZUK, O; OLECH, W; SODERQUIST, L; GLOGOWSKI, J. **Season controlled reproduction of undomesticated animals.** Reproductive Biology 6, 137-149, 2006.

LIMA, G . **Caracterização e conservação da população de folículos ovarianos pré-antrais de catetos (*Tayassu tajacu* Linnaeus, 1758**). Doctoral Thesis, Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, 132p. 2001.

LOPES JÚNIOR, E. S; RONDINA, D; SIMPLICIO, A. A; FREITAS, V. J. F. **Oestrus behaviour and performance in vivo of saanen goats raised in northeast of Brasil.** Livest. Res. Rural Dev. 13 (6) 2001.

MAYOR, P; JORI, F; LÓPEZ-BÉJAR, M. **Anatomicohistological characteristics of the tubular genital organs of the female collared peccaries (*Tayassu tajacu*) from North-eastern Amazon.** Anat. Histol. Embriol. 33, 65-74, 2004.

MAYOR, P; GALVEZ, H; GUIMARÃES, D. A; LÓPEZ-GATIUS, F; LÓPEZ-BÉJAR, M. **Serum estradiol-17beta, vaginal cytology and vulval appearance as predictors of estrus cyclicity in the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the eastern Amazon region.** Anim. Reprod. Sci. 97, 165–174, 2007a.

MAYOR, P; GUIMARÃES, D. A; LOPEZ-GATIUS, F; LOPEZ-BEJAR, M. **First postpartum estrus and pregnancy in the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the amazon.** Theriogenology 66, 2001-2007, 2006a.

MAYOR, P; FENECH, M; BODMER, R; LOPEZ-BEJAR, M. **Ovarian features of the wild collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the northeast Peruvian Amazon. Gen. Comp. Endocrinol**. 147, 268-275, 2006b.

MAYOR, P; LOPEZ-GATIUS, F; LOPEZ-BEJAR, M. **Integrating ultrasonography within the reproductive management of the collared peccary (*Tayassu tajacu*).** Theriogenology 63, 1832–1843, 2005.

MAYOR, P; GUIMARÃES, D. A; PENDU, Y. L; SILVA, J. V; JORI, F; LÓPEZ-BÉJAR, M. **Reproductive performance of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the eastern** Amazon. Anim. Reprod. Sci. 102, 88-97. 2007b.

MOXON, R; COPLEY, D; ENGLAND, G. C. **Quality assurance of canine vaginal cytology: a preliminary study**. Theriogenology 74, 479-485, 2010.

OSTERSEN, T; CORNOU, C; KRISTENSEN, A.R. **Detecting oestrus by monitoring sows' visits to a boar**. Comp. Elect Agric. 74, 51–58, 2010.

RODGERS, J. B; SHERWOOD, L. C; FINK, B. F; SADOVE, R. C. **Estrus detection by using vaginal cytologic examination in miniature swine**. Lab. Anim. Sci. 43, 597-602, 1993.

ROSZEL, J. F. **Normal canine vaginal cytology**. Vet. Clin. North Am. 7, 667-681,1977.

SCHUTTE, A. P. **Canine Vaginal Citology: I – Technique and cytological morphology.** J. Small. Pratc. 8, 301-306, 1967.

SCWARZ, T; WIERZCHOS, E. **The distribution of corpora lutea and ovarian follicular development in pregnant goats**. Reproductive Biology 10, 53-66, 2010.

SOUSA, F. C; MELO, C. H. S; TELES-FILHO, A. C. A; AVELAR, S. R. G; MOURA, A. A. A; MARTINS, J. A. M; FREITAS, J. V. F; TEIXEIRA, D. I. A. **Ovarian follicular response to different hormonal stimulation treatments in Canindé goats**. Anim. Reprod. Sci. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.02.015, 2011 (Article in press).

SOUZA, A. L. P; CASTELO, T. S; QUEIROZ, J. P. A. F; BARROS, I. O; PAULA, V. V; OLIVEIRA, M. F; SILVA, A. R. **Evaluation of anesthetic protocol for the collection of semen from captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) by electroejaculation**. Anim. Reprod. Sci. 116, 370–375, 2009.

SOWLS, L. K. **Javelines and Other Peccaries: Their Biology, Management and Use**. Texas: Texas A. and M. University Press, College Station, USA. 325 p.,1997.

VERMEIRSH, H; VAN DER BROECK, W; SIMOENS, P. **Immunolocalization of sex steroid hormone receptors in canine vagina and vulvar tissue and their relation to sex steroid hormone concentrations**. Reprod. Fertil. Dev. 14, 251-258, 2002.

3 CAPÍTULO 3 – SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO EM CATETO *(Tayassu tajacu)* UTILIZANDO ANÁLOGO DA PROSTAGLANDINA

3.1 RESUMO

O objetivo desse estudo foi desenvolver um programa de sincronização de estro em fêmeas de cateto, em cativeiro por meio do uso de análogo da prostaglandina. Para tanto foram utilizadas cinco fêmeas de cateto adultas. Os animais receberam duas doses de 0,8 mL do análogo da prostaglandina, cloprostenol via intramuscular, a um intervalo de nove dias. Foram realizadas coletas de sangue para dosagem de estrógeno a cada três dias, desde quinze dias antes da primeira aplicação de prostaglandina (dia 0) até a segunda aplicação (dia 9), e após esse período, o intervalo entre as coletas foi reduzido para a cada dois dias. Os resultados obtidos após a primeira aplicação do hormônio foi a ocorrência de estro em três fêmeas, após 8 ± 1,73 dias, apresentando 27,69 ± 11,14 pg/mL de estrógeno. Após a segunda aplicação, todos os animais atingiram um pico estrogênico por volta de 9,2 ± 1,1 dias, com em média, 28,05 ± 10,41 pg/mL de estrógeno, sendo observados sinais externos de estro, como abertura vulvar, mucosa vaginal hiperêmica e presença de muco vaginal em quatro animais (80%). A partir dos dados encontrados no presente estudo, verificou-se que a aplicação de 0,8 mL de análogo sintético da prostaglandina (60 μg de D-cloprostenol), com intervalo de nove dias, em catetos (*Tayassu tajacu*) foi eficiente para sincronização de estro nesta espécie.

Palavras chaves: cateto, perfil hormonal, sincronização de estro.

3.2 INTRODUÇÃO

Os catetos, mamíferos de pequeno porte, exclusivos das Américas, estão presentes em todo o território brasileiro. As fêmeas tornam-se sexualmente ativas entre 8 e 10 meses (PERES, 1996; JUDAS, 1999), e apresentam ciclo estral de 22-28 dias, com receptividade sexual variando de 2 a 4 dias (SOWLS, 1997). Esses animais foram recentemente classificados como vulneráveis à extinção no Brasil, devido principalmente a caça predatória e desmatamento, e são especialmente considerados ameaçados nos biomas Caatinga e Mata Atlântica (ICMBio, 2011). Desse modo, sua criação em cativeiro, de forma sustentável, poderia ser uma alternativa na conservação da espécie, bem como na produção de produtos como carne e pele, com boa aceitação no mercado (OJASTI, 1993).

O bom desempenho reprodutivo dos catetos, mesmo em cativeiro, traduz-se em potencial desenvolvimento da produção comercial desses animais (MAYOR et al., 2007a). Assim, o emprego de novas técnicas de criação possibilitaria a diversificação e a integração das atividades agropecuárias (NOGUEIRA FILHO et al., 2004). Nesse sentido, as biotécnicas da reprodução têm se constituído em valiosos instrumentos à disposição do sistema produtivo. Dentre as biotécnicas, a sincronização de estro se destaca por ser um método que permite a concentração dos partos em épocas desejáveis e por facilitar o emprego de outras biotécnicas, como a inseminação artificial e a transferência de embriões. Tendo em vista que a falta de precisão na detecção do estro é um dos principais entraves ao emprego das mesmas, muitos profissionais optam por manipular farmacologicamente o ciclo estral (GALINA; ORIHUELA, 2007).

Para a indução ou sincronização de estro, são conhecidos o método natural, que emprega o efeito macho (HAWKEN et al., 2009) e o artificial, utilizando-se prostaglandinas (COLAZO et al., 2002), progestágenos (OZYURTLU et al., 2010) ou gonadotrofinas (FONSECA et al., 2005). Os agentes luteolíticos, como as prostaglandinas, são utilizados nas fêmeas cíclicas a fim de provocar destruição do corpo lúteo. A diminuição da secreção de progesterona consecutiva à luteólise é responsável por uma descarga gonadotrófica e aparecimento do estro e ovulação. O uso exclusivo de prostaglandinas para sincronização requer que os animais estejam ciclando e apresentem corpo lúteo funcional, ficando na dependência do controle do dia do estro ou de duas aplicações seqüenciais (COLAZO et al., 2002; VÀZQUEZ et al., 2010).

