



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

ANDREZA VIEIRA BRASL

BIOMETRIA E TÔNUS TESTICULARES E CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE
TESTOSTERONA EM MACHOS DE ANTAS BRASILEIRAS (*Tapirus terrestres*) NOS
BIOMAS PANTANAL E CERRADO, BRASIL

MOSSORÓ

2022

ANDREZA VIEIRA BRASIL

BIOMETRIA E TÔNUS TESTICULARES E CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE
TESTOSTERONA EM MACHOS DE ANTAS BRASILEIRAS (*Tapirus terrestres*) NOS
BIOMAS PANTANAL E CERRADO, BRASIL

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Reprodução Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Mestre.

Orientador: Alexandre Rodrigues Silva, Prof.
Dr.

MOSSORÓ

2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

BB823 Brasil, Andreza.
b BIOMETRIA E TÔNUS TESTICULARES E CONCENTRAÇÕES
 SÉRICAS DE TESTOSTERONA EM MACHOS DE ANTAS
 BRASILEIRAS (Tapirus terrestres) NOS BIOMAS
 PANTANAL E CERRADO, BRASIL / Andreza Brasil. -
 2022.
 57 f. : il.

 Orientador: Alexandre Rodrigues Silva.
 Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
 Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
 Ciência Animal, 2022.

 1. Animais selvagens. 2. Megafauna. 3.
 Perissodactyla. 4. Ungulados. 5. Reprodução. I.
 Silva, Alexandre Rodrigues, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

ANDREZA VIEIRA BRASIL

BIOMETRIA E TÔNUS TESTICULARES E CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE
TESTOSTERONA EM MACHOS DE ANTAS BRASILEIRAS (*Tapirus terrestris*) NOS
BIOMAS PANTANAL E CERRADO, BRASIL

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Reprodução Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Mestre.

Defendida em: 29 / 04 / 2 022 .

BANCA EXAMINADORA

ALEXANDRE RODRIGUES
SILVA:70298254387

Assinado de forma digital por ALEXANDRE
RODRIGUES SILVA:70298254387
Dados: 2022.04.29 12:25:57 -03'00'

Alexandre Rodrigues Silva, Prof. Dr. (UFERSA)
Presidente

LEONARDO LELIS DE MACEDO
COSTA:00991105478

Assinado de forma digital por
LEONARDO LELIS DE MACEDO
COSTA:00991105478
Dados: 2022.04.29 17:27:41 -03'00'

Leonardo Lelis de Macedo Costa, Prof. Dr. (UFERSA)

Membro Examinador

Documento assinado digitalmente



GUSTAVO FERRER CARNEIRO
Data: 29/04/2022 16:55:04-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Gustavo Ferrer Carneiro, Prof. Dr. (UFRPE)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Aos que contribuíram para a minha formação pessoal e acadêmica, tornando possível a caminhada até aqui e a realização e conclusão deste trabalho.

Aos meus amigos e familiares que continuaram me apoiando nestes tempos difíceis.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo contribuir para o conhecimento sobre a fisiologia reprodutiva da Anta Brasileira (*Tapirus terrestris*) por meio da descrição das concentrações séricas de testosterona, biometria testicular e tônus testicular de indivíduos que vivem nos biomas Pantanal e Cerrado do Brasil, verificando a existência de sazonalidade para a espécie, e investigando correlações entre esses parâmetros reprodutivos e idade e peso individual. Os dados meteorológicos (temperatura do ar, velocidade do vento, umidade relativa e radiação global) dos locais de estudo foram caracterizados por meio de estações automatizadas do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). De 2015 a 2020, foram coletados dados de campo de 22 e 11 antas selvagens machos dos biomas Pantanal e Cerrado, respectivamente. Após a captura e contenção química, foram estimadas a idade e o peso dos animais. Amostras de sangue foram coletadas para determinar as concentrações séricas de testosterona usando radioimunoensaio. As medidas de biometria testicular incluíram largura, comprimento, altura e volume, enquanto o tônus testicular foi atribuído usando pontuações de 3 (firme) a 1 (suave). A idade, o peso e as concentrações de testosterona dos animais não diferiram entre os dois biomas ($P > 0,05$). Correlações positivas foram encontradas entre idade e peso ($\rho = 0,86$; $P < 0,001$), e níveis séricos de testosterona com idade ($\rho = 0,45$; $P = 0,0047$) e peso ($\rho = 0,51$; $P = 0,0011$). O volume testicular foi positivamente correlacionado com a idade ($\rho = 0,75$; $P < 0,0001$), peso ($\rho = 0,65$; $P = 0,0011$) e níveis séricos de testosterona ($\rho = 0,42$; $P = 0,0081$). Além disso, o tônus testicular em indivíduos adultos (> 48 meses) foi significativamente maior do que em indivíduos mais jovens ($P < 0,05$). A consistência testicular foi positivamente correlacionada com o peso ($\rho = 0,36$; $P = 0,0241$) e os níveis séricos de testosterona ($\rho = 0,38$; $P = 0,0174$). O efeito sazonal na reprodução da anta foi ausente, mas o tônus testicular foi influenciado pela velocidade do vento ($\rho = 0,37$; $P = 0,0211$) e umidade do ar ($\rho = 0,37$; $P = 0,0262$). Este estudo é a primeira descrição científica de parâmetros reprodutivos de machos de Anta Brasileira.

Palavras-chave: Animais selvagens. Megafauna. Perissodactyla. Ungulados. Reprodução. Monitoramento hormonal.

ABSTRACT

This study aimed to contribute to the knowledge about the reproductive physiology of wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) by describing the serum testosterone concentrations, testicular biometry, and testicular tone of individuals living in the Pantanal and Cerrado biomes of Brazil, verifying the existence of reproductive seasonality for the species, and investigating correlations among these reproductive parameters and individual age and weight. Meteorological data (air temperature, wind speed, relative humidity, and global radiation) of the study sites were characterized through automated stations of the National Institute of Meteorology (INMET). From 2015 to 2020, field data were collected from 22 and 11 wild male lowland tapirs from the Pantanal and Cerrado biomes, respectively. After capture and chemical restraint, the age and weight of the animals were estimated. Blood samples were collected to determine serum testosterone concentrations using radioimmunoassay. Testicular biometry measurements included width, length, height, and volume, while testicular tone was assigned using scores from 3 (firm) to 1 (soft). Animal age, weight, and testosterone concentrations did not differ between the two biomes ($P > 0.05$). Positive correlations were found between age and weight ($\rho = 0.86$; $P < 0.001$), and serum testosterone levels with both age ($\rho = 0.45$; $P = 0.0047$) and weight ($\rho = 0.51$; $P = 0.0011$). Testicular volume was positively correlated with age ($\rho = 0.75$; $P < 0.0001$), weight ($\rho = 0.65$; $P = 0.0011$), and serum testosterone levels ($\rho = 0.42$; $P = 0.0081$). In addition, testicular tone in adult subjects (> 48 months) was significantly higher than in younger subjects ($P < 0.05$). Testicular consistency was positively correlated with weight ($\rho = 0.36$; $P = 0.0241$) and serum testosterone levels ($\rho = 0.38$; $P = 0.0174$). Seasonal effect on tapir reproduction was absent, but testicular tone was influenced by wind speed ($\rho = 0.37$; $P = 0.0211$) and air humidity ($\rho = 0.37$; $P = 0.0262$). This study is the first scientific description of reproductive parameters of male lowland tapirs.

Keywords: Wildlife. Megafauna. Perissodactyla. Ungulate. Reproduction. Hormone Measurement.

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1.** Relationship between age (months) and weight (kg) of wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*; n = 33) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.....53
- Fig. 2.** Relationship between age (months) and serum testosterone concentrations (ng/ml) of wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*; n = 33) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.....54
- Fig. 3.** Relationship between age (months) and testicular volume (cm³) of wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*; n = 33) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.....54

LISTA DE TABELAS

Table 1. Mean values ($\pm$ SEM) for the environmental characteristics at the day of the reproductive data collection in the wild male lowland tapirs (<i>Tapirus terrestris</i>) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.....	50
Table 2. Mean values ($\pm$ SEM) for the age (month), weight (Kg), and serum testosterone levels (pg/mL) in wild lowland tapirs (<i>Tapirus terrestris</i>) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.....	50
Table 3. Mean values ($\pm$ SEM) for testicular biometry and tone in wild lowland tapirs (<i>Tapirus terrestris</i>) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.....	51
Table 4. Mean values ($\pm$ SEM) for the biological and reproductive parameters according to the age group in wild lowland tapirs (<i>Tapirus terrestris</i>) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.....	52
Table 5. Mean values ($\pm$ SEM) for age, weight, serum testosterone levels, testicular biometry and tone in wild lowland tapirs (<i>Tapirus terrestris</i>) considering the dry (n = 19) and wet (n = 22 data) seasons in Brazilian biomes.....	53

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
REVISÃO DE LITERATURA.....	13
- ASPECTOS ECOLÓGICOS RELACIONADOS À ANTA BRASILEIRA	13
- ASPECTOS REPRODUTIVOS	14
- MONITORAMENTO REPRODUTIVO	15
- BIOMETRIA TESTICULAR	16
- SAZONALIDADE REPRODUTIVA	18
REFERÊNCIAS	20
JUSTIFICATIVA.....	28
HIPÓTESES CIENTÍFICAS	29
OBJETIVOS.....	30
CAPÍTULO 1:	31
CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
PERSPECTIVAS	56
ANEXO 1 - RESUMO	57

INTRODUÇÃO

A anta (*Tapirus terrestris*), também conhecida como “tapir” ou “anta-brasileira”, é um mamífero pertencente à ordem Perissodactyla, a qual também pertencem os equinos e rinocerontes, e à família Tapiridae (PEREIRA, SANTOS e BORGES, 2017). São macrovertebrados remanescentes do período Pleistoceno que habitam em mais de 10 países da América Latina (MAY-JÚNIOR, 2011; HOLANDA, RIBEIRO e FERIGOLO, 2012).

Esses animais são considerados os maiores mamíferos terrestres da América do Sul (OLIVEIRA et al., 2018). Sua anatomia interna e fisiologia são consideravelmente semelhantes às do cavalo doméstico e de outras espécies da mesma ordem (PEREIRA et al., 2015). Contudo, diferentemente dos outros tapirídeos, o *T. terrestris* possui quatro dedos nos membros torácicos, e três nos membros pélvicos (PEREIRA, SANTOS e BORGES, 2017).

São animais herbívoros de grande importância ambiental como dispersores de sementes, principalmente espécies de sementes grandes, especialmente de palmeiras, mantendo a diversidade de plantas (GALETTI et al., 2001). Além disso, atuam como reguladores ambientais dentro das cadeias alimentares (PEREIRA, SANTOS e BORGES, 2017).

Sabe-se que são animais de hábitos solitários, só sendo possível observá-los acompanhados nas épocas de reprodução e de amamentação (PEREIRA; SANTOS e BORGES, 2017). Não há evidências de sazonalidade reprodutiva, contudo podem apresentar maior atividade reprodutiva antes da estação chuvosa (PUKAZHENTHI et al. 2013). A gestação na espécie brasileira dura em torno 371 e 399 dias, nascendo, normalmente, apenas um filhote por gestação com um intervalo entre partos de aproximadamente 18 meses (KASMAN, MCCOWAN e LASLEY, 1985; PUKAZHENTHI et al., 2013).

Embora não seja considerada ameaçada de extinção, a anta brasileira é vulnerável principalmente à caça e à fragmentação de seu habitat (GALETTI et al., 2001). Por serem herbívoros de grande alcance, ainda se expõem a outros riscos que afetam a sua sobrevivência a longo prazo, como a expansão da agricultura e pecuária em grande escala, atropelamentos, contaminação por metais pesados e pesticidas e maior exposição a doenças (MEDICI e DESBIEZ, 2012). O que tem gerado o declínio das populações desta espécie, tornando necessárias ações voltadas para a conservação pautadas no acréscimo de informações sobre a

espécie (TÓFOLI, 2006; BORGES et al., 2020). Segundo a IUCN, estima-se uma redução populacional pouco maior que 30% esteja acontecendo nas últimas três gerações (33 anos), e que esta deva continuar também nas próximas três gerações, fazendo com que a espécie seja considerada vulnerável por esta organização (IUCN, 2019). Sendo assim, é de grande importância o desenvolvimento de estudos que gerem informações sobre tal espécie, particularmente sobre sua reprodução.

