

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS**

DOUTORADO

**AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS PARA CONTENÇÃO QUÍMICA,
ELETROEJACULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO SEMINAL DE
QUEIXADA (*Tayassu pecari*)**

RENAN LUIZ ALBUQUERQUE VIEIRA

Salvador - BA



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS**

DOUTORADO

**AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS PARA CONTENÇÃO QUÍMICA,
ELETROEJACULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO SEMINAL DE
QUEIXADA (*Tayassu pecari*)**

RENAN LUIZ ALBUQUERQUE VIEIRA

Salvador - BA

RENAN LUIZ ALBUQUERQUE VIEIRA

**AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS PARA CONTENÇÃO QUÍMICA,
ELETROEJACULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO SEMINAL DE
QUEIXADA (*Tayassu pecari*)**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos da Universidade Federal da Bahia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal nos Trópicos.

Área de Concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano

Co-orientador: Prof. Dr. Antônio de Lisboa Ribeiro Filho

Salvador - BA

Vieira, Renan Luiz Albuquerque.

Avaliação de protocolos para contenção química, eletroejaculação e caracterização seminal de queixada (*Tayassu pecari*) / Renan Luiz Albuquerque Vieira. - 2021.
140 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano.

Coorientador: Prof. Dr. Antônio de Lisboa Ribeiro Filho.

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2021.

1. Medicina veterinária. 2. Reprodução animal. 3. Animais silvestres - Reprodução. 4. Animais silvestres - Conservação. 5. Biotecnologia animal. 6. Educação ambiental. I. Feliciano, Marcus Antônio Rossi. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 636.089

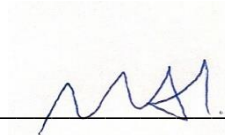
CDU - 636.082

**AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS PARA CONTENÇÃO QUÍMICA,
ELETROEJACULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO SEMINAL DE QUEIXADA
(*Tayassu pecari*)**

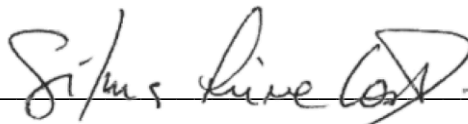
Renan Luiz Albuquerque Vieira

Salvador - BA, 16/06/2021

Comissão examinadora:



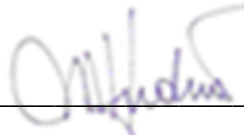
Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano
Orientador / UFBA



Profª. Dra. Silvia Lima Costa
Membro do Programa / UFBA



Profª. Dra. Cristiane Silva Aguiar
Examinadora – Membro Externo / UFRB



Profª. Dra. Maria Vanderly Andrea
Examinadora – Membro Externo / UFRB



Profª. Dra. Thaise da Silva Oliveira Costa
Examinadora – Membro Externo / FACISA

Salvador - BA

“Desistir não é uma opção”.

(Mário Simões).

Dedico este trabalho aos familiares e amigos pelo apoio, para que eu mantivesse todo empenho e dedicação nesta etapa, e também a todos os Pós-Graduandos que mesmo diante de tantas dificuldades, assim como eu, não desistiram dos seus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho, especialmente:

Ao Criador por ter me dado força e proteção.

À Universidade Federal da Bahia, que me acolheu para a realização de um sonho, e também a Universidade Estadual de Santa Cruz.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano, pela oportunidade, suporte e por ter acreditado em minha capacidade.

Ao Celso, Dandara, Claitiane, Thaíse, Danilo, Bruno, Lorena e Ana que contribuíram para o andamento desta pesquisa e, em especial, ao funcionário Deni, pela ajuda incondicional.

Ao Prof. Dr. Alcester Mendes pelo apoio e boa vontade, ao Prof. Dr. Rodrigo Freitas Bittencourt pelo suporte, à Profa. Dr^a. Maria Vanderly Andréa da Silva pela ajuda, ao Prof. Dr. Hanilton Ribeiro de Souza pelo apoio e incentivo, à Profa. Dr^a. Cristiane Silva Aguiar pelo apoio e por toda contribuição, ao prof. Dr. Tiago da Cunha Peixoto pelas contribuições, à Prof^a. Dr^a. Evani Souza de Oliveira Strada pela motivação e apoio, à Prof^a. Dr^a. Sílvia Lima Costa pelas contribuições, à Prof^a. Larissa Pires Barbosa pelos ensinamentos em reprodução animal, ao Prof. Dr. Alexandre Rodrigues Silva pelo apoio, à Profa. Dr^a. Ana Karina da Silva Cavalcante pelo apoio, ao Prof. Dr. Antônio de Lisboa Ribeiro Filho pelos conhecimentos passados.

Aos professores do Programa de Ciência Animal Nos Trópicos da UFBA, e aos professores do Programa de Ciência Animal da UESC, em especial à Prof^a. Dr^a. Soraia Vanessa Matarazzo pelos ensinamentos, e também à Prof. Dr^a. Sandra Cristina Becker pelos conhecimentos passados.

À CAPES pelo apoio financeiro que viabilizou tanto o desenvolvimento experimental do projeto quanto aos meus estudos.

Aos colegas do Salobrinho, amigos e familiares, em especial a Rafael, Rafaele, Hanilton, Mércia, Cristiane, Suelen, Apolo e Gatutinho pelo apoio e torcida.

**AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS PARA CONTENÇÃO QUÍMICA,
ELETROEJACULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO SEMINAL DE QUEIXADA
(*Tayassu pecari*)**

RESUMO

Queixada (*Tayassu pecari*) é um mamífero silvestre que se encontra em declínio populacional devido ao desflorestamento e caça excessiva. Uma estratégia para reverter este quadro é estabelecer um programa de criação em cativeiro para posterior soltura em áreas onde tenha sido extinto. Neste sentido, objetivou-se por meio deste estudo, comparar reações de queixadas submetidos a diferentes protocolos anestésicos e de eletroejaculação, descrever as características físicas, morfológicas, morfométricas e funcionais dos espermatozoides de queixadas mantidos em cativeiro e, por fim, utilizar a educação ambiental interligando pesquisa e ensino para sensibilização e conservação destes animais. Foram utilizados 16 queixadas machos adultos oriundos do criadouro científico da UESC, divididos em grupos aleatórios, sendo avaliados dois protocolos anestésicos (cetamina associada a xilazina ou acepromazina) e três protocolos de eletroejaculação crescentes: (2 a 4V; 5 a 12V) e fixo (12V). O sêmen coletado foi avaliado por meio de análise computadorizada de sêmen. O uso da associação acepromazina e cetamina promoveu melhor grau de tranquilização, qualidade e recuperação da anestesia, e melhores indicadores comportamentais de bem-estar durante o período anestésico e pós-anestésico. O protocolo de eletroejaculação crescente (5 - 12V) demonstrou melhor eficiência na taxa de coleta de sêmen. Quanto à avaliação macroscópica, os ejaculados apresentaram valores médios para aos parâmetros: volume ($0,53 \pm 0,63$ mL), consistência: leitoso (80%), aquoso (20%), coloração: amarelo (40%), branco (26%), marfim (20%), marrom (6,67%), translúcido (6,67%), odor: *Sui generis* (100%), pH ($7,23 \pm 0,26$), e concentração espermática ($967,19 \pm 947,33 \times 10^6$ spz/mL). Observou-se que os parâmetros espermáticos de queixadas estão dentro dos padrões desejáveis, permitindo considerá-los com potencial para o desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida. Os testes utilizados possibilitaram uma análise detalhada das características seminais da espécie, aspectos estes ainda inéditos na literatura. Este estudo pode contribuir como base para a aplicação de biotécnicas reprodutivas, promovendo a conservação desta espécie classificada como vulnerável a extinção.

Palavras-chave: Animal silvestre, espécie ameaçada, reprodução animal, espermatozoide.

**ASSESSMENT OF PROTOCOLS FOR CHEMICAL CONTAINMENT,
ELECTROEJACULATION AND SEMINAL CHARACTERIZATION OF THE WHITE-
LIPPED PECCARY (*Tayassu pecari*)**

ABSTRACT

White-lipped peccary (*Tayassu pecari*) is a wild mammal that is declining in population due to deforestation and excessive hunting. A strategy to reverse this situation is to establish a captive breeding program for later release in areas where its extinction has occurred. In this sense, the objective of this study was to compare reactions of jaws submitted to different anesthetic and electroejaculation protocols, to describe the physical, morphological, morphometrics and functional characteristics of sperm from jowls kept in captivity. Finally, use environmental education linking research and education to raise awareness and conservation of these animals. In total, 16 adult male peccaries from the UESC scientific breeding site were used. The animals were divided into random groups, being evaluated two anesthetic protocols (ketamine associated with xylazine or acepromazine) and three protocols for electroejaculation, were evaluated: (2 to 4V; 5 to 12V) and fixed (12V). The collected semen was evaluated by means of computerized semen analysis. The use of the acepromazine and ketamine combination promoted a better degree of analgesia, quality and recovery from anesthesia, and better behavioral indicators of well-being during the anesthetic and post-anesthetic period. The protocol for increasing electroejaculation (5 - 12V) demonstrated better efficiency in the semen collection rate. As for the macroscopic evaluation, the ejaculates presented average values for the parameters: volume ($0.53 \pm 0.63\text{mL}$), consistency: milky (80%), aqueous (20%), color: yellow (40%), white (26%), ivory (20%), brown (6,67%), translucent (6,67%), odor: *Sui generis* (100%), pH ($7,23 \pm 0.26$), and sperm concentration ($967,19 \pm 947,33 \times 10^6$ spz/mL). It was observed that the sperm parameters of white-lipped peccary are within the desirable standards, allowing them to be considered as having potential for the development of assisted reproduction techniques. The tests used enabled a detailed analysis of the species' seminal characteristics, aspects that are still unprecedented in the literature. This study can contribute as a basis for the application of reproductive biotechniques, promoting the conservation of this species classified as vulnerable to extinction.

Keywords: Wild animal, threatened species, animal reproduction, sperm.

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 3

Características morfológicas e morfométricas de espermatozoides de queixadas (*Tayassu pecari*)

Figura 1. Espermatozoides de queixada avaliados em microscopia de contraste interferencial de fase. (A) espermatozoide normal, (B) espermatozoide com presença de gota citoplasmática proximal, (C) peça intermediária dobrada, (D) cauda levemente enrolada.....85

CAPÍTULO 4

Correlação entre volume testicular e qualidade seminal de queixadas (*Tayassu pecari*) mantidos em cativeiro

Figura 1. Manejo reprodutivo de queixadas em cativeiro: (A) animais soltos no piquete, (B) animais na baia experimental, (C) mensuração dos parâmetros testiculares, (D) fixação do pênis para coleta de sêmen, (E) aspecto do ejaculado e (F) célula espermática de queixada.....99

CAPÍTULO 5

Interfaces entre pesquisa e ensino: estratégias para sensibilização dos alunos do Ensino Básico para conservação da fauna silvestre, em especial o *Tayassu pecari*

Figura 1. Percentual de alunos que costumam caçar animais silvestres.....114

Figura 2. Percentual de alunos que possuíam animais domésticos em casa115

Figura 3. Atitude tomada pelos estudantes ao receber/encontrar um animal silvestre.....116

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 1

Protocolos para contenção química e eletroejaculação para coleta de sêmen de queixadas (Mammalia, Tayassuidae)

Tabela 1. Escores usados para avaliar a qualidade da anestesia e da avaliação comportamental pós-anestesia em queixadas (*Tayassu pecari*) submetidos à anestesia dissociativa com xilazina e cetamina ou acepromazina e cetamina.47

Tabela 2. Medianas, valores máximos e mínimos dos escores 1 atribuídos à qualidade da anestesia e avaliação comportamental pós-anestesia em queixadas (N=12) submetidos aos protocolos anestésicos xilazina e cetamina ou acepromazina e cetamina.....49

Tabela 3. Médias (\pm EP) do tempo, em minutos, de indução anestésica, duração da anestesia e de recuperação anestésica em queixadas (N=12), submetidos aos protocolos anestésicos xilazina e cetamina ou acepromazina e cetamina.....51

Tabela 4. Valores médios (\pm EP) das funções vitais de queixadas (N=12), submetidos aos protocolos xilazina e cetamina ou acepromazina e cetamina.52

CAPÍTULO 2

Caracterização seminal de queixadas (Mammalia, Tayassuidae) criados em cativeiro

Tabela 1. Valores médios referentes à avaliação quantitativa dos ejaculados de queixadas (*Tayassu pecari*) submetidos à coleta de sêmen por eletroejaculação.....68

Tabela 2. Parâmetros de viabilidade espermática do sêmen de queixadas (*Tayassu pecari*) submetidos à coleta de sêmen por eletroejaculação.....69

Tabela 3. Características morfológicas de espermatozoides de queixadas (*Tayassu pecari*).....70

Tabela 4. Parâmetros de viabilidade espermática do sêmen de queixadas (*Tayassu pecari*), avaliado durante quatro horas no teste de termorresistência lento.....71

Tabela 5. Avaliação da funcionalidade de membrana de espermatozoides de queixadas (*Tayassu pecari*), frente ao teste hisposmótico.....72

Tabela 6. Avaliação da funcionalidade de membrana de espermatozoides de queixadas (*Tayassu pecari*), frente ao teste de integridade estrutural de membrana.....72

Tabela 7. Características morfométricas de espermatozoides de queixadas (<i>Tayassu pecari</i>).....	73
--	----

CAPÍTULO 3

Características morfológicas e morfométricas de espermatozoides de queixadas (*Tayassu pecari*)

Tabela 1. Características morfológicas de espermatozoides de queixada (<i>Tayassu pecari</i>).....	83
--	----

Tabela 2. Classificações morfológicas de espermatozoides de queixada (<i>Tayassu pecari</i>).....	84
---	----

CAPÍTULO 4

Correlação entre volume testicular e qualidade seminal de queixadas (*Tayassu pecari*)

Tabela 1. Médias dos parâmetros de biometria testicular de queixadas (n=16).....	97
--	----

Tabela 2. Parâmetros de viabilidade espermática do sêmen de queixadas (<i>Tayassu pecari</i>) submetidos à coleta de sêmen por eletroejaculação.....	98
--	----

Tabela 3. Correlação entre as características biométricas testiculares com a qualidade do sêmen de queixadas (<i>Tayassu pecari</i>).....	100
---	-----

LISTA DE SIGLAS

- APAs Áreas de proteção ambiental
- BTS *Beltsville Thawing Solution*, diluidor seminal suíno.
- CBRA Colégio Brasileiro de Reprodução Animal
- CFDA Diacetato de carboxifluoresceína
- Cm Centímetro, unidade de medida de comprimento
- DNA Ácido desoxirribonucléico
- EEJ Eletroejaculação
- FIV Fertilização *in vitro*
- g Grama, unidade de medida de massa
- HO Teste Hiposmótico
- °C Grau Celsius, unidade de temperatura
- kg Quilograma, unidade de medida de massa
- µl Microlitro, unidade de medida de volume
- µm Micrometro, unidade de medida de comprimento
- HO Teste hiposmótico
- IA Inseminação artificial
- IM Integridade de membrana
- IP Iodeto de propídio
- m Metro, unidade de medida de comprimento
- mA Miliamper, unidade de medida de corrente elétrica
- mg Miligrama, unidade de medida de massa
- mL Mililitro, unidade de medida de volume
- mm Milímetro, unidade de medida de comprimento
- MIV Maturação *in vitro*
- pH Potencial hidrogeniônico

PIV Produção de embriões *in vitro*

% Porcentagem, unidade de razão na base 100

R\$ Real, unidade monetária brasileira

Sptz Espermatozoide, gameta masculino

sptz/mL Espermatozoides por mililitro, unidade de concentração espermática

IUCN União Internacional para a Conservação da Natureza

TE Transferência de embriões

TTR Teste de termorresistência

V Volts, unidade de tensão elétrica

ZP Zona pelúcida

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	199
2.1 Classificação e conservação do <i>Tayassu pecari</i>	19
2.2 Criação de <i>Tayassu pecari</i> em cativeiro	200
2.3 Anestésicos e aplicações para estudos de reprodução em animais silvestres	233
2.4 Agentes e protocolos adotados para indução de ejaculação em animais domésticos e silvestres	27
2.5 Parâmetros de avaliação seminal	30
2.6 Biotécnicas reprodutivas aplicadas aos animais silvestres	355
3 HIPÓTESES.....	3838
4 OBJETIVOS.....	39
4.1 Objetivo Geral	39
4.2 Objetivos Específicos.....	39
5 CAPÍTULO 1. Protocolos para contenção química e eletroejaculação para coleta de sêmen de queixadas (Mammalia, Tayassuidae).....	350
5.1 RESUMO	400
5.2 ABSTRACT	411
5.3 INTRODUÇÃO	422
5.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	422
5.4.1 Animais e local do estudo	42
5.4.2 Protocolos anestésicos	43
5.4.3 Protocolos de eletroejaculação	466
5.4.4 Análise dos dados.....	477
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.6 CONCLUSÃO	533
5.7 REFERÊNCIAS.....	544
6 CAPÍTULO 2. Caracterização seminal de queixadas (Mammalia, Tayassuidae) criados em cativeiro.....	577
6.1 RESUMO	577
6.2 ABSTRACT	588
6.3 INTRODUÇÃO	59
6.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	60

6.4.1 Nota ética.....	60
6.4.2 Área de estudo	600
6.4.3 Manejo dos animais	61
6.4.4 Protocolos anestésicos	61
6.4.5 Coleta dos dados reprodutivos	61
6.4.6 Protocolo de eletroejaculação.....	62
6.4.7 Avaliação de sêmen.....	63
6.4.8 Análise estatística	64
6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	655
6.6 CONCLUSÃO	712
6.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	722
7 CAPÍTULO 3. Características morfológicas e morfométricas de espermatozoides de queixadas (<i>Tayassu pecari</i>)	767
7.1 Resumo.....	767
7.2 Abstract.....	778
7.3 INTRODUÇÃO	79
7.4 Material e métodos.....	790
7.4.1 Área de estudo	790
7.4.2 Protocolos anestésicos	790
7.4.3 Protocolo de eletroejaculação.....	790
7.4.4 Avaliação da morfologia espermática	801
7.4.5 Avaliação da morfometria espermática.....	801
7.4.6 Análise estatística	812
7.5 Resultados e discussão	812
7.6 Conclusão	845
7.7 Referências.....	845
8 CAPÍTULO 4. Correlação entre volume testicular e qualidade seminal de queixadas (<i>Tayassu pecari</i>).....	878
8.1 RESUMO	878
8.2 ABSTRACT	8889
8.3 INTRODUÇÃO	890
8.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	901
8.4.1 Nota ética.....	901
8.4.2 Área de estudo	90
8.4.3 Manejo dos animais	912

8.4.4 Protocolos anestésicos	912
8.4.5 Biometria testicular	912
8.4.6 Protocolo de eletroejaculação.....	923
8.4.7 Avaliação da cinética espermática.....	934
8.4.8 Análise estatística	934
8.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	945
8.6 CONCLUSÃO	990
8.7 REFERÊNCIAS	1001
9 CAPÍTULO 5. Interfaces entre pesquisa e ensino: estratégias para sensibilização dos alunos do Ensino Básico para conservação da fauna silvestre, em especial o <i>Tayassu pecari</i>	1034
9.1 RESUMO	1034
9.2 ABSTRACT	1045
9.3 INTRODUÇÃO	1056
9.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	1078
9.4.1 <i>Lócus</i> da Pesquisa.....	1078
9.4.2 Coleta de Dados	1078
9.4.3 Palestra e Mesa de Diálogo.....	1090
9.4.5 Análise estatística	1101
9.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	1101
9.6 CONCLUSÃO	1178
9.7 REFERÊNCIAS.....	11819
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	127
11. REFERÊNCIAS.....	128

1 INTRODUÇÃO

O queixada (*Tayassu pecari*) é um mamífero silvestre pertencente à família Tayassuidae (AGNARSSON; MAY-COLLADO, 2008). Além do queixada, a família inclui outras duas espécies, o caititu (*Tayassu tajacu*) e o tagúia (*Catagonus wagneri*). Esses animais são popularmente conhecidos como pecaris ou ainda como porcos do mato (SOWLS, 1997), contudo, não fazem parte da família Suidae, na qual estão classificados o porco doméstico (*Sus scrofa domesticus*), o javali (*Sus scrofa scrofa*), e o porco feral (*Sus scrofa feral*), animal híbrido resultante do cruzamento das duas espécies anteriormente citadas (SILVA, 2006). O *T. pecari* é o maior dentre os pecaris, pode alcançar 1,10 m de comprimento e pesar até 54 kg em cativeiro (LAVORENTI; NOGUEIRA-FILHO, 1997). É encontrado desde o sul do México até o nordeste da Argentina (ALTRICHTER et al., 2012). Apesar de classificado como onívoro (BODMER, 1989) consome, predominantemente, frutos, raízes e folhas em florestas tropicais úmidas (KILTIE, 1982).

A espécie *T. pecari* encontra-se em declínio ao longo da sua área de ocorrência devido à caça e destruição de seu hábitat (KEUROGHLIAN et al., 2013), que levou à espécie a ser classificada como vulnerável pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN) (KEUROGHLIAN et al., 2013). Na natureza desempenham um importante papel na recomposição das florestas, por atuarem na dispersão de sementes e plântulas (PAINTER, 1998), portanto, sua ausência afeta a manutenção das florestas. Diante de sua importância para a manutenção dos ecossistemas (DESBIEZ; KEUROGHLIAN, 2009) é preciso estabelecer práticas que reduzam seu declínio populacional.

Alguns conservacionistas defendem que a criação desta espécie, assim como outras espécies cinegéticas neotropicais, poderia ser uma alternativa à caça de subsistência por resultar em menor impacto negativo ao meio ambiente, visto que a implementação dessa atividade com tais espécies, naturalmente adaptadas às condições locais, não gerariam grandes alterações ambientais (SANTOS et al., 2009), além de reduzir, a pressão e dependência sobre as populações de animais nativos (GARCIA et al., 2005; ROE, 2008). Por este motivo, vários autores sugerem que a criação de pecaris seria uma forma de fornecer alimento e geração de renda em áreas onde as condições locais limitam a produção animal tradicional

(NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2011), além de proporcionar a diversificação da produção em propriedades rurais (NOGUEIRA; NOGUEIRA-FILHO, 2011).

Apesar do desenvolvimento de técnicas para criação em cativeiro (NOGUEIRA-FILHO, 1999), de avanços recentes sobre sua nutrição (NOGUEIRA-FILHO et al., 2014), formas de avaliar e melhorar o bem-estar em cativeiro (NOGUEIRA et al., 2011) e produção e comercialização (ALTRICHTER et al., 2012), nem sempre a reprodução de queixadas em cativeiro tem êxito (SOWLS, 1997).

Sowls (1997) sugere que a baixa fertilidade de machos pode ser responsável pelos baixos índices reprodutivos da espécie em cativeiro. Neste contexto, a obtenção de mais dados acerca de sua biologia é necessária para o desenvolvimento de tecnologias adequadas para sua produção em cativeiro. É preciso, por exemplo, obter informações sobre as funções reprodutivas normais dos machos por meio do exame andrológico, técnica usada na seleção dos reprodutores por permitir identificar problemas de subfertilidade ou infertilidade que poderiam comprometer os índices reprodutivos do rebanho (BARBOSA et al., 2005).