Em catetos, ainda não haviam sido desenvolvidos trabalhos no sentido de empregar método de sincronização de estro, um passo importante para a aplicação de biotécnicas da reprodução. Portanto o objetivo desse estudo foi desenvolver um programa de sincronização de estro em fêmeas de cateto, em cativeiro por meio do uso de análogo da prostaglandina.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Desenvolvimento do experimento

O experimento foi conduzido durante o mês de agosto de 2010. Foram utilizadas cinco fêmeas de cateto, com em média 18 ± 0,4 meses, pesando cerca de 20,6 ± 1,1 Kg. Os animais foram mantidos em baia coletiva (20 x 30m), no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Nordeste do Brasil (Mossoró, RN, Brasil, 5 ° 10 = S, 37 ° = 10 W). O clima é semi-árido, com temperatura anual variando de 21 a 36 ° C e uma variação diária de temperatura 7 - 14 º C, com umidade relativa média de 68%. As fêmeas eram alimentadas com ração para suínos e frutas produzidas na região, tendo acesso a água á vontade. A comissão de ética da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, em Mossoró, Brasil aprovou os protocolos experimentais e procedimentos adotados aos animais (Processo UFERSA nº 23091.000250/2011-34).

3.3.2 Sincronização de estro

Os animais receberam duas doses de 0,8 mL do análogo da prostaglandina, cloprostenol (Veteglan®, Hertape Calier, Belo Horizonte, Brasil), via intramuscular, com intervalo de nove dias entre uma dose e outra. Inicialmente, realizaram-se as coletas de sangue a cada três dias, desde quinze dias antes da primeira aplicação de prostaglandina (dia 0) até a segunda aplicação (dia 9), e após esse período, o intervalo entre as coletas foi reduzido para a cada dois dias.

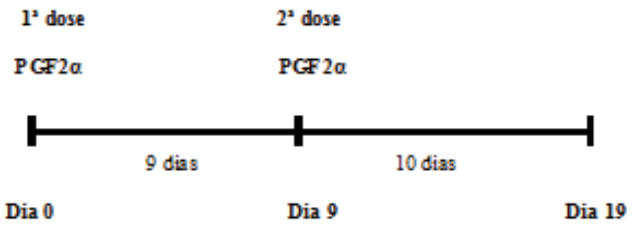

Figura 9. Esquema demonstrando protocolo de sincronização de estro em fêmeas de cateto, utilizando duas doses de análogo da prostaglandina, com intervalo de nove dias.

3.3.3 Acompanhamento do Ciclo Estral

Foi realizada coleta de sangue para dosagem de estrógeno, através de punção da veia cefálica ou safena, 3 ml, utilizando seringas e agulhas estéreis e tubos sem anticoagulante, obtendo-se soro por centrifugação a 2000 g por 15 minutos, em seguida, foi armazenado em freezer apropriado, mantendo à temperatura de -18ºC, até realização da dosagem hormonal determinada pela técnica de enzima imunoensaio (ELISA), utilizando-se kit comercial. Adicionalmente, foi observada a ocorrência de alterações na genitália externa das fêmeas, características da demonstração de sinais de estro, como mucosa vaginal hiperêmica, abertura vulvar e presença de muco vaginal.

3.3.3.1 Ensaio hormonal

A dosagem de estradiol foi realizada através da utilização de um kit comercial (Max-Planck-Ring 21-D 65205, Human GmbH, Wiesbaden, Alemanha), com 12 tiras de microtitulação (MIC), com 8 furos cobertos com anticorpo anti-estradiol (coelho). O procedimento foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante do kit, pela medição da absorbância a 450 nm, utilizando como referência de comprimento de onda 630-690 nm. Uma curva padrão foi utilizada para interpretar a concentração de estradiol nas amostras provenientes de absorbância média das duplicatas. As reações cruzadas foram identificadas com estrona e estriol - 0,2%; cortisol, testosterona e progesterona - 0,01%. A sensibilidade analítica foi determinada para cerca de 3-6 pg / mL de estradiol.

3.3.4 Análise Estatística

Os dados da dosagem de estrógeno e intervalo entre as aplicações de prostaglandina e a ocorrência de pico de estrógeno obtidos ao longo do experimento

foram expressos como média e desvio padrão (SD), utilizando-se o procedimento “proc print” do Statistical Analysis System, versão 6.10 (SAS).

3.4 RESULTADOS

Nos quinze dias de acompanhamento antes da primeira aplicação de prostaglandina, foi observado que dois animais se encontravam em fase luteal e os outros três estavam em fase folicular. Após a primeira aplicação de prostaglandina (dia 0), foi observado um pico de estrógeno em três fêmeas, das quais duas se encontravam em fase luteal, após em média, 8 ± 1,73 dias, apresentando 27,69 ± 11,14 pg/mL, variando de 19,89 a 40,45 pg/mL de estrógeno. Das três fêmeas que apresentaram pico de estrógeno, duas (66,7%), mostraram vulva hiperêmica.

Após a segunda aplicação (dia 9), todos os animais atingiram um pico estrogênico por volta de 9,2 ± 1,1 dias, com em média, 28,05 ± 10,41 pg/mL de estrógeno, como demonstrado na tabela 3. Das cinco fêmeas, quatro (80%) apresentaram sinais externos de estro, como abertura vulvar, mucosa vaginal hiperêmica e presença de muco vaginal.

Tabela 3. Intervalo entre a aplicação da segunda dose de cloprostenol (Dia 9) e a manifestação do estro, e valores de pico do 17β estradiol durante estro em fêmeas de cateto (*Tayassu tajacu*) criadas em cativeiro sob clima semi-árido (n=5).

Animal	Intervalo entre a 2ª aplicação de cloprostenol e a manifestação do estro (dias)	Concentração de estradiol no pico (pg/mL)
1	10	44,91
2	10	17,66
3	10	22,13
4	8	29,63
5	8	25,93
Média ± DP	9,2 ± 1,1	28,05 ± 10,4

A figura 10 mostra as flutuações nos níveis de estrógeno dos cinco animais ao longo do experimento.

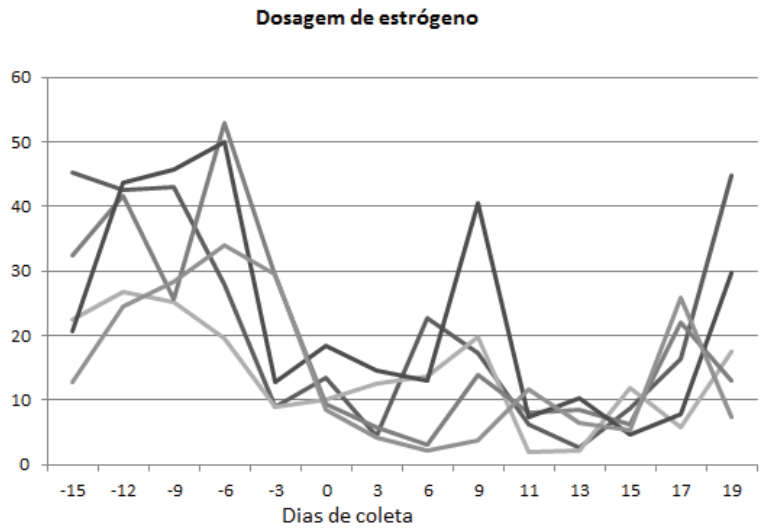

Figura 10. Dosagem de estrógeno (pg/mL) no soro, ao longo do ciclo estral de fêmeas de cateto (*Tayassu tajacu*) (n=5), durante trinta e quatro dias de coleta, sendo o Dia 0, a data da primeira aplicação de prostaglandina (11.08.2010) e no Dia 9, foi realizada a segunda aplicação do mesmo hormônio (20.08.2010).

3.5. DISCUSSÃO

Ao nosso conhecimento, este estudo é o primeiro acerca da sincronização de estro em catetos. Observou-se que os animais que estavam em fase luteal entraram em estro logo após a primeira dose de prostaglandina. Isso ocorre pelo fato da prostaglandina ser um agente luteolítico que requer que os animais estejam ciclando e apresentem corpo lúteo funcional, seu uso exclusivo para sincronização de estro fica na dependência do controle do dia do estro ou de duas aplicações seqüenciais (VÁZQUEZ et al., 2010). Porém, apenas uma fêmea que estava na fase folicular, demonstrou pico de estrógeno após a primeira aplicação do hormônio.