Os esforços para conservação devem ser síncronos e incluir programas de reprodução em cativeiro com o objetivo de minimizar perdas (WILDT et al., 2010). Os esforços e reprodução por sua vez exigirão uma combinação de reprodução natural estratégica e uso de tecnologias de reprodução assistida. E para que ambas as abordagens alcancem desempenho satisfatório, é crucial entender plenamente a biologia reprodutiva básica da espécie (PUKAZHENTHI et al. 2013). Neste sentido, a presente dissertação vem apresentar dados inéditos a respeito de diferentes aspectos da fisiologia reprodutiva masculina em antas brasileiras.

REVISÃO DE LITERATURA

- Aspectos Ecológicos Relacionados à Anta Brasileira

A anta brasileira ocorre primordialmente em florestas tropicais baixas, mas também pode ser encontrada em locais secos como os chacos boliviano e paraguaio. No Brasil, ela ocupa principalmente os biomas Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal. A distribuição geográfica histórica das antas abrangia originalmente cerca de 13 km². Apesar da abrangente distribuição, a espécie já é considerada extinta em alguns locais da Amazônia e do Acre (Silva & Drumond 2009; Rosas & Drumond 2009).

A anta é um animal de hábitos solitários, contudo, é possível avistar indivíduos acompanhados, podendo ser macho e fêmea em pares reprodutivos ou fêmea com filhote. Esta espécie tem hábitos noturnos, costumando se alimentar nas primeiras horas do dia, e descansar durante as horas mais quentes (INCAB e IPÊ, 2019). Seu habitat é predominantemente as florestas, sobretudo matas de galeria ao longo de cursos de água. Todavia, frequentam outros habitats em busca de alimentos, ou apenas de passagem quando estão viajando para as áreas que costumam frequentar (MEDICI et al., 2012).

Quanto a seus hábitos alimentares, é um animal herbívoro, alimentando-se sobretudo de frutos, brotos, folhas, cascas de árvore etc. A proporção relativa do consumo de frutas na dieta de uma anta pode variar de 3% na Guatemala para a anta de Baird (VETTORAZZI, 2006) a 33% na Amazônia peruana para a anta brasileira (BODMER, 1991). Sendo assim, a anta é considerada um frugívoro de grande porte, que atua na dispersão de sementes, considerado o estágio chave para no ciclo de vida das plantas com profundas implicações para a sucessão, regeneração e conservação dos ecossistemas (O'FARRILL et al., 2013). De modo geral, os frugívoros de grande porte apresentam um desempenho notável, sendo capazes de estruturar as comunidades de plantas em diferentes escalas, e mantendo a sua diversidade. Isso ocorre porque são capazes de ingerir mais frutos, comer sementes maiores e dispersá-los a distâncias maiores do que os frugívoros de pequeno porte (JORDANO et al., 2007; GUIMÃRAES et al., 2008). Além disso, esses animais são capazes de se movimentar para áreas abertas ou altamente degradadas que se mostram inadequadas a presença de primatas e outros frugívoros arbóreos, levando as sementes para longe das árvores-mãe, onde há competição dependente da densidade. Este movimento é particularmente importante por possibilitar a promoção de processos de conectividade entre fragmentos vegetativos e a recolonização de plantas (BUENO, 2010).

Sendo assim, as antas são consideradas dispersores eficazes de sementes grandes, como de palmeiras *M. zapota* (O'FARRILL et al., 2012) e *S. romanzoffiana* (GIOMBINI et al., 2009), uma vez que movimentam sementes viáveis para locais favoráveis para a germinação e sobrevivência bem-sucedida destas e o estabelecimento de indivíduos adultos (HARPER, 1977). Além disso, o esterco produzido pelas antas é capaz de atuar como fertilizante dos estágios iniciais de germinação da planta e como barreira física contra a predação das sementes por escaravelhos (O'FARRILL et al., 2013, RIOS & PACHECO, 2006).

O *Workshop de Population and Habitat Viability Assessment* (PHVA) listou as principais ameaças à sobrevivência das antas nos 21 biomas em que a espécie ocorre. Nos biomas brasileiros as principais ameaças listadas foram a caça, o desmatamento e/ou alteração do habitat, pecuária, fogo, doenças infecciosas provindas de animais domésticas, entre outros (Livro Vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção, 2018). O declínio populacional e/ou a extinção de populações locais, pode promover danos nocivos aos ecossistemas (BORGES et al., 2020). Além disso, populações presentes em ambientes fragmentados tem maior suscetibilidade à extinção devido a fenômenos como depressão endogâmica (VIDOLIN; BIONDI e WANDEMBRUCK, 2009).

- Aspectos reprodutivos

De modo geral entre as espécies de anta, estima-se que os machos atingem a maturidade sexual entre os 2 e 4 anos, quando passam a apresentar comportamento reprodutivo característico da espécie e se tornam capazes de engravidar uma fêmea (PUKAZHENTHI et al., 2013). Especificamente na espécie brasileira, o filhote permanece com a mãe até os 12 meses de idade, e a maturidade sexual ocorre aos 3 anos de idade para machos e fêmeas (MEDICI et al., 2012).

Nas espécies em que a anatomia é descrita mais detalhadamente, os testículos são pareados, de formato elipsoides, podendo variar de tamanho entre os indivíduos de diferentes idades. O escroto é minimamente pendular situado cranioventralmente ao ânus. Destaca-se o tamanho da cauda do epidídimo que se apresenta bastante pronunciada, medindo 10,5cm de comprimento e 4,8cm de largura na anta de baird (PUKAZHENTHI et al., 2011), e 9,7cm e 5 cm respectivamente na anta malaia (LILIA et al., 2010).

O ejaculado é de cor branco leitoso a amarelado, o volume varia entre 10ml (anta malaia) e 20ml (anta baird), a concentração também varia entre essas 2 espécies de 206×10^6 e 101×10^6 respectivamente (PUKAZHENTHI et al 2011). Curiosamente, menos de 7% dos espermatozoides obtidos por eletroejaculação foram considerados morfolologicamente normais, destacando-se a alta ocorrência de células com retenção de gota citoplasmática proximal (> 28%) e acrossoma anormal (50%) (TIPKANTHA et al., 2011). A criopreservação dos espermatozoides de antas Baird já se mostrou viável com o uso do INRA 96, mostrando que os ejaculados podem ser mantidos em temperatura ambiente de até 1 hora (PUKAZHENTHI et al 2011).

Já em antas brasileiras em zoológico no Equador, verificou-se que 72% dos espermatozoides coletados por eletroejaculação eram normais, e os outros 28% apresentavam defeitos como cabeça fundida e anormalidades na peça intermediária. Além disso, foi possível obter uma motilidade satisfatória >50% após o aquecimento das amostras, que foram criopreservadas utilizando crioprotetores comerciais para equinos (MIÑACA, 2018). Embora, já se tenham iniciados os trabalhos com usos de biotécnicas reprodutivas para esta espécie, pouco se sabe sobre a fisiologia reprodutiva básica. Dessa forma, existe a necessidade de se conhecer maiores detalhes a respeito de aspectos reprodutivos básicos desta espécie, a fim de que futuramente as biotécnicas reprodutivas possam ser aplicadas com maior efetividade, somando esforços para as ações de conservação deste animal.

- Monitoramento reprodutivo

Segundo Barongi (1993) o monitoramento hormonal é uma ferramenta particularmente importante no manejo reprodutivo das antas. Isto porque a compreensão das flutuações hormonais torna-se a chave para obter sucesso no manejo de populações de espécies selvagens (TOLEDO, 2019).

Especialmente em animais silvestres, o perfil endócrino é um dos métodos mais precisos de monitoramento da atividade gonadal, sendo os hormônios secretados em vários materiais biológicos, como sangue, urina, fezes, leite e saliva (SONTAKKE, 2018). Sendo assim, o monitoramento hormonal permite não só a determinação do estado de fertilidade, mas também a avaliação da atividade reprodutiva, incluindo a determinação de períodos de sazonalidade, e pode auxiliar na reprodução e conservação de espécies em programas de manejo (SCHWARZENBERGER & BROWN, 2013; SILVA et al., 2017).

O monitoramento dos parâmetros hormonais e da fisiologia reprodutiva em animais silvestres é uma tarefa complexa, uma vez que há uma alta susceptibilidade dos animais ao estresse, e o seu comportamento intratável acaba por requerer, na maioria das vezes, o uso de anestesia (TOLEDO, 2019; SONTAKKE, 2018). Dessa forma, embora a medição direta de hormônios no sangue seja ideal, o monitoramento alternativo não invasivo de metabólitos urinários ou fecais é o procedimento preconizado (UMAPATHY et al., 2007; SILVA et al., 2017).

Em machos, este monitoramento é particularmente importante uma vez que a testosterona é um mecanismo hormonal chave que permite aos indivíduos ajustar seu comportamento sexual e territorial ao ambiente circundante (SINERVO e SVENSSON, 1998). O comportamento reprodutivo, bem como a atividade gonadal são regidos por hormônios, dessa forma, o monitoramento endócrino oferece a obtenção de dados reprodutivos com grande confiabilidade, sendo um importante instrumento para a avaliação do sucesso reprodutivo (LICHT, 1979; WASSER, VELLOSO e RODDEN, 1995).

Até o momento, há poucas informações sobre a endocrinologia reprodutiva dos machos de anta brasileira. No único trabalho publicado até o momento, as concentrações de testosterona sérica foram analisadas em uma Anta Brasileira adulta e mostraram variar entre 0,12 - 1,73 ng / ml (Quse, dados não publicados, citados em PUKAZHENTHI et al., 2013). Mais estudos comparativos sobre a atividade esteroideogênica testicular certamente são necessários para antas.

- Biometria testicular

Na seleção de reprodutores, a busca por indicadores de fertilidade tem sido alvo de estudos nos últimos anos. Parâmetros corporais, testiculares, seminais, e suas associações têm sido avaliados quanto à capacidade reprodutiva, com destaque para o perímetro escrotal (NOTTER et al., 1981).

Em condições de rebanho, a circunferência escrotal assume grande importância pois é uma medida de fácil mensuração e alta repetibilidade, possuindo grande relevância na determinação da fertilidade do rebanho (DIAS et al., 2007). Contudo, sugere-se o uso do volume testicular como medida complementar à circunferência escrotal, na preocupação de aumentar a acurácia na avaliação de reprodutores, já que alguns estudos sugerem que somente

a circunferência escrotal pode não ser suficiente para indicar o potencial reprodutivo com segurança (UNANIAN et al., 2000).

Entre as variáveis biométricas testiculares, a circunferência escrotal foi extensivamente estudada devido às suas correlações genéticas favoráveis com a idade na puberdade de machos e fêmeas e características reprodutivas em fêmeas, como gravidez e retenção de vacas em rebanhos (TOELLE e ROBISON, 1985; VAN MELIS et al., 2010; SANTANA JR et al., 2012). Já a produção de espermatozoides pode depender de outros fatores além da circunferência escrotal, como volume e forma testicular (BAILEY et al., 1996; BAILEY et al., 1998).

Além disso, a avaliação morfológica dos testículos tem fundamental importância para a identificação de patologias e alterações gonadais, que podem influenciar diretamente na produção e na qualidade seminal, com impactos sobre a fertilidade do indivíduo (HELLGREN et al., 1989; SONNER et al., 2004). Em casos de animais silvestres sob sedação, também é possível averiguar aspectos biométricos da anatomia testicular, como textura, posição relativa entre testículos, conformação das estruturas reprodutivas, como indicadores da função sexual (ALMEIDA et al., 2010).

A avaliação do tônus testicular faz parte do exame andrológico, além de servir para como ferramenta para determinar o tônus dos testículos. As alterações de textura testicular estão, na grande maioria das vezes relacionadas ao comprometimento da integridade dos túbulos seminíferos, sendo assim um parâmetro de avaliação importante no diagnóstico de processos degenerativos agudos ou crônicos (PASCHOAL, 2017; GARCIA et al., 2021). Existem duas formas de se mensurar a consistência testicular, a palpação manual, que faz uma estimativa subjetiva, e através da tonometria, desenvolvida em 1969 do Hahn. Através da aplicação desta última técnica foi possível observar uma correlação positiva entre o tônus e a porcentagem de espermatozoides morfolologicamente anormais foi relatada para touros com idade entre 17 e 150 meses (HAHN et al., 1969).