O exame andrológico completo baseia-se na avaliação de todos os fatores envolvidos na função reprodutiva dos machos, o qual abrange a saúde geral, genital, capacidade de copular e de fecundar os oócitos. Tal exame possui indicação na seleção e comercialização de reprodutores, avaliação do potencial reprodutivo, diagnóstico de sub ou infertilidade (BARBOSA et al., 2005), diagnóstico de ocorrência da puberdade, preservação do sêmen *in vitro*, dentre outros (Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA, 2013). Desta forma, permite a aplicação de técnicas de reprodução assistida que possibilitam o fluxo gênico a partir da troca de sêmen (material genético) de animais de criadouros diversos (SILVEIRA, 2007). Essa técnica pode reduzir, portanto, os efeitos negativos da endogamia no rebanho, tais como aumento de animais homozigotos para genes letais ou recessivos deletérios (FRANKHAM et al., 2008). Ainda, pode reduzir a possibilidade de reintrodução de queixadas em locais onde ocorreu sua extinção, e assim contribuir para a conservação *in situ* da espécie (GUIMARÃES et al., 2013).

Adicionalmente, a descrição do perfil espermático de queixadas configura o primeiro requisito para o conhecimento das características seminais da espécie, informações estas que pode, em médio prazo, ser aplicadas em técnicas de

reprodução assistida, como criopreservação e inseminação artificial. Por sua vez, possibilitarão a formação de bancos de germoplasma e assim constituir um importante recurso biotecnológico para a conservação da espécie. No entanto, sabe-se que diferentes protocolos anestésicos e de eletroejaculação apresentam eficiência variável nas taxas de obtenção de ejaculados (SILVA et al., 2004). Sendo assim, para aplicação dessas técnicas, é imprescindível o desenvolvimento de metodologia segura para coleta seminal que garanta o bem-estar do animal e a segurança da equipe que realiza o procedimento (SILVA et al., 2004). Assim, objetivou-se nesta pesquisa avaliar protocolos para contenção química, eletroejaculação e caracterizar o sêmen de queixada, bem como, utilizar os conhecimentos adquiridos para promoção da educação ambiental.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Classificação e conservação do *Tayassu pecari*

O queixada (*Tayassu pecari*) é um mamífero silvestre pertencente à família Tayassuidae (AGNARSSON; MAY-COLLADO, 2008). Além do queixada, a família inclui outras duas espécies, o caititu (*Tayassu tajacu*) e o taguá (*Catagonus wagneri*). Esses animais são popularmente conhecidos como pecaris ou ainda como porcos do mato (SOWLS, 1997), contudo, não fazem parte da família Suidae, na qual estão classificados o porco doméstico (*Sus scrofa domesticus*), o javali (*Sus scrofa scrofa*), e o porco feral (*Sus scrofa feral*), animal híbrido resultante do cruzamento das duas espécies anteriormente citadas (SILVA, 2006).

Algumas características anatômicas presentes nos pecaris os diferenciam dos porcos, como por exemplo, a glândula de cheiro próxima ao ânus e o estômago dividido em quatro compartimentos (SOWLS, 1997). A distribuição dos pecaris restringe-se às Américas (DESBIEZ et al., 2012; IUCN, 2015), e os queixadas apresentam distribuição mais restrita que os caititus, que abrange o sul do México ao nordeste da Argentina (KEUROGHLIAN et al., 2012; VECCHIA, 2011).

Os queixadas necessitam de grandes áreas contínuas de mata para sua sobrevivência, sendo bastante susceptíveis ao processo de antropização. Portanto, ambientes degradados representam ameaça aos queixadas, o que explica o seu declínio populacional e, conseqüentemente, extinções locais (AZEVEDO; CONFORTI, 2008; FRAGOSO, 1998; KEUROGHLIAN et al., 2012). Caititus possuem ampla distribuição geográfica justamente por serem mais tolerantes a ambientes degradados, não sendo esta uma qualidade dos queixadas (DESBIEZ et al., 2012). Os queixadas, ao contrário dos caititus, que possuem menor exigência ecológica, o que reflete na diferença de *status* de conservação entre essas duas espécies.

Além dos prejuízos decorrentes da degradação dos *habitats*, ao longo dos anos, ambas as espécies sofrem com os efeitos da pressão da caça excessiva (DESBIEZ et al., 2012; KEUROGHLIAN et al., 2012). Estes fatores tornaram o queixada vulnerável a extinção de acordo com a Lista Vermelha da União

Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2015). No bioma Mata Atlântica, que possui apenas 12,5% de floresta nativa conforme o levantamento SOS Mata Atlântica (2013-2014), a situação é ainda mais crítica, no qual a espécie foi classificada como “criticamente em perigo”, segundo a Avaliação do Risco do Queixada no Brasil (2012).

O *T. pecari* é o maior dentre os pecaris, pode alcançar 1,10 m de comprimento e pesar até 54 Kg em cativeiro (LAVORENTI; NOGUEIRA-FILHO, 1997). Animais adultos possuem pelagem que variam em tons de castanho escuro a negro, que contrastam com a faixa de pelos esbranquiçados abaixo da mandíbula (SOWLS, 1997). A espécie também possui o hábito de bater violentamente o queixo, exibindo um forte estalar dos dentes, que resultou em sua denominação como queixada ou pecari do lábio branco (OLIVER, 1993).

Estes animais possuem hábito alimentar onívoro, assim, uma ampla variedade de itens compõe sua dieta, tais como raízes, folhas, insetos, frutos, pequenos vertebrados, tubérculos, caules e sementes (OLIVER, 1993). Devido seu hábito alimentar, a espécie assume o importante papel na dispersão de sementes, e influenciam de maneira positiva a composição das florestas (EATON; KEUROGHLIAN, 2008), sendo portanto, considerados como “engenheiros do ambiente” (VILLAR et al., 2019). Estes animais possuem um olfato muito apurado que contribui para a localização de alimentos no solo, facilitado pelo hábito de fuçar (EATON; KEUROGHLIAN, 2008; OLIVER, 1993).

2.2 Criação de *Tayassu pecari* em cativeiro

A espécie possui importante papel econômico e cultural para as populações que habitam as florestas tropicais e dependem dos recursos naturais para sua subsistência, contudo, tal atividade poderá não mais existir em virtude do declínio populacional sofrido pela espécie, devido sua sensibilidade à fragmentação ambiental e a pressão exercida pela caça excessiva (DESBIEZ et al., 2012; KEUROGHLIAN et al., 2012). Por isso, a criação dessa espécie em cativeiro pode ser uma solução interessante para diminuir a captura de animais em seu ambiente natural, além de fornecer uma fonte alternativa de proteína para a população que habita no entorno de áreas com fragmento de mata (GARCIA et al., 2005;

NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2004). Estes benefícios têm impulsionado a criação legalizada de animais silvestres, a qual tem ganhado destaque e notoriedade (IBAMA, 1997).

Os queixadas destacam-se por viverem em grupos sociais, reproduzirem-se o ano todo e, ainda, por possuírem alto potencial zootécnico. Dessa forma, sua criação em cativeiro é uma alternativa em termos de produção de carne com grande aceitação devido a sua alta palatabilidade e baixos níveis de colesterol (NOGUEIRA FILHO et al., 1999). Tal criação permite ainda a produção de peles de excelente qualidade, com grande demanda no mercado internacional para confecção de luvas, calçados, casacos entre outros artigos de luxo, apreciados no comércio exterior (DEUTSCH; BODMER et al., 1997; PUGLIA, 1988). A criação de queixadas possibilita ainda a promoção do gerenciamento racional e a conservação da biodiversidade local (ALBUQUERQUE, 2007).

Estes animais consomem grande diversidade de alimentos e são bem adaptados a ração comercial fornecida para suínos. Como complementação de sua dieta, variedades de frutos podem ser ofertados, a exemplo de: goiaba, manga, banana, mamão, abacate, pitanga, e assim possibilitar redução dos custos com ração, que além de estimular o hábito de forrageamento, reduz o ócio que por sua vez poderia levar a distúrbios comportamentais (NOGUEIRA et al., 2014).

O confinamento é uma técnica que tem por objetivo aumentar os índices de produtividade e ainda melhorar a qualidade do produto final (MORATO et al., 1998). Dessa forma, permite disponibilizar ao mercado consumidor um animal mais jovem e com características de carcaça desejáveis, características indispensáveis que podem contribuir com a expansão do consumo e favorecer a cadeia produtiva como um todo (ALVES et al., 2003). Para implementação dessa técnica, no entanto, são necessários conhecimentos sobre a biologia da espécie, bem como de sua fisiologia reprodutiva, aspectos sanitários, nutricionais e comportamentais (MORATO et al., 1998). Portanto, o conhecimento da biologia dessa espécie se torna um recurso essencial para sua conservação (BANHOS, 2009).

Para o estabelecimento de um sistema de criação, o produtor precisará dispor de piquetes com área que varia de 400 a 1.500 m², cercada com telas de alambrados e sustentada por mourões de madeira. Para evitar que os animais fujam

por baixo da cerca, deve-se construir um baldrame de concreto com cerca de 40 cm, em áreas com baixa declividade e boa drenagem a fim de se evitar erosões em função da intensa movimentação dos animais, hábito característico da espécie (FRAGOSO, 1998). Assim o produtor poderá iniciar sua atividade com um grupo de animais composto por dois machos e oito fêmeas, as quais, prioritariamente devem ser provenientes de um mesmo bando, com o intuito de reduzir comportamentos agonísticos entre eles e as taxas de infanticídios. Para evitar a endogamia os machos podem ser adquiridos de diferentes grupos de queixadas (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA; SATO, 1999).

Em cativeiro, experiências demonstram que queixadas machos iniciam sua vida reprodutiva a partir de um ano de idade, já as fêmeas entre 10 a 12 meses, com taxa de natalidade de dois filhotes por parto com intervalo entre partos de 220 dias. Após um período de aproximadamente 158 dias de gestação, os filhotes nascem com peso médio de 700g, ativos e, imediatamente passam a seguir a mãe, e recebem cuidado e proteção (LAVORENTI; NOGUEIRA-FILHO, 1997). Com 30 dias após o parto, as fêmeas já podem exibir um novo estro, no entanto vale ressaltar que para atingir tais índices reprodutivos é necessário que os animais sejam criados em condições ambientais mais próximas possíveis do seu ambiente natural (NOGUEIRA-FILHO, 1999).

Em ambiente natural, queixadas vivem em grandes grupos, com registros de até 400 indivíduos, o que permite maior rotatividade de machos dominantes que por sua vez configura maior variabilidade genética para o rebanho, o que nem sempre é possível em cativeiro, em função do número reduzido de animais (FRAGOSO, 1998). O cruzamento entre poucos indivíduos por sua vez favorece o aumento da endogamia no rebanho. Tal evento tende a comprometer a sobrevivência e a reprodução desses animais em decorrência do aumento de animais homozigóticos para genes letais ou recessivos deletérios, além de favorecer a redução da variabilidade genética (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2008), que consequentemente levaria a população a depressão endogâmica (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2008).

Neste caso a reprodução assistida possibilitaria um fluxo gênico a partir do transporte de sêmen de animais de outros criadouros e, portanto, maior variabilidade

genética dentre essas populações. Por isso, estudos que abordem a fisiologia reprodutiva dos machos são importantes, pois geram conhecimento necessário para a aplicação de biotécnicas que possibilitem maior disseminação do material genético (SILVEIRA, 2007).

2.3 Anestésicos e aplicações para estudos de reprodução em animais silvestres

A preocupação do meio científico com o sofrimento animal exige estudo de técnicas anestésicas cada vez mais elaboradas, na tentativa de proporcionar conforto e bem-estar ao animal (MASSONE, 2002).

A dor foi conceituada pela Associação Internacional para o Estudo da dor, como experiência sensorial e emocional desagradável associada a lesões reais. Fisiologicamente, a dor é como sinal de alerta que desencadeia reações de defesa e preservação (KLAUMAN et al., 2008). O componente fisiológico da dor é chamado nocicepção, que é determinado pela ativação de vias neurais aferentes induzidas por estímulos mecânicos, químicos ou térmicos. O termo nocicepção está relacionado com o reconhecimento de sinais dolorosos pelo sistema nervoso, os impulsos elétricos que deflagram a dor estimulam os nociceptores, o qual segue até o sistema nervoso onde serão formuladas informações relacionadas à lesão (MUIR III, 2009).

Os objetivos fundamentais do procedimento anestésico envolvem a promoção de um estado de inconsciência, analgesia, proteção neurovegetativa, rápida recuperação das condições fisiológicas ao término do procedimento e a normalidade das capacidades motoras sem excitação e sequelas (GARCIA et al., 2003).

Anestesia é definida como a perda temporária da sensação de dor, que pode ser decorrente da depressão reversível local ou geral das atividades do tecido nervoso (MUIR; HUBBELL, 1995). O procedimento anestésico tem por objetivo anular a sensação dolorosa, e assim, possibilitar a realização de intervenções cirúrgicas sem o sofrimento do paciente (SILVA, 1997). Sabe-se que avaliação da dor é uma medida subjetiva e os animais não podem relatar sua intensidade, para

tanto deve-se, portanto, atentar aos sinais comportamentais e fisiológicos. Os sinais mais comuns incluem alteração da postura e da expressão facial, alterações comportamentais, resposta aversiva à manipulação da ferida e mudanças nas variáveis fisiológicas (McKELVEY; HOLLINGSHEAD, 1998).

Em animais selvagens mantidos em cativeiro, a contenção farmacológica se faz necessária para uma grande diversidade de procedimentos (CALLE; MORRIS, 1999). Em contrapartida, esta mesma contenção é um dos fatores limitantes mais importantes no manejo dos animais selvagens, devido à carência de informações sobre as técnicas anestésicas que podem ser utilizadas para muitas espécies, como por exemplo, para o uso na eletroejaculação em queixadas com o intuito de obtenção de sêmen (VIEIRA et al., 2021).

A acepromazina é um derivado fenotiazínico, e tem sido largamente utilizada de modo eficiente e seguro para tranquilização e medicação pré-anestésica em diversas espécies (EURIDES; RAISER; FIALHO, 1987). Acepromazina atua seletivamente em determinadas regiões, como núcleo talâmico, hipotálamo, sistema motor, estruturas límbicas e vias aferentes sensitivas (FRANCO et al., 2002), ao produzir efeitos através do bloqueio dos receptores pós-sinápticos da dopamina e da serotonina no sistema nervoso central, e desta forma, deprime o sistema reticular (SMITH; YU; BJORLING, 2001). A acepromazina exerce poucos efeitos sobre a respiração desde que não seja administrada em altas concentrações ou utilizada juntamente com outros depressores do sistema nervoso central (FANTONI; CORTOPASSI; 2002 PADDLEFORD, 2001). Apresenta também propriedades antiespasmódica, anti-histamínica, anti-sialagoga, porém não possui efeitos analgésicos (SMITH; YU; BJORLING, 2001). Este fármaco tem a desvantagem de causar vasodilatação, que promove redução da temperatura corporal e bloqueio parcial dos mecanismos de termorregulação (MUIR; MASON, 1993; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2002).

As características da cetamina por sua vez, já foram descritas em diversos estudos terapêuticos com atenção para a potência anestésica, extensão da analgesia e prolongado período de recuperação (HEMPELMANN et al., 1996). A cetamina é capaz de estimular o sistema límbico, causar alucinações, disforia e contrações musculares. É muito utilizado como indutor anestésico em animais de

grande porte, pois não promove alterações cardiorrespiratórias significativas (HUBBELL, 2007; RIEBOLD, 2007). A cetamina induz a analgesia, mas não o relaxamento muscular adequado, desta forma promove recuperação prolongada e conturbada, por isso, este agente é normalmente utilizado juntamente com outros fármacos, comumente associado à xilazina ou acepromazina (SANTOS et al., 2010). Além disso, a cetamina pode agir indiretamente ao inibir a capacitação neuronal de catecolaminas e noradrenalina ou diretamente estimulando centros adrenérgicos centrais, possuindo propriedades estimulantes cardíacas, e assim, promove aumento do débito cardíaco, na pressão venosa central, pressão arterial pulmonar e frequência cardíaca, tais propriedades fazem da cetamina um importante fármaco de baixo risco (BRANSON, 2003).

Já a xilazina é um fármaco com propriedades sedativa, analgésica e miorrelaxante de ação central, possui atuação como agonista nos α_2 -adrenorreceptores centrais e periféricos (MUIR III et al., 2001; SPINOSA et al., 1996). A xilazina apresenta-se na forma de cloridrato composta por cristais incolores de sabor amargo e solúveis em água (CORTOPASSI; FANTONI, 2002). Os efeitos cardiovasculares promovidos pela xilazina incluem vasoconstrição inicial com aumento transitório da pressão arterial, seguidos de hipotensão arterial e diminuição da frequência cardíaca bem como do débito cardíaco, produz também bloqueio atrioventricular e sensibiliza o miocárdio a ação das catecolaminas (KLIDE et al., 1975; MUIR III, 1998). Os efeitos da ação da xilazina no sistema nervoso central (SNC) incluem hipnose, sedação, relaxamento muscular, analgesia e ataxia (GEISER, 1990). A xilazina promove relaxamento muscular e sedação mais pronunciados que outros tranquilizantes ou sedativos utilizados na medicação pré-anestésica, sendo este fármaco amplamente utilizado associado à cetamina, para a realização de diversos procedimentos cirúrgicos (CORTOPASSI; FANTONI, 2002).

A anestesia dissociativa empregando a cetamina e a xilazina tem como característica proporcionar amnésia profunda, analgesia e catalepsia, no entanto os reflexos ocular, oral e de deglutição permanecem inalterados e o tônus muscular aumenta (LIN, 2007). Doses elevadas, contudo, podem provocar tremores, convulsões, espasticidade tônica e rotação ocular (MUIR III, 2001). Anestésicos dissociativos parecem ser mais úteis para anestésias animais para cirurgia

musculoesquelética superficial e analgesia pós-operatória, além de serem efetivos na hiperalgia após o trauma de tecidos (LIN, 2007).

Para estudo em reprodução de espécies silvestres, sobretudo, em função do seu comportamento agressivo, é necessário a utilização de protocolo anestésico que viabilize a coleta de sêmen, mantenha a qualidade seminal, além de garantir a segurança do animal e da equipe que acompanha o procedimento (SILVA et al., 2004). No entanto, alguns fatores devem ser levados em consideração para a escolha da droga, pois os protocolos anestésicos além de promover boa analgesia, devem ser seguros para o animal, ter baixo custo, viabilizar a coleta com baixos índices de contaminação por urina sem, no entanto, interferir nos mecanismos neuromusculares que controlam a ereção e a ejaculação e nem propiciar a ejaculação retrógrada (MELTZER et al., 1988).

Diferentes protocolos anestésicos vêm sendo testados nas espécies mamíferas, a exemplo da xilazina que, em associação com a cetamina, um anestésico dissociativo, foi amplamente utilizada em cães e gatos (MINTER; DELIBERTO, 2005). Essa mesma associação foi descrita com sucesso para eletroejaculação em leopardos indianos (*Panthera pardus*) (JAYAPRAKASH et al., 2001), lhamas (*Lama glama*) (GIULIANO et al., 2008), veados-vermelhos-ibéricos (*Cervus elaphus hispanicus*) (MARTÍNEZ et al., 2008) e quatis (*Nasua nasua*) (Barros et al., 2009). Em adição, o uso isolado de xilazina tem sido também descrito com sucesso em cutias (*Dasyprocta leporina*) (MOLLINEAU et al., 2008).

Em ensaio realizado por Moreira et al. (2005) em uma tentativa de obter ejaculados de dois queixadas (*Tayassu pecari*) adultos com peso médio de $41,0 \pm 5$ kg, para anestesia dos animais, os autores utilizaram a associação de azaperone, romifidina, tiletamina/zolazepam e atropina, em doses calculadas por extrapolação alométrica interespecífica, usando como referência as doses utilizadas em suínos, equinos e canídeos domésticos, respectivamente. A partir do protocolo utilizado, os autores concluíram que os animais apresentaram boa contenção anestésica, sendo possível a obtenção de sêmen em um animal por meio de eletroejaculação.

Kahwage et al. (2008) obtiveram experimentalmente ejaculados em caititus (*Tayassu tajacu*) através da associação acepromazina/cetamina. Primeiramente a acepromazina (0,2 mg/kg) foi administrada como medicação pré-anestésica. Após 5

minutos administrou-se a cetamina (5,0 mg/kg). Foram observados resultados favoráveis e concluiu-se que este protocolo anestésico proporcionou analgesia e relaxamento muscular desejáveis para a coleta de sêmen por eletroejaculação em caïtitus.

Por sua vez, Souza et al. (2008) avaliaram a eficiência de três diferentes protocolos anestésicos em caïtitus. Os animais do grupo I e II receberam acepromazina na dose de 0,2 mg/Kg por via intramuscular (IM), enquanto o grupo III, xilazina 1,0 mg/kg por via intramuscular (IM). Após quinze minutos, o grupo I recebeu a associação de diazepam (0,5 mg/kg) e cetamina (2,5 mg/Kg), por via intravenosa (IV), enquanto os grupos II e III receberam a associação de diazepam (0,5 mg/kg) e cetamina (5 mg/kg) também por IV. Os autores concluíram que a xilazina empregada de forma isolada, foi insuficiente para obtenção da sedação dos animais. Afirmaram ainda que a tranquilização com acepromazina apresentou-se melhor do que a obtida com xilazina, bem como a associação acepromazina/cetamina/diazepam demonstrou melhor qualidade quando comparado aos demais protocolos testados.

2.4 Agentes e protocolos adotados para indução de ejaculação em animais domésticos e silvestres

Algumas estratégias e métodos químicos e físicos tem sido adotadas como indutores de ejaculação em animais domésticos, silvestres e selvagens a exemplo de hormônios e indução por estímulo elétrico, isolados ou em associação.

A ocitocina é um hormônio peptídico composto por nove aminoácidos (Cys, Tyr, Ile, Gln, Asn, Cys, Pro, Leu, GlyNH₂), em estrutura na conformação de anel (YAMAGUCHI; CARDOSO; TORRES, 2007). Este hormônio é liberado pela neuro hipófise relacionado a uma ampla variedade de efeitos fisiológicos (EBSTEIN et al., 2012), dentre eles a contração de músculos lisos, como os túbulos seminíferos e epidídimos, e por fim, culminar na liberação do sêmen (FILIPPI et al. 2002). Por este motivo, tem sido utilizada em estudos que visam à obtenção de ejaculados em espécies selvagens.

Portanto, acredita-se que a ocitocina inicie o processo de ejaculação, ao agir em receptores presentes de maneira diferenciada nas regiões do epidídimo e

compartimentos celulares, facilitando o transporte de espermatozoides na ejaculação (WHITTINGTON et al., 2001). Apesar de pouco estudada nos machos, foi descrito que em ratos (*Rattus norvegicus*) este hormônio influencia na contratilidade das células mioepiteliais ao redor dos túbulos seminíferos e epidídimos, e, portanto, atua na propulsão de espermatozoides da cauda do epidídimo para o canal deferente e ejaculação (GUPTA et al., 2008). Em estudo realizado por Ungerfeld et al. (2016), o uso da ocitocina em ovinos selvagens (*Ovis musimon*), contribuiu de maneira significativa na coleta de sêmen por eletroejaculação, maximizando a obtenção de ejaculados em menor tempo, além de diminuir o número de estímulos elétricos necessários para induzir a ejaculação.