Apenas um animal apresentou valor de pico menor que 20 pg/mL de estrógeno (19,66 pg/mL após a primeira e 17,66 pg/mL após a segunda aplicação de prostaglandina) após as aplicações de prostaglandina, valores inferiores aos apontados por outros autores que realizaram dosagens hormonais na mesma espécie, porém em indivíduos de vida livre (capturados na selva) (MAYOR et al., 2006; 2007b). Os maiores valores de estrógeno foram 44,91 pg/mL e 40,45 pg/mL, valores próximos aos relatados por Mayor et al., (2006).

As alterações observadas na genitália externa durante o estro foram semelhantes às descritas por Mayor et al., (2007b) para catetos recém capturados da floresta

Amazônica. Isso ocorre pela elevada concentração de estradiol promovendo aumento da vascularização e irrigação sanguínea, aumento do tônus uterino e secreção de muco, semelhante ao que ocorre em porcas domésticas (BORTOLOZZO et al., 2005).

Ben Salem et al., (2010) trabalhando com ovelhas Barbarine, utilizando uma injeção de 125 μg de cloprostenol, observaram o aparecimento do estro cerca de 38 horas após a aplicação do hormônio. Vázquez et al., (2010) estudando caprinos, concluíram que a sincronização do estro e ovulação, pela administração de análogos da prostaglandina, com intervalos de 10 a 12 dias causa diferenças no desenvolvimento, dinâmica e funcionalidade do corpo lúteo em comparação ao estro e ovulação espontâneos, ocorrendo estro cerca de 78 horas após a segunda aplicação do hormônio. Adicionalmente, Traldi et al., (2007) obtiveram êxito na sincronização do estro dessa mesma espécie utilizando 50 a 100 μg de prostaglandina sintética, levando ao aparecimento de um novo estro cerca de 50 ± 1 hora após sua aplicação, realizando duas aplicações, com intervalo de 11 dias. Estes trabalhos mostram divergências aos encontrados no presente estudo, onde dose semelhante, 60 μg de cloprostenol, foi utilizada para catetos, no entanto só foi detectado pico de estrógeno em média 9,2 ± 1,1 dias após a segunda aplicação. Essa resposta tardia pode ser própria da espécie estudada, visto que a resposta fisiológica desta ao referido tratamento ainda é desconhecida.

Um intervalo mais curto entre a aplicação de prostaglandina e o pico de estrógeno também foi verificado em outra espécie silvestre, o veado marrom (*Mazama gouazobira*). Nestes animais, após duas injeções (265 μg, cada) de análogo de PGF2α (cloprostenol), em intervalo de 11 dias, as fêmeas manifestaram estro 49 a 60 horas após a última aplicação (ZANETTI et al., 2009). No entanto, Deutscher (1999) utilizando duas aplicações do mesmo hormônio com intervalo de 11 dias em vacas de corte, observaram a ocorrência de estro em torno de 5 dias após a segunda aplicação. De modo semelhante, em búfalo (*Bubalus bubalis*), duas aplicações de prostaglandina com intervalo de 11 a 14 dias leva a manifestação de estro 2 a 6 dias após a segunda aplicação desse hormônio (RENSIS; LOPEZ-GATIUS, 2007).

Por sua vez, Colazo et al. (2002) obtiveram um maior intervalo de manifestação de estro, 88,8 ± 13,4 h, utilizando uma aplicação de 100 μg de cloprostenol em novilhas de corte, em relação a dose de 250 e 500 μg, 57,6 ± 6,9 e 56 ± 7,3 h, respectivamente. O que pode ter ocorrido também no presente estudo, levando a crer que uma dose maior de prostaglandina poderia reduzir o intervalo para ocorrência de estro em cateto neste

trabalho. Já vacas em lactação, com duas aplicações do hormônio (15 mg) em intervalo de 14 dias apresentaram estro em 6,3 ± 1,0 dia, e com apenas uma dose única de PGF2α, manifestaram estro após 9,1± 1,0 dia (ALNIMER et al., 2002), resultados bem semelhantes aos obtidos no presente estudo em catetos, utilizando duas doses com intervalo de 9 dias.

Em suínos, é mais comum o uso de progestágenos na sincronização do cio (HÜHN et al., 1996; ESTIENNE; HARPER, 2005), sendo este um método que também podem vir a ser estudado em catetos, no entanto, a porca apresenta ovulação múltipla, nesse contexto as fêmeas de cateto se assemelham mais aos ruminantes, apresentando geralmente ovulação simples ou dupla (BODMER et al., 1997). Desse modo, é possível que sejam mais adequados os métodos empregados para ovinos e caprinos e até mesmo bovinos, nesta espécie silvestre.

A partir dos dados encontrados no presente estudo, verificou-se que a aplicação de 0,8 mL de análogo sintético da prostaglandina (60 μg de D-cloprostenol), com intervalo de nove dias, em catetos (*Tayassu tajacu*) foi eficiente para sincronização de estro nesta espécie. Sugere-se que doses maiores poderiam ser estudadas para redução do intervalo na manifestação de estro após a aplicação do hormônio.

3.6 REFERÊNCIAS

ALNIMER, M; DE ROSA, G; GRASSO, F; NAPOLITANO, F; BORDI, A. **Effect of climate on the response to three oestrous synchronisation techniques in lactating dairy cows**. Animal Reproduction Science 71, 157–168, 2002.

BEN SALEM, I.; REKIK, M.; GONZALEZ-BULNES, A.; LASSOUED, N.; KRAÏEM, K. **Differences in preovulatory follicle dynamics and timing of preovulatory LH surge affect fertility of maiden sheep reared in semi-arid extensive conditions.** Animal Reproduction Science 117, 60–66, 2010.

BODMER, R.E., AQUINO, R., PUERTAS, P., REYES, C., FANG, T., GOTTDENKER, N. **Manejo y Uso Sustentable de Pecar´ıesen la Amazon´ıa Peruana. Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission**. No. 18. IUCN-Sur, Quito, Equador. 1997.

BORTOLOZZO, F. P.; UEMOTO, D. A.; BENNEMANN, P. E.; POZZOBON, M. C.; CASTAGNA, C. D.; PEIXOTO, C. H.; BARIONI Jr. W.; WENTZ, I. **Infuence of time of insemination relative to ovulation and frequency of insemination on gilt fertility.** Theriogenology, v. 64, p. 1956-1962, 2005.

COLAZO, M. G; MARTÍNEZ, M. F; KASTELIC, J. P; MAPLETOFT, R. J. **Effects of dose and route of administration of cloprostenol on luteolysis, estrus and ovulation in beef heifers.** Animal Reproduction Science 72, 47–62, 2002.

DEUTSCHER, G. H. **Estrous Synchronization for Beef Cattle**. University of Wisconsin-Extension, BCH-2320, 6p., 1999.

ESTIENNE, M .J; HARPER A. F. **Using Artificial Insemination in Swine Production: Detecting and Syncronizing Estrus and Using Proper Insemination Technique.** Virginia Cooperative extension, 414-038, 2005.

FONSECA J.F., BRUSCHI J.H., ZAMBRINI F.N., DEMCZUK E., VIANA J.H.M., PALHÃO M.P. **Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins.** Anim. Reprod.2(1):50-53, 2005.

GALINA,C.S.; ORIHUELA, A. **The detection of estrus in cattle raised under tropical conditions: What we know and what we need to know.** Hormones and Behavior 52, 32 –38, 2007.

HAWKEN P.A.R., ESMAILI T., JORRE DE ST JORRE T., MARTIN G.B. **Do cyclic female goats respond to males with an increase in LH secretion during the breeding season**?. Animal Reproduction Science 112, 384–389, 2009.

HÜHN, U; JÖCHLE, W; BRÜSSOW, K. P. **Techniques developed for the control of estrus, ovulation and parturion in the East German Pig Industry: A review.** Theriogenology 46: 911-924, 1996.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO). Seis espécies de mamíferos dotados de casco correm risco de extinção no Brasil. [Six species of ungulate mammals are threatened for extinction in Brazil]. Disponível em <www.icmbio.org.br> Acesso em: 25 de fevereiro de 2011.

JUDAS, J. **Écologie du Pécari à collier Tayassu tajacu en forêt tropicale humide de Guyane française** (pp. 115-130). Tese (Doutorado em Sciences de la Nature et de la Vie). Université François Rabelais Tours, 1999.

MAYOR, P.; GALVEZ, H.; GUIMARÃES, D.A; LÓPEZ-GATIUS, F.; LÓPEZ-BÉJAR, M. **Serum estradiol-17beta, vaginal cytology and vulval appearance as predictors of estrus cyclicity in the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the eastern Amazon region.** Anim Reprod Sci, in press. 2007b.