Em antas malaia, observou-se que o exame de ultrassom percutâneo do testículo é facilmente realizado e pode servir como uma ferramenta diagnóstica durante avaliações de fertilidade. Em indivíduos normais, o parênquima deve ser apresentar homogêneo e uniformemente ecogênico. Sabe-se ainda que o tamanho e o volume do testículo variam entre os indivíduos, dependendo da idade (PUKAZHENTHI et al., 2013). E embora o volume do testículo tenha demonstrado estar relacionado com a produção diária de sêmen em

cavalos domésticos (LOVE, 1992), estudos adicionais são necessários na anta para confirmar essas correlações.

- Sazonalidade reprodutiva

O sucesso na reprodução depende principalmente de uma sólida compreensão dos processos reprodutivos fundamentais, como puberdade, padrão da dinâmica folicular ovariana, sazonalidade, comportamento reprodutivo, endocrinologia e outros mecanismos reguladores moleculares que podem posteriormente ajudar a melhorar o manejo em cativeiro e também direcionar as medidas de conservação para espécies de vida selvagem ameaçadas de extinção (SONTAKKE, 2018).

Mudanças na temperatura, duração do dia e precipitação contribuem para o padrão sazonal de reprodução (LINCOLN et al., 1985). Isto porque a reprodução em mamíferos envolve a interação dos hormônios produzidos no hipotálamo, hipófise e gônadas (MCGEE, HSUEH, 2000). O núcleo arqueado no hipotálamo mediobasal sintetiza e libera o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) que é transportado para a hipófise anterior (também conhecida por pituitária). O GnRH se liga a receptores nas células gonadotróficas da hipófise, que produzem e liberam as gonadotrofinas, o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) que são transportados pela corrente sanguínea até as gônadas (BROWN, 2018).

Além disso, no hipotálamo estão localizados os Núcleos Supraquiasmáticos (NSQ), estes funcionam como um relógio central que recebe sinais do ambiente principalmente por fotorrecepção pela retina e transmite essas informações por vias eferentes neurais e humorais (RICHTER et al., 2004). Este mesmo relógio regula as variações na frequência de pulsos do hormônio liberador de gonadotrofina, que regula a liberação dos hormônios gonadotróficos na hipófise e consequentemente alterando a função de órgãos reprodutivos (BITTMAN et al., 1985; MALPAUX et al., 2001).

Assim, a estacionalidade reprodutiva é um fenômeno pelo qual algumas espécies apresentam funções reprodutivas diminuídas em determinado período do ano, regulado por variáveis climáticas como a temperatura e umidade do ar, velocidade do vento e luminosidade, afetando a capacidade reprodutiva dos animais (AGUILAR et al., 2014). As altas temperaturas ambientais que ocorrem nos períodos secos em regiões tropicais, é um fator limitante à eficiência reprodutiva, uma vez que afeta a termorregulação testicular, podendo

incidir negativamente sobre a espermatogênese, e consequentemente na qualidade do sêmen (CHEMINEAU et al., 1991).

A existência de um possível efeito estacional sobre a reprodução já vem sendo estudada em inúmeras espécies domésticas e silvestres. Cavalos são animais de fotoperíodos longos, logo o efeito das estações é um fator importante em sua reprodução, sendo este um fator regulatório da endocrinologia dos potros em maturação sexual (LEMAZURIER et al., 2002; STEWART; ROSER, 1998; DHAKAL et al., 2012; NOGUEIRA, BARNABE e VERRESCHI, 1997). Sabe-se que nesta espécie, o aumento a exposição à melatonina inibe a secreção de GnRH pelo hipotálamo e consequentemente há a redução da produção e liberação de LH pela hipófise anterior, no período de menor luminosidade (WILLIAMS et al., 2012). Em potros Konik Polski, observou-se que os níveis de estradiol diferiram significativamente aos 9, 12 e 18 meses de idade, enquanto em potras os níveis variaram dos 6 aos 18 meses de idade, sendo o pico de estradiol atingido em ambos os sexos aos 15 meses, no final de agosto e início de setembro (GÓRECKA-BRUZDA et al., 2015).

Sabe-se que as antas de vida livre se reproduzem principalmente durante a estação chuvosa, porém nenhuma sazonalidade foi observada em animais de cativeiro, exigindo que estudos complementares sejam realizados (BROWN et al., 1994; BARONGI, 1993; KUSUDA et al., 2007).

Referências

- AGUILAR, F.; RÖDEL, H.G.; VÁZQUEZ, J.; NICOLAS, L.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, L.; BAUTISTA, A.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, M. Seasonal changes in testosterone levels in wild Mexican cottontails *Sylvilagus cunicularius*. **Mammalian Biology**, v.79, p.225–229, 2014.
- ALMEIDA, M.M.; MACHADO-JUNIOR, A.A.N.; AMBRÓSIO, C.E.; MENEZES, D.J.A.; RIGHI, D.A.; NASCIMENTO, I.M.R.; CARVALHO, M.A.M. Influência do grau de bipartição escrotal sobre parâmetros reprodutivos de caprinos. **Pesq. Vet. Bras.**, v.30, n.4, p.345-350, 2010.
- BAILEY, T.L.; MONKE, D.; HUDSON, R.s.; WOLFE, D.F.; CARSON, R.L.; RIDDELL, M.G.. Testicular shape and its relationship to sperm production in mature Holstein bulls. **Theriogenology**, v. 46, n. 5, p. 881-887, out. 1996.
- BAILEY, T.L.; HUDSON, R.S.; POWE, T.A.; RIDDELL, M.G.; WOLFE, D.F.; CARSON, R.L. Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo. **Theriogenology**, v. 49, n. 3, p. 581-594, fev. 1998.
- BARONGI, R. A.. Husbandry and conservation of tapirs *Tapirus* spp. **International Zoo Yearbook**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 7-15, 1993.
- BITTMAN, E. L. et al. Pineal melatonin mediates photoperiodic control of pulsatile luteinizing hormone secretion in the ewe. **Neuroendocrinology**, v. 40, p. 409-418, 1985.
- BODMER, Richard E. Estratégias de dispersão e predação de sementes em ungulados amazônicos. **Biotropica** , pág. 255-261, 1991.
- BORGES, D. C. S.; PEREIRA, S. G.; MACHADO, F. C. A.; SANTOS, A. L. Q. Anta brasileira – *Tapirus terrestres*: características gerais, mitológicas e seu conhecimento popular nas regiões do Nordeste e do Alto Paranaíba em Minas Gerais. **Rev. Pesq. Interd.**, v. 5, n. 1, p. 289-315, 2020.
- BROWN, Janine L.; CITINO, Scott B.; SHAW, Jackie; MILLER, Chriss. Endocrine profiles during the estrous cycle and pregnancy in the Baird's tapir (*Tapirus bairdii*). **Zoo Biology**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 107-117, 1994.

BROWN, Janine L.. Comparative ovarian function and reproductive monitoring of endangered mammals. **Theriogenology**, v. 109, p. 2-13, mar. 2018.

BUENO, Rafael da Silveira. **Frugivoria e efetividade de dispersão de sementes dos últimos grandes frugívoros da Mata Atlântica: a anta (*Tapirus terrestris*) e o muriqui (*Brachyteles arachnoides*)**. 2010. 69 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2010.

CHEMINEAU, P.; CAGNIE, Y.; GUERIN, Y.; ORGEUR, P.; VALLET, J. C. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. FAO Reproduction and Health Paper. Food and Agriculture Organization of the United Nations, p.115–161, 1991.

DHAKAL, Pramod; HIRAMA, Akiko; NAMBO, Yasuo; HARADA, Takehiro; SATO, Fumio; NAGAOKA, Kentaro; WATANABE, Gen; TAYA, Kazuyoshi. Circulating Pituitary and Gonadal Hormones in Spring-born Thoroughbred Fillies and Colts from Birth to Puberty. **Journal Of Reproduction And Development**, v. 58, n. 5, p. 522-530, 2012.

DIAS, J. C.; ANDRADE, V. J. DE; VALE FILHO, V. R. DO; ALMEIDA E SILVA, M. DE. Biometria testicular e aspectos andrológicos de touros nelore (*bos taurus indicus*), de dois e três anos de idade, criados extensivamente. **Vet. Not.**, Uberlândia, v. 13, n. 2, p. 31-37, jul./dez. 2007.

GALETTI, M.; KEUROGHLIAN, A.; HANADA, L.; MORATO, M. I.. Frugivory and Seed Dispersal by the Lowland Tapir (*Tapirus terrestris*) in Southeast Brazil1. **Biotropica**, v. 33, n. 4, p. 723-726, 2001.

GARCIA, Alexandre Rossetto et al. Estresse calórico e reprodução em ovos: fundamentos e perspectivas tecnológicas. **Rev Bras Reprod Anim** , v. 45, n. 4, pág. 430-442, 2021.

GIOMBINI, MI; BRAVO, SP; MARTÍNEZ, MF. Seed dispersal of the palm *Syagrus romanzoffiana* by tapirs in the semi-deciduous Atlantic forest of Argentina. **Biotropica**, v. 41, p. 408–13, 2009.

GÓRĘCKA-BRUZDA, A. et al.. Profiles of oestradiol, testosterone and androstenedione in stable vs. forest born young Konik Polski horses. **Ani. SCI. PAP. and REP.**, v. 33, n. 2, p. 137-146, 2015.

- GUIMARÃES, Paulo R.; GALETTI, Mauro; JORDANO, Pedro. Seed Dispersal Anachronisms: rethinking the fruits extinct megafauna ate. **Plos One**, [S.L.], v. 3, n. 3, p. 1-13, 5 mar. 2008.
- HAHN, J.; FOOTE, R.; CRANCH, E. Tonometer for measuring testicular consistency of bulls to predict semen quality. *J. Anim. Sci.*, v.29, p.483-489, 1969.
- HARPER, J.L. Population Biology of Plants. 3 ed. London, UK: Academic Press, 1977.
- HELLGREN, E. C.; LOCHMILLER, R. L.; AMOSS, M. S.; SEAGER, S. W. J.; MAGYAR, S. J.; COSCARELLI, K. P.; GRANT, W. E.. Seasonal variation in serum testosterone, testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Reproduction**, v. 85, n. 2, p. 677-686, 1 mar. 1989.
- HOLANDA, E. C.; RIBEIRO, A. M.; FERIGOLO, J.. New material of *Tapirus* (Perissodactyla: Tapiridae) from the Pleistocene of southern Brazil. **Rev. Mexicana de Ciências Geológicas**, v. 29, n. 2, p. 308-318, 2012.
- Iniciativa Nacional para a Conservação da Anta Brasileira – INCAB, Instituto de Pesquisas Ecológicas – IPÊ. **Uso de passagens inferiores pela anta (*Tapirus terrestris*), ao longo da rodovia MS-040, Mato Grosso do Sul, Brasil**: relatório técnico. 2019.
- Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume II – Mamíferos / -- 1 ed. – Brasília, DF :ICMBio/MMA, 2018.
- JORDANO, P.; et al.. Differential contribution of frugivores to complex seed dispersal patterns. In: PNAS, 104. Resumo (**Anais**): 2007. p. 3278–3282.
- KASMAN, L. H.; MCCOWAN, B.; LASLEY, B. L.. Pregnancy detection in tapirs by direct urinary estrone sulfate analysis. **Zoo Biology**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 301-306, 1985.
- KUSUDA, Satoshi; IKOMA, Masakazu; MORIKAKU, Koki; KOIZUMI, Jun-Ichi; KAWAGUCHI, Yoshiya; KOBAYASHI, Kuniyasu; MATSUI, Kirito; NAKAMURA, Akira; HASHIKAWA, Hisashi; KOBAYASHI, Kazuhiro. Estrous Cycle Based on Blood Progesterone Profiles and Changes in Vulvar Appearance of Malayan Tapirs (*Tapirus indicus*). **Journal Of Reproduction And Development**, v. 53, n. 6, p. 1283-1289, 2007.
- LEMAZURIER, Emmanuel; TOQUET, Marie Pierre; FORTIER, Guillaume; SÉRALINI, Gilles Eric. Sex steroids in serum of prepubertal male and female horses and correlation with bone characteristics. **Steroids**, v. 67, n. 5, p. 361-369, abr. 2002.

LICHT, P. Reproductive endocrinology of reptiles and amphibians: gonadotropins. **Annual Review Of Physiology**, v. 41, n. 1, p. 337-351, 1979.

LINCOLN DW, et al.. Hypothalamic pulse generators. **Recent Prog Hormone Res.**, v. 41, p.369 – 419, 1985.