É sabido que em carneiros domésticos (*Ovis aries*), o uso da ocitocina estimula o transporte de espermatozoides para os ductos deferentes, e induz a ejaculação (BOZKURT et al., 2007). O mesmo já foi comprovado em touros (*Bos taurus taurus*) (BERNDTSON; IGBOELI, 1988). Estes achados reforçam os efeitos positivos da ocitocina nas células musculares lisas do epidídimo, ductos deferentes e glândulas acessórias, ao permitir a movimentação dos espermatozoides através do trato reprodutivo durante a ejaculação (WHITTINGTON et al., 2001). Os efeitos da ocitocina podem representar um potencial avanço em programas de reprodução assistida em animais silvestres. Os estudos sugerem que animais com oligospermia podem ser beneficiados com a administração da ocitocina, além de contribuir na ereção peniana (FILIPPI et al., 2002; THACKARE et al., 2006).

No entanto, tendo em vista o comportamento aversivo de espécies selvagens, e sua relação direta com o estresse (LEE et al., 2009) o qual exerce efeito antagônico sobre a ejaculação, além de induzir a supressão na secreção de testosterona, na espermatogênese e libido, o uso da ocitocina não tem tido sucesso nas coletas de sêmen em espécies selvagens (JOHNSTON et al., 1992).

Uma das formas de obtenção de sêmen se dá por eletroejaculação (EEJ) (CBRA, 2013). Animais com temperamento agressivo e/ou indócil podem gerar risco para pessoas responsáveis pela coleta, sendo assim a grande maioria dos animais silvestres, tem seu sêmen coletado por meio de EEJ (SILVA et al., 2004). A técnica da EEJ baseia-se na introdução de uma sonda transretal lubrificada no reto do animal, eventualmente após a evacuação do conteúdo retal ou a retirada manual das fezes (CBRA, 2013). A sonda é conectada a um estimulador elétrico que irá

emitir estímulos de forma controlada no assoalho da ampola retal, o qual desencadeia a contração da musculatura lisa em reação a estimulação dos nervos simpáticos lombares, a fim de induzir reflexos ejaculatórios e posterior liberação do sêmen, esteja o animal anestesiado ou não (SILVA et al., 2004).

A EJJ tem sido empregada na avaliação andrológica de animais de produção mediante a dificuldade de cópula destes ou até mesmo devido ao não condicionamento do reprodutor a coleta de sêmen por meio da vagina artificial (CBRA, 2013). Também, a EEJ tem sido método de escolha para coleta de sêmen em animais silvestres, em decorrência do comportamento agressivo, sendo necessária, neste caso, a adoção de protocolo anestésico que viabilize a sua realização mantendo a qualidade seminal, além de garantir a segurança do animal e da equipe que acompanha o procedimento (SILVA et al., 2004).

Martin (1978) afirma que a EEJ é um método seguro e eficaz para a coleta de sêmen de animais silvestres, no entanto é fundamental estabelecer um protocolo específico para cada espécie, para isto, deve-se levar em consideração a resposta do animal. A eletroejaculação foi utilizada como alternativa de coleta de sêmen em suínos, embora os resultados obtidos tenham sido considerados insuficientes para a prática da utilização da técnica nessa espécie, sendo a coleta com a vagina artificial ou a técnica da “mão enluvada” as formas mais apropriadas de obtenção de ejaculado nos suínos (MIES FILHO, 1987).

Costa e Paula (2005) avaliaram dois diferentes protocolos de coleta de sêmen de caititus (*Tayassu tajacu*) com emprego de eletroejaculador. O protocolo I consistiu de três sessões de 15 estímulos elétricos, com três minutos de descanso entre uma sessão e outra. Na primeira sessão foram aplicados cinco estímulos de 3V, cinco estímulos de 4V e cinco estímulos 5V; Na segunda sessão após três minutos de descanso foram aplicados cinco estímulos de 5V, cinco estímulos de 6V e cinco estímulos de 7V; após três minutos de descanso deu-se início a terceira e última sessão, a qual consistiu em cinco estímulos de 7V, cinco estímulos de 8V e cinco estímulos de 9V. Cada estímulo tinha duração de três a quatro segundos e posteriormente era seguido pelo mesmo período de descanso. O protocolo II consistiu em três sessões de 15 estímulos elétricos de 12V cada, e aguardou-se um período de três minutos entre as sessões. Os autores adotaram a mesma

intensidade e duração dos estímulos elétricos empregados no protocolo I e puderam concluir que o protocolo II mostrou-se mais eficiente para a coleta de sêmen em *caititus*.

Moreira et al. (2005) na tentativa de coletar sêmen de queixadas (*Tayassu pecari*) por meio de eletroejaculação, utilizou apenas dois queixadas machos adultos, com peso médio de $41,0 \pm 5$ kg. Para isto realizou-se uma única tentativa de coleta por animal e o protocolo de EEJ consistiu em 30 estímulos elétricos, com 10 estímulos de 2V, seguidos por 10 estímulos de 3V e por fim 10 estímulos de 4V. Com este protocolo os autores obtiveram ejaculado de apenas um animal. O volume ejaculado na primeira fração foi de 4,5 mL com coloração branca e consistência leitosa, a segunda fração por sua vez apresentou aspecto seroso e volume de 27 mL. Os espermatozoides apresentaram-se viáveis, com vigor e motilidade 3 e 70%, respectivamente.

Em onça pintada (*Panthera onca*), Morato et al. (1998) avaliaram a EEJ para coleta de sêmen em 10 exemplares em cativeiro. O protocolo adotado consistiu na aplicação de 80 estímulos divididos em três séries. Na primeira série foram aplicados 10 estímulos em 2, 3 e 4V, na segunda série foram aplicados 10 estímulos 3, 4 e 5V e a última série foram 10 estímulos em 5 e 6V. Os autores obtiveram total de 54 ejaculados com valores médios para volume, vigor e motilidade de $7,42 \pm 3,69$, $2,71 \pm 0,52$ e $62,60 \pm 11,00$ respectivamente e, puderam concluir que a técnica utilizada é eficiente para a obtenção de ejaculados em onça pintada.

2.5 Parâmetros de avaliação seminal

O gameta masculino é produzido nos túbulos seminíferos dos testículos por meio de um longo processo conhecido como espermatogênese (CHENG et al., 2004). Este processo envolve sucessivas divisões e transformações onde células germinativas primordiais darão origem aos espermatozoides, tal processo pode ser dividido em espermatocitogênese e espermiogênese (GARNER; HAFEZ, 2004). Na espermatocitogênese, as células basais denominadas espermatogônias darão origem aos espermatócitos primários diploides (2n), os quais entrarão em meiose e sofrerão duas divisões consecutivas resultando em espermatócito secundário e

espermátide, respectivamente (CHENG et al., 2004). A espermátide, célula haploide que irá se diferenciar em espermatozoides, sofrerá remodelação em sua morfologia, na qual irá adquirir a cauda, além disso, essa diferenciação envolve outras quatro fases, que são as fases golgi, capuchão, acrossoma e maturação (JOHNSON et al., 2000).

O espermatozoide é uma célula altamente especializada formada por três regiões: a cabeça, qual armazena material genético, estrutura vital durante a interação espermatozoide-oócito, a peça intermediária, onde estão localizadas as mitocôndrias, organelas responsáveis pela produção de energia, sendo grande parte dessa energia requisitada para o deslocamento da célula e, por fim o flagelo, estrutura responsável pela motilidade espermática (EDDY; O'BRIEN, 1994). Todas as três porções são recobertas por membrana plasmática (AMMAN; GRAHAN, 1993). Esta compartimentalização estrutural e especializada do espermatozoide tem por finalidade alcançar o seu objetivo único, que é a fertilização do gameta feminino e liberação do DNA, o qual está contido no núcleo da célula espermática (CHENG et al., 2004). No interior do oócito ocorrerá a união de ambos pro-núcleos masculino e feminino e sucessivamente a formação do zigoto (EDDY; O'BRIEN, 1994). Durante tal processo a cabeça do espermatozoide além da penetração do oócito tem a função principal de liberar cromossomos haploides para o gameta feminino, enquanto a função do flagelo é promover a motilidade da célula, para que esta consiga percorrer o trato reprodutor feminino além do suporte necessário para que ocorra a penetração através da zona pelúcida do oócito (MORTIMER, 1997).

Para que um macho seja admitido com reprodutor ele precisa possuir boa aptidão reprodutiva e vários atributos são avaliados durante o exame andrológico (CBRA, 2013). Após avaliação andrológica, é possível o diagnóstico preciso sobre problemas físicos, anormalidades nos órgãos genitais, bem como determinar a qualidade espermática para averiguar se o reprodutor é fértil, subfértil ou infértil (GUIMARÃES, 1999; MARTINEZ-GARCIA; REGADERA, 1998). Entende-se que o conhecimento a respeito da baixa fertilidade em machos é até mesmo mais importante do que da esterilidade, devido ao comprometimento em longo prazo que essa condição pode acarretar no sistema de produção quando identificada tardiamente, e assim se tornar uma fonte de prejuízo em um sistema de produção animal (HORN et al., 2003).

A avaliação da qualidade do sêmen tem sido realizada de acordo com as normas preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013), considerando-se critérios como: aspecto e consistência do ejaculado, a avaliação do vigor espermático, motilidade total e progressiva, morfologia, concentração espermática e comportamento sexual. Assim o exame andrológico é uma ferramenta essencial para seleção de reprodutores, bem como a avaliação da maturidade sexual, do potencial reprodutivo, diagnóstico de infertilidade ou sub fertilidade além de contribuir com as biotécnicas reprodutivas (FRANCO et al., 2006).

De acordo com Derivaux (1980), a avaliação da motilidade espermática é definida como o percentual de espermatozoides móveis em uma amostra de sêmen e, portanto, o principal item a ser avaliado. Ainda segundo o autor, outro item importante é o vigor espermático, classificado como a intensidade do movimento dos espermatozoides em uma dada amostra. A maioria dos pesquisadores utiliza a motilidade como parâmetro principal na predição da qualidade espermática frente ao uso de diluentes, crioprotetores e também ao processo de criopreservação (IVANOVA-KICHEVA et al., 1997; SILVA et al., 2003).

Para analisar a motilidade e o vigor espermático que correspondem porcentagem de células moveis e a intensidade desse movimento utiliza-se classificações com escalas que variam de 0 a 100% e de 0 a 5, respectivamente (PLATZ; SEAGER, 1977). No entanto, para a obtenção de dados fidedignos a avaliação da motilidade deve ser realizada logo após a coleta de sêmen ou descongelamento de palhetas de armazenamento, que pode ser realizada com o auxílio de microscopia ótica de luz, em microscópio de contraste de fase ou ainda por meio da análise computadorizada (SEAGER; FLETCHER, 1972).

A motilidade é um parâmetro que fornece informações essenciais a respeito da capacidade fertilizante da célula espermática, isso porque a motilidade é a manifestação da competência estrutural e funcional da célula (PEÑA-MARTINEZ, 2004). Deve-se ressaltar que, por se tratar de uma avaliação subjetiva, pode não ser totalmente confiável, isso porque a motilidade sofre influências, como por exemplo as variabilidades entre laboratórios, a temperatura do local onde a análise será realizada e, principalmente, a habilidade do avaliador, considerando que diferentes avaliadores podem avaliar uma mesma amostra de maneira distinta, atribuindo

valores elevados ou subestimar a amostra em sua avaliação (IGUER-OUADA; VERSTEGEN, 2001). A estimativa da motilidade espermática através da microscopia ótica convencional é o ensaio mais comum, entretanto sofre variação (30% a 60%) por se tratar de um exame subjetivo, e reduzir a confiabilidade na resposta (VERSTEGEN et al., 2002). Partindo deste princípio, a avaliação objetiva por meio de analisador computadorizado (HTR-IVOS ANALYSER, Hamilton Thorn Research), acaba por se sobressair e oferece uma série de vantagens, isso porque tal *software* avalia individualmente as características do movimento espermático, se progressivo, retrogrado, velocidade espermática, velocidade em linha reta, curvilínea e linearidade dos espermatozoides (IGUER-OUADA; VERSTEGEN, 2001). Dessa forma a análise computadorizada (CASA) vem sendo utilizada para minimizar a subjetividade nas análises de sêmen.

O CASA permite análise objetiva e precisa das células móveis além de definir a qualidade do movimento das células espermáticas (VERSTEGEN et al., 2002). Os dados gerados para uma determinada amostra correspondem a centenas de avaliações espermáticas individuais, e assim, fornecer informações precisas e detalhadas sobre qualidade da motilidade espermática, com maior rapidez e repetibilidade (GUNZEL-APEL et al., 1993). Assim, utilizando imagens digitalizadas de cada célula espermática, as máquinas avaliam as propriedades do movimento dos espermatozoides por meio de processamento algorítmico. Os parâmetros mais comumente elucidados nesta técnica são velocidade retilínea e curvilínea (VERSTEGEN et al., 2002).

Além das características físicas seminais, é de extrema importância à avaliação das características morfológicas espermática. Oettlé (1993) relatou que o percentual de alterações morfológicas em células espermáticas é diretamente proporcional ao potencial fertilizante desta, ou seja, à medida que a porcentagem de espermatozoides patológicos “defeituosos” aumenta, a fertilidade do ejaculado é reduzida, comprovando-se que quando a proporção de espermatozoides morfológicamente normais encontra-se inferior a 60% a fertilidade é seriamente comprometida. Segundo o manual do exame andrológico proposto pelo CBRA, a totalidade de defeitos maiores e menores no sêmen não deve ser superior a 30%, com no máximo 20% de defeitos menores e 10% de defeitos maiores em um ejaculado. Algumas classificações foram propostas para morfologia espermática.

Seager (1986) propõe a classificação para alterações morfologia espermática como primárias e secundárias, onde primárias são aquelas patologias relacionadas a problemas oriundos na formação do espermatozoide no interior do testículo, ou seja, em alguma das fases da produção espermática, e secundárias quando causadas durante o armazenamento do espermatozoide no epidídimo, portanto na fase de maturação espermática ou ainda decorrente da manipulação da célula espermática. Oettlé (1993) sugere a classificação como defeitos “patologias” maiores e menores, isso de acordo com os danos que as alterações causam à função espermática. Outros autores classificam as alterações tendo como referência a porção da célula espermática afetada, sendo defeitos de cabeça, peça intermediária ou cauda (SILVA et al., 2003).

Moreira et al. (2005), ao utilizar o método da eletroejaculação, obteve ejaculado de um dos dois queixadas adultos cujo volume ejaculado foi de 4,5 mL na primeira fração de coloração branco e consistência leitosa, a segunda fração no entanto apresentou aspecto seroso e volume de 27 mL. Os espermatozoides da primeira fração do ejaculado apresentaram-se viáveis, com vigor 3 e motilidade 70%. A concentração do ejaculado foi de 235×10^6 espermatozoides/mL. Quanto à avaliação da morfologia espermática encontraram-se valores de 14,5% para a porcentagem de defeitos maiores e 8,5% para a porcentagem de defeitos menores. A segunda alíquota, contudo, apresentou baixa concentração e todos os espermatozoides estavam mortos.

Em trabalho realizado por Costa e Paula (2005), para avaliação das características espermáticas de seis caititus criados em cativeiro, cujo sêmen foi coletado por meio de eletroejaculação, em animais com idades entre 10 e 18 anos, foram obtidos valores médios para volume do ejaculado de $2,98 \pm 2,29$ mL, vigor de $2,15 \pm 0,35$, motilidade espermática progressiva de $48,76 \pm 5,95\%$, concentração média de $87 \pm 5,31 \times 10^6$ espermatozoides/mL e pH de $7,23 \pm 0,15$. Houve alta incidência de patologias espermáticas, com variação significativa entre os animais estudados variando de $15,5 \pm 2,4\%$ a $55,5 \pm 16,1\%$. Quanto aos defeitos maiores, houve maior prevalência de gota citoplasmática proximal com variação de 8,0 a 26%. Segundo os autores a alta variação de motilidade nos ejaculados associado à baixa concentração espermática e ao elevado percentual de alterações morfológicas nas células espermáticas, sugere um quadro de degeneração testicular em todos os

animais estudados, atribuídos ao estresse decorrente da manutenção em cativeiro e da idade elevada dos animais.

Hellgren et al. (1989) ao avaliar espermatozoides de *caititus*, afirmaram que podem existir variações individuais de 5 a 90% na motilidade espermática, com a possibilidade de observar maiores proporções de células com motilidade nos ejaculados durante o período da primavera, e proporções mais baixas no verão, apesar de não ter sido descrita sazonalidade reprodutiva para machos da espécie. Em *caititus* a motilidade espermática pode variar de $48,7 \pm 31,5$ (COSTA; PAULA, 2005) a $57 \pm 15\%$ (HELLGREN et al., 1989), ou ainda ser superior a $85,0 \pm 8,0\%$ (SOUZA et al., 2009). O vigor espermático por sua vez pode variar de $1,9 \pm 0,8$ (KAHWAGE et al., 2010) a $2,1 \pm 1,4$ (COSTA; PAULA 2005).

2.6 Biotécnicas reprodutivas aplicadas aos animais silvestres

A importância do desenvolvimento de métodos de criação de animais em cativeiro tem sido aumentada, tendo em vista o declínio das populações de animais silvestres (SWANSON, 2006). Todavia, nem sempre estes animais conseguem se reproduzir em ambiente restrito e alterado como é o caso do cativeiro, problemas estes que podem estar ligados à falta de conhecimento a respeito da sua biologia reprodutiva, fator responsável por limitar reprodução em cativeiro (MATTSON et al., 2007; ROSS; MARZEC, 1990). Ainda hoje, um dos maiores entraves para alcançar o sucesso reprodutivo de animais silvestres em cativeiro é o desconhecimento de informações essenciais sobre uma dada espécie (SWANSON, 2006).

As técnicas de reprodução assistida, tais como EEJ, inseminação artificial (IA), produção de embriões *in vitro* (PIV), maturação *in vitro* (MIV) fertilização *in vitro* (FIV), transferência de embriões (TE) e criopreservação de gametas são técnicas essenciais que proporcionam maximização do potencial reprodutivo do doador, assim como a preservação da biodiversidade (GOBELLO; CORRADA, 2003).

O uso da IA oferece uma série de vantagens aos animais silvestres, que apresentam baixos índices reprodutivos em decorrência da dificuldade de acasalar por incompatibilidade clínica, ou até mesmo comportamental possibilita, ainda, a disseminação de material genético entre animais de diferentes criadouros

contribuindo para o aumento da variabilidade genética dentro de uma população, expandindo os grupos de genes por meio do cruzamento entre indivíduos selecionados, e reduzindo os efeitos da endogamia (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2008). O uso da IA também permite o transporte de sêmen entre diferentes regiões, reduzindo os riscos e custos com aquisição e transporte de reprodutores (HOWARD et al., 1992).

A TE e a IA revolucionaram a criação de animais domésticos. Estas ferramentas fazem parte de uma série de estratégias que incrementam a reprodução assistida, e fornece subsídios que tem sido extrapolados para os animais silvestres e que, por sua vez, norteou os princípios básicos para a formação de bancos de germoplasma para animais que se encontram em risco de extinção (WILDT, 1989). Nesse sentido, vários autores consideram a IA ferramenta capaz de melhorar o desempenho reprodutivo de animais silvestres em ambiente de cativeiro (FAHRIG et al., 2007; MATTSON et al., 2007).

A conservação de germoplasma, por sua vez, tem sido uma biotécnica favorável para os animais silvestres. Esta técnica consiste no armazenamento de gametas em botijões criogênicos no nitrogênio líquido a -196° possibilitando assim a manutenção destas células, por um longo período, em condições viáveis de uso (WILSON, 1997).

Para a aplicação bem-sucedida da biotécnica reprodutiva é fundamental o conhecimento sobre a fisiologia reprodutiva da espécie que se deseja estudar. Dessa forma, a avaliação andrológica (SILVA et al., 2004), combinada a pesquisas sobre sua endocrinologia e desenvolvimento embrionário são fundamentais (WILDT et al., 1995). Em animais silvestres, para aumentar a eficiência da inseminação artificial, é primordial estudos sobre os métodos de coleta de sêmen, avaliação e posterior preservação deste, o que contribui também para a redução do número de reprodutores em um plantel além de minimizar a disseminação de doenças sexualmente transmissíveis (BAYLEI et al., 2000). Entretanto, técnicas de reprodução assistida, que são rotineiras para os animais domésticos, nem sempre são adaptáveis aos animais silvestres (QUEIROZ, 2003). Estes se diferem tanto na sua morfologia e anatomia reprodutiva como também nos mecanismos fisiológicas que regulam os processos reprodutivos, fatores que limitam sua aplicabilidade para

reprodução assistida em animais silvestres (PUKAZHENTHI; WILDT, 2004). Além disso, pesquisas com animais silvestres sofrem restrições em função dos poucos exemplares disponíveis em cativeiro ou, até mesmo, devido ao difícil acesso das espécies em vida livre, o que impõe aos pesquisadores trabalharem com número reduzido, e dificulta a obtenção de informações estatisticamente significativas (QUEIROZ, 2003).

Nas últimas décadas tem-se constatado a maior extinção em massa de espécie de todos os tempos (LEAKEY; LEWIN, 1996). A genética da conservação utiliza ferramentas biotecnológicas em prol da preservação da biodiversidade, que por sua vez, pode ser aplicada a biologia da conservação, por meio da elaboração de estratégias de manejo reprodutivo *ex situ* (QUEIROZ, 2003). Estudos de diversidade genética podem ser utilizados para quantificar graus de endogamia das mais distintas populações sejam elas em natureza ou mantidas em ambiente de cativeiro (FRANKHAM et al., 2002). Para animais em cativeiro a IA apresenta-se como uma técnica valiosa, porém restrita devido ao pouco conhecimento a respeito da fisiologia reprodutiva, bem como das peculiaridades para cada uma das espécies de vida livre (PAVAN et al., 1986).

Não há relatos conhecidos até o momento para métodos de anestesia e coleta de sêmen em queixada, portanto, a obtenção de tais dados poderá possibilitar o uso de biotécnicas reprodutivas aplicadas a esta espécie vulnerável a extinção, contribuindo assim para sua conservação.

3 HIPÓTESE

- Queixadas (*Tayassu pecari*) apresentam boa resposta fisiológica, em termos de indicadores de bem estar e parâmetros espermáticos, a protocolos de anestesia e eletroejaculação adotados para o caititu (*Pecari tajacu*), espécie filogeneticamente próxima aos queixadas.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar protocolos para contenção química, eletroejaculação e caracterizar o sêmen de queixada (*Tayassu pecari*), bem como, utilizar os conhecimentos adquiridos para promoção de sua conservação.

4.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a eficiência de protocolos anestésicos para coleta de sêmen de queixada;
- Comparar protocolos de eletroestimulação para coleta de sêmen de queixada;
- Descrever as características físicas dos ejaculados de queixada;
- Descrever as características morfológicas e morfométricas das células espermáticas de queixada;
- Utilizar os conhecimentos adquiridos como ferramenta de educação ambiental para conservação destes animais.