MAYOR, P.; GUIMARÃES, D.A; LE PENDU, Y; SILVA, J.V; JORI, F.; LOPEZ-BEJAR, M. **Reproductive performance of captive collared peccaries (Tayassu tajacu) in the eastern Amazon.** Anim Reprod Sci. 102(1-2):88-97 Nov. 2007a.

MAYOR, P; GUIMARÃES, D.A; LOPEZ-GATIUS, F; LOPEZ-BEJAR, M. **First postpartum estrus and pregnancy in the female collared peccary (Tayassu tajacu) from the amazon**. Theriogenology 66, 2006.

NOGUEIRA FILHO, S., NOGUEIRA, S., MENDES, A., JORI, F. **A large scale commercial farming of collared peccary (*Tayassu tajacu*) in North Eastern Brazil.** Game Wildl. Sci. 21, 413–420, 2004.

OJASTI, J. **Utilización de la fauna silvestre en America Latina.** Guia FAO Conservation, 1993

OZYURTLU, N; KUCUKASLAN, I; CETIN, Y. **Characterization of Oestrous Induction Response, Oestrous Duration, Fecundity and Fertility in Awassi Ewes During the Non-breeding Season Utilizing both CIDR and Intravaginal Sponge Treatments**. Reprod Dom Anim 45, 464–467, 2010.

PERES, C.A. **Population status of white-lipped *Tayassu pecari* and collared peccaries *T. tajacu* in hunted and unhunted Amazonian forests.** Biological Conservation, v. 77, issues 2-3, p. 115-123, 1996.

RENSIS, F; LOPEZ-GATIUS, F. **Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (*Bubalus bubalis*): A review**. Theriogenology 67, 209–216, 2007.

SOWLS, L. K. **Javelinas and other peccaries: their biology, management and use.** Texas A&M University, College Station, Texas. 324 p, 1997.

TRALDI, AS. LOUREIRO, MFP. CAPEZZUTO, A. MAZORRA, AL. **Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos**. Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.254-260, abr./jun. 2007.

VÁZQUEZ, MI. BLANCH, MS. ALANIS, GA. CHAVES, MA. Gonzalez-Bulnes, A**. Effects of treatment with a prostaglandin analogue on developmental dynamics and functionality of induced corpora lutea in goats.** Animal Reproduction Science 118, 42–47, 2010.

ZANNETI, E.S; POLEGATO, B.F; DUARTE, J.M.B. **Comparison of two methods of synchronization of estrus in brown Brocket deer (*Mazama gouazoubira*).** Animal Reproduction Science xxx xxx–xxx, 2009. Article in press

ANEXOS

ANEXO 01 - CARTA DE SUBMISSÃO DO ARTIGO "CHANGES IN THE HORMONAL PROFILE, VAGINAL CYTOLOGY AND OVARIAN ULTRASONOGRAPHIC PATTERN DURING THE ESTRUS CYCLE OF CAPTIVE FEMALE COLLARED PECCARIES (TAYASSU TAJACU)" À REVISTA *ANIMAL REPRODUCTION SCIENCE*.

Assunto: A manuscript number has been assigned: ANIREP-D-11-3189

Ms. No. ANIREP-D-11-3189
Changes in the hormonal profile, vaginal cytology and ovarian ultrasonographic pattern during the estrus cycle of captive female collared peccaries (*Tayassu tajacu*)

Dear Dr Silva,

Your manuscript has been assigned the following reference number: ANIREP-D-11-3189

You will be able to check the progress of your paper by logging in as Author at http://ees.elsevier.com/anirep/

Please note that submission of an article is understood to imply that the article is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content.

Thank you for submitting your manuscript to Animal Reproduction Science.

Kind regards,

D. Jones
Animal Reproduction Science

ANEXO 02 - CHANGES IN THE HORMONAL PROFILE, VAGINAL CYTOLOGY AND OVARIAN ULTRASONOGRAPHIC PATTERN DURING THE ESTRUS CYCLE OF CAPTIVE FEMALE COLLARED PECCARIES (*TAYASSU TAJACU*)

Original do trabalho: Mudanças no perfil hormonal, citologia vaginal e padrão ultra-sonográfico ovariano durante o ciclo estral de fêmeas de catetos (*Tayassu tajacu*) em cativeiro. Submetido para publicação na *Animal Reproduction Science*.

Changes in the hormonal profile, vaginal cytology and ovarian ultrasonographic pattern during the estrus cycle of captive female collared peccaries (*Tayassu tajacu*)

Keilla M. Maia[1], Gislayne C.X. Peixoto[1], Mariana A. Silva[1], José Artur B. Bezerra[1], Thibério S. Castelo[1], Aracelly R.F. Ricarte[1], Moacir F. Oliveira[2], Alexandre R. Silva[1]

[1] Laboratory of Animal Germplasm Conservation, Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, BR 110, Km 47, Costa e Silva, 59625-900, Mossoró, RN, Brazil.

[2] Department of Animal Sciences, UFERSA, Mossoró, RN, Brazil.

Abstract

The objective of the present study was to describe and correlate the changes in the hormonal profile, vaginal cytology and ovarian ultrasonographic pattern during the estrus cycle of four female collared peccaries bred in captivity in the Brazilian semi-arid region. The presence of vaginal mucus, a reddish vaginal mucosa and the vaginal opening (separation of the vulvae lips) was verified for all the animals during the estrogenic peak. Females presented 1.5 estrus cycles in 45 days of evaluation. Estrous cycles lasted 21 ± 5.7 days, being six days for the estrogenic phase and 15 days for the progesterone phase on an average. However, cycles as long as 27 days, and others as short as 15 days were also identified. Estrogen presented a peak value of 55.57 ± 20.47 pg/mL. During the luteal phase, the peak values for progesterone were 35.3 ± 4.4 ng/mL. No relations amongst the hormonal profiles and vaginal cytology were identified during any moment of the cycle ($P > 0.05$), and no significant differences between the proportions of the vaginal cells were identified when comparing the follicular and luteal phases of the estrous cycle. Through ultrasonography, an ovary detection rate of 100% was achieved, and the ovaries appeared as well-defined structures, oval shaped and slightly hypoechoic in relation to the surrounding tissue. The diameter of the ovarian follicles was 0.23 ± 0.1 cm during the moment of the estrogen peak. Corpora lutea were the hyperechoic regions presenting 0.36 ± 0.2 cm identified during the luteal phase. Since no significant relations existed between the hormonal profile and vaginal cytology, it was suggested that the second method was not accurate for estrus monitoring in the above mentioned species. Also, ultrasonographic patterns of the ovary and its structures were for the first time demonstrated during the estrous cycles in collared peccaries.

Introduction

The collared peccary (*Tayassu tajacu*) is a small artiodactyl that belongs to a separate family within the Suiformes, the Dicotylidae (Garcia et al., 2009). Despite the wide distribution from United States to Argentina, collared peccaries (*Tayassu tajacu)* are constantly exposed to threats of deforestation and predatory hunting (Bodmer and Sowls, 1993). As a consequence, these animals were recently classified as vulnerable to extinction in Brazil, and are specially considered critically threatened in the Caatinga and Atlantic Forest biomes (ICMBio, 2011). Knowledge of reproductive biology is of paramount importance to optimize the application of reproductive biotechniques in the conservation of captive collared peccaries (Castelo et al., 2010). However, information on their reproductive aspects is inadequate, and appropriate management practices have not yet been developed for this species (Mayor et al., 2007a).

Routine endocrine monitoring is viewed as a valuable tool for making informed decisions about the reproductive management of wild animals (Brown, 2000). In the Amazon Forest, the use of steroidal dosage for monitoring the onset of the first postpartum estrous was reported and the occurrence of a 17β-estradiol peak at 7 days after parturition was identified in captive collared peccaries (Mayor et al., 2006a). A further study, suggested that the 17β-estradiol dosage presented a concordance in the estrus diagnosis to the vaginal cytology and vulval appearance in these animals (Mayor et al., 2007b). However this affirmation was based only in the subjective evaluation of vaginal smears, and was not supported by statistical analysis. Furthermore, there was a paucity of information related to the progesterone fluctuations during the estrous cycle in the above mentioned species.

The development of reliable methods for visualizing the reproductive tract and monitoring the reproductive cycle of exotic species is required to optimize the breeding management in captivity (Hildebrandt et al., 2000). In recent years, the real-time ultrasound appears as an important tool for the study of the ovarian dynamics during the estrous cycle in many domestic mammals, such as the sow (Schwarz and Wierzchos, 2010) and the doe (Sousa et al., 2011). Additionally, this image technique has been adapted for use in wild animals such as the elephant (Hermes et al., 2000). In collared peccaries, there is only one study that reports the use of ultrasonography for pregnancy diagnosis (Mayor et al., 2005), but no images of the ovarian structures during the estrous cycle are available for the above mentioned species.