LILIA, K.; et al.. Gross anatomy and ultrasonographic images of the reproductive system of the Malayan tapir (*Tapirus indicus*). **Anatomia Histologia Embryologia**, v. 39, p. 569-575, 2010.

LOVE, Charles C.. Semen Collection Techniques. **Veterinary Clinics Of North America: Equine Practice**, v. 8, n. 1, p. 111-128, abr. 1992.

MAY-JÚNIOR, J. A. **Avaliação de parâmetros fisiológicos e epidemiológicos da população de anta-brasileira (*Tapirus terrestris*, Linnaeus, 1758) na Mata Atlântica do Parque Estadual Morro do Diabo, Pontal do Paranapanema, São Paulo.** 2011.106f. Dissertação. (mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. São Paulo. 2011.

MALPAUX, B. et al. Biology of mammalian photoperiodism and critical role of pineal gland and melatonin. **J. Biol. Rhythms**, v. 16, p. 336-347, 2001.

MCGEE, Elizabeth A.; HSUEH, Aaron J. W.. Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles*. **Endocrine Reviews**, [S.L.], v. 21, n. 2, p. 200-214, 1 abr. 2000.

MEDICI, Emília Patrícia *et al.* Avaliação do risco de extinção da anta brasileira *Tapirus terrestris* Linnaeus, 1758, no Brasil. **Biobrasil**, Brasília, v. 2, n. 3, p. 103-116, 24 maio 2012.

MEDICI, E. P.; DESBIEZ, A. L. J.. Population viability analysis: using a modeling tool to assess the viability of tapir populations in fragmented landscapes. **Integrative Zoology**, v. 7, n. 4, p. 356-372, dez. 2012

MIÑACA, E. S. G. **Avaliação da criopreservação de sêmen fresco para a conservação de germoplasma de anta amazônica (*Tapirus terrestris*).** 2018. 65P. Tese (Doutorado em Zootecnia e Veterinária) – Universidad Técnica de Ambato, Cevallos, 2018.

NOGUEIRA, G.P.; BARNABE, R.C.; VERRESCHI, I.T.N.. Puberty and growth rate in thoroughbred fillies. **Theriogenology**, v. 48, n. 4, p. 581-588, set. 1997.

NOTTER, D.R.; LUCAS, J.R.; McCLAUGHERTY, F. S. Accuracy or estimation of testis weight from in situ testis measures in ram lambs. **Theriogenology**, v.15, n.3, p.227-234, 1981.

O'FARRILL, G.; GALETTI, M.; CAMPOS-ARCEIZ, A.. Frugivoria e dispersão de sementes por antas: uma visão sobre seu papel ecológico. **Zoologia Integrativa** , v. 8, n. 1, pág. 4-17, 2013.

OLIVEIRA, I. S.; PEREIRA, F. B.; PEREIRA, S. G.; MARTINS, M. F. D. O.; SILVA, J. O. R. DA. DESCRIÇÃO ANÁTOMO-RADIOGRÁFICA DO METACARPO DE *Tapirus terrestris* - Linnaeus, 1758 (ANTA BRASILEIRA). **Psicologia e Saúde em debate**, v. 4, n. Suppl1, p. 30-30, 11 dez. 2018.

PASCHOAL, A. F. L. **Relação da consistência e da ecogenicidade testicular com a morfologia espermática em suínos**. 2017. 51 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

PEREIRA, Saulo Gonçalves et al.. ANATOMIA ÓSSEA E MUSCULAR DO CÍNGULO ESCAPULAR E BRAÇO DE *Tapirus terrestris* (PERISSODACTYLA: TAPIRIDAE). **Ciênc. anim. bras.**, Goiânia, v. 16, n. 2, p. 268-278, 2015.

PEREIRA, S. G.; SANTOS, A. L. Q.; BORGES, D. C. S. Aspectos histológicos dos músculos da região da escápula e do braço de anta - *Tapirus terrestris* – *Perissodactyla*, *Tapiridae*. **Ver. Acadêmica de Ciência Animal**. Curitiba, v. 1, n. 5, p. 1-6, 2017.

PUKAZHENTHI, B, et al. A review of the reproductive biology and breeding management of tapirs. **Integrative Zoology**, v. 8, n. 1, p. 18-34, mar. 2013.

PUKAZHENTHI, B, et al. Ejaculate traits and sperm cryopreservation in the endangered Baird's tapir (*Tapirus bairdii*). **Journal of Andrology**, v. 32, p. 260-270, 2011.

RIOS R.S.; PACHECO, L.F. The effect of dung and dispersal on postdispersal seed predation of *Attalea phalerata* (Arecaceae) by bruchid beetles. **Biotropica**, v. 38, p. 778–81, 2006.

RICHTER, H. G. et al. The circadian timing system: making sense of day/night gene expression. **Biol. Res.**, v. 37, p. 11-28, 2004.

ROSAS, G.K.C. & Drumond, P.M. 2009. Mamíferos encontrados em dois castanhais localizados ao sudoeste do estado do Acre, Brasil. Embrapa Acre. 26p.

- SANTANA, M.L.; ELER, J.P.; FERRAZ, J.B.s.; MATTOS, E.C.. Genetic relationship between growth and reproductive traits in Nelore cattle. **Animal**, v. 6, n. 4, p. 565-570, 2012.
- SCHWARZENBERGER, F.; BROWN, J. Hormone monitoring: An important tool for the breeding management of wildlife species. **Wiener tierärztliche Monatsschrift.**, v. 100, p. 209-225, 2013.
- SILVA, AR; MOREIRA, N; PEREIRA, AF; PEIXOTO, GCX; MAIA, KM; CAMPOS, LB; BORGES, AA. Estrous cycle monitoring in Wild Mammals: Challenges and Perspectives. A book chapter in Veterinary Medicine and Science "Theriogenology", edited by R. P. Carreira. 2017; 21-45.
- SILVA, F.P.C. da & Drumond, P.M. 2009a. Mamíferos e aves encontrados em fragmento florestal localizado no projeto de colonização Pedro Peixoto, Acre, Amazônia ocidental. Embrapa Acre. 21p.
- SINERVO, B.; SVENSSON, E. Mechanistic and Selective Causes of Life History Trade-Offs and Plasticity. **Oikos**, v. 83, n. 3, p. 432-442, dez. 1998.
- SONNER, Jussara Barreira; MIGLINO, Maria Angélica; SANTOS, Tatiana Carlesso dos; CARVALHAL, Roberto; ASSIS NETO, Antônio Chaves de; MOURA, Carlos Eduardo Bezerra de; OLIVEIRA, Moacir Franco de. Aspectos macroscópicos e morfométricos dos testículos em catetos e queixadas. **Biota Neotropica**, v. 4, n. 2, p. 1-13, 2004.
- SONTAKKE, Sadanand D.. Monitoring and controlling ovarian activities in wild ungulates. **Theriogenology**, v. 109, p. 31-41, mar. 2018.
- STEWART, B.L.; ROSER, J.F.. Effects of age, season, and fertility status on plasma and intratesticular immunoreactive (IR) inhibin concentrations in stallions. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 15, n. 2, p. 129-139, mar. 1998.
- TIPKANTHA, W.; et al.; Characteristics of Semen Collected From Captive Thailand Malayan Tapirs (*Tapirus indicus*). **Thai. J. Vet. Med.**, v. 41, p. 499-508, 2011.
- TOELLE, V. D.; ROBISON, O. W.. Estimates of Genetic Correlations between Testicular Measurements and Female Reproductive Traits in Cattle. **Journal Of Animal Science**, v. 60, n. 1, p. 89-100, 1 jan. 1985.
- TÓFOLI, C.F. **Frugivoria e dispersão de sementes por (Linnaeus, 1758) na paisagem fragmentada do Pontal de Paranapanema, São Paulo**. 2006. 89 f. Dissertação (Mestrado

em Ciências) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41134/tde-09082007-115437/pt-br.php>. Acesso em 20 de janeiro de 2020.

TOLEDO, G.N. **Caracterização do ciclo estral do veado-de-mão-curta (*Mazama nana*), por monitoramento hormonal fecal**. 2019. 40 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

TOKUMOTO, Paola Mandetta. **Ecologia molecular como ferramenta no estudo populacional do último megamamífero sulamericano: a anta (*Tapirus terrestris*) no Pantanal de Nhecolândia, MS**. 2012. 29 f. Trabalho de conclusão de curso (Ecologia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/121588>>.

UMAPATHY, G; SONTAKKE, SD; SRINIVAS, K; THOMAS, K; SHIVAJI, S. Estrus behavior and fecalsteroid profiles in the Asiatic lion (*Panthera leo persica*) during natural and gonadotropininduced estrus. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 101, p. 313-325, 2007.

UNANIAN, M.M.; SILVA, A.E.D.F.; MCMANUS, C.; CARDOSO, E.P. Características biométricas testiculares para avaliação de touros Zebuínos da raça Nelore. **Rev. Bras. Zootec.**, v.1, n. 29, p.136-144, 2000.

VAN MELIS, M. H.; ELER, J. P.; ROSA, G. J. M.; FERRAZ, J. B. S.; FIGUEIREDO, L. G. G.; MATTOS, E. C.; OLIVEIRA, H. N.. Additive genetic relationships between scrotal circumference, heifer pregnancy, and stayability in Nelore cattle. **Journal Of Animal Science**, [S.L.], v. 88, n. 12, p. 3809-3813, 1 dez. 2010.

VARELA, D. et al.. *Tapirus terrestris*. The IUCN Red List of Threatened Species (2019).

VETTORAZZI, Manolo José García. Caracterización de la dieta y el hábitat del tapir (*Tapirus bairdii* Gill, 1865) en ecosistemas ribereños del Parque Nacional Laguna Lachuá, Cobán, Alta Verapaz, Guatemala.

VIDOLIN, G. P.; BIONDI, D.; WANDEMBRUCK, A. Seletividade de habitats pela anta (*Tapirus terrestris*) e pelo queixada (*Tayassu pecari*) na Floresta com Araucária. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v. 37, n. 84, p. 447-458, 2009.

WASSER, S. K.; VELLOSO, A. D. L.; RODDEN, M. D. Using fecal steroids to evaluate reproductive function in female maned wolves. **The jornal of wildlife management**, v. 54, n. 4, p. 889-894, 1995.

WILDT, David E. et al. Lições da biodiversidade – o valor das espécies não tradicionais para o avanço da ciência reprodutiva, conservação e saúde humana. **Reprodução e Desenvolvimento Molecular: Incorporando a Pesquisa de Gametas** , v. 77, n. 5, pág. 397-409, 2010.

WILLIAMS, G.L.; THORSON, J.F.; PREZOTTO, L.D.; VELEZ, I.C.; CARDOSO, R.C.; AMSTALDEN, M. Reproductive seasonality in the mare: neuroendocrine basis and pharmacologic control. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v.43, p.103–115, 2012.

JUSTIFICATIVA

A anta brasileira dispõe de elevado interesse ecológico, de modo que o declínio populacional ou a extinção local da espécie pode promover uma série de efeitos nocivos aos ecossistemas. Embora ainda não seja considerada em extinção, as populações de *T. terrestres* sofrem com diversas ações antrópicas que contribuem para o declínio de suas populações. Na Argentina, seu estado é considerado crítico, assim como na Colômbia e na Mata Atlântica brasileira. É considerada extinta na Caatinga no extremo sul do Brasil e na região dos Andes. Sua principal ameaça concentra-se na caça predatória e por ter um ciclo reprodutivo longo, com longa gestação, baixo ciclo estral e longo período de amamentação, além da restrição de habitat, constantes atropelamentos, incêndios florestais, crescimento dos centros urbanos e áreas rurais no entorno das unidades de conservação. Dessa maneira, é extremamente necessário planos de ação que promovam sua conservação (TÓFOLI, 2006), bem como o acréscimo do acervo de dados sobre a espécie. Sendo assim, é de grande importância estudos que gerem informações sobre tal espécie e animais silvestres no geral.

Dessa forma, este trabalho se justifica por apresentar informações primárias sobre a fisiologia reprodutiva da espécie, correlacionando-as com as variáveis meteorológicas de dois diferentes habitats de ocorrência natural desses animais. Diante disso, poderão ser proporcionadas ferramentas para o aperfeiçoamento dos estudos sobre a reprodução desses animais, contribuindo assim para o desenvolvimento de ações de conservação da espécie.