5 CAPÍTULO 1 - Protocolos para contenção química e eletroejaculação para coleta de sêmen de queixadas (*Tayassu pecari*)

5.1 RESUMO

O estabelecimento de um programa de reprodução de queixadas em cativeiro, além da proteção do seu habitat, ajudaria a reverter declínio populacional sofrido pela espécie. Informações sobre métodos seguros de anestesia e coleta de sêmen devem ser investigadas. Portanto, objetivou-se comparar os efeitos dos protocolos anestésicos acepromazina e cetamina ou xilazina e cetamina, bem como dos protocolos de eletroejaculação, para coleta de sêmen em queixadas. Doze queixadas machos adultos foram submetidos a esses dois protocolos anestésicos. Foram avaliados: 1. O tempo e duração da indução anestésica, 2. Grau de relaxamento muscular, 3. Tempo de recuperação anestésica, 4. qualidade da recuperação dos animais, 5. Qualidade da sedação, 6. Efeito das drogas nas funções eréteis, e 7. Eficiência de três protocolos de eletroejaculação com tensões crescentes ou fixas (2 a 4 V; 5 a 12 V; 12 V). Foi aplicado o teste ANOVA de medidas repetidas para comparar as respostas dos animais aos protocolos testados. Para todas as análises foi usado o software Statistica 7.0 e aplicada a correção de Bonferroni para comparações múltiplas ($P = 0,05/17 = 0,003$). O uso da associação acepromazina e cetamina promoveu menor tempo para indução anestésica, melhor grau de tranquilização, qualidade e recuperação da anestesia, e melhores indicadores comportamentais de bem-estar durante o período anestésico e pós-anestésico em comparação ao protocolo xilazina e cetamina visando a coleta de sêmen em queixadas por eletroejaculação. O uso do protocolo acepromazina e cetamina associado ao estímulo crescente (5 a 12V) proporcionou ereção peniana e maior índice de sucesso na obtenção de ejaculados, quando comparado aos demais protocolos.

PALAVRAS-CHAVE: Animais silvestres, conservação de espécies ameaçadas, reprodução em cativeiro.

5.2 ABSTRACT

The establishment of a program for the reproduction of white-lipped peccary in captivity, in addition to protecting their habitat, would help to reverse the population decline suffered by the species. Information on safe methods of anesthesia and semen collection should be investigated. Therefore, we aim to compare the effects of the anesthetic protocols acepromazine and ketamine or xylazine and ketamine, as well as the electroejaculation protocols, for collecting semen from collectors. Twelve adult male white-lipped peccary were submitted to these two anesthetic protocols. The following were evaluated: 1. The time and duration of anesthetic induction, 2. Degree of muscle relaxation, 3. Time of anesthetic recovery, 4. Quality of animal recovery, 5. Quality of sedation, 6. Effect of drugs on erectile functions, and 7. Efficiency of three electroejaculation protocols with increasing or fixed voltages (2 to 4 V; 5 to 12 V; 12 V). The repeated measures ANOVA test was applied to compare the animals' responses to the tested protocols. For all analyzes, the Statistica 7.0 software was used and Bonferroni correction was applied for multiple comparisons ($P = 0,05/17 = 0,003$). The use of the acepromazine and ketamine combination promoted a shorter time for anesthetic induction, a better degree of tranquility, quality and recovery from anesthesia, and better behavioral indicators of well-being during the anesthetic and post-anesthetic period compared to the xylazine and ketamine protocol aiming at the collection of semen in white-lipped peccaries by electroejaculation. The use of the acepromazine and ketamine protocol associated with the increasing stimulus (5 to 12V) provided penile erection and a higher success rate in obtaining ejaculates, when compared to the other protocols.

KEYWORDS: Wild animals, conservation of endangered species, captive breeding.

5.3 INTRODUÇÃO

Queixada (*Tayassu pecari*) é classificado como vulnerável pela União Internacional para Conservação da Natureza, devido à caça excessiva e destruição de seu hábitat (KAHWAGE, 2009). Uma estratégia para reverter este quadro é estabelecer um programa de criação em cativeiro para posterior reintrodução da espécie em áreas onde foi extinto (NOGUEIRA et al., 2017). Existem relatos, contudo, sobre a baixa fertilidade de machos de queixadas em cativeiro, o que dificultaria sua reprodução (SOWLS, 1997). Adicionalmente, devido à hierarquia linear, o macho dominante possui acesso prioritário às fêmeas receptivas (NOGUEIRA-FILHO; LAVORENTI, 1997), o que acarreta na diminuição na variabilidade genética (LOTT et al., 2020). Neste sentido, a inseminação artificial é uma importante ferramenta para evitar a perda da diversidade genética em cativeiro (PRIETO et al., 2014). Estudos recentes comprovaram a viabilidade da conservação do sêmen de queixadas (BARROS et al., 2019). No entanto ainda são necessárias informações sobre métodos seguros de anestesia e coleta de sêmen nesta espécie.

A eletroejaculação é considerada um método confiável para coleta de sêmen em animais silvestres (HERRICK, 2019), que se baseia em estímulos aplicados no assoalho da ampola retal do animal (BALL, 1986; SILVA et al., 2004). Este método requer protocolos anestésicos que são espécie/específicos e podem influenciar na eficiência da eletroejaculação (HERRICK, 2019; PRIETO et al., 2014). Para *cahititus* (*Pecari tajacu*), espécie filogeneticamente próxima a queixadas, a tranquilização com acepromazina e cetamina apresenta melhor eficiência do que com xilazina e cetamina para coleta de sêmen (SOUZA et al., 2008). Objetivou-se, portanto, comparar reações de queixadas submetidos aos protocolos xilazina e cetamina ou acepromazina e cetamina e verificar sua eficiência durante o uso de protocolos de eletroejaculação com voltagem crescente ou fixa.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

5.4.1 Caracterização da área de estudo e dos animais

Após análise e aprovação do experimento científico pelo Comitê de Ética no Uso dos Animais (CEUA-UESC), Proc. n° 031/16, realizou-se o estudo no criadouro científico da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil (14° 47' 47" S; 39° 10' 20" O). Foram usados 12 queixadas machos e adultos, todos nascidos e criados em cativeiro, com idades entre três e sete anos, com peso médio de $37,8 \pm 4,8$ kg.

Os animais originalmente viviam em três grupos com machos e fêmeas de diversas faixas etárias, mantidos em três piquetes variando de 400 a 940 m². Antes e durante o estudo os animais foram alimentados duas vezes ao dia, às 8h00min e às 16h00min, com dieta composta por milho, farelo de soja e suplementos minerais, na proporção de 120 g/kg de proteína bruta e 14,5 MJ/kg de energia digestível, com base na matéria seca, para atender às exigências nutricionais da espécie (NOGUEIRA-FILHO; LAVORENTI, 1997), com fornecimento de água *ad libitum*.

Para a realização do estudo, os animais foram contidos com o auxílio de puçá, pesados e transferidos para uma das seis baias individuais com 11,3m² cada, cercadas por tela de alambrado com 1,5 m de altura, com o mesmo manejo alimentar. Tomou-se o cuidado de alojar em baias vizinhas apenas animais que conviviam no mesmo piquete para evitar brigas. Desta forma, foram coletados dados dos 12 queixadas distribuídos em três grupos (quatro animais por grupo) em momentos distintos. Previamente à coleta, os animais foram submetidos a um jejum alimentar por 12 horas e hídrico por 6 horas. Após este período, os mesmos foram contidos fisicamente com puçá e submetidos aos protocolos anestésicos. Todos os animais passaram por todos os protocolos anestésicos e de eletroejaculação, no qual serviram de controles para si próprios, com período de descanso de 15 dias..

5.4.2 Protocolos anestésicos

Foram avaliados dois protocolos anestésicos. No primeiro protocolo, os animais receberam 1,0 mg/kg IM de xilazina e após 15 min, receberam 5 mg/kg de cetamina por via intramuscular (IM). Após um período de sete dias, os mesmos animais passaram por um segundo protocolo anestésico, composto pela associação de acepromazina com cetamina. Primeiramente, a acepromazina foi aplicada como

medicação pré-anestésica na dose de 0,2 mg/kg IM. Após cinco minutos, foi administrada a cetamina 5 mg/kg IM, conforme descrito para coleta de sêmen do caititu (KAHWAGE et al., 2010).

Após aplicação dos fármacos, os animais foram monitorados quanto à sedação, analgesia e relaxamento muscular segundo a escala de Glasgow (GCMPS). Após constatação do grau de anestesia, no qual os animais encontravam-se em decúbito lateral e permitia a aproximação da equipe, foi feita a tricotomia e feita à assepsia da região pélvica com água e sabão neutro. Adicionalmente, foi feita a higienização do prepúcio com solução fisiológica (NaCl 0,9%) e seco com papel toalha. Logo após, foi feita a limpeza do reto do animal por meio da remoção do conteúdo fecal, para permitir melhor introdução da sonda e contato com a mucosa retal, a qual foi lubrificada com carboximetilcelulose. Depois de anestesiados, cinco minutos antes da coleta, foram administrados 5UI de ocitocina por via intravenosa (IV) em todos os animais. Em seguida, foram iniciadas as coletas de sêmen por meio de um dos três protocolos de eletroejaculação testados neste estudo (descritos na seção “Protocolos de eletroejaculação”).

Durante todos os procedimentos foram avaliadas as seguintes funções vitais: frequência cardíaca (batimentos por minuto - bpm), frequência respiratória (movimentos por minuto - mpm) e temperatura retal (graus Celsius - °C). Para as análises comparativas, foram usados os dados coletados após constatação da anestesia, conforme descrito para caititus (SOUZA et al., 2008). Além destas funções vitais, foi avaliado o período de indução anestésica, considerado desde a aplicação do fármaco até o animal não responder a estímulos como movimentação dos membros e pinçamento da membrana interdigital. Adicionalmente, avaliou-se a qualidade da tranquilização baseada no comportamento do animal, se o mesmo permitia ou não a aproximação do avaliador após administração dos anestésicos. Os critérios para avaliação de tais efeitos foram atribuídos por meio de escores (Tabela 1), baseado nos critérios usados para avaliação anestésica de caititus (SOUZA et al., 2008).

Para avaliação do grau de analgesia durante a coleta de sêmen foram atribuídos escores de 0 a 2, no qual, 0 representa ausência total de analgesia e 2 máxima analgesia, segundo Glasgow (GCMPS): a qual baseia-se em sinais

comportamentais relacionados com a dor (MURRELL et al., 2008). O tempo de recuperação da anestesia compreendeu o momento desde a aplicação do anestésico até o animal recuperar a consciência e ser capaz de manter-se em estação. Os animais foram monitorados quanto ao seu total reestabelecimento, atribuindo escores (Tabela 2), baseado nos critérios usados para avaliação da recuperação anestésica de caititus (SOUZA et al., 2008). O animal foi considerado totalmente recuperado da anestesia quando não mais apresentava possíveis efeitos desta, tais como apatia ou arqueamento do membro posterior podendo então ser capaz de levantar-se e locomover-se normalmente em seu recinto.

Para avaliação comportamental durante anestesia foi avaliado o comportamento de aceitação do animal à aproximação da equipe. Avaliou-se ainda apresentação da movimentação de cabeça, vocalização e tentativa de fuga durante a eletroejaculação. Por fim, avaliou-se apresentação de apatia, arqueamento e isolamento do animal após a soltura. A estes parâmetros foram atribuídos escores que variaram entre 0 e 2, ausência ou apresentação de expressão comportamental (Tabela 1).

Tabela 1. Escores usados para avaliar a qualidade da anestesia e da avaliação comportamental pós-anestesia em queixadas (*Tayassu pecari*) submetidos à anestesia dissociativa com xilazina e cetamina ou acepromazina e cetamanina.

Escores	Qualidade da tranquilização
0	Animal estressado, não permitiu a aproximação do avaliador e sua manipulação.
1	Animal calmo, entretanto, não permitiu a aproximação do avaliador, o que dificultou a sua manipulação.
2	Animal calmo após a tranquilização, aceitou a aproximação do avaliador e permitiu sua manipulação.

Escores	Avaliação comportamental pós-anestesia
2	Despertar agitado, com prejuízo no equilíbrio e coordenação motora (atáxico), não conseguiu permanecer com os quatro membros esticados e apoiados ao chão (em estação).
1	Despertar um pouco agitado, com a musculatura rígida sem sucesso para se posicionar em estação.
0	Despertar calmo, sem excitação, conseguindo se posicionar em estação e andar normalmente.

Adaptado de Souza e colaboradores, 2008.

5.4.3 Protocolos de eletroejaculação

A coleta de sêmen foi realizada com auxílio de um eletroejaculador conectado a uma fonte de 12 volts (V), semelhante ao descrito para espécies domésticas (KAHWAGE et al., 2010), com uma sonda retal com 20 cm de comprimento e 1,9 cm de diâmetro, com dois eletrodos longitudinais com 10 cm cada. Com o animal posicionado em decúbito lateral, foi realizada a remoção do conteúdo fecal, a fim de permitir melhor introdução da probe e contato com a sua mucosa, a qual foi lubrificada com carboximetilcelulose (Carbogel®, carbogel indústria e comércio Ltda., São Paulo-SP, Brasil). A sonda foi inserida no reto com 18 cm de profundidade, paralelo ao assoalho pélvico, de forma que os eletrodos pudessem estimular as inervações das estruturas envolvidas no processo ejaculatório. Cinco minutos antes

da coleta, foram administrados 5UI de ocitocina por via intravenosa (IV) em todos os animais nos diferentes protocolos.

Foram avaliados três protocolos de eletroejaculação nos três grupos de queixadas: 1) constituído por estímulos crescentes a partir de 2V, com aplicação de 10 estímulos em cada voltagem até que atingisse 4V; 2) constituído por estímulos crescentes a partir de 5V, com aplicação de 10 estímulos em cada voltagem até que atingisse 12V; e 3) aplicação de 45 estímulos em 12V fixos, conforme avaliados por (LUEDERS et al., 2020) para *caititus*. Em todos os protocolos citados cada estímulo elétrico teve duração de três segundos, seguido pelo mesmo período de descanso, com séries realizadas sequencialmente. A sessão de estímulo foi interrompida quando alcançava sucesso na obtenção de sêmen.

Durante os protocolos de eletroejaculação, foi registrado se o animal entrava em ereção ou não e se o macho ejaculava ou não. Considerou-se ereção a exposição do pênis, realizou-se registro se a mesma foi completa ou não. Adicionalmente, mensurou-se o intervalo de tempo entre o início da eletroestimulação até o momento da ereção inicial e completa, até a ejaculação, bem como a voltagem necessária de estímulo para cada evento. Quando o pênis era exposto, o mesmo era fixado com gaze e direcionado para um tubo tipo Falcon de 50 mL, pré-aquecido a 37° C e protegido com papel laminado externamente, para evitar os efeitos deletérios da luz e do choque térmico. Quando coletados, os ejaculados eram imediatamente colocados em banho-maria a 37°C e avaliados quanto às características macro e microscópicas, tais como volume seminal e concentração espermática (CBRA, 2013).

5.4.4 Análise dos dados

Foi aplicado o teste ANOVA de medidas repetidas para comparar as respostas dos animais aos protocolos xilazina e cetamina ou acepromazina e cetamina para as variáveis: tempo de indução, duração e recuperação da anestesia, frequência cardíaca, respiratória e temperatura retal. Os resíduos dos modelos foram checados e confirmou-se tanto a distribuição normal dos erros quanto a homogeneidade das variâncias destas variáveis. Os dados categóricos (escores)

sobre a avaliação da qualidade da anestesia, analgesia, sensibilidade ao pinçamento da membrana interdigital, vocalização, movimento de cabeça, tentativa de fuga, ereção peniana, qualidade de recuperação anestésica, apatia e arqueamento foram comparados por meio do teste de Wilcoxon. Para todas as análises foi usado o software Statistica 7.0 e aplicada a correção de Bonferroni para comparações múltiplas ($P = 0,05/17 = 0,003$).

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Depois de aplicada correção para testes múltiplos, verificou-se que o uso da associação acepromazina e cetamina resultou em escores maiores (quanto maior melhor a qualidade) para analgesia em relação à associação xilazina e cetamina (xilazina e cetamina: mediana = 5, mínimo = 4, máximo = 7; acepromazina e cetamina: mediana = 8, mínimo = 7, máximo = 9; $Z = 3,05$, $P = 0,002$). Houve diferença para os parâmetros comportamentais usados para comparar a qualidade da anestesia entre os dois protocolos (Tabela 2).

Tabela 2. Medianas, valores máximos e mínimos dos escores¹ atribuídos à qualidade da anestesia e avaliação comportamental pós-anestesia em queixadas (N=12) submetidos aos protocolos anestésicos xilazina e cetamina e acepromazina e cetamina.

	Xilazina e Cetamina	Acepromazina e Cetamina	Z	P ²
Qualidade da anestesia				
Qualidade da anestesia	Mediana = 1	Mediana = 2	2,52	0,01
	Valor máximo = 2	Valor máximo = 2		
	Valor mínimo = 0	Valor mínimo = 1		
Sensibilidade	Mediana = 1	Mediana = 0	2,52	0,01
	Valor máximo = 1	Valor máximo = 1		
	Valor mínimo = 1	Valor mínimo = 0		
Avaliação comportamental pós-anestesia				
Aceitação da aproximação	Mediana = 0	Mediana = 1	2,80	0,005

		Valor máximo = 1	Valor máximo = 1		
		Valor mínimo = 0	Valor mínimo = 0		
Movimentação de cabeça		Mediana = 1	Mediana = 0	2,80	0,005
		Valor máximo = 1	Valor máximo = 1		
		Valor mínimo = 1	Valor mínimo = 0		
Ereção		Mediana = 0	Mediana = 1	1,69	0,091
		Valor máximo = 1	Valor máximo = 1		
		Valor mínimo = 0	Valor mínimo = 0		
Vocalização		Mediana = 1	Mediana = 0	2,67	0,008
		Valor máximo = 1	Valor máximo = 1		
		Valor mínimo = 1	Valor mínimo = 0		
Apatia		Mediana = 1	Mediana = 0	2,80	0,005
		Valor máximo = 1	Valor máximo = 1		
		Valor mínimo = 0	Valor mínimo = 0		
Tentativa de fuga		Mediana = 1	Mediana = 0	2,52	0,012
		Valor máximo = 1	Valor máximo = 0		
		Valor mínimo = 0	Valor mínimo = 0		
Arqueamento		Mediana = 1	Mediana = 0	2,80	0,005
		Valor máximo = 1	Valor máximo = 0		
		Valor mínimo = 1	Valor mínimo = 0		

¹ Os escores variaram entre 0 (ausência da expressão comportamental) a 2 (apresentação máxima da expressão comportamental).

² Não houve diferença estatística significativa entre os protocolos depois de aplicada a correção de Bonferroni para comparações múltiplas ($P < 0,003$).

Quando submetidos ao protocolo acepromazina e cetamina, os animais apresentaram menor tempo de indução anestésica e menor tempo de recuperação anestésica em relação ao protocolo xilazina e cetamina, promoveu, portanto, rápida recuperação dos animais. Por sua vez, os animais que receberam o protocolo xilazina e cetamina apresentaram período de anestesia quase quatro vezes maior

em relação aos animais submetidos ao protocolo acepromazina e cetamina (Tabela 3).

Tabela 3. Médias (\pm EP) do tempo, em minutos, de indução anestésica, duração da anestesia e de recuperação anestésica em queixadas (N=12), submetidos aos protocolos anestésicos xilazina e cetamina ou acepromazina e cetamina.

	Xilazina e Cetamina	Acepromazina e Cetamina	$F_{(1, 11)}$	P
Indução anestésica	17,6 \pm 0,5	14,7 \pm 0,3	22,05	0,001
Duração da anestesia	244,3 \pm 4,9	54,8 \pm 2,4	1166,10	<0,001
Recuperação da anestesia	1860,0 \pm 115,8	48,8 \pm 3,5	245,10	<0,001

Valores em negrito representam diferença significativa ($P < 0,003$), depois de aplicada a correção de Bonferroni para comparações múltiplas.

Quando submetidos ao protocolo xilazina e cetamina, os animais apresentaram piores indicadores de bem-estar em relação aos submetidos ao protocolo acepromazina e cetamina (Tabela 2), corroborando com os achados na literatura para caititus. Todos os animais anestesiados com acepromazina e cetamina aceitaram a aproximação e apresentaram ereção, neste protocolo os animais não apresentaram vocalização e tentativa de fuga durante a coleta de sêmen (Tabela 2). Após a recuperação anestésica e soltura na baia, nenhum dos animais submetidos ao protocolo acepromazina e cetamina apresentou arqueamento de dorso, ao contrário dos animais anestesiados com xilazina e cetamina. Adicionalmente, não se verificaram diferenças entre os protocolos testados em relação às funções vitais (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios (\pm EP) das funções vitais de queixadas (N=12), submetidos aos protocolos xilazina/cetamina e acepromazina/cetamina.

	Xilazina/Cetamina	Acepromazina/Cetamina	$F_{(1, 11)}$	P
FC	68,7 \pm 1,2	69,8 \pm 1,2	0,83	0,38

FR	53,7 ± 1,2	49,8 ± 0,8	7,26	0,02
TR	39,5 ± 0,2	39,4 ± 0,2	0,69	0,40

FC (frequência cardíaca; bpm), FR (frequência respiratória; mpm), TR (temperatura retal °C).

Queixadas apresentaram piores indicadores de tranquilização e bem-estar durante e após os procedimentos de coleta quando submetidos ao protocolo xilazina e cetamina em comparação ao protocolo acepromazina e cetamina. Sabe-se que a acepromazina é um tranquilizante fenotiazínico que age no sistema nervoso central, resultando na diminuição da ansiedade (THURMON et al., 1996). A cetamina por sua vez, induz analgesia, amnésia, perda da consciência e imobilidade (KOHRS; DURIEUX, 1998). Vale ressaltar que as reações anestésicas são espécie-específica e a utilização destes fármacos para coleta de sêmen em queixadas ainda não haviam sido estudadas. Quando submetidos ao protocolo acepromazina e cetamina, os indivíduos permitiram a aproximação e manuseio por parte do observador, facilitaram o manejo e a coleta de sêmen, além de promover melhores indicadores de bem estar aos animais. Os resultados encontrados no presente estudo são similares aos descritos para o uso do protocolo acepromazina em *caititus* (KAHWAGE, 2009; SOUZA et al., 2008). Em contraste, queixadas anestesiados com xilazina e cetamina apresentaram um período de latência maior, com características de estresse, o que dificulta o manejo. Adicionalmente, apresentaram período anestésico excessivamente prolongado, despertar mais agitado e estressado, além de se mostrarem mais apáticos. Resultados similares foram relatados com o uso de xilazina em *caititus* (SOUZA et al., 2008). Deste modo, o protocolo anestésico acepromazina e cetamina nas dosagens testadas no presente estudo (0,2 e 5 mg, respectivamente) foi capaz de proporcionar adequada tranquilização e rápida recuperação, sem comprometer as funções vitais para coleta de sêmen em queixadas.