The objective of the present study was to describe and correlate the changes in the hormonal profile, vaginal cytology and ovarian ultrasonographic pattern during the estrus cycle of female collared peccaries bred in captivity in the Brazilian semi-arid region.

Material and Methods

Animals

Six sexually mature female collared peccaries with an average (±SD) age and weight of 16 ± 0.4 mo and 20.6 ± 1.1 kg, respectively, were used. The animals belonged to the Centre of Multiplication of Wild Animals from Universidade Federal Rural do Semi-Árido, located in the northeast of Brazil (Mossoró, RN, Brazil; 5 °10=S, 37 °10=W). The climate is typical semi-arid, with an annual temperature ranging from 21 to 36 °C and a daily temperature variation of 7–14 ºC, with an average relative humidity of 68%. The animals were isolated from the others 3 mo before the commencement of

the study and maintained under a 12 h natural photoperiod. They were maintained outdoors in groups of three in paddocks (20 m x 3 m) with a covered area of (3 x 3 m) and fed sow food and fruits (with water available *ad libitum*). The Ethics committee of the Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Brazil approved the experimental protocols, and the animal care procedures adopted (Process CEUA/UFERSA nº 23091.000250/2011-34).

Restraint

Animals were fasted 12 h before the first day of the experiment. During this occasion, they were physically restrained using a hand net and anesthetized using intravenous administration of propofol (Propovan®, Cristalia, Fortaleza, Brazil), given as a bolus (5 mg/kg) (Souza et al., 2009). When the animal showed signs of awakening, additional propofol (approximately 1.25 mg/kg) was given to prolong anesthesia. During the procedure, an indwelling venous catheter was inserted into the cephalic vein for fluid therapy (0.9% physiological saline solution), and the vital signs were monitored. This procedure was conducted in order to perform the abdominal trichotomy of the animals, to facilitate the ovarian ultrasonography.

After the initial procedure, animals were only manually restrained by the use of a hand net at every three days. Procedures were always initiated at 5:00 A.M. and finished at 8:00 A.M, from June to August 2010. During the above mentioned occasions, collection of blood samples and vaginal smears, and ovarian ultrasonography were conducted. Also, alterations in the external genitalia were evaluated as described by Mayor et al. (2007b).

Hormone assays

To measure the serum concentrations of 17b-estradiol and progesterone, blood samples were obtained without sedation every three days. Blood was collected into siliconized tubes by cephalic or saphenous venipuncture and centrifuged at 2000 xg for 15 min within 2 h. The serum was separated and stored at -18 °C until assayed.

Dosing of estradiol was performed through the use of a commercial Kit (Max-Planck Ring 21-D 65205, Human GmbH, Wiesbaden, Germany) containing 12 microtitre strips (MIC) with 8 holes covered with anti-estradiol antibody (rabbit). The procedure was performed according to the recommendations of the kit's manufacturer, by measuring the absorbance at 450 nm, using a reference wavelength of 630-690 nm. A standard curve was used for interpreting the concentration of estradiol in samples from the average absorbance of duplicates. Cross reactions were identified with estrone and estriol – 0.2 %; cortisol, testosterone and progesterone – 0.01%. The analytical sensitivity was determined to approximately 3-6 pg/mL of estradiol.

The dosage of progesterone was conducted using Kit Max Planck Ring 21-D 65205 (Human GmbH, Wiesbaden, Germany) containing 12 microtitre strips (MIC) with 8 holes covered with anti-progesterone antibody (rabbit). Absorbance was carefully measured at 450 nm up to 30 minutes after the end of the reaction, using a 630-690 nm wave length as reference. Cross reactions were identified – 3.5% to 17a-OH-progesterone, corticosterone, 11-11-desoxicorticosterona, desoxicortisol and pregnenolone; and < 0.1% to 17β-estradiol, estriol, testosterone, DHEA-S, cortisol and cortisone. The analytical sensitivity was determined to approximately 0.03-0.07 ng/mL of progesterone.

Vaginal cytology

Vaginal smears were obtained by introducing a cotton tipped swab into the caudal vagina. After rubbing the swab against the vaginal wall, the cells were transferred to a glass slide by gently rolling the swab. Finally, the smear was allowed to air dry and stained with a Diff-Quick stain (Instant-Prov®, Newprov, Pinhais, PR, Brazil). As described for other domestic animals (Schutte, 1967), two hundred cells were counted under light microscopy (x 400), and the results were recorded as the proportions of parabasal, intermediate and superficial cells counted. In brief, basal cells are small with a discrete amount of cytoplasm and a hyper chromatic nucleus. Parabasal cells are small and rounded, with round nuclei and a small amount of cytoplasm. Intermediate cells have a large cytoplasm and are polygonal, rounded or oval. Superficial cells, the largest and oldest epithelial cells of the vagina, bear a pyknotic nucleus and are occasionally enucleate (Mayor et al., 2007). The appearance and the relative proportions of these cell types were correlated to the hormonal levels for each animal. This procedure was conducted in order to identify if the predominance of a determinate cellular type allowed the differentiation between the follicular and luteal phases.

Ovarian ultrasonography

The ovarian dynamics during the estrus cycle was monitored by ultrasonography using a 5–7.5 MHz microconvex array transducer and a B-mode, real-time, portable scanner (Aquila vet, Pie Medical®, Nutricell, Campinas, Brazil). Animals were positioned in dorsal recumbence. Five milliliters of ultrasound transmission gel were applied on the abdominal wall. Transverse and sagittal images of the abdomen were obtained from the pelvis to the diaphragm. The urinary bladder was indentified first to serve as a reference for the other organs. The abdomen was completely scanned, and the kidneys were identified. Caudally to the kidneys, both the ovaries were identified and

evaluated for morphometry, echoic appearance, and echo texture. Images were stored for further analysis.

Statistical analysis

Statistical analyses were conducted with Statview 5.0 (SAS Institute Inc., Cary, USA). Data were expressed as the mean and standard deviation (SD). The existence of correlations between the estrogen and progesterone profile, and also amongst the different vaginal cell types was evaluated by Spearman's correlation test. A simple linear regression model was used to identify associations between the hormonal profile (independent variables) and vaginal cytology (dependent variables). To evaluate the effect of the estrus phase (follicular or luteal phase) on the proportion of the vaginal epithelial cells, data were subjected to ANOVA, using the General Linear Model Procedure (GLM). Data for ovarian morphometry were analyzed through the Student's t test. For all analyses, $P < 0.05$ was considered significant.

Results

From the six female collared peccaries used in the present study, only the data of four females could be reported and used for statistical analysis. The other two individuals were injured during repetitive physical restraint and were excluded in the middle of the experiment.

The presence of vaginal mucus, a reddish vaginal mucosa and the vaginal opening (separation of the vulvae lips) was verified in two animals at three days before the estrogenic peak, and the remains for three days after that peak. For the other two animals, these characteristics were only verified on the exact day of the estrogenic peak.

Hormonal assays

The four female collared peccaries included in the present study presented 1.5 estrus cycles in 45 days of evaluation. Estrous cycles lasted 21 ± 5.7 days, being six days for estrogenic phase and 15 days for progesterone phase on an average. However, cycles as long as 27 days, and others as short as 15 days were also identified. Table 1 summarizes the occurrence of the estrus cycles in these animals and also presents the number and the values for the estrogenic peaks. During the luteal phase, peak values for progesterone were 35.3 ± 4.4 ng/mL ranging from 25.4 to 40 ng/mL.

No significant correlations between 17β-estradiol and progesterone values were verified during the cycle ($P > 0.05$). Figure 1 presents the profile of the reproductive hormones during the estrus cycle of the female collared peccaries.

Vaginal cytology

The presence of parabasal, intermediate and superficial cells was identified in all the vaginal smears, but no basal cells were verified during any moment. Also the presence of erythrocytes and leucocytes, especially neutrophils, was verified in some smears close to the estrogen peak. No relations amongst the hormonal profiles and vaginal cytology were identified during any moment of the cycle ($P > 0.05$).

A smooth predominance of parabasal cells followed by enucleated superficial cells was detected during all the cycle in all the individuals (Figure 2). After grouping data from all the animals, no significant differences between the proportions of vaginal cells were identified when comparing the follicular and luteal phases of the estrous cycle (Figure 3). Significant negative correlations (R=78.4%) were verified between the parabasal and superficial cells for three animals during the estrus cycle ($P < 0.05$).