HIPÓTESES CIENTÍFICAS

- As concentrações hormonais de testosterona e as variáveis testiculares de antas sofrem influência dos parâmetros ambientais dos biomas Pantanal e Cerrado;
- Existe correlação entre as concentrações séricas de hormônios, as medidas testiculares com o peso e a idade dos animais.
- Existe correlação entre as concentrações séricas de hormônios, as medidas testiculares e as variáveis meteorológicas;

OBJETIVOS

Objetivo geral

- Conhecer aspectos específicos da fisiologia reprodutiva de machos de antas brasileiras (*Tapirus terrestres*) radicadas em diferentes biomas, como o cerrado e o pantanal.

Objetivos específicos

- Obter dados sobre a endocrinologia reprodutiva dos animais por meio da mensuração de testosterona sérica;
- Obter dados biométricos testiculares em antas brasileiras;
- Estabelecer correlações entre os parâmetros reprodutivos e a idade e peso dos animais;
- Comparar os aspectos reprodutivos de animais radicados nos biomas Cerrado e Pantanal;
- Avaliar a influência de variáveis ambientais sobre os parâmetros reprodutivos dos animais;
- Verificar a existência de sazonalidade reprodutiva em machos de anta brasileira.

CAPÍTULO 1:**Serum testosterone concentrations, testicular biometry, and testicular tone in wild male lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil**

(Concentrações séricas de testosterona, biometria testicular e tônus testicular em antas selvagens machos (*Tapirus terrestris*) nos biomas Pantanal e Cerrado, Brasil)

Andreza V. Brasil¹, Felipe Z. Brandão², Emília P. Medici^{3,4,5}, Alexandre R. Silva^{1*}

Submetido ao periódico *Theriogenology Wild* em 14 de abril de 2022
Fator de Impacto : 2,74 – Qualis CAPES: A2

Serum testosterone concentrations, testicular biometry, and testicular tone in wild male lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil

Andreza V. Brasil¹, Felipe Z. Brandão², Emília P. Medici^{3,4,5}, Alexandre R. Silva^{1*}

¹Laboratory for Animal Germplasm Conservation, Department of Animal Sciences, Federal University of the Semiarid Region – UFERSA, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil;

²Faculty of Veterinary, Fluminense Federal University – UFF, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil;

³IUCN SSC Tapir Specialist Group (TSG), Mato Grosso do Sul, Brazil;

⁴Lowland Tapir Conservation Initiative (LTCI), Instituto de Pesquisas Ecológicas (IPÊ), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil;

⁵Escola Superior de Conservação Ambiental e Sustentabilidade (ESCAS/IPÊ), Nazaré Paulista, São Paulo, Brazil.

* Correspondence: Alexandre Rodrigues Silva, alexrs@ufersa.edu.br

ABSTRACT

This study aimed to contribute to the knowledge about the reproductive physiology of wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) by describing the serum testosterone concentrations, testicular biometry, and testicular tone of individuals living in the Pantanal and Cerrado biomes of Brazil, verifying the existence of reproductive seasonality for the species, and investigating correlations among these reproductive parameters and individual age and weight. Meteorological data (air temperature, wind speed, relative humidity, and global radiation) of the study sites were characterized through automated stations of the National Institute of Meteorology (INMET). From 2015 to 2020, field data were collected from 22 and

11 wild male lowland tapirs from the Pantanal and Cerrado biomes, respectively. After capture and chemical restraint, the age and weight of the animals were estimated. Blood samples were collected to determine serum testosterone concentrations using radioimmunoassay. Testicular biometry measurements included width, length, height, and volume, while testicular tone was assigned using scores from 3 (firm) to 1 (soft). Animal age, weight, and testosterone concentrations did not differ between the two biomes ($P > 0.05$). Positive correlations were found between age and weight ($\rho = 0.86$; $P < 0.001$), and serum testosterone levels with both age ($\rho = 0.45$; $P = 0.0047$) and weight ($\rho = 0.51$; $P = 0.0011$). Testicular volume was positively correlated with age ($\rho = 0.75$; $P < 0.0001$), weight ($\rho = 0.65$; $P = 0.0011$), and serum testosterone levels ($\rho = 0.42$; $P = 0.0081$). In addition, testicular tone in adult subjects (> 48 months) was significantly higher than in younger subjects ($P < 0.05$). Testicular consistency was positively correlated with weight ($\rho = 0.36$; $P = 0.0241$) and serum testosterone levels ($\rho = 0.38$; $P = 0.0174$). Seasonal effect on tapir reproduction was absent, but testicular tone was influenced by wind speed ($\rho = 0.37$; $P = 0.0211$) and air humidity ($\rho = 0.37$; $P = 0.0262$). This study is the first scientific description of reproductive parameters of male lowland tapirs.

Keywords: Wildlife, Megafauna, Perissodactyla, Ungulate, Reproduction, Hormone measurement

1. Introduction

As one of the last representatives of the megafauna, tapirs are survivors of a previously widespread family but currently face a discontinuous distribution [1]. These remarkable ungulates play essential roles in ecosystem dynamics of tropical forests through seed dispersal and predation [2,3]. Among the four tapir species, the lowland tapir (*Tapirus*

terrestris), also called “Brazilian or South-American tapir,” is the largest land mammal in South America, and its population is currently declining mainly because of habitat loss and fragmentation caused by advances in large-scale agriculture and cattle-ranching [4,5]. A low survival rate is estimated for individuals in 80% of the tapir population in the Cerrado biome, which is characterized by savanna vegetation associated with high environmental temperatures [6]. In biomes like the Pantanal, where forests are seasonally flooded, a 15.5% habitat loss will possibly impact the next three generations of lowland tapirs [6]. These perspectives raise concerns about the conservation status of the species, which is currently classified as vulnerable in the International Union for Conservation of Nature (IUCN) Red List of threatened Species by the Species Survival Commission (SSC) [4] and in the Brazilian Red List [6].

Compared to other perissodactyls, such as the rhinoceros, for which various assisted reproduction strategies have been developed [7], tapir breeding has received little attention. Therefore, knowledge of the reproductive physiology of genetically valuable species, such as the lowland tapir, can contribute to the monitoring of population fluctuations and development of conservation strategies, from the preservation of natural habitats to the use of assisted reproduction technology [8]. Although male reproductive fitness has a substantial effect on population dynamics [9], such reproductive parameters in male lowland tapirs remain unknown. Currently, a single study reports an attempt to collect sperm from nine male lowland tapirs using electroejaculation, which was successful in four individuals, and reported sperm motility varying from 23 to 62% [10].

Success in assisted breeding depends primarily on a solid understanding of fundamental reproductive processes, such as puberty, gonadal activity, seasonality, and endocrinology [11]. Consequently, gonadal assessment can be used as a reproductive activity marker since parameters, such as testicular volume and shape, are directly related to sperm

production [12]. Additionally, reproductive activities of animals can be evaluated through hormonal monitoring in males, which offers highly reliable data on gonadal activity [13]. Influenced by environmental conditions, animals need to regulate their physiological functions to adapt to periods of stress, which can largely affect their reproductive parameters [14].

Accordingly, the objectives of this study were to first characterize a few reproductive parameters of wild male lowland tapirs in the Cerrado and Pantanal biomes, including serum testosterone profile, testicular biometry and testicular tone, and subsequently verify correlations of the reproductive parameters with age and weight of the individuals and with environmental variables.

2. Material and methods

All experimental procedures were conducted according to the international ethical guidelines for using animals in research. The field research protocols were approved by the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO, SISBIO 14603-08).

2.1. Study sites

Tapirs were captured from two study sites. The first site was in the Nhecolândia Sub-Region of the Southern Pantanal, Municipality of Aquidauana (19°20'S, 55°43'W), Mato Grosso do Sul State, in the central-western region of Brazil. The ranch includes a mosaic of seasonally inundated grasslands, lakes, gallery forests, scrub, and deciduous forests that support abundant wildlife. It is situated far from the edges of the biome where deforestation and other anthropogenic threats occur [15]. In this Pantanal biome region, the climate is classified as sub-humid and megathermic. Average annual rainfall is 1,400 mm, with a

variation between 800 and 1,600 mm, with 70% of the rainfall being received during the rainy season (November to March) [16].

The second site was located between the municipalities of Nova Alvorada do Sul and Nova Andradina, Mato Grosso do Sul State, Brazil (21°60'S, 53°83'W). The region includes fragments of the natural Cerrado biome (Cerradão fragments, gallery forests, and marshland; 25% of the study area) and is surrounded by areas highly impacted by human activities, such as agriculture (particularly sugarcane, soybean, and corn), cattle-ranching (cultivated pastureland), eucalyptus plantations, rural communities, and highways. The region presents two well-defined seasons, dry winter and wet summer. The average annual precipitation is between 1,200 and 1,800 mm/year. In the short drought periods (between May and September), called “veranicos”, rainfall indexes can reach zero [17].

Environmental data (air temperature and speed, relative humidity, and global radiation) were obtained from automatic stations on the day of animal handling at National Institute of Meteorology – INMET (Table 1). During the study, average wind speed measured in the Pantanal (0.9 m/s) was significantly lower than that of the Cerrado (2.1 m/s) ($P < 0.05$). Conversely, relative humidity was higher in the Pantanal (65.8%) than in the Cerrado (34.4%) ($P < 0.05$). There was no significant difference in the air temperatures and radiations between the biomes ($P > 0.05$).

2.2. *Animal capture and restraint*

From 2015 to 2020, field data were collected from 22 and 11 wild male lowland tapirs of the Pantanal and Cerrado biomes, respectively. However, eight individuals were captured twice, totaling 41 data obtained. Tapirs were captured for GPS tagging to monitor movement. Based on current literature [18], the animals were classified into three categories: prepubescent - < 17 months, juveniles - 18 to 47 months, and adults - above of 48 months.

Capturing was performed via darting after physical restraint in box traps or pitfall traps or via darting from a distance. Tapirs captured in box traps and pitfalls were anesthetized using a combination of butorphanol (0.17 mg/kg), medetomidine (0.012 mg/kg), and ketamine (0.7 mg/kg). Atropine (0.03 mg/kg) was added as needed, and atipamezole (0.04 mg/kg) and naltrexone (0.35 mg/kg) were used as reversal agents. Tapirs darted from a distance were anesthetized using a combination of tiletamine-zolazepam (1.25 mg/kg), medetomidine (0.006 mg/kg), ketamine (0.6 mg/kg), and atropine (0.03 mg/kg). Midazolam (0.03 mg/kg) was administered 30 min after the animals were sedated. Anesthetics were administered intramuscularly with 3 or 5 cc darts, and anesthetic doses were calculated based on estimated body mass [19].

During restraint, animals were monitored every 10 min for physiological parameters, namely respiratory rate, heart rate, blood oxygen saturation (using pulse oximetry; Oxy9Vet-Plust, Bionet America, Tustin, California, USA), body temperature (using a digital thermometer rectally; Incoterm, Porto Alegre, RS, Brasil), and noninvasive systolic blood pressure (using a portable vascular Doppler, Mini Dopplext with 10 MHz probe, Cardiology Shop, Boston, Massachusetts, USA) [19]. The mean duration of anesthesia was 69 (± 20) min.

2.3. Animal handling and collection of blood samples

Tapirs were subjected to complete physical examination and weight estimation. Age was estimated based on dentition, tooth wear, nail erosion, and appearance of foot pads [19]. Blood samples were obtained through venipuncture of the medial saphenous or cephalic veins using vacuum sampling tubes. Blood samples were centrifuged (5000 g; 60 min) within 12 h of collection for serum separation, which was aliquoted into microtubes (1.5 mL) and stored in a biobank (-26 °C) until hormonal analysis.

2.4. Testicular biometry and tone

During animal restraint, testes were lightly pulled ventrally and positioned parallelly. Parameters, namely length (L), width (W), and height (H), of the testicles were measured using a caliper. To measure the length, only the testes isolated from the epididymal tail were considered [20]. From these dimensions, testicular volume was calculated using the Lambert formula ($V = L \times H \times W \times 0.71$) [21]. Additionally, the organs were palpated and classified according to their tone. Scores were assigned according to texture as follows: score 3, firm tone; score 2, moderate tone; score 1, softened tone [22].