Durante as avaliações dos protocolos de eletroejaculação, cinco dos 12 queixadas apresentaram ereção quando submetidos ao protocolo xilazina e cetamina. Destes cinco queixadas, no entanto, foram obtidos ejaculados apenas de dois animais (volume: 0,2 mL e concentração espermática: 459×10^6

espermatozoides/mL e volume: 0,4 mL e concentração espermática: $410,0 \times 10^6$ espermatozoides/mL) com a adoção de estímulos entre 5 a 12V (com 10 estímulos em cada voltagem). Em contraste, 10 dos 12 queixadas apresentaram ereção quando submetidos ao protocolo acepromazina e cetamina. Destes 10 animais, contudo, foram obtidos ejaculados de quatro queixadas. Três animais (volume: 0,4 mL e concentração espermática: 149×10^6 espermatozoides/mL; volume: 0,3 mL e concentração espermática: 132×10^6 espermatozoides/mL; volume: 1,0 mL e concentração espermática: $365,0 \times 10^6$ espermatozoides/mL) com a adoção de estímulos entre 5 a 12V (com 10 estímulos em cada voltagem) e de um queixada (volume: 0,3 mL e concentração espermática: $760,0 \times 10^6$ espermatozoides/mL) com a adoção de estímulos de 12V fixos (45 estímulos nesta única voltagem). Nenhum dos queixadas ejaculou com estímulos entre 2 a 4V (com 10 estímulos em cada voltagem) para ambos os protocolos anestésicos. Dos 12 queixadas, oito apresentaram ereção peniana mediante a aplicação de estímulos elétricos entre 5 a 6V no período de 2 ± 40 min para ambos os protocolos anestésicos. Sendo que destes oito animais cinco iniciaram a ejaculação mediante o estímulo entre 7 a 9V no período de 5 ± 70 minutos.

Para ambos os protocolos anestésicos, o protocolo de estímulos crescentes de 5 a 12V, com 10 estímulos em cada voltagem, resultou em ereção peniana e na obtenção de ejaculado em maior número de animais em relação aos demais protocolos de eletroejaculação. Por sua vez, o uso do protocolo crescente 2V a 4V não provocou sequer ereção em nenhum dos 12 queixadas. Este baixo sucesso poderia ser explicado por uma estimulação insuficiente dos nervos simpáticos lombares, tendo em vista que nos dois protocolos anestésicos, o protocolo crescente 2V a 4V não proporcionou ereção.

Após a coleta, observou-se volume de sêmen entre 0,2 a 1 mL para os queixadas do presente estudo, comparativamente menores do que os volumes obtidos de caititus $1,1 \pm 0,1$ mL (KAHWAGE, 2009) e $3,1 \pm 0,9$ mL (SOUZA et al., 2008). Por outro lado, queixadas apresentaram concentração espermática média de $379,1 \times 10^6$ espermatozoides/mL comparativamente superior aos caititus de $138,1 \pm 154,0 \times 10^6$ espermatozoides/mL, (KAHWAGE, 2009); e de $86,7 \pm 10,5 \times 10^6$ espermatozoides/mL (SOUZA et al., 2008). As diferenças em volume e concentração espermática podem estar relacionadas com as diferenças comportamentais das

espécies. Na natureza, queixadas vivem em grupos de centenas de indivíduos, enquanto caititus vivem em grupos bem menores, com cinco a 15 indivíduos (NOGUEIRA-FILHO et al., 1999). Em cativeiro, queixadas apresentam hierarquia de dominância linear, enquanto não se consegue organizar os caititus de forma hierárquica (NOGUEIRA-FILHO et al., 1997). Devido a sua estrutura social, os machos dominantes nos grupos de queixadas mantidos em cativeiro têm acesso prioritário a recursos limitados, como alimentos e a fêmeas em estro (HERRICK, 2019). Em vida livre, sabe-se que, fêmeas de queixadas apresentam comportamento promíscuo, portanto, machos de queixada com maior concentração espermática possui maiores chances de fertilizar as fêmeas (LEITE et al., 2018). Por sua vez, para caititus não se observou este mesmo comportamento (HERRICK, 2019). Seria interessante que estudos futuros, avaliassem de forma comparativa o volume e a concentração espermática de queixadas e caititus.

Para coleta de sêmen em queixadas o protocolo acepromazina e cetamina mostrou-se preferível quando comparado a xilazina e cetamina, tendo em vista maior tranquilização e melhores indicadores de bem-estar durante a coleta. O relativo baixo índice de sucesso na obtenção de ejaculados pode ser explicado pelo fato de os animais estudados não terem sido condicionados ao manejo de contenção física que antecedia a contenção química para coleta de sêmen, o que possivelmente contribuiu para o aumento no estresse. Queixadas, em geral, são considerados agressivos (BARROS et al., 2019) e apresentam comportamentos defensivos relativamente mais intensos que os caititus (NOGUEIRA-FILHO et al., 1997). A agressividade, por sua vez, está diretamente relacionada ao estresse (LOCHIMILLER et al., 1989), e o estresse é um antagonista da ejaculação, por causar aumento nos níveis de cortisol e bloqueio dos reflexos ejaculatórios (JOHNSON et al., 1992), o que pode explicar o relativo baixo índice de sucesso na obtenção do ejaculados. Desta forma, propõe-se que seja testada a contenção primária de forma química com auxílio de zarabatana em estudos futuros.

5.6 CONCLUSÃO

O uso da associação acepromazina e cetamina promoveu melhor grau de tranquilização, qualidade e recuperação da anestesia, e melhores indicadores

comportamentais de bem-estar durante o período anestésico e pós-anestésico em comparação ao protocolo xilazina e cetamina visando a coleta de sêmen em queixadas por eletroejaculação. O uso do protocolo acepromazina e cetamina associado ao estímulo crescente (5 a 12V) proporcionou maior índice de sucesso na obtenção de ejaculados, quando comparado aos demais protocolos.

5.7 REFERÊNCIAS

- BALL, L. Electroejaculation. In: **Applied electronics for veterinary medicine and animal physiology**, 1.ed. Klemm W.R. Springfield, IL: Charles C. Thomas, p. 395-441, 1986.
- BARROS, C. H. S. C.; MACHADO, W. M.; VIEIRA, R. L. A.; ALLAMAN, I. B.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; SNOECK, P. P. N. Análise da integridade funcional dos espermatozoides de *Tayassu pecari* por diferentes soluções hiposmóticas e osmolaridades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 4, p. 1286-1292, 2019.
- BARROS, C. H.; MACHADO, W. M.; VIEIRA, R. L.; ALLAMAN, I. B.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; BITTENCOURT, R. F.; SNOECK, P. P. Use of the ACP® and BTS extenders for cooling at 15°C white-lipped peccary (*Tayassu pecari*) semen. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 5, p. 332-341, 2019.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (CBRA). **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte 3. ed. CBRA, 104p, 2013.
- HERRICK, J. R. Assisted reproductive technologies for endangered species conservation: developing sophisticated protocols with limited access to animals with unique reproductive mechanisms. **Biology of Reproduction**, v. 100, n. 5, p. 1158-1170, 2019.
- JOHNSON, E.; KAMILARIS, T.; CHROUSOS, G.; GOLD P. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 16, n. 2, p. 115-130, 1992.
- KAHWAGE, P. R. Eletroejaculação em caititus (*Tayassu tajacu*): características seminais pré e pós-refrigeração. 77f. Belém, PA. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, 2009.
- KAHWAGE, P. R., GARCIA, A.; GUIMARÃES, D.; OHASHI O.; LUZ-RAMOS, R.; DIAS, H.; ALBUQUERQUE, N; BARTHA, M. Biometria testicular, eletroejaculação e características seminais de caititus *Tayassu tajacu* Linnaeus 1758 (Mammalia, Arctiodactyla, Tayassuidae) mantidos em cativeiro na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 4, p. 771-778, 2010.

KEUROGHILIAN, A.; DESBIEZ, A.; REYNA-HURTADO, R.; ALTRICHTER, M.; BECK H.; TABER, A.; FRAGOSO, J. M. V. *Tayassu pecari*. **The IUCN Red List of Threatened Species**, 2013.

KOHR, R.; DURIEUX, M. E. Ketamine: teaching an old drug new tricks. **Anesthesia and Analgesia**, v. 87, n. 5, p. 1186-1193, 1998.

LACY, R. C. Achieving true sustainability of zoo populations. **Zoo Biology**. v. 32, n. 1, p. 19-26, 2013.

LEITE D. A.; KEUROGHILIAN, A.; RUFOC, D. A. R.; MIYAKI C. Y. M.; BIONDO, C. Genetic evidence of promiscuity in a mammal without apparent sexual dimorphism, the white-lipped peccary (*Tayassu pecari*). **Mammalian Biology**, v. 92, n. 1, p. 111-114, 2018.

LOCHMILLER, R. L.; WEICHMAN, J. D.; ZALE, A. V. Hematological assessment of temperature and oxygen stress in a reservoir population of striped bass (*Morone saxatilis*). **Comparative Biochemistry & Physiology**, v. 93, n. 1, p. 535-541, 1989.

LOTT, M. J., WRIGHT, B. R.; KEMP, L. F.; JOHNSON, R. N.; HOGG, C. J. Genetic Management of Captive and Reintroduced Bilby Populations. **Journal of Wildlife Management**, v. 84, n. 1, p. 20-32, 2020.

LUEDERS, I.; ALLEN W.T. Managed wildlife breeding-an undervalued conservation tool? **Theriogenology**, v. 150, n. 1, p. 48-54, 2020.

MURRELL, J. C.; PSATHA, E. P.; SCOTT, E. M.; REID J.; HELLEBREKERS L. J. Application of a modified form of the Glasgow pain scale in a veterinary teaching centre in the Netherlands. **The Veterinary Record**, v. 162, n. 13, p. 403-408, 2008.

NOGUEIRA, S. S. C.; MACEDO, J. F.; SANT'ANNA, A. C.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; COSTA, M. J. P. Assessment of temperament traits of white-lipped (*Tayassu pecari*) and collared peccaries (*Pecari tajacu*) during handling in a farmed environment. **Animal Welfare**, v. 24, n. 3, p. 291-298, 2015.

NOGUEIRA, S. S. C.; REIS, A. M.; MARSARO, S. G.; DUARTE, J. M. B.; MORETO, V.; LIMA, S. G. C.; COSTA, T. S. O.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G. The defensive behavioral patterns of captive white-lipped and collared peccary (Mammalia, Tayassuidae): an approach for conservation of the species. **Acta Ethologica**, v. 20, n. 1, p. 127-136, 2017.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G., NOGUEIRA, S. S. C.; SATO T. A estrutura social de peccaris (Mammalia, Tayassuidae) em cativeiro. **Revista de Etologia**, v. 1, n. 2, p. 89-98, 1999.

NOGUEIRA-FILHO S. L. G.; LAVORENTI A. **O manejo do caititu (*Tayassu tajacu*) e do queixada (*Tayassu peccary*) em cativeiro**. In: Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil. Belém, PA. Brasília, DF: Sociedade Civil Mimirauá. p.106-115, 1997.

PRIETO, M. T.; SANCHEZ-CALABUIG, M. J.; HILDEBRANDT, T. B.; SANTIAGO-MORENO, J.; SARAGUSTY, J. Sperm cryopreservation in wild animals. **European journal of wildlife research**, v. 60, n. 6, p. 851-864, 2014.

REICHENBACH, H. D.; MORAES, J. C. F.; NEVES, J. P. Tecnologia do sêmen e inseminação artificial em bovinos. In: Gonçalves, P. B. D., Figueiredo, J. R., Freitas, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2. ed. São Paulo: Rocca. p. 57-82, 2008.

SCHULTE-HOSTEDDE, A. I.; MILLAR, J. S.; GIBBS, H. L. Sexual selection and mating patterns in a mammal with female-biased sexual size dimorphism. **Behavioral Ecology**, v. 15, n. 2, p. 351-356, 2003.

SILVA A. R.; MORATO, R. G.; SILVA, L. D. M. The potential of gamete recovery from non-domestic canids and felids. **Animal Reproduction Science**, v. 81, n. 1, p. 159-175, 2004.

SOUZA, A. L. P.; PAUL, V. V.; CAVALCANTE, P. H.; OLIVEIRA, M. F. Efeito da pré-medicação com acepromazina ou xilazina na indução da anestesia dissociativa com cetamina e diazepam em catetos (*Tayassu tajacu*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1114-1120, 2008.

SOWLS, L. K. **Javelinas and other peccaries: their biology, management, and use**. 2.ed. College Station: Texas A&M University Press, p. 250-251, 1997.

THURMON, J. C.; TRANQUILLI, W. J.; BENSON, G. J. Preanesthetics and anesthetic adjuncts. In: THURMON, J. C.; TRANQUILLI, W. J.; BENSON, G. J. **Lumb & Jo-nes Veterinary Anesthesia**. 3. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p.183-209.

6 CAPÍTULO 2 - Caracterização seminal de queixadas (*Tayassu pecari*) criados em cativeiro

6.1 RESUMO

O queixada (*Tayassu pecari*) é um mamífero neotropical que desempenha um papel fundamental na manutenção da integridade dos sistemas florestais tropicais. No entanto, devido à caça e desmatamento, a espécie é, atualmente, classificada como vulnerável. Devido a dificuldades na reprodução em cativeiro, o uso de técnicas de reprodução assistida para posterior reintrodução em seu habitat natural, tem sido proposto. Portanto, objetivou-se descrever as características físicas, químicas, morfológicas e funcionais do sêmen de queixada. Foram utilizados 16 queixadas, machos, adultos, com idades entre três e sete anos, distribuídos em três grupos. Após a contenção física e química (utilizando acepromazina e cetamina), o sêmen foi coletado por eletroejaculação com aplicação do protocolo crescente (5 a 12v) e avaliado por análise computacional (CASA). As análises de estatística descritiva foram realizadas através do procedimento UNIVARIATE (SAS, 2003). Foram encontrados os seguintes valores médios: volume ($0,5 \pm 0,6$ mL), pH ($7,2 \pm 0,3$), concentração de espermatozoides ($967,2 \pm 947,3 \times 10^6$ sptz/mL) e motilidade total ($75,4 \pm 16,2$). A média dos espermatozoides reativos ao teste hiposmótico foi de $85,3 \pm 21,0\%$ e $62,4 \pm 43,9\%$ das células apresentaram membranas íntegras no teste de integridade estrutural. Além disso, o sêmen apresentou consistência leitosa (80%), cor amarelada (40%) e odor *sui generis* (100%). Os parâmetros espermáticos encontrados estão dentro dos padrões desejáveis, pois permitiu que estes animais sejam considerados potencialmente férteis para o desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida que possam contribuir para a conservação da espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Criação em cativeiro, espécies em perigo, manejo da vida selvagem.

6.2 ABSTRACT

White-lipped peccary (*Tayassu pecari*) is a Neotropical mammal that plays a fundamental role in maintaining the integrity of tropical forest systems. However, due to hunting and deforestation, the species is currently classified as vulnerable. Due to difficulties in reproduction in captivity, the use of assisted reproduction techniques for subsequent reintroduction in their natural habitat, has been proposed. Therefore, the objective was to describe the physical, chemical, morphological and functional characteristics of its semen. 16 adult male white-lipped peccary, aged between three and seven years old, distributed in three groups, were used in this study. After physical and chemical containment (using acepromazine and ketamine), semen was collected by electroejaculation with application of the crescent protocol (5 to 12v) and evaluated by computational analysis (CASA). Descriptive statistics analyzes were performed using the UNIVARIATE procedure (SAS, 2003). The following average values were found: volume ($0,5 \pm 0,6$ mL), pH ($7,2 \pm 0,3$), sperm concentration ($967,2 \pm 947,3 \times 10^6$ spz/mL) and total motility of ($75,4 \pm 16,2$). The average sperm reactive to the hyposmotic test was $85,3 \pm 21,0\%$, and $62,4 \pm 43,9\%$ of the cells presented intact membranes in the structural integrity test. Additionally, the semen showed milky consistency (80%), yellowish color (40%), and *sui generis* odor (100%). The sperm parameters of the white-lipped peccary are within the desirable standards, allowing them to be considered as potentially fertile for the development of assisted reproduction techniques that may contribute to the conservation of the species.

KEYWORDS: Captive breeding, endangered species, wildlife management.

6.3 INTRODUÇÃO

O queixada é um ungulado neotropical que desempenha papel fundamental na preservação da floresta tropical, portanto, são considerados “engenheiros ambientais” (ALTRICHTER et al., 2012; VILLAR et al., 2019). A espécie, no entanto, além de sofrer os efeitos da destruição do habitat, também enfrenta as consequências da caça ilegal (ALTRICHTER et al., 2012), que resultou no declínio de sua população, e por isso hoje é classificado como vulnerável pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN) (KEUROGHLIAN et al., 2013).

A crescente degradação ambiental e sua conseqüente redução de espécies selvagens têm evidenciado ainda mais a importância da criação de animais em cativeiro como uma estratégia para a conservação da biodiversidade (UFAW, 1997). Neste contexto, estudos são realizados com intuito de alcançar a reprodução de queixadas e catetos em cativeiro, para posterior utilização em programas de reintrodução ambiental (NOGUEIRA et al., 2014). Geralmente, os queixadas se adaptam ao cativeiro com relativa facilidade (NOGUEIRA-FILHO, 1999), mas há relatos de dificuldade de reprodução devido à baixa fertilidade em machos (SOWLS, 1997). Portanto, técnicas de reprodução assistida podem ser alternativas para melhorar suas taxas reprodutivas em programas de repovoamento como sugerido por Barros et al. (2019).

Dentre as biotécnicas, a inseminação artificial permite a maximização da criação, por facilitar o transporte do sêmen, além de contribuir para o aumento da variabilidade genética dentro de uma população (FRANKHAM et al., 2008). A análise das características seminais é essencial para o diagnóstico da maturidade sexual, potencial reprodutivo, avaliação de infertilidade ou subfertilidade, bem como, contribui para a aplicação de biotécnicas reprodutivas (FRANCO et al., 2006) e conservação de espécies de interesse econômico, ecológico ou ambos (BHATTACHARYYA et al., 2009; GUIMARÃES et al., 2013). Mas para isso é necessária a aplicação de um protocolo anestésico eficiente que garanta o bem-estar no animal e a segurança da equipe que o acompanha. Vieira et al. (2021) ao avaliar a qualidade de protocolos para contenção química e eletroejaculação para coleta de sêmen de queixadas (Mammalia, Tayassuidae) obtiveram volume médio de ejaculados de $0,3 \pm 0,1$ mL com concentração espermática média de $370,5 \pm 228,3$ x

10⁶ spz/mL, quando utilizada a eletroestimulação com o protocolo anestésico com acepromazina e cetamina com voltagem crescente de 5 a 12V. Assim, no presente estudo, ampliamos esta abordagem para coletar e realizar a descrição das características físicas, químicas, morfológicas e funcionais do sêmen de queixadas em cativeiro.

6.4 MATERIAL E MÉTODOS

6.4.1 Nota ética

O estudo foi realizado no criadouro científico da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil (14° 47' 47" S; 39° 10' 20" O), (legalmente registrado pelo IBAMA, com número de processo 40.738.999/0001-95). Após análise e aprovação do experimento científico pelo Comitê de Ética no Uso dos Animais (CEUA-UESC), Processo n° 031/16.

6.4.2 Caracterização da área de estudo e dos animais

Foram utilizados 16 queixadas machos adultos, nascidos e criados em condições de cativeiro, com idades entre três e sete anos, com peso médio de 37,8±4,8kg. Os animais eram alimentados duas vezes ao dia, às 8h00min e às 16h00min, com dieta composta pela mistura de milho, farelo de soja, suplementos minerais e água fornecida *ad libitum*.

Os queixadas foram aleatoriamente distribuídos em três grupos com machos e fêmeas mantidos em três piquetes variando de 400 a 940 m² possuindo curral de armadilha para auxiliar no manejo, contenção e marcação dos animais. Um mês antes do experimento os animais foram contidos com auxílio de um puçá e pesados para o cálculo da dose anestésica, logo após a pesagem procedeu-se a marcação individual com brinco plástico com diferentes formatos a fim de facilitar a identificação à distância.

6.4.3 Manejo dos animais

Estes foram contidos com auxílio de um puçá de rede 48 h antes do início das coletas, pesados e isolados em baias individuais com 11,3 m², cercadas por tela de alambrado com 1,5 m de altura, nas quais recebiam a mesma dieta em comedouro de madeira 0,4 m x 0,4 m x 0,3 m com fornecimento de água à vontade em bebedouro de 0,2 m x 0,2 m x 0,2 m, de forma que os animais tivessem um repouso sexual. Cada grupo composto por cinco ou seis animais permaneceu nestas condições por cerca de 45 dias e as coletas de sêmen foram realizadas quinzenalmente para que fosse respeitado um período de recuperação do protocolo anestésico, totalizando três tentativas de coletas de sêmen por animal.

6.4.4 Protocolos anestésicos

Previamente a coleta, os animais foram submetidos a um jejum alimentar por 12 h e hídrico por 6 h, após este período foram imobilizados com ajuda de um puçá e submetidos ao protocolo anestésico. Para este protocolo, foi usada a associação de acepromazina com cetamina. Em primeiro lugar, a acepromazina (Acepran 0,2%®, Univet S.A., São Paulo-SP, Brasil) foi aplicada como medicação pré-anestésica em 0,2 mg/kg IM, cinco minutos depois, foi administrada a cetamina (Dopalen®, Vetbrands Saúde, Jacareí-SP, Brasil) 5 mg/kg IM, conforme descrito por Vieira et al. (2021), que realizou procedimentos similares para coleta de sêmen em queixadas, ao avaliarem a eficiência de diferentes fármacos, com o intuito de estabelecer um protocolo anestésico para coleta de sêmen nesta espécie.

6.4.5 Coleta dos dados reprodutivos

Após aplicação dos fármacos os animais foram monitorados quanto ao nível de sedação, analgesia e relaxamento muscular desejáveis, sendo então constatada a anestesia adequada, seguiu-se com a coleta de sêmen, a qual foi realizada por meio de eletroejaculação. Passando 15 minutos da aplicação dos fármacos quando o animal já não apresentava reflexos palpebrais e interdigitais, o mesmo foi acomodado em mesa de procedimento e mantido em decúbito lateral. Previamente a coleta de sêmen foi realizada a tricotomia da região pélvica com auxílio de uma

tesoura e lâmina de barbear, bem como corte dos pelos do prepúcio e assepsia com água e sabão neutro. A limpeza da região prepucial foi feita com solução fisiológica (NaCl 0,9%). E finalmente foi realizada a secagem externa do prepúcio com auxílio de papel toalha descartável.

6.4.6 Protocolo de eletroejaculação

Anteriormente a sessão de estímulos elétricos foi realizada cuidadosamente a limpeza do reto do animal por meio da remoção do conteúdo fecal, a fim de permitir melhor introdução da probe e contato com a sua mucosa, a qual foi lubrificada com carboximetilcelulose (Carbogel[®], carbogel indústria e comércio Ltda., São Paulo-SP, Brasil). O equipamento utilizado para eletroejaculação (Eletrogen SA200[®], Santa Lydia, SP-Brasil) semelhante ao descrito para as espécies domésticas, com a probe baseando-se nas características anatômicas descritas para caititus com apenas 2 cm a mais devido ao maior porte da espécie em estudo, com 20 cm de comprimento e 1,9 cm de diâmetro, com dois eletrodos longitudinais os quais possuíam 10 cm de comprimento.