Ovarian ultrasonography

At the time of the ultrasonographic examinations, all ovaries appeared as well-defined structures, oval shaped and slightly hypoechoic in relation to the surrounding tissue (Figure 4). The ovaries showed heterogeneous echotexture when follicles and/or corpora lutea were present in the parenchyma. Ovarian morphometry detected by ultrasound is summarized in Table 2. The right and left ovaries were symmetric structures ($P > 0.05$). The length of the right ovary was significantly higher in the luteal phase when compared to follicular phase ($P<0.05$).

The visualization of the ovaries was possible by utilizing both the frequencies of the microconvex transducer (5.0/7.5 MHz). Although the presence of a bursa ovarica made visualization of the ovaries difficult, an ovary detection rate of 100% was achieved throughout the study. Sometimes, the identification of the ovarian structures was not possible, which made the accurate monitoring of the ovarian dynamics difficult all along the estrus cycle.

Ovarian follicles were identified in all the animals during the estrogenic peak as regular circular structures containing anechoic fluid, sometimes projected onto the surface of the ovary. During this moment, the diameter of the follicles was 0.23 ± 0.1 cm (Figure 4A). Corpora lutea were hyperechoic regions presenting 0.36 ± 0.2 cm (Figure 4B) identified during the luteal phase.

Discussion

Present results demonstrate estrous cycles of 21 ± 5.7 days in average, for female collared peccaries bred in captivity under semi-arid climate. Similar results were

found for the peccaries captured in Amazon under equatorial climate, in which cycles of 23.5 ± 2.1 days were described (Mayor et al., 2007b). Interestingly, shorter and longer estrus cycles were verified in the present study. This condition could be a consequence of individual variation amongst the peccaries. The existence of longer cycles was also previously reported for the Amazonian collared peccaries that presented cycles of 27 days (Mayor et al., 2007b), and for the female of this species bred under temperate climate that presented estrus cycles ranging from 22 to 28 days (Sowls, 1997).

The varied duration of the estrus cycles was previously described for Saanen goats bred under semiarid climate (Lopes Jr. et al., 2001). These authors classified goat cycles as short – <17 days, normal – 17 to 25 days, and long – >25 days; and suggested that long cycles could be associated to a certain anestrous degree, as a consequence of the persistence of the corpus luteum. In fact, a larger luteal phase (19.5 ± 2.1 days) was verified for the female collared peccaries when presenting longer cycles. On the other hand, short intervals between estrogenic elevations could possibly be an indication for the occurrence of different follicular waves during the estrus cycle of collared peccaries, since that it was previously suggested that there are follicular waves involving the synchronous growth of a cohort of follicles, from which several seem to be selected to continue development in this species (Mayor et al., 2006b). The occurrence of different follicular waves in the same cycle is well studied in cattle, in which the majority of estrous cycles are comprised of two or three such waves (Adams et al., 2008); but in peccaries, these events lack for further investigations.

The alterations observed in the external genitalia during the estrus were similar to those reported for the Amazon collared peccaries (Mayor et al., 2007b), and an individual variation with regards the duration of this characteristics was evidenced. In

fact, this evidence is also described for domestic sows and is related to the action of the high estrogen levels on the female genital system (Ostersen et al., 2010).

The reproductive aspects of some species could be greatly affected by the climate conditions (Koziorowsky et al., 2006; Chemineau et al., 2008). The great majority of studies on female collared peccaries reproduction were conducted in Amazon, under typical equatorial climate (Mayor et al. 2006ab; Mayor et al., 2007ab). In general, there were no great differences on the reproductive cycle between collared peccaries bred under semiarid conditions, as reported in the present study, and those bred under equatorial climate (Mayor et al., 2006ab; Mayor 2007ab) or those studied under temperate climate (Sowls, 1997). In fact, female collared peccaries were previously classified as aseasonally polyestrous (Gottdenker and Bodmer, 1998).

Values found for the estrogen peak in the present study, 55.6 pg/mL, were similar to those reported for the same species under equatorial conditions, 53.4 ± 8.1 pg/mL (Mayor et al., 2006a). Regarding the luteal phase, peak values verified for progesterone, 35.3 ± 4.4 ng/mL, were similar to those reported for the Amazon collared peccaries, 30,8 ± 4,9 ng/mL (Mayor et al., 2006a). The stress, as a consequence of management practices, could negatively interfere in the dynamics of the peptide and steroidal hormones involved to the reproductive functions (Dobson et al., 2003). To the best of knowledge, all the research conducted on collared peccaries that report hormonal measurements (Mayor et al., 2006a; Mayor et al., 2007b) are based on blood collection, but it was assumed that the repetitive restraint of the animals could negatively interfere in the results for the hormone assays. Therefore, it was suggested that further studies should be conducted in order to monitor the reproductive cycle of this species by using fecal metabolites as reported for other wild animals (Ghosal et al., 2010).

It was previously demonstrated that female collared peccaries in the follicular phase presented a thicker vaginal epithelium than pregnant females and females in the luteal phase, as detected by vaginal histology (Mayor et al., 2004). Furthermore, a correspondence between vaginal cytology and estradiol profile was also suggested for the same species bred under equatorial climate (Mayor et al., 2007b). However, present results indicate that there are no significant changes in the proportion of the epithelial cells between the follicular and luteal phases by vaginal cytological examination. Also, no significant relation amongst the vaginal epithelial cells and reproductive steroids were found during the estrus cycle of collared peccaries bred in captivity under semiarid conditions. The existence of variations between individuals or even between different groups with regards to the reproductive aspects could not be discarded.

The effectiveness of vaginal cytology as a method for estrus detection was confirmed in different species such as the Yucatan miniature pig (Rodgers et al., 1993) and the bear (Frederick et al., 2010). In the dog, vaginal cytology is an effective method largely used for estrous monitoring and identification of the estrous phases (Moxon et al., 2010). This is due to the high responsiveness of the canine vaginal epithelium to hormonal fluctuations, especially estrogens, causing changes in the cellular profile. Increasing estrogen concentrations determine cell proliferation, with thickening of the vaginal epithelium layers and consequent cell differentiation (Roszel, 1977; Concannon e Digregorio, 1986). The presence of large amounts of estrogen-receptor alpha was identified in stromal and superficial epithelial cells of the canine vagina, proving the large influence of estrogens on this tissue (Vermeirsh et al., 2002). The intensity of the vaginal epithelium response to the estrogen fluctuations may vary amongst the different species and the collared peccaries probably present a low response to that hormone.

Ultrasonography was a practical, reliable and accurate tool for ovarian evaluation in collared peccaries. According to Hildebrandt et al. (2000), the main limitation of repeatable ultrasound examinations in non-domestic animals is the risk of physical or chemical restraint. Unfortunately, this risk was evident and the continuous physical restraint provoked injuries in two individuals, leading to their exclusion of the experiment. In addition, the poor availability of biological material is a major limiting factor for the study of reproductive physiology and the set up of adapted technologies in endangered species (Comizolli et al., 2000).

Regarding ovarian morphometry, dimensions found by ultrasonography were similar to those found through ovarian examination during necropsy of individuals bred under the same conditions that presented 1.3 ± 0.2 cm for length and 1.0 ± 0.1 for width in the luteal phase, without differences between the right and left ovaries (Lima, 2011). However, present values are higher than those reported for individuals captured from the Amazon Forest, submitted to the collection of genital trait and ovarian examination in which measures of 0.6 ± 0.1 cm for length and 0.5 ± 0.1 cm for width were described for both the follicular and luteal phases (Mayor et al., 2006b). Discrepancies related to ovarian morphometry could be due the fact that animals in the present study were bred under captivity since their birth, which lead them to better food conditions and a higher body weight (~20.6 kg) than those captured from the wildlife in Amazon (~19 kg).

The accurate monitoring of the sexual cycle of collared peccaries through ultrasonography was hampered by the anatomical characteristics of the ovary. This organ is completely enveloped by a bursa ovarica (Mayor et al., 2006b), which sometimes hindered the identification of the ovarian structures. Dimensions found for follicular structures in the present study correspond to those previously described for large antral follicles (~0.23 cm), through histological analysis, for the same species

(Mayor et al., 2006b). Otherwise, the luteal diameter found in the same previous study (~0.7 cm) was higher than data found by ultrasonography. Probably, the ultrasound could not evaluate the higher dimension of the corpora lutea, since this structure grows into the ovarian parenchyma.

The present study provided relevant data for knowledge of the reproductive physiology of the female collared peccary, which will be important for the development of reproductive biotechniques in this species. It was demonstrated that no significant relations exist between the hormonal profile and vaginal cytology, which suggests that the second method is not accurate for estrus monitoring in this species. To the best of knowledge, ultrasonographic patterns of the ovary and its structures were for the first time demonstrated during the estrous cycle in collared peccaries.