2.5. Assessment of serum testosterone

Serum testosterone measurements were conducted at the Hormonal Dosage Laboratory, Fluminense Federal University (UFF, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil). Serum testosterone was measured using the solid phase radioimmunoassay technique (RIA) [23] with a commercial kit (Immunotech, S.R.O - IM1087, Czech Republic), in a Wizard device detector (PerkinElmer of Brazil Ltda). The coefficients of variation were 8.54% (intra-assay) and 7.31% (inter-assay). All estimated concentrations were between the minimum and maximum points of the curve.

2.6. Statistical analysis

Data were expressed as the mean and standard error and assessed using the Statview Software, version 5.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Values were evaluated for normality and homoscedasticity using the Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively. Data were transformed by arcsine ($\sqrt{x/100}$) when necessary. Comparisons related to biological data (age, testicular biometry and tone, and hormone levels) and environmental variables (air temperature and speed, relative humidity, and global radiation) between the Cerrado and

Pantanal biomes and between dry and wet seasons were conducted using one-way ANOVA (PROC GLM; F-test). To determine correlations among values for age, reproductive parameters, and environmental variables, Spearman's correlation test was applied. Statistical significance was set at $P < 0.05$.

3. Results

3.1. Biological and reproductive parameters

There were no differences related to average age or weight and average serum testosterone levels among animals from the Pantanal and Cerrado biomes ($P > 0.05$; Table 2). Grouping the data from all animals, age and weight correlated positively and highly ($\rho = 0.86$; $P < 0.001$; Fig. 1). Moreover, serum testosterone levels and age ($\rho = 0.45$; $P = 0.0047$; Fig. 2) and weight ($\rho = 0.51$; $P = 0.0011$) correlated positively and moderately.

Overall, there were no significant differences related to testicular metrics ($P > 0.05$; Table 3), such as length, height, or volume, between individuals from the Pantanal and Cerrado biomes, except for wider testicles ($P < 0.05$) in the Cerrado individuals. Grouping the data from all individuals, the testicular volume was positively correlated with age ($\rho = 0.75$; $P < 0.0001$; Fig. 3), weight ($\rho = 0.65$; $P = 0.0011$), and serum testosterone levels ($\rho = 0.42$; $P = 0.0081$).

For testicular tone (Table 3), average values were similar between individuals from both biomes ($P > 0.05$). Additionally, the testicular tone was positively related with weight ($\rho = 0.36$; $P = 0.0241$) and serum testosterone levels ($\rho = 0.38$; $P = 0.0174$) when all the individuals were considered as a group.

Considering the categories of animals by age (Table 4), a significant increase in the weight of the animals was observed for each age group ($P < 0.05$). In relation to testosterone,

although an increase in its serum concentrations is visible with age, no significant differences were observed among categories ($P > 0.05$). As for testicular biometry, the adult animals showed a significantly higher testicular volume than the other categories ($P < 0.05$), but no differences were observed in relation to testicular tone ($P > 0.05$).

3.2. Impact of environmental variables on reproductive parameters

None of the environmental variables studied showed correlations with serum testosterone levels or with testicular biometry. Nevertheless, testicular tone was positively impacted by wind speed ($\rho = 0.37$; $P = 0.0211$) and relative humidity ($\rho = 0.37$; $P = 0.0262$).

Since the dry and wet seasons of both biomes occur in the same period, the animals were grouped to verify seasonal effect. Initially, analyses were conducted considering the entire group of animals (Table 5); subsequently, prepubertal animals were excluded to avoid the possible influence of their data in the analyses. In both cases, no seasonal influence on mean values for age, weight, serum testosterone levels, testicular biometry, or tone was detected.

4. Discussion

This study contributes to the knowledge on the reproductive physiology of wild male lowland tapirs. It provides novel data on serum testosterone levels and testicular biometry and tone, establishing correlations with their age and weight. Moreover, this study demonstrates that seasons do not affect reproductive characteristics, but testicular tone can be positively influenced by wind speed and relative humidity in the Pantanal and Cerrado biomes.

The study groups were homogeneous, with no significant differences in average ages and weights among animals from both biomes. The same phenomenon occurred for serum testosterone levels observed in animals from both biomes. The study findings fill a gap

regarding mean values of male steroid hormones for the species despite variations in serum testosterone values. We did not find significant differences between the animals grouped by age in terms of serum testosterone concentrations, but this could be an effect of the reduced number of prepubescent animals (only 03 individuals) and the wide variation in the values found for all groups. Despite this, we found significant correlations of this hormone levels with age and weight. This may be attributed to secondary testosterone functions related to weight gain with increasing age [24], as reported for horses [25], the domestic animal most closely related to tapirs [18].

For testicular biometry, similar values were found in individuals from the Pantanal and Cerrado biomes, except for wider testicles in animals from the Cerrado. Overall, the testicular biometric values observed in lowland tapirs were similar to those described for Baird's [20] and Malayan [26] tapirs. In addition, this study reported correlations of testicular volume with lowland tapir age, weight, and serum testosterone concentrations, as previously reported in other mammals [27,28]. Testicular growth in mammals is well-known to be regulated by several growth factors and hormones, including testosterone. Proper gonadal development is essential for spermatogenesis to occur [29]. However, correlations between testicular biometry and daily sperm production have not been investigated in these species unlike in domestic horses [30].

Notably, testicular volumes were significantly higher in adult tapirs than in younger individuals. Under field observation, we verified that juvenile tapirs are usually independent from their mothers, exploring surrounding areas to establish their home ranges, and looking for sexual partners until they attain reproductive maturity at approximately 48 months. We added this information regarding free-living tapirs to those previously described in the literature from observations of animals in captivity, which estimates that captive male tapirs

reach sexual maturity between 2 to 4 years of age based on behavioral observations and their ability to impregnate females [18].

Testicular tone refers to the firmness and resilience (flexibility) of the testes, which serves as a good indicator of testicular function and consequently, sperm production [22]. Testicular tone close to score 3 was observed in tapirs of both biomes, characterizing the presence of firm and consistent testes within the normal range. Additionally, the testicular tone of tapirs was positively related with the animal weight and serum testosterone concentrations. There was no relationship between testicular tone and age of the species, denoting that prepubertal animals have firm testicles similar to what was observed in juveniles and adults. However, these findings are different from those reported in cattle, where testicular tone is strongly related to the age of the animals and varies substantially between different genetic groups [31].

Notably, testicular tone was the only reproductive parameter studied in tapirs that showed relationships with environmental variables measured on the day of data collection, particularly wind speed and relative humidity. Relative humidity measurement is an important parameter to be observed when ambient temperatures reach high values, characterizing thermal stress for the animal owing to the relative difficulty of heat loss through evaporation [32]. Additionally, Tutida et al. [33] reported air velocity as an extremely important environmental factor to be observed since it influences thermoregulatory mechanisms of individuals and impacts reproductive activities, as demonstrated in the sperm parameters of rams. However, the presence of correlations between testicular consistency and sperm parameters in tapirs remains unclear. Further studies are needed to verify not only the effects of immediate environmental variables but also the set of these variables on the periods related to continuous reproductive phenomena, such as spermatogenesis and sperm maturation, as already studied in other wild species as the collared peccaries [14].

Reproductive seasonality is the phenomenon by wherein some species reduce or cease sexual activity during a certain period of the year, usually caused by climatic factors, especially temperature, rainfall, or photoperiod [34]. Reproductive seasonality was not identified in the free-living male lowland tapirs from the Pantanal and Cerrado biomes based on observations of serum testosterone concentrations, testicular biometry, and tone. These findings are similar to those described for stallions reared in a tropical and low-altitude environment, in which the seasons did not affect the mean concentrations of testosterone, suggesting that reproductive performance of these animals remains constant throughout the year [35]. Although studies based on the estrous cycles and historical catalog data of captive female Baird's tapirs report their lack of reproductive seasonality [36], there is evidence that wild tapirs show seasonality since they usually concentrate their reproductive activity before the rainy season [37]. Thus, the study findings suggest that the speculated seasonality of wild lowland tapirs is not necessarily related to the reproductive activities of males although their sperm production throughout different seasons and female reproductive activities require investigation.

This study provides a basis for the monitoring of the reproductive parameters of male tapirs. These data associated with conservation actions, including captive reproduction, strategic natural reproduction, and subsequent use of assisted reproduction technologies, may help minimize losses of populations and genetic resources.

5. Conclusions

This study provides novel baseline data for serum testosterone concentrations, testicular biometry and tone, and their relationships with age and weight of wild lowland tapirs. We demonstrated that there were no differences related to these reproductive parameters between individuals from the Pantanal and Cerrado biomes. Furthermore, we

suggest that reproductive activities of the male lowland tapir are not affected by seasonality, but some environmental variables, such as wind speed and relative humidity, can influence testicular tone.

Acknowledgements

This study has been an important component of the long-term activities of the Lowland Tapir Conservation Initiative (LTCI) – Instituto de Pesquisas Ecológicas (IPÊ) in Brazil. The Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO) provided the required annual permits for the collection of biological samples (SISBIO 14603-08). All the protocols for the manipulation and sampling of tapirs have been reviewed and approved by the Veterinary Advisors of the Association of Zoos and Aquariums (AZA) Tapir Taxon Advisory Group (TAG) and the Veterinary Committee of the IUCN SSC Tapir Specialist Group (TSG). The LTCI has the institutional support from the International Union for Conservation of Nature (IUCN) Species Survival Commission (SSC) Tapir Specialist Group (TSG), Association of Zoos and Aquariums (AZA) Tapir Taxon Advisory Group (TAG), and European Association of Zoos and Aquariums (EAZA) Tapir Taxon Advisory Group (TAG). The LTCI's financial support comes from national and international agencies, including zoological institutions, foundations, private businesses, and private individuals.

Financial support

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES, Financial Code 001). Alexandre R Silva and Felipe Z Brandão are investigators of the CNPq.

Credit authorship contribution statement

All the authors equally contributed for the conceptualization, methodology, investigation, and writing.

References

- [1] M.J. García, E.P. Medici, E.J. Naranjo, W. Novarino, R.S. Leonardo, Distribution, habitat and adaptability of the genus *Tapirus*, *Integr. Zool.* 7 (2012) 346–355. <https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2012.00317.x>.
- [2] L.N. Paolucci, R.L. Pereira, L. Rattis, D.V. Silverio, N.C. Marques, M.N. Macedo, P.M. Brando, Lowland tapirs facilitate seed dispersal in degraded Amazonian forests. *Biotropica* 51 (2019) 245–252. <https://doi.org/10.1111/btp.12627>
- [3] N. Villar, E.P. Medici, Large wild herbivores slow down the rapid decline of plant diversity in a tropical forest biodiversity hotspot. *Journal of Applied Ecology*, 58 (2021) 2361–2370. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14054>
- [4] D. Varela, K. Flesher, J.L. Cartes, S. Bustos, S. Chalukian, G. Ayala, et al. *Tapirus terrestris*. The IUCN Red List of Threatened Species (2019). <https://www.iucnredlist.org/species/21474/45174127>. Accessed 13 Apr 2022.
- [5] K.M. Flesher, E.P. Medici, The distribution and conservation status of *Tapirus terrestris* in the South American Atlantic Forest. *Neotrop. Biol. Conserv.* 17 (2022) 1–19. <https://doi.org/10.3897/neotropical.17.e71867>
- [6] E. P. Medici, K. Flesher, B.M. Beisiegel, A. Keuroghlian, A.L.J. Desbiez, et al., *Tapirus terrestris* (Linnaeus, 1758). In ICMBio/MMA. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção [Red Book of Endangered Brazilian Fauna] 2 (2018) 59–68.
- [7] R. Hermes, T.B. Hildebrandt, F. Göritz, Cryopreservation in rhinoceros - Setting a new benchmark for sperm cryosurvival, *PLoS One* 13 (2018) e0200154. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200154>.