Com o animal em posição de decúbito lateral, a probe foi inserida no reto a 18 cm de profundidade, paralelamente ao assoalho pélvico de forma que os eletrodos pudessem estimular a inervação das estruturas envolvidas com o processo ejaculatório. O protocolo de estímulos utilizado para coleta por eletroejaculação foi constituído por estímulos crescentes a partir de 5 volts sendo aplicado 10 estímulos em cada voltagem até que atingisse os 12v. Cada estímulo elétrico teve duração de três segundos, seguido pelo mesmo período de descanso. A sessão de estímulos era interrompida na ocasião da obtenção do ejaculado ao longo do protocolo.

Após os estímulos iniciais e consequente ereção peniana, o mesmo era fixado com gaze e direcionado ao tubo falcon de 50 mL, pré-aquecido a 37° e protegido em papel laminado a fim de se evitar os efeitos espermicidas do ar ou da luz e ainda o choque frio. Após obtenção, os ejaculados foram imediatamente acondicionados em banho-maria à 37°C e submetido ao exame dos aspectos físicos, químico e morfológicos, no que se refere ao volume (mL), coloração, consistência, odor, pH,

concentração espermática por mL mensurada pela contagem em câmara de Neubauer, segundo os padrões preconizados pelo CBRA (2013).

6.4.7 Avaliação de sêmen

Avaliação da cinética espermática foi realizada por meio de análise computadorizada de sêmen (SCA[®], Sperm Class Analyzer[®], v.5.2.01, Microptic S.L., Barcelona, Espanha). Foi utilizada a configuração do software para suíno: área da partícula entre 10 e 80 μm^2 ; VCL: lento > 10 $\mu\text{m/s}$ e < 25 $\mu\text{m/s}$, Médio >25 $\mu\text{m/s}$ e < 45 $\mu\text{m/s}$ e Rápido > 45 $\mu\text{m/s}$; progressivo > 45% de retilinearidade; circular < 50% de linearidade. Uma alíquota de 5 μL de cada amostra de sêmen era colocada entre lâmina e lamínula, previamente aquecida, sendo a cinética espermática avaliada após análise de cinco imagens digitalizadas consecutivas obtidas de diferentes campos. Os parâmetros mensurados foram: Motilidade Total (MT-%); Motilidade Progressiva (MP-%); Velocidade Curvilinear (VCL- $\mu\text{m/s}$); Velocidade Linear Progressiva (VSL- $\mu\text{m/s}$); Velocidade Média do Trajeto (VAP- $\mu\text{m/s}$); percentual de espermatozoides Rápidos; Médios; Lentos; Linearidade (LIN-%); Retilinearidade (STR -%); Index de oscilação (WOB -%); Amplitude do deslocamento Lateral de Cabeça (ALH- μm); Frequência de Batimento de Cauda (BCF-Hz) e Hiperativos (%).

Para avaliação da morfologia espermática, uma alíquota de sêmen fresco de todos os ejaculados foi fixada em uma solução de citrato de sódio formolizado a 4% e 200 espermatozoides por ejaculado foram avaliados em microscópio de contraste de fase (x100), em preparação úmida entre lâmina e lamínula, sendo os defeitos espermáticos classificados de acordo com a região da alteração morfológica encontrada.

A avaliação da integridade funcional da membrana plasmática foi realizada pelo teste hiposmótico (HOST), adicionando 10 μL de sêmen em 90 μL de água destilada (0 mOsmol/L) seguido de incubação em banho seco a 37 °C por 40 minutos (SANTOS et al., 2013). Após o período de incubação, a leitura do percentual de reativos ao HOST foi realizada em microscópio óptico comum (Microscópio Olympus[®] CX21), na objetiva de imersão (x100), em preparação úmida entre lâmina e lamínula, coradas com rosa bengala a 3%. Um total de 200

espermatozoides por ejaculado foram avaliados e classificados em reativos ou não-reativos ao HOST, com base na presença ou ausência de caudas dobradas e/ou enroladas, respectivamente (JEYENDRAN et al., 1984). Para o cálculo do percentual de espermatozoides com membrana funcionalmente íntegra foi empregada a fórmula descrita por Melo e Henry (1999), em que a porcentagem de espermatozoides com defeitos de cauda (com base na avaliação da morfologia) foi subtraída da porcentagem de espermatozoides reativos ao HOST com dobramento e enrolamento de cauda.

A integridade estrutural das membranas, plasmática e acrossomal, foi avaliada utilizando um microscópio fluorescente (400X; Olympus® CX 31) após a coloração dos espermatozoides com os fluorocromos diacetato de carboxifluoresceína (CFDA) e iodeto de propídio (IP) de acordo com o método de Harrison e Vickers (1990). A coloração com CFDA foi avaliada com utilização do conjunto padrão de filtro de fluoresceína, enquanto a coloração com IP foi avaliada com a utilização do conjunto padrão de filtros de rodamina. Foram avaliadas 200 células por amostra e classificadas percentagem (%) em três categorias: Íntegros - espermatozoides que possuíam fluorescência verde, ou seja, com acúmulo de CFDA ao longo da cabeça e flagelo, semi-íntegros - espermatozoides com acúmulo de CFDA na cabeça e IP no flagelo e por fim as células lesadas cujo apresentavam acúmulo de IP na cabeça e flagelo.

A longevidade dos espermatozoides foi avaliada por meio do teste de termorresistência lento (TTR), com a utilização do diluente comercial BTS (Beltsville Thawing Solution) as amostras foram incubadas em banho-maria a 37° por 240 min. Foram avaliadas as características de movimento espermático utilizando o SCA®.

6.4.8 Análise estatística

Verificou-se a variabilidade dos atributos, baseada na estatística descritiva dos dados de (volume, consistência, coloração, odor, pH, concentração seminal, bem como, morfologia, cinética espermática, viabilidade, integridade e funcionalidade de membrana), no qual, obteve-se: média, desvio padrão, coeficiente

de variação, máximo e mínimo. As análises de estatística descritiva destas variáveis foram realizadas através do procedimento UNIVARIATE (SAS, 2003).

6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto à avaliação macroscópica os ejaculados apresentaram valores médios para os parâmetros: volume ($0,53 \pm 0,63$), consistência: leitoso (80%), aquoso (20%), coloração: amarelo (40%), branco (26%), marfim (20%), marrom (6,67%), translúcido (6,67%), odor: *Sui generis* (100%), pH ($7,23 \pm 0,26$), e concentração espermática ($967,19 \pm 947,33 \times 10^6$ spz/mL). Os dados quantitativos referentes às características do sêmen de queixadas encontram-se sumariados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores médios referentes à avaliação quantitativa dos ejaculados de queixadas (*Tayassu pecari*) submetidos à coleta de sêmen por eletroejaculação.

Parâmetro	Média±DP	Mínimo	Máximo	CV
Volume (mL)	$0,53 \pm 0,63$	0,2	2,7	119,35
pH	$7,23 \pm 0,26$	7,0	7,5	3,56
Conc. x 10^6 /mL	$967,19 \pm 947,33$	21,00	3640,00	97,95

Conc.: concentração espermática.

O volume médio encontrado no presente estudo foi menor que o verificado por Kahwage et al. (2010), de $0,8 \pm 0,8$ mL para caititus (*Tayassu tajacu*), bem como os descritos por Lochmiller et al. (1985) e Souza et al. (2009), de $1,1 \pm 0,1$ mL e $3,11 \pm 0,9$ mL, respectivamente, para esta mesma espécie. Fischman et al. (2003), ao avaliar o método de coleta de sêmen por eletroejaculação em javalis, encontraram volume médio seminal de $15,5 \pm 8,8$ mL, nesta espécie, valor considerado pequeno quando comparado com o obtido em suínos, espécie de porte semelhante. Contudo, Costa e Paula (2005), afirmam que o volume reduzido não interfere nas características físicas ou morfológicas dos espermatozoides, validando a eficiência da eletroejaculação para o exame andrológico, método este que não interfere na qualidade seminal.

Até o momento não há estudos que descrevam as características do sêmen de queixadas. É importante salientar que por se tratar de animais agressivos

(BODMER et al. 1997) e não condicionados ao manejo reprodutivo, os efeitos desta agressividade podem ter relação direta com o estresse, por elevar níveis de cortisol (LEE et al. 2009). Sabe-se que o estresse é um antagonista da ejaculação, ao passo que promove o bloqueio dos reflexos ejaculatórios (JOHNSTON et al. 1992).

A consistência, coloração e o pH do sêmen de queixadas corroboram os descritos por Kahwage et al. (2010) e Costa e Paula (2005), ao descreverem a consistência leitosa, a coloração branca e amarela, o pH em torno de 7,5, como parâmetros comumente encontrados em caititus, no entanto os queixadas apresentaram concentração espermática de $967,19 \pm 947,33 \times 10^6$ spz/mL, superior ao relato por estes autores de $138,1 \pm 154,0$ spz/mL e $86,7 \pm 10,5$ spz/mL, respectivamente. A sociedade dos queixadas é liderada por um macho dominante, o qual tem prioridade às fêmeas em estro (DUBOST, 2001). Este macho dominante comumente é visto na intimidação de machos submissos, ao impedir que estes tenham direito de copular com as fêmeas (ISSA; EDWARDS, 2006), e assim mantém os machos submissos em inatividade sexual. Este fato pode explicar a alta concentração espermática observada no presente estudo.

Dentre as características microscópicas, a motilidade total média foi de $75,4 \pm 16,2$, a motilidade progressiva foi de $34,7 \pm 15,6$, a VCL foi de $43,0 \pm 11,6$ $\mu\text{m/s}$, a VSL foi de $14,98 \pm 6,42$ $\mu\text{m/s}$, e a VAP foi de $25,33 \pm 10,66$ $\mu\text{m/s}$. O percentual de linearidade e retilinearidade média dos espermatozoides foi de $34,89 \pm 12,10$ e $58,64 \pm 11,36$, respectivamente. A velocidade média do trajeto foi de $25,33 \pm 10,66$ $\mu\text{m/s}$, o Index de oscilação médio foi de $58,03\% \pm 12,95$, a amplitude do deslocamento lateral de cabeça foi de $2,43 \pm 0,41$ e a frequência de batimento flagelar cruzado foi de $5,78 \pm 1,50$ Hz, conforme observado na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros de viabilidade espermática do sêmen de queixadas (*Tayassu pecari*) submetidos à coleta de sêmen por eletroejaculação.

	Média	Desvio padrão	CV (%)	Máximo	Mínimo
MT (%)	75,49	16,29	21,57	99,0	40,1
MP (%)	34,77	15,60	44,88	59,5	7,1
Rápido (%)	33,27	19,45	58,46	70,9	3,7
Médio (%)	20,48	7,25	35,41	34,3	10,8
Lento (%)	21,74	8,30	38,16	32,2	7,2

Hiperativo (%)	4,45	4,09	91,96	13,4	0,2
VCL (mm/s)	43,01	11,64	27,06	64,7	24,3
VSL (mm/s)	14,98	6,42	42,85	24,8	4,2
VAP (mm/s)	25,33	10,66	42,08	50,9	11,7
LIN (%)	34,89	12,10	34,69	57,0	10,5
STR (%)	58,64	11,36	19,37	80,0	36,1
WOB(%)	58,03	12,95	22,32	78,6	29,2
ALH (mm)	2,43	0,41	17,06	3,2	1,8
BCF (Hz)	5,78	1,50	25,97	8,7	3,4

Motilidade total (MT); Motilidade Progressiva (MP); Velocidade Curvilinear (VCL); Velocidade Linear Progressiva (VSL), Velocidade Média do Trajeto (VAP); Linearidade (LIN); Retilinearidade (STR); Índice de Oscilação (WOB); Amplitude do Deslocamento Lateral da Cabeça (ALH), Frequência do Batimento Flagelar Cruzado (BCF).

O presente estudo trata-se de uma pesquisa pioneira que descreve as características dos espermatozoides de queixadas para posterior aplicação de técnicas reprodutivas, as quais poderão contribuir para a conservação desta espécie vulnerável a extinção (KEUROGHLIAN et al., 2013). Os espermatozoides mostraram-se viáveis e aptos à inclusão da reprodução assistida para esta espécie. Contudo o conhecimento acerca da biologia reprodutiva de uma determinada espécie configura o primeiro requisito para sua reprodução em cativeiro (ANDRABI; MAXWELL, 2007; MAYOR et al., 2007).

Este tipo de análise computadorizada de sêmen (CASA), por se tratar de uma avaliação objetiva, fornece informações acuradas e precisas do movimento individual de cada célula, bem como de subpopulações de células espermáticas (AMANN; KATZ, 2004), predizendo a qualidade seminal de maneira mais eficiente quando comparado à avaliação subjetiva, a qual sofre variações de 30 a 60% na estimativa dos parâmetros seminais, devido à limitação do ser humano em quantificar as diferentes subpopulações espermáticas na amostra (VERSTEGEN et al., 2002).

Gottardi et al. (2013) ao avaliarem a qualidade do sêmen suíno por meio de análise computadorizada, relataram valores semelhantes para motilidade progressiva, em torno de $76,71 \pm 12,07$ e motilidade total $60,57 \pm 16,42$ um pouco superior a do presente estudo, contudo é importante salientar que ao contrário dos suínos domésticos, os queixadas, que são animais silvestres, não passaram pelo

processo de melhoramento genético, assim os animais estudados não se tratavam de reprodutores. No entanto, Castelo et al. (2010), ao analisarem sêmen de caititus - espécie filogeneticamente mais próxima dos queixadas, relataram valores médios de motilidade total de $34,2 \pm 4,8$ e motilidade progressiva de $11,6 \pm 2,3$, valores inferiores aos observados para os queixadas.

Quanto à avaliação morfológica, $86,55\% \pm 4,02$ das células analisadas foram consideradas normais, a média de defeitos de cabeça encontrados foi de $0,36\% \pm 0,96$, defeitos de peça $1,98\% \pm 2,12$ e defeitos de cauda $11,13\% \pm 30,15$, somando $13,47\% \pm 4,03$ de defeitos totais, conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Características morfológicas de espermatozoides de queixadas (*Tayassu pecari*).

Parâmetros	% por categoria	Média	Desvio	CV (%)	Máximo	Mínimo
Células normais (%)	76,28	86,55	4,02	4,65	91,00	79,00
Defeitos de cabeça (%)	2,14	0,36	0,96	259,57	6,50	0,00
Defeitos de peça (%)	3,96	1,98	2,12	107,14	7,00	0,00
Defeitos de cauda (%)	7,28	11,13	30,15	224,92	9,50	0,00
Defeitos totais (%)	13,25	13,47	4,03	29,89	21,00	9,00

Sabe-se que existe correlação direta entre a morfologia espermática e a fertilidade (RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2005). Desta forma, foi preconizado pelo CBRA (2013), que o somatório dos defeitos espermáticos não deva exceder 30% do total da amostra. Os queixadas do presente estudo apresentaram um elevado número de células normais, fator imprescindível para aplicação de biotécnicas reprodutivas. Os defeitos espermáticos mais frequentemente observados foram gota citoplasmática proximal $3,04\% \pm 2,54$ e cauda fortemente dobrada $2,81\% \pm 3,49$, seguidos de células decapitadas normais $1,54\% \pm 1,87$ e gota citoplasmática distal $1,50\% \pm 2,15$.

Kahwage et al. (2010) relatam maior percentagem de alterações morfológicas em sêmen de caititus, com $22,6\% \pm 13,1$ de defeitos maiores, $9,6\% \pm 7,2$ de defeitos menores, que contabiliza $31,9\% \pm 13,5$ de defeitos totais. Costa e Paula (2005), por sua vez, relataram variação de defeitos totais entre $15,5\% \pm 2,4$ e $55,5\% \pm 16,1$ em caititus, também maiores do que o descrito neste estudo. Bem como Araujo e Oba (2006), ao avaliarem a qualidade morfológica no sêmen de capivara (*Hydrochoerus*

hydrochaeris), descreveram valores para defeitos maiores, menores e totais de 28,20%, 24,42% e 52,62%, respectivamente.

Na Tabela 4 é possível observar o comportamento dos espermatozoides dos queixadas durante o TTR e avaliação da longevidade espermática pelo SCA[®] ao longo de quatro horas de avaliação. Pode-se notar que os espermatozoides de queixada resistiram ao TTR, pois não houve variação acentuada desses parâmetros entre o início e final do teste. Além disso, os espermatozoides mantiveram-se funcionais por até 240 minutos, comprovando sua viabilidade para o uso das biotécnicas reprodutivas.

Tabela 4. Parâmetros de viabilidade espermática do sêmen de queixadas (*Tayassu pecari*), avaliado durante quatro horas (240 minutos) no teste de termorresistência lento.

Parâmetros	Média	Desvio padrão				
	T0	T30	T60	T120	T180	T240
MTD (%)	77,63±18,01	72,52±22,65	70,33±18,65	69,47±16,56	67,62±19,85	63,20±1,70
MPD (%)	36,11±0,21	29,49±0,22	28,19±0,19	26,32±0,17	24,15±0,15	22,54±0,17
Rápido (%)	33,23±0,24	26,09±0,26	21,68±0,20	20,53±0,14	19,27±0,10	14,38±0,13
Médio (%)	22,74±0,08	20,45±0,08	19,62±0,08	18,54±0,08	18,01±0,09	17,39±0,13
Lento (%)	30,26±0,10	29,52±0,12	28,46±0,09	27,61±0,10	26,32±0,05	26,04±0,11
Hiperativo (%)	4,65±0,04	4,12±0,04	4,03±0,04	3,58±0,03	3,26±0,04	2,43±0,02
VCL (mm/s)	42,04±12,62	37,18±13,40	34,18±15,12	33,77±7,12	32,75±4,50	29,43±9,08
VSL (mm/s)	15,90±11,16	12,90±8,99	11,30±8,07	10,46±5,77	10,85±5,90	9,32±3,68
VAP (mm/s)	24,98±12,85	21,14±12,22	19,87±10,66	18,46±6,42	16,24±5,74	14,97±5,69
LIN (%)	35,90±16,43	33,64±12,39	32,42±17,86	32,86±12,69	31,61±15,50	27,55±7,75
STR (%)	59,38±11,90	57,70±9,27	57,87±11,76	56,23±12,09	55,17±12,60	54,30±5,98
WOB (%)	57,72±15,44	54,54±13,83	54,15±16,16	52,06±9,81	51,74±12,55	50,09±8,97
ALH (mm)	2,40±0,37	2,32±0,35	2,11±0,79	2,40±0,37	2,40±0,49	2,30±0,22
BCF (Hz)	5,49±1,31	5,41±1,51	5,16±2,17	4,41±2,67	4,87±2,32	4,35±2,55

Motilidade total (MT); Motilidade Progressiva (MP); Velocidade Curvilínea (VCL); Velocidade Linear Progressiva (VSL), Velocidade Média do Trajeto (VAP); Linearidade (LIN); Retilinearidade (STR); Índice de Oscilação (WOB); Amplitude do Deslocamento Lateral da Cabeça (ALH), Frequência do Batimento Flagelar Cruzado (BCF).

Pode-se perceber que os espermatozoides dos queixada resistiram ao TTR ao apresentarem espermatozoides longevos durante o período de avaliação, utilizando o BTS (Beltsville Thawing Solution - MINITUB®), diluidor contendo glicose, citrato de sódio, bicarbonato de sódio, cloreto de potássio e antibióticos. Constatou-se que, não houve, portanto, queda acentuada dos parâmetros de movimento espermático. O sêmen de queixada no presente estudo apresentou resultados de TTR superiores ao sêmen de suíno do estudo de Mendez et al. (2012), o que possibilita inferir que estes espermatozoides possuem maior longevidade no trato reprodutivo da fêmea.

Nas Tabelas 4 e 5 estão dispostos os dados referentes às avaliações dos testes hiposmótico e de integridade estrutural de membrana plasmática espermática. A média de espermatozoides reativos ao teste hiposmótico foi de 85,27% ± 21,00, e por sua vez, no teste de integridade estrutural 62,39% ± 43,89 das células apresentaram membranas íntegras, e 14,10 ± 45,59 apresentaram membranas semi lesadas.

Tabela 5. Avaliação da funcionalidade de membrana de espermatozoides de queixadas (*Tayassu pecari*), frente ao teste hiposmótico.

Parâmetros	Reativos (%)	Não Reativos (%)
Porcentagem	85,27	14,73
Desvio padrão	21,00	18,46
CV (%)	12,48	63,49
Máximo	192,00	78,00
Mínimo	122,00	8,00

Evidenciou-se que os espermatozoides de queixadas apresentaram valores médios satisfatórios para funcionalidade e integridade de membrana plasmática. Santos et al. (2013) ao avaliarem o uso da água destilada para a realização do teste hiposmótico em caititus observaram uma taxa de 71,8% de células reativas, valor este inferior ao encontrado no presente estudo. Em contrapartida, Barros et al. (2012), ao avaliar funcionalidade de membrana espermática em suínos da raça Piau, descreveram valores médios de 88,0 ± 5,5% de células reativas ao teste, valor próximo ao observado em queixadas, parâmetro que possibilita inferir elevada

percentagem de espermatozoides com membranas funcionais nesta espécie silvestre.

O teste hiposmótico permite prever a funcionalidade da membrana plasmática, uma vez que espermatozoides com membrana celular íntegra, se colocado em solução hiposmótica, permitem a passagem da água pela membrana celular até o restabelecimento do equilíbrio osmótico entre os fluidos extra e intracelular. Com o influxo da água para o interior da célula, há uma edemaciação celular, com posterior dobramento da cauda, indicada que a membrana celular manteve sua funcionalidade (JEYENDRAN et al., 1984).

Tabela 6. Avaliação da funcionalidade de membrana de espermatozoides de queixadas (*Tayassu pecari*), frente ao teste de integridade estrutural de membrana.

Parâmetros	Lesadas (%)	Semi lesadas (%)	Integras (%)
Porcentagem	23,52	14,10	62,39
Desvio padrão	28,19	45,59	43,89
CV (%)	59,97	161,86	35,21
Máximo	77,00	118,00	179,00
Mínimo	16,00	4,00	59,00

A média de espermatozoides com membrana íntegra no presente estudo foi superior ao descrito por Kahwage et al. (2010), a qual descreveu valores médios de $55,4 \pm 28,6\%$, ao avaliar a integridade de membrana de espermatozoides de caititus. No entanto, Souza et al. (2009) relataram valores médios superiores, variando entre $74,3 \pm 35$ a $83,9 \pm 7,0\%$ em caititus. Fischman et al. (2003), por sua vez, observaram $84 \pm 10\%$ de células com membranas plasmáticas íntegras em javalis (*Sus scrofa*).

A avaliação da integridade das membranas espermáticas é um indicador importante do sucesso de técnicas reprodutivas, uma vez que os espermatozoides são extremamente sensíveis às crioinjúrias (PENÃ et al., 2005).

6.6 CONCLUSÃO

Os dados obtidos neste estudo demonstraram que os parâmetros espermáticos de queixada estão dentro dos padrões desejáveis, pois permitiram considerá-los

como potencialmente férteis e com competência para o uso de técnicas de reprodução assistida. Os testes utilizados possibilitaram uma análise detalhada das características seminais da espécie, aspectos estes ainda inéditos na literatura. Este estudo pode contribuir como base para o desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas, que possam auxiliar na conservação desta espécie classificada como vulnerável a extinção.