Acknowledgements

The authors would like to thank Dr. Sidney M. Sakamoto from the *Multidisciplinary Laboratory*/UFERSA for technical assistance during the hormonal assays; and M.Sc. Bruno R. Simão from the *Departamento de Ciências Ambientais e Tecnológicas/*UFERSA for statistical assistance. K.M. Maia, G.C.X. Peixoto, M.A. Silva, J.A.B. Bezerra, A.R.F Ricarte, and A.R. Silva were supported by grants from CNPq (National Research Council).

References

Adams, G. P., Jaiswal, W., Singh, J., and Malhi, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. Theriogenology **69**, 72-80.

Bodmer, R. E., and Sowls, L. K. (1993). The colared peccary (Tayassu tajacu). In: 'Status Survey and Conservation Action Plan: Pigs Peccaries and Hippos'. (Ed. W.L.R. Oliver). pp. 7-13. (IUCN: Gland, Switzerland).

Brown, J. L. (2000). Reproductive endocrine monitoring of elephants: an essential tool for assisting captive management. Zoo Biology **19**, 347-367.

Castelo, T. S., Bezerra, F. S. B., Lima, G. L., Alves, H. M., Oliveira, I. R. S., Santos, E. A. A., Peixoto, G. C. X., and Silva, A. R. (2010). Effect of centrifugation and sugar supplementation on the semen cryopreservation of captive collared peccaries (Tayassu tajacu). Cryobiology **61**, 275- 279.

Chemineau, P., Guillaume, D., Migaud, M., Thiéry, J. C., Pellicer-Rubio, M. T., and Malpaux, B. (2008). Seasonality of reproduction in mammals: Intimate regulatory mechanisms and practical implications. Reprod. Dom. Anim. **43**, 40-47.

Concannon, P. W., and Digregorio, G. B. (1986). Canine vaginal cytology. In 'Small animal reproduction and infertility: A clinical approach to diagnosios and treatment'. (Editor: T.J. Burke.) pp. 96-111. (Lea and Febiger: Philadelphia).

Comizolli, P., Mermillod, P., and Mauget, R. (2000). Reproductive biotechnologies for endangered mammalian species. Reprod. Nutr. Dev. **40**, 493-504.

Dobson, H., Ghuman, S., Prabhakar, S., and Smith, R. (2003). A conceptual model of the influence of stress on the female reproduction. Reproduction **125**, 151-163.

Frederick, C., Kyes, R., Hunt, K., Collins, D., Durrant, B., and Wasser, S.K. (2010). Methods of estrus detection and correlates of the reproductive cycle in the sun bear (Helarctos malayanus). Theriogenology **74**, 1121-1135.

Ghosal, R., Sukumar, R., and Seshagiri, P. B. (2010). Prediction of estrus cyclicity in Asian elephants (Elephas maximus) through estimation of fecal progesterone

metabolite: development of an enzyme-linked immuno-sorbent assay. Theriogenology **73**, 1051–1060.

Garcia, A. R., Kahwage, P. R., and Ohashi, O. M. (2009). Aspectos reprodutivos de caititus (Tayassu tajacu). [Reproductive features of collared peccary (Tayassu tajacu)]. Rev. Bras. Reprod. Anim. **33**, 71-81.

Gottdenker, N., and Bodmer, R. E. (1998). Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. J. Zool. **245**, 423–430.

Hermes, R., Olson, D., Goritz, F., Brown, J., Schmitt, D. L., Hagan, D., Petterson, J. S., Fritsch, G., and Hildebrandt, T. B. (2000). Ultrasonography of the estrous cycle in female African elephants (Lexodonta africana). Zoo Biology **19**, 369-382.

Hildebrandt, T. B., Hermes, R., Jewgenow, K., and Goritz, F. (2000). Ultrasonography as an important tool for the development and application of reproductive technologies in non-domestic species. Theriogenology **53**, 73-84.

ICMBIO – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. (2011). Seis espécies de mamíferos dotados de casco correm risco de extinção no Brasil. [Six species of ungulate mammals are threatened for extinction in Brazil]. Available at http://www.icmbio.org.br [Verified february 25, 2011.]

Koziorowski, M., Seremak, B., Gizejewski, Z., Gilun, P., Koziol, K., Kowal, E., Jagusztyn, B., Sulik, M., Szeleszczuk, O., Olech, W., Soderquist, L., and Glogowski, J. (2006). Season controlled reproduction of undomesticated animals. Reproductive Biology **6**, 137-149.

Lima, G (2001). 'Caracterização e conservação da população de folículos ovarianos pré-antrais de catetos (Tayassu tajacu Linnaeus, 1758)'. [Characterization and conservation of preantral ovarian follicular population of collared peccaries (Tayassu tajacu

Linnaeus, 1758)]. Doctoral Thesis (Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, Brasil.)

Lopes Júnior, E. S., Rondina, D., Simplicio, A. A., and Freitas, V. J. F. (2001). Oestrus behaviour and performance in vivo of saanen goats raised in northeast of Brasil. Livest. Res. Rural Dev. **13** (6).

Mayor, P., Jori, F., and López-Béjar, M. (2004). Anatomicohistological characteristics of the tubular genital organs of the female collared peccaries (Tayassu tajacu) from North-eastern Amazon. Anat. Histol. Embriol. **33**, 65-74.

Mayor, P., Galvez, H., Guimarães, D. A., López-Gatius, F., and López-Béjar, M. (2007a). Serum estradiol-17beta, vaginal cytology and vulval appearance as predictors of estrus cyclicity in the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the eastern Amazon region. Anim. Reprod. Sci. **97**, 165–174.

Mayor, P., Guimarães, D. A., Lopez-Gatius, F., and Lopez-Bejar, M. (2006a). First postpartum estrus and pregnancy in the female collared peccary (Tayassu tajacu) from the amazon. Theriogenology **66**, 2001-2007.

Mayor, P., Fenech, M., Bodmer, R., and Lopez-Bejar, M. (2006b). Ovarian features of the wild collared peccary (Tayassu tajacu) from the northeast Peruvian Amazon. Gen. Comp. Endocrinol. **147**, 268-275.

Mayor, P., Lopez-Gatius, F., and Lopez-Bejar, M. (2005). Integrating ultrasonography within the reproductive management of the collared peccary (Tayassu tajacu). Theriogenology **63**, 1832–1843.

Mayor, P., Guimarães, D. A., Pendu, Y. L., Silva, J. V., Jori, F., and López-Béjar, M. (2007b). Reproductive performance of captive collared peccaries (Tayassu tajacu) in the eastern Amazon. Anim. Reprod. Sci. **102**, 88-97.

Moxon, R., Copley, D., and England, G. C. (2010). Quality assurance of canine vaginal cytology: a preliminary study. Theriogenology **74**, 479-485.

Ostersen, T., Cornou, C., and Kristensen, A.R. (2010). Detecting oestrus by monitoring sows' visits to a boar. Comp. Elect Agric. **74**, 51–58.

Rodgers, J. B., Sherwood, L. C., Fink, B. F., and Sadove, R. C. (1993). Estrus detection by using vaginal cytologic examination in miniature swine. Lab. Anim. Sci. **43**, 597-602.

Roszel, J. F. (1977). Normal canine vaginal cytology. Vet. Clin. North Am. **7**, 667-681.

Schutte, A. P. (1967). Canine Vaginal Citology: I – Technique and cytological morphology. J. Small. Pratc. **8**, 301-306.

Scwarz, T., and Wierzchos, E. (2010). The distribution of corpora lutea and ovarian follicular development in pregnant goats. Reprod. Biol. **10**, 53-66.

Sousa, F. C., Melo, C. H. S., Teles-Filho, A. C. A., Avelar, S. R. G., Moura, A. A. A., Martins, J. A. M., Freitas, J. V. F, and Teixeira, D. I. A (2011). Ovarian follicular response to different hormonal stimulation treatments in Canindé goats. Anim. Reprod. Sci. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.02.015

Souza, A. L. P., Castelo, T. S., Queiroz, J. P. A. F., Barros, I. O., Paula, V. V., Oliveira, M. F., and Silva, A. R. (2009). Evaluation of anesthetic protocol for the collection of semen from captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) by electroejaculation. Anim. Reprod. Sci. **116**, 370–375

Sowls, L. K., (1997). 'Javelines and Other Peccaries: Their Biology, Management and Use'. (Texas A. and M. University Press: Texas, USA.)

Vermeirsh, H., Van der Broeck, W., and Simoens, P. (2002). Immunolocalization of sex steroid hormone receptors in canine vagina and vulvar tissue and their relation to sex steroid hormone concentrations. Reprod. Fertil. Dev. **14**, 251-258.

Table1

Estrogenic peaks order, estrus cycle length and values for 17β-estradiol peak in female collared peccaries (n=4) bred in captivity under semiarid climate.