- [8] P. Comizzoli, Biobanking and fertility preservation for rare and endangered species, *Anim. Reprod.* 14 (2007) 30–33. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR889>.
- [9] D.J. Rankin, H. Koko, Do males matter? The role of males in population dynamics, *Oikos* 116 (2007) 335–348. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2007.15451.x>.
- [10] C. Fontana, N. Moreira, Z.S. Cubas, M.J. Oliveira, W. Morais, P.R. Mangini, E.T. Lopez, Sperm motility of Brazilian-tapir (*Tapirus terrestris*) pre and post-thawing, *Anim. Reprod.*, 14 (2017) 364 (abst.).
- [11] S.D. Sontakke, Monitoring and controlling ovarian activities in wild ungulates, *Theriogenology* 109 (2018) 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.008>
- [12] T.L. Bailey, R.S. Hudson, T.A. Powe, M.G. Riddell, D.F. Wolfe, R.L. Carson, Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo, *Theriogenology* 49 (1998) 581–594. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00009-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00009-0).
- [13] P. Kretzschmar, U. Gansloßer, M. Dehnhard, Relationship between androgens, environmental factors and reproductive behavior in male white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*), *Horm. Behav.* 45 (2004) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2003.08.001>
- [14] K.M. Maia, A.L.P. Souza, A.M. Silva, J.B.F. Souza-Jr., L.L.M. Costa, F.Z. Brandão, M.F. Oliveira, P. Comizzoli, A.R. Silva, Environmental effects on collared peccaries (*Pecari tajacu*) serum testosterone, testicular morphology, and semen quality in the Caatinga biome, *Theriogenology* 126 (2019) 286–294. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.12.032>.
- [15] E.P. Medici, S. Mezzini, C.H. Fleming, J.M. Calabrese, M.J. Noonan, Movement ecology of vulnerable lowland tapirs between areas of varying human disturbance. *Mov. Ecol.* 14 (2022) 14. <https://doi.org/10.1186/s40462-022-00313-w>.

- [16] R.G. Andrade, G.C. Sedyama, A.R. da Paz, E.P. Lima, A.G. Facco, Geotechnologies applied to the assessment of biophysical parameters of the Pantanal biome, *Pesq. Agropec. Bras.* 47 (2012) 1227–1234. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000900007>
- [17] F.F.N. Marcuzzo, D.C.R. Melo, H.C. Costa, Sazonalidade e Distribuição Espaço-Temporal das Chuvas no Bioma do Cerrado do Estado do Mato Grosso do Sul [Seasonality and spatio-temporal distribution of rainfall in the Cerrado biome of the state of Mato Grosso do Sul], *Rev. Bras. Recursos Hídricos* 17 (2012) 77–86.
- [18] B. Pukazhenth, V. Quse, M. Hoyer, H. van Engeldorp-Gastelaars, O. Sanjur, J.L. Brown, A review of the reproductive biology and breeding management of tapirs, *Integr. Zool.* 8 (2013) 18–34. <https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2012.12008.x>.
- [19] R.C. Fernandes-Santos, E.P. Medici, C.T. José, T. Micheletti, Health assessment of wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) in the highly threatened Cerrado biome, Brazil, *J. Wildlife Dis.* 56 (2020) 34–46. <https://doi.org/10.7589/2018-10-244>.
- [20] B.S. Pukazhenth, G.D. Togna, L. Padilla, D. Smith, C. Sanchez, K. Pelican, A.O. Sanjur, Ejaculate traits and sperm cryopreservation in the endangered Baird's tapir (*Tapirus bairdii*), *J. Androl.* 32 (2011) 260–270. <https://doi.org/10.2164/jandrol.110.011833>.
- [21] G.C. Peixoto, M.A. Silva, T.S. Castelo, A.M. Silva, J.A. Bezerra, A.L. Souza, M.F. Oliveira, A.R. Silva. Individual variation related to testicular biometry and semen characteristics in collared peccaries (*Tayassu Tajacu* Linnaeus, 1758). *Anim. Reprod. Sci.* 134 (2012) 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.08.026>.
- [22] S.K. Yadav, P. Singh, N. Singh, Effect of testicular consistency on semen quality of Murrah buffalo breeding bulls, *Indian J. Dairy Sci.* 72 (2019) 93–96. <http://dx.doi.org/10.5455/ijlr.20180116015543>.

- [23] C.C. Shieh, S.C. Chang, C.R. Tzeng, J.J. Huang, W.J. Nir, C.Y. Hong, Measurement of testosterone in seminal plasma, saliva and serum by solid-phase enzymeimmunoassay. *Andrologia* 19 (1987) 614–619. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0272.1987.tb01909.x>.
- [24] S. Dhindsa, H. Ghanim, M. Batra, P. Dandona, Hypogonadotropic hypogonadism in men with diabetes, *Diabetes Care* 41 (2018) 1516–1525. <http://dx.doi.org/10.2337/dc17-2510>
- [25] M.A. Hannan, H. Murase, F. Sato, M. Tsogtgerel, N. Kawate, Y. Nambo, Age related and seasonal changes of plasma concentrations of insulin-like peptide 3 and testosterone from birth to early-puberty in Thoroughbred male horses, *Theriogenology* 132 (2019) 212–217. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.04.014>.
- [26] K. Lilia, Y. Rosnina, H.A. Wahid, Z.Z. Zahari, M. Abraham, Gross anatomy and ultrasonographic images of the reproductive system of the Malayan tapir (*Tapirus indicus*), *Anat. Histol. Embryol.* 39 (2010) 569–575. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2010.01030.x>
- [27] E.C. Hellgren, R.L. Lochmiller, M.S. Amoss Jr, S.W.J. Seager, S.J. Magyar, K.P. Coscarelli, et al., Seasonal variation in serum testosterone, testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (*Pecari tajacu*), *J. Reprod. Fertil.* 85 (1989) 677–686. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0850677>.
- [28] U.B. Kumbhar, S.U. Gulavane, S.M. Gaikwad, R.R. Shelar, V.P. Deshpande, R. Rebeiro, K. Yadav, Correlation of testicular ultrasonography, testicular biometry, serum testosterone levels and seminal attributes in pre and post-pubertal age for breeding soundness evaluation in Osmanabadi bucks, *Trop. Anim. Health Prod.* 51 (2019) 1467–1480. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01834-0>
- [29] R.S. Ge, M.P. Hardy, Variation in the end products of androgen biosynthesis and metabolism during postnatal differentiation of rat Leydig cells, *Endocrinology* 139 (1998) 3787–3795. <https://doi.org/10.1210/endo.139.9.6183>.

- [30] A. Kavak, N. Lundeheim, M. Aidnik, S. Einarsson, Testicular measurements and daily sperm output of Tori and Estonian breed stallions. *Reprod. Domest. Anim.* 38 (2003) 167–169. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2003.00418.x>.
- [31] R. Valentim, R.P. Arruda, R.C. Barnabe, M.M. Alencar, Testicular biometry of Nellore (*Bos taurus indicus*) and crossbred bulls (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) at 20 and 24 months of age, *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 39 (2002) 113–120. <https://doi.org/10.1590/S1413-95962002000300001>.
- [32] A.A. Habeeb, A.E. Gad, M.A. Atta, Temperature-humidity indices as indicators to heat stress of climatic conditions with relation to production and reproduction of farm animals, *Int. J. Biotechnol. Recent Adv.* 1 (2018) 35–50. <https://doi.org/10.18689/ijbr-1000107>
- [33] L. Tutida, O.R. Barbosa, E.N. Martins, F.A.F. Macedo, M.J.R. Roman, S.M. Simonelli, Influence of the season of year on the seminal characteristics of rams, *Rev. Bras. Zootec.* 28 (1999) 1141–1147. <https://doi.org/10.1590/S1516-35981999000500033>.
- [34] M.R.T. Dantas, J.B.F. Souza Jr., T.S. Castelo, A.E.A. Lago, A.R. Silva, Understanding how environmental factors influence reproductive aspects of wild myomorphic and hystricomorphic rodents, *Anim. Reprod.* 18 (2021) e20200213. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2020-0213>
- [35] B. Waddington, J.M. Penitente-Filho, J.G.S. Neves, R.O. Pinho, A.Y. Chaya, P.P. Maitan, C.O. Silveira, M.G. Neves, S.E.F. Guimarães, G.R. de Carvalho, J.D. Guimarães, Testosterone serum profile, semen characteristics and testicular biometry of Mangalarga Marchador stallions in a tropical environment, *Reprod. Dom. Anim.* 52 (2017) 335–343. <https://doi.org/10.1111/rda.12918>
- [36] J. Roman. *International Baird's Tapir Studbook*, Virginia Zoological Park, Norfolk, 2010.

[37] R.M. Nowak, Perissodactyla, in: R.M. Nowak (Ed.), Walker's Mammals of the World, 6th Ed. Vol. II., The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1999, pp. 1025–1028.

Table 1

Mean values ($\pm$ SEM) for the environmental characteristics at the day of the reproductive data collection in the wild male lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.

Environmental variables		Pantanal	Cerrado
Air Temperature	Mean $\pm$ SEM	23.2 $\pm$ 0.8 ^a	21.8 $\pm$ 0.2 ^a
	Range	14.6 – 28.5	10.9 – 28.5
Wind Speed	Mean $\pm$ SEM	0.9 $\pm$ 0.1 ^b	2.1 $\pm$ 0.3 ^a
	Range	0.1 – 2.2	0.7 – 3.6
Relative humidity	Mean $\pm$ SEM	65.8 $\pm$ 3.3 ^a	34.4 $\pm$ 6.4 ^b
	Range	23.8 – 84.1	8.6 – 79.7
Global radiation	Mean $\pm$ SEM	704.9 $\pm$ 47.6 ^a	688.5 $\pm$ 109.1 ^a
	Range	198.2 – 1 049.1	97.8 – 1 118.9

^{a,b} Different superscript lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 2

Mean values ($\pm$ SEM) for the age (month), weight (Kg), and serum testosterone levels (pg/mL) in wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.

		Pantanal* (n = 29)	Cerrado* (n = 12)
Age (month)	Mean $\pm$ SEM	78.0 $\pm$ 12.5	62.6 $\pm$ 8.2
	Range	24 – 96	15 – 228
Weight (Kg)	Mean $\pm$ SEM	164.8 $\pm$ 7.4	170 $\pm$ 9.0
	Range	85 – 225	125 – 190
Serum testosterone (pg/mL)	Mean $\pm$ SEM	125 $\pm$ 46	111 $\pm$ 47
	Range	0 – 1 278	0 – 488

*There were no significant differences between biomes ($P > 0.05$).

Table 3

Mean values ($\pm$ SEM) for testicular biometry and tone in wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.

Testicular parameters		Pantanal (n = 29)	Cerrado (n = 12)
Length (cm)	Mean $\pm$ SEM	10.2 $\pm$ 0.3 ^a	10.8 $\pm$ 0.6 ^a
	Range	7.9 – 14.6	6.8 – 12.5
Width (cm)	Mean $\pm$ SEM	4.1 $\pm$ 0.1 ^a	4.8 $\pm$ 0.3 ^b
	Range	2.6 – 5.2	3.2 – 6.6
Height (cm)	Mean $\pm$ SEM	4.4 $\pm$ 0.2 ^a	4.7 $\pm$ 0.4 ^a
	Range	3.2 – 6.5	2.2 – 7.4
Volume (cm ³)	Mean $\pm$ SEM	137.2 $\pm$ 12.2 ^a	192.9 $\pm$ 39.9 ^a
	Range	40.9 – 286.3	70.8 – 530.5
Tone (1 – 3)	Mean $\pm$ SEM	2.9 $\pm$ 0.1 ^a	2.8 $\pm$ 0.2 ^a
	Range	2 – 3	1 – 3

^{a,b} Different superscript lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 4

Mean values ($\pm$ SEM) for the biological and reproductive parameters according to the age group in wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.

Parameters		Age Groups		
		Prepubertal (< 17 months; n = 3)	Juvenile (From 18 to 47 months; n = 18)	Adult (> 48 months; n = 20)
Age (month)	Mean $\pm$ SEM	15.3 $\pm$ 0.3 ^a	35.7 $\pm$ 2.1 ^b	117 $\pm$ 13.6 ^c
	Range	15 – 16	18 – 47	48 – 216
Weight (Kg)	Mean $\pm$ SEM	105 $\pm$ 11.6 ^a	149.1 $\pm$ 6.0 ^b	193.8 $\pm$ 5.7 ^c
	Range	85 – 125	125 – 190	165 – 230
Serum testosterone (pg/mL)	Mean $\pm$ SEM	7 $\pm$ 4 ^a	56 $\pm$ 31 ^a	197 $\pm$ 65 ^a
	Range	0 – 10	0 – 258	0 – 1278
Testicular volume (cm ³)	Mean $\pm$ SEM	69.7 $\pm$ 10.8 ^a	115.3 $\pm$ 13.3 ^a	197.7 $\pm$ 22 ^b
	Range	58.9 – 91.3	62 – 286.3	69.8 – 530.6
Testicular tone (1 – 3)	Mean $\pm$ SEM	3 $\pm$ 0 ^a	2.9 $\pm$ 0.1 ^a	- 2.8 $\pm$ 0.1 ^a
	Range	3	2 – 3	2 – 3

^{a,b} Different superscript low case letters indicate significant differences among age groups ($P < 0.05$).