6.7 REFERÊNCIAS

- ABBOTT, B.; VAN KOOTEN, G. C. Can domestication of wildlife lead to conservation? The economics of tiger farming in China. **Ecological Economics**, v. 70, p. 721-728, 2011.
- ALTRICHTER, M., TABER, A., BECK, H., REYNA-HURTADO., LIZARRAGA, L., KEUROGLHIAN, A.; SANDERSON, W. Range-wide declines for a key Neotropical ecosystem architect, the near-threatened white-lipped peccary *Tayassu pecari*. **Oryx**, v. 46, p. 87-98, 2012.
- AMANN, R.; KATZ, D. F. Reflections on CASA after 25 years. **J. Androl**, v. 25, p. 317-325, 2004.
- ANDRABI, S. M. H.; MAXWELL, W. M. C. A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species. **Anim Reprod Sci**, v. 99, p. 223-243, 2007.
- ANDRIOLO, A. Desafios para a conservação da fauna. In: CUBAS, Z.S., SILVA J.C.R.; CATÃO-DIAS J.L. (Eds.) **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca. 2007, p. 19-25.
- ARAUJO, L. B. M.; OBA, E. Caracterização morfométrica e morfológica de célula espermática de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 66-72, 2006.
- BARROS, M. H. C., SHIOMI, H. H., AMORIM, L. S., GUIMARÃES, S. E. F., LOPES, P. S., SIQUEIRA, J. B., GUIMARÃES, J. D. Criopreservação de sêmen de suínos da raça Piau submetido a três protocolos de congelamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 41, n. 4, p. 914-922, 2012.
- BODMER, R. E.; EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H.; Hunting and the likelihood of extinction of Amazonian mammals. **Conservation Biology**, Cambrid, v. 11, n. 2, p 460-466, 1997.
- CASTELO, T. S.; SILVA, A. R. Efeito dos processos de centrifugação, diluição e descongelamento sobre a qualidade do sêmen de catetos (*Tayassu tajacu*, linnaeus, 1758). **Dissertação**, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - Universidade Federal Rural do Semi-árido, 2010.

CBRA (Colégio Brasileiro de Reprodução Animal). **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3 ed. Belo Horizonte, 2013. 89p.

COSTA, D.S.; PAULA, T.A.R. Semen collection and evaluation of the collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Biota Neotropica**, v. 5, n. 2, p. 1-6, 2005. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br>>.

DUBOST, G. Comparison of the social behavior of captive sympatric peccary species (genus *Tayassu*); correlations with their ecological characteristics. **Mammalian Biology**, p. 65-83, 2001.

FISCHMAN, M. L.; SUHEVIC, J.; RIVOLTA, M. A.; CISALE, H. O. Collection of wild boar semen by electroejaculation. **The Veterinary Record**, v. 153, p. 365-366, 2003.

FRANCO, S. C; FONSECA, V. O.; GASTLE, L. Potencial reprodutivo de touros nelore acasalados coletivamente na proporção de um touro para 100 vacas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1156-1161, 2006.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Editora SBG, Ribeirão Preto, SP, 2008.

GOTTARDI, E. M.; LEÃO, K. M. Correlação entre as características do movimento espermático de sêmen de cachaços e desempenho reprodutivo de fêmeas suínas. **Dissertação**, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, 2014.

GOTTDENKER, N.; BODMER, R.E. Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. **Journal of Zoology**, Vv. 245, p. 423-430, 1998.

GUIMARÃES, D. A. D. L.; CARDOSO, M. A. P.; FERREIRA, N. I. Puberty in male collared peccary (*Pecari tajacu*) determined by quantitative analysis of spermatogenic cells. **Acta Amazon**, v. 43, p. 99-104, 2013.

HARRISON, R. A. P.; VICKERS, S. E. Use of fluorescent probes to assess membrane integrity in mammalian spermatozoa. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 88, p. 343-352, 1990.

HAUGLAND, R. P. Handbook of fluorescent probes and research chemicals. **Molecular Probes**, 2001.

human sperm membrane and its relationship to other semen characters. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 70, p. 219-228, 1984.

ISHIKAWA, A.; MATSUI, M.; SAKAMOTO, H.; KATAGIRI, S.; TAKAHASHI, Y. Cryopreservation of the semen collected by electroejaculation from the Hokkaido brown bear (*Ursus arctos yesoensis*). **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, p. 373-376, 2002.

ISSA, F. A.; EDWARDS, D. H. Ritualized submission and the reduction of aggression in an invertebrate. **Current Biology**, v. 16, p. 2217-2221, 2006.

JEYENDRAN, R. S.; VAN DER VEN, H.H.; PEREZ-PELAEZ, M.; CRABO, B. G.; ZANEVELD, L. J. D. Development of an assay to assess functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. **J. Journal of Reproduction and Fertility**, v. 70, p. 219-228, 1984.

JEYENDRAN, R. S.; VANDER-VEEM, H. H.; PEREZ-PELAEZ, M.; CRABO, B. G.; ZANEVELD, L. J. D. Development of an assay to assess the functional integrity of the JOHNSTON E.; KAMILARIS, T.; CHROUSOS, G.; GOLD, P. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 16, p. 115-130, 1992.

KAHWAGE, P. R.; GARCIA, A. R.; GUIMARÃES, D. A. A.; OHASHI, O. M.; LUZ-RAMOS, R. S.; DIAS, H. L. T.; ALBUQUERQUE, N. I.; BARTHA, M. M. P.; Biometria testicular, eletroejaculação e características seminais de caíto *Tayassu tajacu* Linnaeus 1758 (Mammalia, Arctiodactyla, Tayassuidae) mantidos em cativeiro na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, v. 40, p. 771-778, 2010.

KEUROGHLIAN, A.; DESBIEZ, A.; REYNA-HURTADO R. et al. 2013. *Tayassu pecari*. **IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2013.1 ed: IUCN.

LEE, H. J.; MACBETH, A. H.; PAGANI, J. H.; YOUNG, W. S., 3RD. Oxitocin: the great facilitator of life. **Progress in Neurobiology**, v. 88, n. 2, p. 127-151, 2009.

LOCHMILLER, R. L.; HELLGREN, E. C.; VARNER, L. W.; GREENE, L. W.; AMOSS, M. S.; SEAGER, S. W. J.; GRANT, W. E. Physiological responses of the adult male collared peccary *Tayasu tajacu* (Tayassuidae), to severe dietary restriction. **Comparative Biochemistry Physiologic**, v. 82, p. 49-58, 1985.

MAYOR, P. D. A. A.; GUIMARÃES, Y.; LE PENDU, J.; DA SILVA, F. J.; LOPEZ-BEJAR, M. Reproductive performance of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the eastern Amazon. **Animal Reproduction Science**, v. 102, p. 88-97, 2007.

MELO M.I.V. & HENRY M. Hypoosmotic test for the evaluation of equine semen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, p. 71-78, 1999.

MENDEZ, M. F. B.; ZANGERONIMO M. G.; ROCHA, L. G.; FARIA, B. G., PEREIRA B.A.; FERNANDES C.D.; CHAVES B.R.; MURGAS L.D.; SOUSA R.V. Effect of the addition of IGF-I and vitamin E to stored boar semen. **Animal Cambridge**, v. 7, p. 793-798, 2012.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; BORGES, R. M.; MENDES A.; DIAS, C. T. S. Nitrogen requirements of white-lipped peccary (Mammalia, Tayassuidae). **Zoo Biol.** v. 33, p. 320-326, 2014.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; LAVORENTI, A. O manejo do caíto (*Tayassu tajacu*) e do queixada (*Tayassu pecari*) em cativeiro. In: **Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil**. VALLADARES-PADUA, C.; BODMER, R. E.; CULLEN JR, L.,

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasília, p. 106-115, 1997.

OLIVER, W. R. L. Introduction. *In*: OLIVER, W. L. R. (org) **Pigs, peccaries and hippos**. Gland, Swtzerland: IUNC, p. 3-10, 1993.

PEÑA, F. J., SARAVIA, F., JOHANNISSON, A., WALGREN, M., RODRIGUEZMARTINEZ, H. A new and simple method to evaluate early membrane changes in frozen-thawed boar spermatozoa. **International Journal of Andrology**, v. 28, p. 107-114, 2005.

REVELL, S.G.; MRODE, R.A. An osmotic resistance test for bovine semen. **Animal Reproduction Science**, v. 36, p. 77-86, 1994.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, H.; ZHANG, B. R.; LARSSON, B. Bovine semen quality and the ability to produce embryos in vivo and in vitro. **Arquivo da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.25, supl, p.108-126, 1997.

SANTOS, E. A. A.; SOUSA, P. C.; PEIXOTO, G. C. X.; SIMÃO, B. R.; OLIVEIRA, M. F.; SILVA, A. R. Establishing the hypoosmotic swelling test for sperm analysis in collared peccaries (*Pecari tajacu*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p. 1257-1260, 2013.

SILVA, A. R., MORATO, R. G., SILVA, L. D. M. The potential of gamete recovery from non-domestic canids and felids. **Animal Reproduction Science**, v. 81, p. 159-175, 2004.

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. **Animal Reproduction Science**, v. 116, p. 370-375, 2009.

SOWLS, L. K. **Javelinas and Other Peccaries: their Biology, Management, and Use**. 2. ed. Texas, USA: Texas A&M University Press, 418 pp, 1997.

UFAW - Universities Federation For Animal Welfare. **Guia para o enriquecimento das condições ambientais do cativeiro** (S. Celotti, Trad.). Sociedade Zoófila Educativa. São Paulo, 1997.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, v. 57, p. 149-179, 2002.

VILLAR, N.; SIQUEIRA, T.; ZIPPARRO, V.; FARAH, F.; SCHMAEDECKE, G.; HORTENCI, L.; GALETTI, M. The cryptic regulation of diversity by functionally complementary large tropical forest herbivores. **Journal of Ecology**, v. 100, p. 25-45, 2019.

7 CAPÍTULO 3 - Características morfológicas e morfométricas de espermatozoides de queixadas (*Tayassu pecari*)

7.1 RESUMO

O queixada (*Tayassu pecari*) é um mamífero neotropical, classificado como vulnerável devido à caça e destruição de seu habitat. Devido às dificuldades na sua reprodução em cativeiro, biotecnologias da reprodução podem ser aplicadas em programas de repovoamento da espécie, para tanto é preciso que a qualidade do sêmen seja satisfatória para o seu uso. Objetivou-se descrever as características morfológicas e morfométricas de espermatozoides de queixadas mantidos em cativeiro. Foram coletados sêmen de 16 queixadas adultos por meio de eletroejaculação, após contenção química. Para avaliação da morfologia espermática foi fixada uma alíquota, de cada sêmen fresco, em solução de citrato de sódio formolizado a 4%, e foram avaliados 200 espermatozoides por ejaculado em microscópio de contraste de fase (x100). A morfometria espermática computadorizada foi realizada com auxílio do software Image Tool®, no qual se mensurou o comprimento total da célula espermática, o comprimento e a largura da cabeça, peça intermediária e cauda. As análises de estatística descritiva foram realizadas através do procedimento UNIVARIATE (SAS, 2003). Os espermatozoides do queixadas apresentaram valores médios para células normais 86,55% ($\pm 4,02$), células com defeitos maiores 7,77% ($\pm 3,98$), e menores 5,68% ($\pm 2,46$), somando 13,45% ($\pm 4,03$) de defeitos totais. Os espermatozoides apresentaram formato alongado, comprimento total de 46,73 μm ($\pm 2,63$), comprimento da cabeça 7,03 μm ($\pm 0,39$), peça intermediária 12,57 μm ($\pm 0,91$) e cauda 26,47 μm ($\pm 2,84$), bem como largura da cabeça 3,68 μm ($\pm 0,36$), peça intermediária 0,98 μm ($\pm 0,15$) e cauda 0,60 μm ($\pm 0,12$). Os ejaculados dos queixadas apresentaram elevado percentual de células normais, com morfometria semelhante ao descrito como padrão, fatores estes imprescindíveis para a aplicação de biotecnologias reprodutivas em cativeiro, tendo em vista a relação destes fatores com a capacidade de fecundação dos espermatozoides.

Palavras-chave: Animal silvestre; espermatozoide; *tayassu pecari*

7.2 ABSTRACT

White-lipped peccary (*Tayassu pecari*) it is a neotropical mammal, classified as vulnerable due to hunting and destruction of its habitat. Due to the difficulties in their reproduction in captivity, reproduction biotechnologies can be applied in repopulation programs of the species, therefore it is necessary that the quality of the semen is satisfactory for its use. Therefore, the objective was to describe the morphological and morphometric characteristics of sperm from white-lipped peccary kept in captivity. Semen were collected from 16 adult white-lipped peccary by means of electroejaculation, after chemical containment. To evaluate sperm morphology, an aliquot of each fresh semen was fixed in a 4% formaldehyde sodium citrate solution, and 200 spermatozoa were evaluated per ejaculate under a phase contrast microscope (x100). The computerized sperm morphometry was performed with the aid of the Image Tool[®] software, in which the total length of the sperm cell, the length and width of the head, intermediate piece and tail were measured. Descriptive statistics analyzes were performed using the UNIVARIATE procedure (SAS, 2003). The sperm of the white-lipped peccary showed average values for normal cells 86.55% (± 4.02), cells with major defects 7.77% (± 3.98), and smaller 5.68% (± 2.46), adding up 13.45% (± 4.03) of total defects. The spermatozoa had an elongated shape, total length of 46.73 μm (± 2.63), head length 7.03 μm (± 0.39), intermediate piece 12.57 μm (± 0.91) and tail 26.47 μm (± 2.84), as well as head width 3.68 μm (± 0.36), intermediate part 0.98 μm (± 0.15) and tail 0.60 μm (± 0.12). The ejaculates of the white-lipped peccary had a high percentage of normal cells, with morphometry similar to that described as standard, factors that are essential for the application of reproductive biotechnologies in captivity, in view of the relationship of these factors with the capacity of fertilization of sperm.

Keywords: Spermatozoon; *Tayassu pecari*; wild animal

7.3 INTRODUÇÃO

Queixada (*Tayassu pecari*) é um mamífero artiodáctilo, pertencente à família Tayassuidae, popularmente conhecido como porco do mato, classificado como vulnerável à extinção pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN), e criticamente em perigo de extinção em regiões de Mata Atlântica (DE AZEVEDO; CONFORTI, 2008; GALETTI et al., 2009), devido à caça e perda de habitat (KEUROGHLIAN et al., 2013). Esta espécie, desempenha um papel extremamente importante para a manutenção das florestas, em função da dispersão de sementes e plântulas (KEUROGHLIAN et al., 2013; MAROTO-MORALES et al., 2010).

Neste sentido, a aplicação de técnicas reprodutivas em animais silvestres em ambiente de cativeiro apresenta-se como ferramenta promissora para a conservação de espécies ameaçadas (ALTRICHTER et al., 2011; ANDRIOLO et al., 2007). Portanto, para a manutenção da espécie em cativeiro, seja para conservação ou comercialização, é primordial a obtenção e conhecimento a respeito de sua biologia reprodutiva (ANDRABI; MAXWELL, 2007; MAYOR et al., 2007). Porém, os mecanismos que regulam a reprodução de queixada são ainda desconhecidos.

De maneira geral, existe relação direta entre o padrão morfológico das células espermáticas e a qualidade seminal e, conseqüentemente, seu potencial fecundante (VERSTEGEN, 2002). Desta forma, a avaliação e classificação da morfologia espermática tornou-se fundamental na rotina de análise de sêmen (VERSTEGEN, 2002), assim como análises complementares, a exemplo da morfometria computadorizada dos espermatozoides (MAROTO-MORALES et al., 2010). O desenvolvimento de metodologias para análise morfométrica computadorizada dos espermatozoides, que possibilita identificar as dimensões das células espermáticas, tem permitido revelar sutis diferenças entre indivíduos e relacioná-las com a fertilidade de machos, que não poderiam ser detectados com a utilização de métodos subjetivos (ANEL et al., 2006).

A morfometria e morfologia espermática pormenorizada de queixada são desconhecidas. Diante do exposto, objetivou-se, por meio deste estudo, descrever as características morfológicas e morfométricas completas de espermatozoides de queixada.

7.4 MATERIAL E MÉTODOS

7.4.1 Área de estudo e animais

O estudo foi realizado no criadouro científico da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil, (legalmente registrado pelo IBAMA, com número de processo 40.738.999/0001-95). Após análise e aprovação do experimento científico pelo Comitê de Ética no Uso dos Animais (CEUA-UESC), Processo nº 031/16, foram utilizados 16 queixadas machos adultos, nascidos e criados em condições de cativeiro, com idades entre três e sete anos, alimentados duas vezes ao dia, às 8h00min e às 16h00min, com uma dieta composta por uma mistura de milho, farelo de soja e suplementos minerais, com água disponível *ad libitum*.

7.4.2 Protocolos anestésicos

Previamente a coleta de sêmen, os animais foram submetidos a um jejum alimentar por 12h e hídrico por 6h, para aplicação anestésica. Após este período foram imobilizados com auxílio de um puçá de rede e submetidos ao protocolo anestésico que consistiu na associação de acepromazina com cetamina conforme segue: a acepromazina (Acepran 0,2%®, Univet S.A., São Paulo-SP, Brasil) foi aplicada como medicação pré-anestésica em 0,2 mg/kg IM. Cinco minutos depois foi administrada a cetamina (Dopalen®, Vetbrands Saúde, Jacareí-SP, Brasil) 5 mg/kg IM.

7.4.3 Protocolo de eletroejaculação

Anteriormente à sessão de estímulos elétricos, foi realizada cuidadosamente a limpeza do reto do animal por meio da remoção do conteúdo fecal, a fim de permitir melhor introdução da probe e o contato com a mucosa retal, a qual foi lubrificada com carboximetilcelulose (Carbogel®, Carbogel Indústria e Comércio Ltda., São Paulo/SP, Brasil). O equipamento utilizado para eletroejaculação (Eletrogen SA200®, Santa Lydia, SP-Brasil) foi semelhante ao descrito para as

espécies domésticas. Referente a probe, baseando-se nas características anatômicas descritas para caititus, acrescentou 2 cm apenas de comprimento devido ao maior porte da espécie em estudo, a qual possuía 20 cm de comprimento e 1,9 cm de diâmetro, com eletrodos longitudinais, com 10 cm de comprimento.

Com o animal em posição de decúbito lateral, a probe foi inserida no reto a 18 cm de profundidade, paralelamente ao assoalho pélvico de forma que os eletrodos pudessem estimular a inervação das estruturas envolvidas com o processo ejaculatório. O protocolo de estímulos utilizado para coleta por eletroejaculação foi constituído por estímulos crescentes, a partir de 5V, sendo aplicados 10 estímulos em cada voltagem, com três segundos de estímulo seguidos por três segundos de descanso, até que os 12V fossem alcançados.

Após os estímulos iniciais e, conseqüente ereção peniana, o mesmo era fixado com gaze e direcionando ao tubo falcon de 50 mL, pré-aquecido a 37° e protegido em papel laminado a fim de se evitar os efeitos espermicidas do ar ou da luz, bem como a variação de temperatura. Após obtenção do ejaculado, as amostras foram imediatamente encaminhadas para análises laboratoriais, para tanto os ejaculados foram acondicionados em banho-maria à 37°C e submetido ao exame dos aspectos morfológicos e morfométricos.

7.4.4 Avaliação da morfologia espermática

Para avaliação da morfologia espermática, uma alíquota de sêmen fresco de cada ejaculado foi fixada em uma solução de citrato de sódio formolizado a 4%, sendo avaliados 200 espermatozoides por ejaculado em microscópio de contraste de fase (x100), em preparação úmida entre lâmina e lamínula, sendo os defeitos espermáticos classificados de acordo com a região da alteração morfológica encontrada (CBRA, 2013).

7.4.5 Avaliação da morfometria espermática

A morfometria espermática computadorizada foi realizada com auxílio do software Image Tool®. Na opção Open Image, as fotografias das amostras foram visualizadas e estudadas, individualmente. Para isso, foram mensuradas 50 células

de todos os ejaculados. Para esta avaliação as alíquotas de sêmen foram preservadas em formol salina na proporção 1:10, sendo analisadas em microscopia de contraste interferencial de fase, onde mensurou-se o comprimento total da célula espermática; o comprimento e a largura da cabeça; comprimento e largura da peça intermediária; e por fim o comprimento e largura da cauda.

7.4.6 Análise estatística

Verificou-se a variabilidade dos atributos, baseada na estatística descritiva dos dados de morfologia e morfometria espermática, para obtenção de: média, desvio padrão, coeficiente de variação, máximo e mínimo. As análises de estatística descritiva destas variáveis foram realizadas através do procedimento UNIVARIATE (SAS, 2003).

7.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espermatozoides de queixada apresentaram valores médios para células normais de 86,55% ($\pm 4,02$), células com defeitos maiores de 7,77% ($\pm 3,98$), e menores de 5,68% ($\pm 2,46$), que somatizam 13,45% ($\pm 4,03$) de defeitos totais, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Características morfológicas de espermatozoides de queixada (*Tayassu pecari*).

Parâmetros	% por categoria	Média	Desvio	CV (%)	Máximo	Mínimo
Células normais (%)	76,28	86,55	4,02	4,65	91,00	79,00
Defeitos maiores (%)	6,85	7,77	3,98	51,25	15,00	1,50
Defeitos menores (%)	5,01	5,68	2,46	43,34	9,50	2,50
Defeitos totais (%)	11,86	13,45	4,03	29,89	21,00	9,00

Pôde-se constatar elevado número de espermatozoides normais, fator este imprescindível para o sucesso no emprego das biotécnicas reprodutivas, pois sabe-se da relação direta entre a morfologia espermática e a fertilidade (RODRIGUEZ-MARTINEZ et al., 1997). Os valores médios encontrados no presente estudo corroboram os descritos por Costa e Paula (2005) para caetitú (*Tayassu tajacu*), no

qual relatam variação de defeitos totais entre 15,5% ($\pm 2,4$) e 55,5% ($\pm 16,1$). Contudo, Kahwage et al. (2010), ao avaliarem a morfologia espermática em caititus, descreveram valores médios de alterações morfológicas mais elevados, com 22,6% ($\pm 13,1$) de defeitos maiores e 9,6% ($\pm 7,2$) de defeitos menores, que contabilizam 31,9% ($\pm 13,5$) de defeitos totais. Em onças pintadas (*Panthera onca*) foi descrito porcentagem média de espermatozoides morfológicamente normais de $46,7 \pm 5,8\%$ (MORATO; BARNABÉ, 1998), que, apesar de ser considerado valor elevado, deve-se levar em consideração que se trata de espécie silvestre que não foram selecionadas para reprodução.

Na Tabela 2, estão classificadas de maneira pormenorizadas a morfologia espermática de queixada.

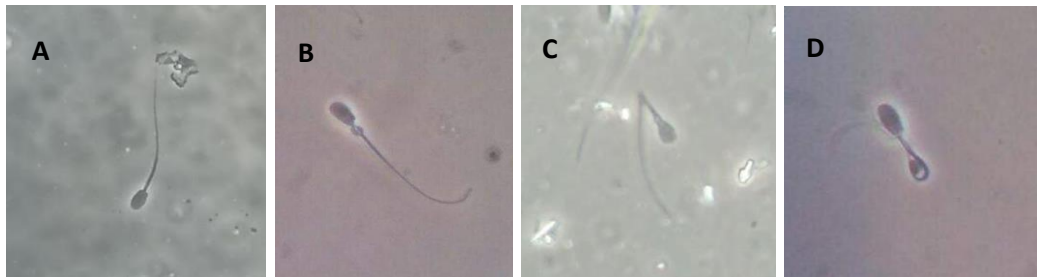
Tabela 2. Classificações morfológicas de espermatozoides de queixada (*Tayassu pecari*).