Animal	Estrogenic peaks order	Estrus cycle length (days)	Estradiol peak concentrations (pg/mL)
1	1	27	65.8
	2		45.3
2	1	15	75.2
	2	24	61.7
	3		50.1
3	1	27	97.7
	2		53.0
4	1	15	42.3
	2	18	38.3
	3		26.3
Means ± SD		21± 5.7	55.6 ± 20.5

Table 2.

Ovarian morphometry detected by ultrasonographic evaluation of female collared peccaries (n=4) during different phases of the estrous cycle.

	Right ovary		Left Ovary	
	Length (cm)	Width (cm)	Length (cm)	Width (cm)
Follicular phase	1.0 ± 0.1^{a}	0.9 ± 0.1^{a}	1.0 ± 0.1^{a}	0.9 ± 0.1^{a}
Luteal phase	1.2 ± 0.1^{b}	1.0 ± 0.1^{a}	1.0 ± 0.1^{a}	0.9 ± 0.1^{a}

[a,b] Within a column, values followed by different superscript differ ($P < 0.05$).

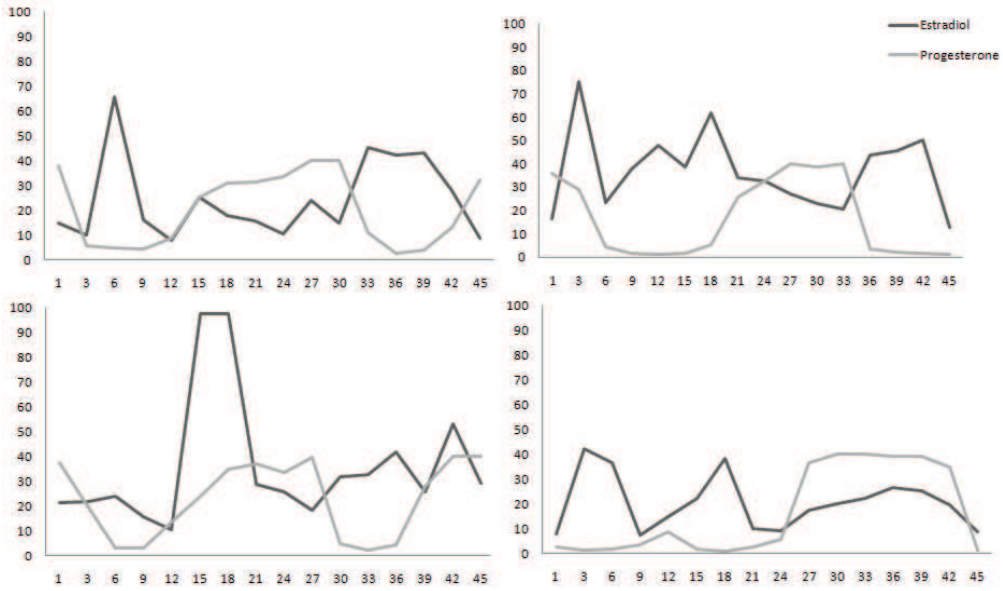

Figure 1. Serum estradiol (pg/ml) and progesterone (ng/ml) profiles of cyclic female collared peccaries (*Tayassu tajacu*) evaluated for 45 days. Each graph represents a female (n=4).

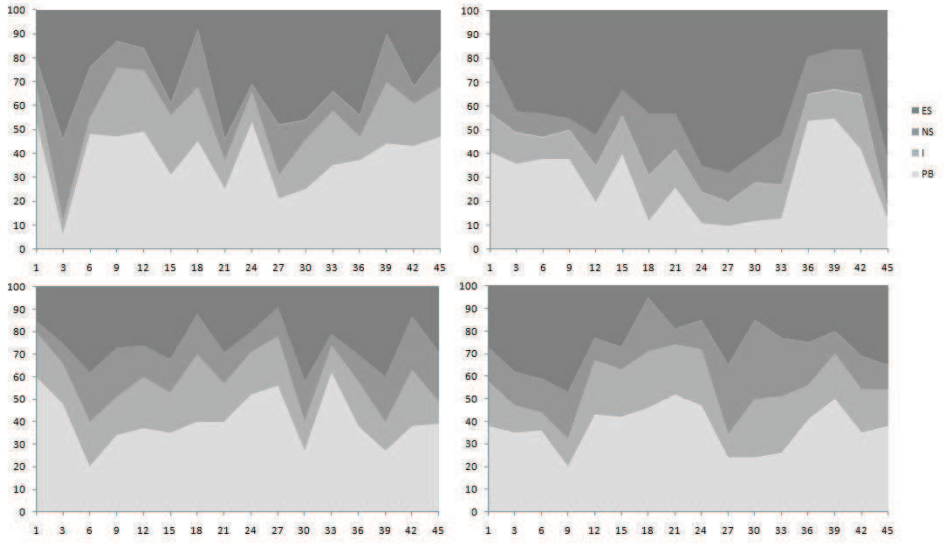

Figure 2. Proportion of epithelial vaginal cells classified as parabasal (PB), intermediate (I), nucleated superficial (NS) and enucleated superficial (ES) of cyclic female collared peccaries (*Tayassu tajacu*) evaluated for 45 days. Each graph represents a female (n=4).

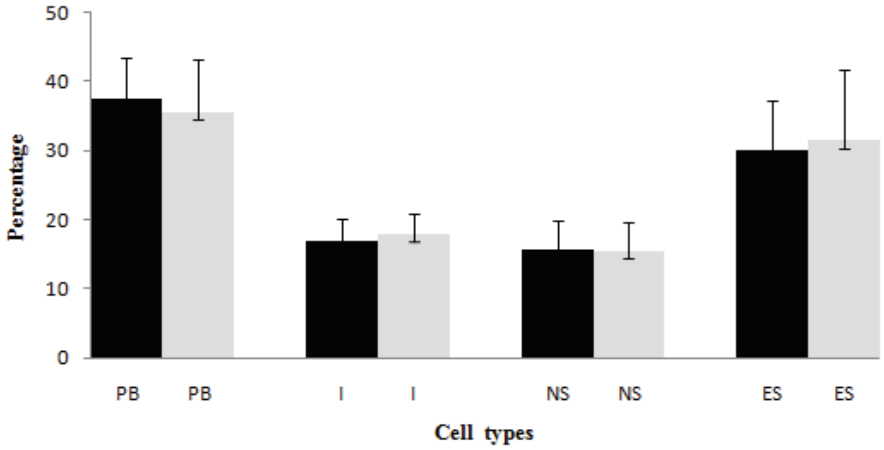

Figure 3. Percentage values for epithelial vaginal cells classified as parabasal (PB), intermediate (I), nucleated superficial (NS) and enucleated superficial (ES) of female collared peccaries (*Tayassu tajacu* – n = 4) during follicular (black) and luteal (gray) phases of the estrous cycle (P > 0.05).

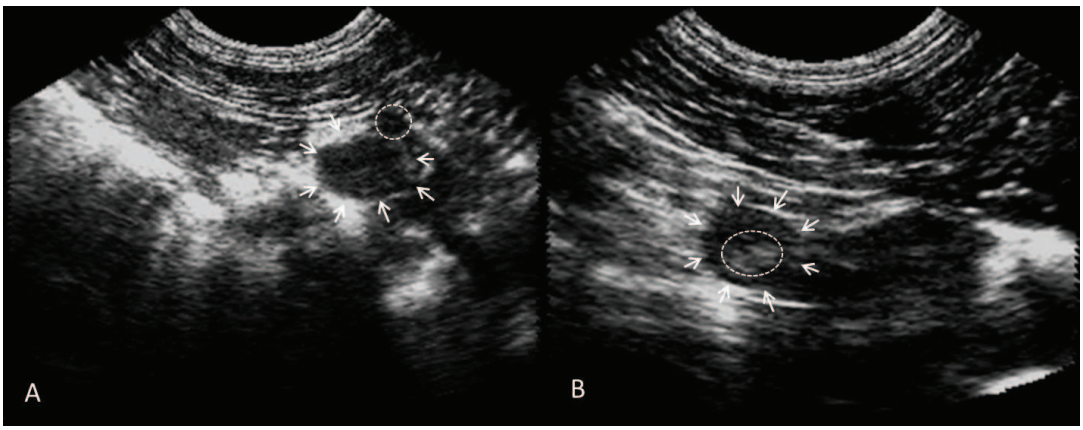

Figure 4. Ultrasonographic images of ovaries (white arrows) of cyclic female collared peccaries during follicular phase (A) with a large antral follicle (circle) projected onto ovary surface; and during luteal phase (B), showing the presence of a corpus luteum (ellipsis).