Table 5

Mean values ($\pm$ SEM) for age, weight, serum testosterone levels, testicular biometry and tone in wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) considering the dry (n = 19) and wet (n = 22 data) seasons in Brazilian biomes.

		Dry Season*	Wet Season*
Age (months)	Mean $\pm$ SEM	84.5 $\pm$ 13.9	64.7 $\pm$ 12.8
	Range	23 – 228	15 – 216
Weight (Kg)	Mean $\pm$ SEM	175.3 $\pm$ 8.3	159.1 $\pm$ 8.4
	Range	125 – 230	85 – 225
Serum Testosterone (pg/mL)	Mean $\pm$ SEM	163 $\pm$ 69	86 $\pm$ 29
	Range	0 – 1 278	0 – 490
Testicular volume (cm ³)	Mean $\pm$ SEM	160.6 $\pm$ 16.0	144.9 $\pm$ 22.8
	Range	40.9 – 286.3	58.9 – 530.5
Testicular consistency (1 – 3)	Mean $\pm$ SEM	2.8 $\pm$ 0.1	2.9 $\pm$ 0.1
	Range	2 – 3	1 – 3

*There were no significant differences between biomes (P > 0.05).

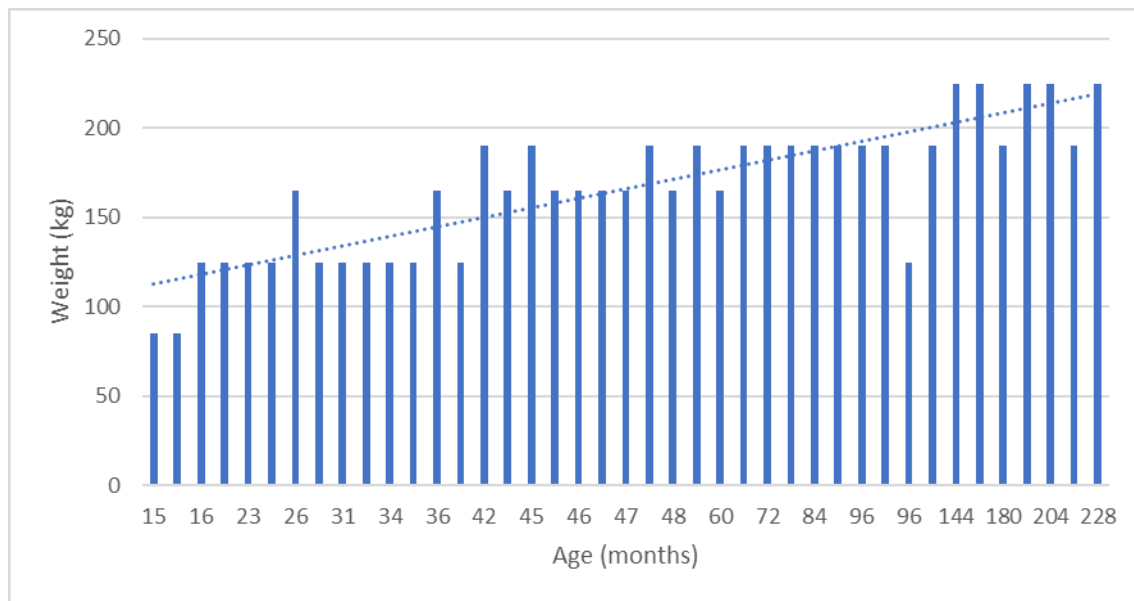


Fig. 1. Relationship between age (months) and weight (kg) of wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*; n = 33) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.

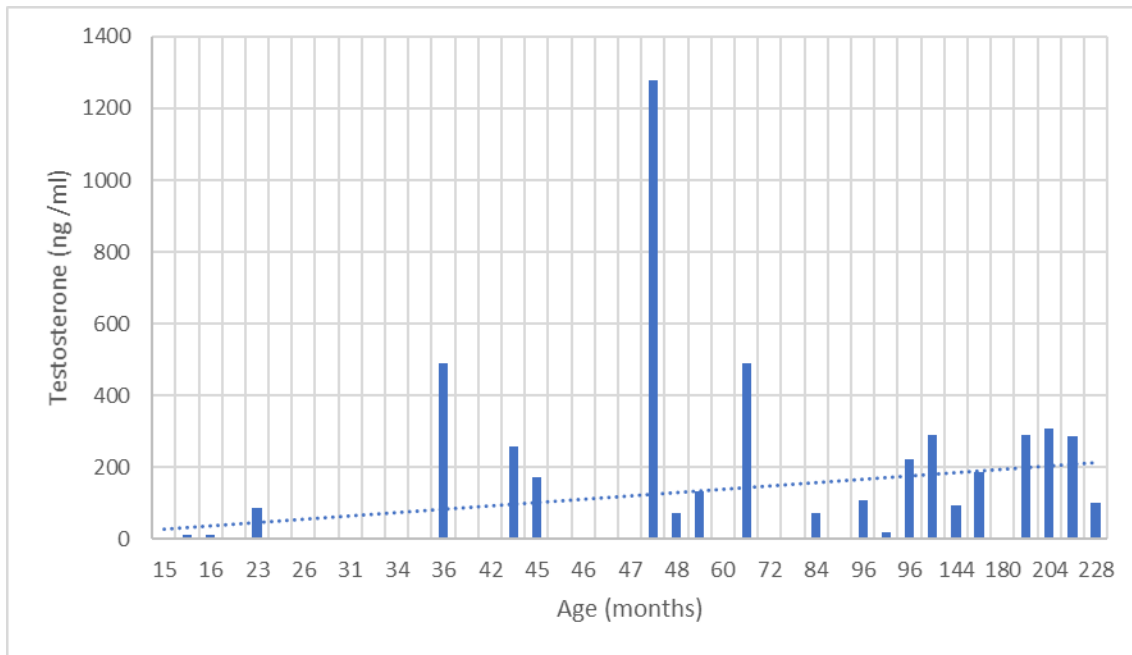


Fig. 2. Relationship between age (months) and serum testosterone concentrations (pg/ml) of wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*; n = 33) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.

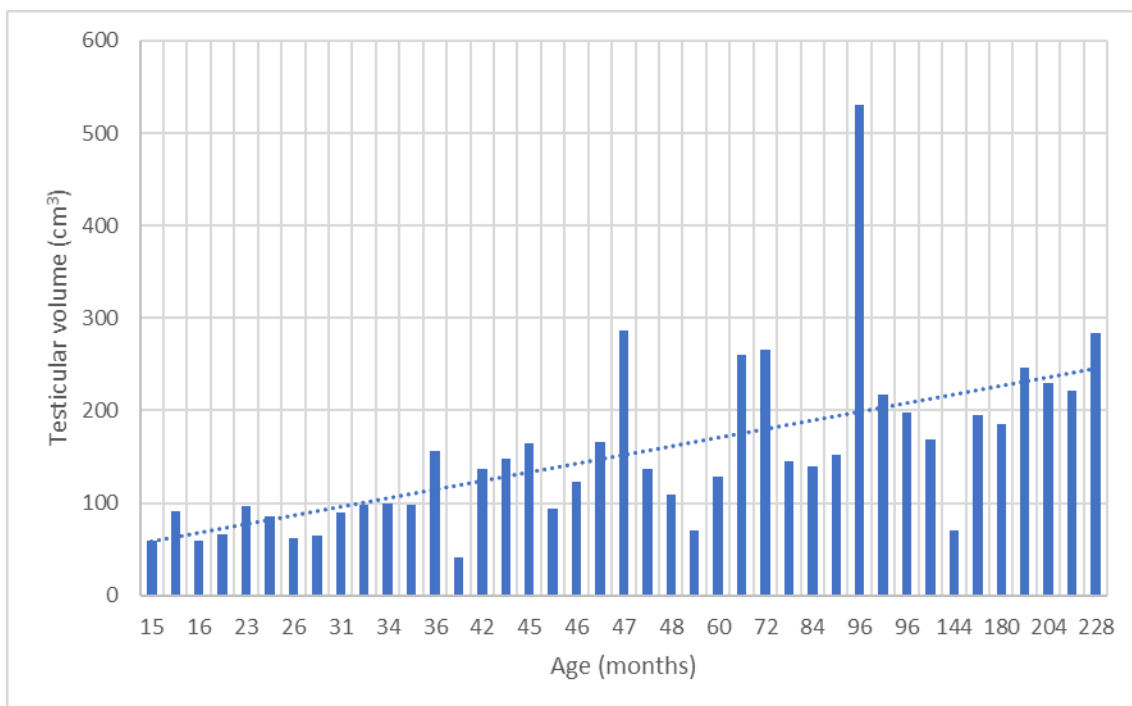


Fig. 3. Relationship between age (months) and testicular volume (cm³) of wild lowland tapirs (*Tapirus terrestris*; n = 33) raised in the Pantanal and Cerrado biomes, Brazil.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo fornece novos dados de linha de base para as concentrações séricas de testosterona, biometria e tônus testicular, e suas relações com idade e peso de antas selvagens. Demonstramos que não houve diferenças relacionadas a esses parâmetros reprodutivos entre indivíduos dos biomas Pantanal e Cerrado. Além disso, sugerimos que as atividades reprodutivas do macho da Anta Brasileira não são afetadas pela sazonalidade, mas algumas variáveis ambientais, como velocidade do vento e umidade relativa do ar, podem influenciar o tônus testicular.

PERSPECTIVAS

O trabalho realizado, por meio de uma abordagem de múltiplos parâmetros reprodutivos, como os níveis de testosterona sérica e da morfometria testicular da espécie, foi importante para traçar um perfil destas características e de seu padrão nos diferentes climas que caracterizam os biomas Pantanal e Cerrado.

Além disso, contribuiu com informações importantes a respeito das variáveis meteorológicas as quais as antas estão submetidas ao longo do ano. As informações obtidas neste trabalho poderão contribuir para as próximas pesquisas envolvendo a fisiologia reprodutiva na espécie, de modo a impulsionar novos estudos na área a fim de compreender ainda mais a reprodução do animal.

Este conhecimento possibilitará implementar um adequado monitoramento reprodutivo dos machos e manejo da espécie em cativeiro ou em vida livre. Além disso, estas informações podem agir como valiosas ferramentas para o aperfeiçoamento de bancos de germoplasma animal, através do aprimoramento de biotécnicas como a criopreservação de germoplasma animal, também podendo ser aplicadas a outras ações conservacionistas.

ANEXOS

Anexo 1 - RESUMO

RESUMO CIENTÍFICO - REPRODUÇÃO DE ANIMAIS SELVAGENS

RELAÇÕES ENTRE A IDADE, NÍVEIS DE TESTOSTERONA SÉRICA E BIOMETRIA TESTICULAR EM ANTAS BRASILEIRAS (TAPIRUS TERRESTRIS)

Andreza Vieira Brasil (brasilandrezavieira@gmail.com)

Felipe Zandonadi Brandão (fzbrandao@ld.uff.br)

Emília Patrícia Médici (medici@lpe.org.br)

Alexandre Rodrigues Silva (alexrs@ufersa.edu.br)

Considerado o maior mamífero terrestre da América do sul, populações de anta brasileira (*Tapirus terrestris* Linnaeus, 1758) têm apresentado notável declínio nos diferentes biomas onde ocorrem, estando a espécie, inclusive, internacionalmente classificada como vulnerável (3). No intuito de desenvolver estratégias efetivas para sua conservação, é imprescindível a aquisição de conhecimento a respeito da fisiologia reprodutiva da espécie. Neste sentido, objetivou-se investigar o perfil de testosterona sérica e a biometria testicular de machos de anta brasileira de vida livre e verificar a existência de correlações destes parâmetros reprodutivos com a idade dos indivíduos. O estudo foi realizado com animais provenientes do Cerrado e Pantanal do estado do Mato Grosso do Sul. Foram utilizados 32 machos capturados por meio de armadilhas ou dardos e, posteriormente anestesiados com uma combinação contendo tiletamina-zolazepam (1,25 mg/kg), medetomidina (0,006 mg/kg), cetamina (0,6 mg/kg), e atropina (0,03 mg/kg), previamente estabelecida para a espécie (1). A idade dos animais foi estimada por meio de avaliação dentária (1). Foi