Parâmetros %	Média	Desvio	CV (%)	Máximo	Mínimo
Cabeça Delgada	0,14	0,23	171,27	0,50	0,00
Cabeça Piriforme	0,05	0,15	331,66	0,50	0,00
Cabeça Pqna Normal	0,09	0,30	331,66	1,00	0,00
Decaptado Normal	1,55	1,88	121,45	6,50	0,00
Decaptado Anormal	0,23	0,61	266,98	2,00	0,00
Implantação Abaxial	0,09	0,20	222,49	0,50	0,00
Peça int. Dobrada	0,91	0,66	73,04	2,00	0,00
Gota Cit. Proximal	3,05	2,54	83,54	7,00	0,00
Cauda Fort. Dobrada	2,82	3,49	124,01	9,50	0,00
Cauda Fort. Enrolada	0,77	0,47	60,45	1,50	0,00
Gota Cit. Distal	1,50	2,16	143,76	7,00	0,00
Cauda Dobrada	1,09	1,07	97,91	3,50	0,00
Cauda Enrolada	0,91	1,39	153,25	4,00	0,00
Cauda Curta	0,18	0,34	185,40	1,00	0,00
Normais	86,55	4,02	4,65	91,00	79,00

Dentre os defeitos maiores, pôde-se notar maior porcentagem de células com presença de gota citoplasmática proximal 3,05% ($\pm 2,54$), seguido por cauda fortemente dobrada 2,82% ($\pm 3,49$), peça intermediária dobrada 0,91% ($\pm 0,66$), e por cauda fortemente enrolada 0,77% ($\pm 0,47$). Dentre os defeitos menores, houve prevalência de espermatozoides decapitados normais 1,55% ($\pm 1,88$), seguido por

presença de gota citoplasmática distal 1,50%, cauda dobrada 1,09 ($\pm 1,07$) e cauda enrolada 0,91% ($\pm 1,39$).

Figura 1. Espermatozoides de queixada avaliados em microscopia de contraste interferencial. (A) espermatozoide normal, (B) espermatozoide com presença de gota citoplasmática proximal, (C) peça intermediária dobrada, (D) cauda levemente enrolada.



Adicionalmente, os espermatozoides de queixada apresentaram formato alongado e cabeça levemente achatada, com comprimento total da célula de 46,73 μm ($\pm 2,63$), comprimento da cabeça 7,03 μm ($\pm 0,39$), peça intermediária 12,57 μm ($\pm 0,91$) e cauda 26,47 μm ($\pm 2,84$), bem como largura da cabeça 3,68 μm ($\pm 0,36$), peça intermediária 0,98 μm ($\pm 0,15$) e cauda 0,60 μm ($\pm 0,12$). Com peça intermediária mais espessa que a cauda, inserida na porção anterior da cabeça do espermatozoide. A porção distal da cauda do espermatozoide apresenta forma cônica com estreitamento na porção distal. A cauda, por sua vez, representa a maior proporção do espermatozoide.

Os resultados morfométricos encontrados no presente estudo estão de acordo com os descritos por Sousa (2008), ao avaliarem a morfometria dos espermatozoides de caititus. Os autores descreveram valores médios para comprimento total da célula de 43,53 μm ($\pm 0,12$), comprimento da cabeça 6,34 μm ($\pm 0,018$), largura da cabeça 4,20 μm ($\pm 0,019$), comprimento da peça intermediária 11,17 μm ($\pm 1,7$) e comprimento da cauda 26,56 μm ($\pm 1,9$). Em concordância, Hirai et al. (2001) ao avaliarem a morfometria da cabeça dos espermatozoides de suínos (*Sus scrofa*), descreveram valores médios para comprimento de 9,27 μm ($\pm 0,05$) e largura 4,66 μm ($\pm 0,02$).

A avaliação dos parâmetros morfológicos e morfométricos de queixada apresentam relevância fundamental para determinação de espermatozoides viáveis que podem definir o grau de fertilidade *in vitro* e *in vivo*, de acordo com as alterações encontradas na constituição das células espermáticas.

7.6 CONCLUSÃO

Neste estudo pioneiro ficou demonstrado que a cauda representa a maior proporção do espermatozoide, o qual apresenta cabeça levemente achatada, semelhante ao descrito como padrão para *cahitus*, espécie filogeneticamente mais próxima dos queixadas. As células espermáticas no presente estudo apresentaram elevado percentual de normalidade, fator que é imprescindível para a aplicação de biotecnologias reprodutivas em cativeiro, tendo em vista a relação destas características com a capacidade fecundante do espermatozoide.

7.7 REFERÊNCIAS

- ALTRICHTER, M.; TABER, A.; BECK, H.; LIZARRAGA, R. R.; KEUROGHLIAN, A.; SANDERSON, E. W. Range-wide declines of a key Neotropical ecosystem architect, the Near Threatened white-lipped peccary *Tayassu pecari*. **Oryx**, v. 46, p. 87-98, 2011.
- ANDRABI, S. M. H.; MAXWELL, W. M. C. A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species. **Animal Reproduction Science**, v. 99, p. 223-243, 2007.
- ANDRIOLO, A. Desafios para a conservação da fauna. In: CUBAS, Z.S., SILVA J.C.R.; CATÃO-DIAS J.L. (Eds.) **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca. p. 19-25, 2007.
- ANEL, L.; ALVAREZ, M.; MARTINEZ-PASTOR, F.; ANEL EP. Improvement strategies in ovine artificial insemination. **Reproduction of Domestic Animals**, v. 41, n. 2, p. 30-42, 2006.
- CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3. ed. Belo Horizonte: CBRA. p. 04. 2013.
- COSTA, D. S.; PAULA, T. A. R. Semen collection and evaluation of the collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Biota Neotropica**, v. 5, p. 1-6, 2005.

DE AZEVEDO FCC, CONFORTI VA. Decline of peccaries in a protected subtropical forest of Brazil: toward conservation issues. **Mammalia**, v. 72, p. 82-88, 2008.

GALETTI, M.; GIACOMINI, H. C.; BUENOS, R. S.; BERNARDO, C. S. S.; MARQUES, R. M.; BOVENDORP, R. S.; STEFFLER, C. E.; RUBIM, P.; GOBBO, S. K.; DONATTI, C. I.; BEGOTTI, R. A.; MEIRELLES, F.; NOBRE, R. D. A.; CHIARELLO, A. G.; PERES, C. A. Priority areas for the conservation of Atlantic forest large mammals. **Biological Conservation**, v. 142, p. 1229-1244, 2009.

HIRAI, M.; BOERSMA, A.; HOEFLICH, A.; WOLF, E.; FOLL, J.; AUMULLER, R.; BRAUN, J. Objectively Measured Sperm Motility and Sperm Head Morphometry in Boars (*Sus scrofa*): Relation to Fertility and Seminal Plasma Growth Factors. **Journal of Andrology**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2001.

KAHWAGE, P. R.; GARCIA, A. R.; GUIMARÃES, D. A. A.; OHASHI, O. M.; LUZ-RAMOS, R. S.; DIAS, H. L. T.; ALBUQUERQUE, N. I.; BARTHA, M. M. P. Biometria testicular, eletroejaculação e características seminais de caititus *Tayassu tajacu* LINNAEUS 1758 (Mammalia, Arctiodactyla, Tayassuidae) mantidos em cativeiro na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, v. 40, p. 771-778, 2010.

KEUROGHLIAN, A.; DESBIEZ, A.; REYNA-HURTADO, R.; ALTRICHTER, M.; BECK H.; TABER, A.; FRAGOSO, J. M. V. *Tayassu pecari*, **IUCN Red List of Threatened Species**. 2013; 1a ed. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/details/41778/0>>.

MAROTO-MORALES, A.; RAMÓN, M.; GARCÍA-ÁLVAREZ, O.; SOLER, A. J.; ESTESO, M. C.; MARTÍNEZ-PASTOR, F.; PÉREZ-GUZMÁN, M. D.; GARDE, J. J. Characterization of ram (*Ovis aries*) sperm head morphometry using the Sperm-Class Analyzer. **Theriogenology**, Nova Iorque. v. 73, p. 437-448, 2010.

MAYOR, P. D. A. A.; GUIMARÃES, Y.; LE PENDU, J. DA SILVA, F.; JORI, M. LOPEZ-BEJAR. M. Reproductive performance of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the eastern Amazon. **Animal Reproduction Science**, v. 02, p. 88-97, 2007.

MORATO, R.; BARNABÉ, R. Biotécnicas de reprodução aplicadas à preservação de felídeos selvagens. **Clínica Veterinária**, v. 12, p. 24-26, 1998.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, H.; ZHANG, B. R.; LARSSON, B. Bovine semen quality and the ability to produce embryos in vivo and in vitro. **Arquivo Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 25, p. 108-126, 1997.

SAS Institute Inc., SAS OnlineDoc®. Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc. 2003.
SOUSA, A L P. **Características do sêmen de catetos (*Tayassu tajacu*, Linnaeus, 1758) coletados por eletroejaculação utilizando diferentes protocolos anestésicos.88f, 2008.** Tese de dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN. 2008.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, v. 57, p. 149-179, 2002.

VIEIRA, R. L. A.; **Biometria testicular e hierarquia de dominância do queixada (*Tayassu pecari*)**. 53 p. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós Graduação em Ciência Animal. Ilhéus: UESC. p. 53, 2018.

8 CAPÍTULO 4 - Correlação entre volume testicular e qualidade seminal de queixadas (*Tayassu pecari*) mantidos em cativeiro

8.1 RESUMO

Queixada é um mamífero silvestre classificado como vulnerável a extinção, devido a caça e perda de seu habitat. Esta espécie desempenha importante papel na dispersão de sementes e recomposição das florestas. Portanto, é preciso estabelecer práticas que reduzam seu declínio populacional. Desta forma, objetivou-se avaliar a correlação entre a qualidade do sêmen e as características biométricas testiculares em queixadas. Para isto, foram utilizados 16 queixadas machos adultos oriundos de criadouro científico. Os animais foram anestesiados com uso da associação acepromazina/cetamina, em seguida tiveram suas mensurações testiculares coletadas com auxílio de um paquímetro e foram submetidos à eletroejaculação. A avaliação da cinética espermática foi realizada por meio de análise computadorizada de sêmen. A normalidade dos dados da biometria dos testículos foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk, utilizou-se o procedimento PROC UNIVARIANTE do SAS (9.3). As análises de estatística descritiva foram realizadas através do procedimento UNIVARIATE. Foi empregado o teste de correlação de Spearman para verificar se há correlação entre os valores biométricos testiculares e cinética espermática, usando o programa Statistica (versão 7.0, Stat Soft, Tulsa, OK, EUA). Os queixadas apresentaram valores médios para comprimento ($5,88 \pm 1,05$ cm), largura ($4,24 \pm 0,98$ cm), altura ($4,44 \pm 0,86$ cm) dos testículos e largura escrotal total "LET" ($8,78 \pm 17,05$). Os espermatozoides de queixadas apresentaram valores médio para motilidade total de $75,4 \pm 16,2$, motilidade progressiva de $34,7 (\pm 15,6)$, VCL de $43,0 (\pm 11,6)$ $\mu\text{m/s}$, a VSL de $14,98 (\pm 6,42)$ $\mu\text{m/s}$, e a VAP de $25,33 (\pm 10,66)$ $\mu\text{m/s}$. O percentual de linearidade e retilinearidade média dos espermatozoides foi de $34,89 (\pm 12,10)$ e $58,64 (\pm 11,36)$, respectivamente. Velocidade média do trajeto de $25,33 (\pm 10,66)$ $\mu\text{m/s}$, Index de oscilação médio de $58,03\% (\pm 12,95)$, amplitude do deslocamento lateral de cabeça foi de $2,43 (\pm 0,41)$ e frequência de batimento flagelar cruzado de $5,78 (\pm 1,50)$ Hz. Em queixadas o volume testicular está diretamente relacionado com motilidade total e motilidade progressiva. Queixadas com maiores dimensões de seus testículos possuem maior capacidade reprodutiva, portanto a seleção de animais com estas características poderá propiciar o desempenho reprodutivo de machos em cativeiro.

PALAVRAS-CHAVE: Animais silvestres, conservação, reprodução em cativeiro.

8.2 ABSTRACT

White-lipped peccary is a wild mammal classified as vulnerable to extinction due to hunting and loss of habitat. This species plays an important role in the dispersion of seeds and restoration of forests. Therefore, it is necessary to establish practices that reduce its population decline. Thus, the objective was to evaluate the correlation between semen quality and testicular biometric characteristics in white-lipped peccary. For this, 16 adult male peccaries from scientific breeding grounds were used. The animals were anesthetized using the acepromazine/ketamine combination, then their testicular measurements were collected with the aid of a caliper and were subjected to electroejaculation. The evaluation of sperm kinetics was performed by means of computerized semen analysis. The normality of testis biometric data was verified using the Shapiro-Wilk test using the SAS PROC UNIVARIANTE procedure (9.3). Descriptive statistics analyzes were performed using the UNIVARIATE procedure. Spearman's correlation test was used to verify whether there is a correlation between testicular biometric values and sperm kinetics, using the Statistica program (version 7.0, Stat Soft, Tulsa, OK, USA). The peccaries had mean values for length ($5,88 \pm 1,05$ cm), width ($4,24 \pm 0,98$ cm), height ($4,44 \pm 0,86$ cm) of the testicles and total scrotum width "LET" ($8,78 \pm 17,05$). White-lipped peccary sperm showed mean values for total motility of $75,4 \pm 16,2$, progressive motility of $34,7 (\pm 15,6)$, LCV of $43,0 (\pm 11,6)$ $\mu\text{m/s}$, VSL of $14,98 (\pm 6,42)$ $\mu\text{m/s}$, and the VAP of $25,33 (\pm 10,66)$ $\mu\text{m/s}$. The percentage of linearity and average straightness of the sperm was $34,89 (\pm 12,10)$ and $58,64 (\pm 11,36)$, respectively. Average path speed of $25,33 (\pm 10,66)$ $\mu\text{m/s}$, Average oscillation index of $58,03\% (\pm 12,95)$, amplitude of lateral head displacement was $2,43 (\pm 0,41)$ and a cross-flagellar beat rate of $5,78 (\pm 1,50)$ Hz. It was observed that in peccaries the testicular volume is directly related to total motility and progressive motility, therefore, peccaries with larger dimensions of their testicles have greater reproductive capacity, the selection of animals with these characteristics may provide the reproductive performance of males in captivity.

KEYWORDS: Wild animals, conservation, breeding in captivity.

8.3 INTRODUÇÃO

Na família *Tayassuidae*, estão incluídos o queixada (*Tayassu pecari*), o caititu (*Pecari tajacu*) e o taguá (*Catagonus wagneri*), todos conhecidos genericamente como pecaris (AGNARSSON; MAY-COLLADO, 2008). Contudo, o desmatamento, a caça e o menor grau de tolerância às mudanças ambientais antropogênicas (DESBIEZ et al., 2012), fizeram do queixada uma espécie vulnerável a extinção, segundo a União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2015).

Devido à importância do queixada para a manutenção dos ecossistemas (DESBIEZ; KEUROGHLIAN, 2009) é preciso estabelecer práticas que reduzam seu declínio populacional. Para reverter este processo, além da proteção de seu habitat e controle da caça (KEUROGHLIAN et al., 2013), existe a proposta da produção de queixadas em cativeiro, para posterior soltura em áreas onde ocorreu a extinção da espécie, como estratégia para a recuperação da espécie (NOGUEIRA et al., 2014).

Além da finalidade conservacionista, a criação em cativeiro pode assumir a função comercial. A criação comercial de animais silvestres justifica-se por propiciar a diversificação da produção em propriedades rurais (NOGUEIRA; NOGUEIRA-FILHO, 2011). Esta pode se tornar uma estratégia de conservação, principalmente pelo aumento do estoque populacional, além de reduzir os impactos ambientais, justamente pelo fato de tais espécies serem naturalmente adaptadas às condições locais, assim não há necessidade de grandes alterações do ambiente para a implantação da atividade (SANTOS et al., 2009).

Em ambiente de cativeiro, a obtenção do sêmen é o primeiro passo na tentativa de aplicar técnicas de reprodução assistida em animais silvestres (ISHIKAWA et al., 1998). A avaliação da qualidade espermática é essencial para seleção de reprodutores (FRANCO et al., 2006). Contudo, a inclusão das características biométricas testiculares no processo de seleção deve-se principalmente em decorrência de sua correlação positiva com a produção e liberação espermática diária e conseqüentemente a fertilidade dos machos (REGE et al., 2000).

De maneira geral, existe uma correlação positiva entre tamanho testicular com produção de testosterona (EVANS et al., 1996) e fertilidade (LOUVANDINI et

al., 2008). Ou seja, quanto maior forem os testículos, maior será a quantidade de parênquima testicular e mais competente será a gônada para produzir espermatozoides. Desta forma, objetivou-se neste estudo avaliar a correlação entre a qualidade do sêmen e as características biométricas testiculares em queixadas.

8.4 MATERIAL E MÉTODOS

8.4.1 Nota ética

O presente estudo foi realizado no criadouro científico da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil, (legalmente registrado pelo IBAMA, com número de processo 40.738.999/0001-95). Após análise e aprovação do experimento científico pelo Comitê de Ética no Uso dos Animais (CEUA-UESC), Processo n° 031/16,

8.4.2 Área de estudo e animais

Para realização desta pesquisa, foram utilizados 16 queixadas machos adultos, nascidos e criados em condições de cativeiro, com idades entre três e sete anos, distribuídos em três grupos. Os animais foram aleatoriamente agrupados em bandos na proporção de três fêmeas para um macho e distribuídos em piquetes de terra batida, alimentados duas vezes ao dia, às 8h00min e às 16h00min, com uma dieta composta por uma mistura de milho, farelo de soja e suplementos minerais, proporcionando 120 g/kg de proteína bruta e 14,5 MJ/kg de energia digestível, com base na matéria seca, com água disponível *ad libitum*.

Os piquetes possuíam em média 500m², bem como um curral de armadilha para auxiliar no manejo, contenção e marcação dos animais. Um mês antes do experimento os animais foram contidos com auxílio de um puçá e pesados para o cálculo da dose anestésica, logo após a pesagem procedeu-se a marcação individual com brincos plásticos com diferentes formatos a fim de facilitar a identificação à distância.

8.4.3 Manejo dos animais

Para que os animais tivessem um repouso sexual estes foram contidos com auxílio de um puçá de rede 48 horas antes do início das coletas, pesados e isolados em baias individuais com 12m², cercadas por tela de alambrado com 1,5 m de altura, os animais continuaram recebendo a mesma dieta em comedouro de madeira 0,4 m x 0,4 m x 0,3 m com fornecimento de água à vontade em bebedouro de 0,2 m x 0,2 m x 0,2 m. Totalizando três grupos, cada grupo composto por cinco ou seis animais. Permanecendo por cerca de 45 dias nas baias cada grupo, as coletas de sêmen foram realizadas quinzenalmente para que fosse respeitado um período de recuperação do protocolo anestésico, totalizando três tentativas de coletas de sêmen por animal. Salienta-se que os animais recebiam a mesma dieta e com fornecimento de água a vontade.

8.4.4 Protocolos anestésicos

No dia da coleta, os animais foram imobilizados com o puçá, pesados e submetidos ao protocolo anestésico. Para este protocolo, foi usada a associação de acepromazina com cetamina. Conforme segue: a acepromazina (Acepran 0,2%®, Univet S.A., São Paulo-SP, Brasil) foi aplicada como medicação pré-anestésica na dose de 0,2 mg/kg IM e cinco minutos depois, foi administrada 5 mg/kg IM de cetamina (Dopalen®, Vetbrands Saúde, Jacareí-SP, Brasil).

8.4.5 Biometria testicular

Após aplicação dos fármacos, os animais foram monitorados quanto à sedação, analgesia e relaxamento muscular desejáveis para garantir que os testículos fossem mensurados com segurança. Para esse fim, os testículos foram levemente tracionados e posicionados paralelamente dentro do escroto. Por palpação testicular, foi avaliada a forma, a mobilidade e a consistência dos testículos, variando em uma escala de 1,0 a 5,0 como preconizado por Unanian et al. (2000). Com o auxílio de um paquímetro foi mensurado: o comprimento de cada testículo (medida craniocaudal, com exceção da cabeça e cauda do epidídimo), largura de cada testículo (medida lateromedial), altura de cada testículo (medida

dorsoventral) e a largura escrotal total (LET) (medida laterolateral de ambos os testículos). Para o cálculo do volume testicular utilizou-se a fórmula para testículos elipsoides $V = L \times H \times W \times 0,52$ (individual de cada testículo), em que L representa o comprimento testicular, H = altura testicular e W = largura testicular e depois foi determinado o volume total pela soma dos volumes parciais de cada testículo. Essa fórmula foi escolhida, por ser a mais adequada para estimar o verdadeiro volume testicular na espécie *Pecari tajacu* quando o paquímetro foi usado na mensuração, segundo Peixoto (2016).

8.4.6 Protocolo de eletroejaculação

Passando 15 min da aplicação dos fármacos, o animal foi acomodado em mesa de procedimento e mantido em decúbito lateral. Previamente a coleta de sêmen foi realizada a tosa higiênica da região pélvica com auxílio de uma tesoura e lâmina de barbear, bem como corte dos pelos do prepúcio e assepsia com água e sabão neutro. A limpeza da região prepucial foi feita com solução fisiológica (NaCl 0,9%) e finalmente foi feita a secagem externa do prepúcio com auxílio de papel toalha descartável.

Anteriormente a sessão de estímulos elétricos, foi realizada cuidadosamente a limpeza do reto do animal por meio da remoção do conteúdo fecal, a fim de permitir melhor introdução da probe e contato com a mucosa retal, a qual foi lubrificada com carboximetilcelulose (Carbogel[®], carbogel indústria e comércio Ltda., São Paulo-SP, Brasil). O equipamento utilizado para eletroejaculação (Eletrogen SA200[®], Santa Lydia, SP-Brasil) foi semelhante ao descrito para as espécies domésticas e a probe foi compatível com as características anatômicas descritas para *caititus*, com apenas 2 cm a mais devido ao maior porte da espécie em estudo, possuindo então 20 cm de comprimento e 1,9 cm de diâmetro, com eletrodos longitudinais com 10 cm de comprimento.

Com o animal em posição de decúbito lateral, a probe foi inserida no reto a 18 cm de profundidade, paralelamente ao assoalho pélvico de forma que os eletrodos pudessem estimular a inervação das estruturas envolvidas com o processo ejaculatório. O protocolo de estímulos utilizado para coleta por eletroejaculação foi

constituído por estímulos crescentes a partir de 5v, sendo aplicados 10 estímulos em cada voltagem até que atingissem os 12v. Cada estímulo elétrico teve duração de três segundos, seguido pelo mesmo período de descanso. A sessão de estímulos só era interrompida caso o ejaculado fosse obtido ao longo do protocolo.

Após os estímulos iniciais e consequente ereção peniana, o mesmo era fixado com gaze e direcionado ao tubo falcon de 50 mL, pré-aquecido a 35° e protegido em papel laminado a fim de se evitar os efeitos espermicidas do ar ou da luz e ainda o choque frio. Após obtenção do ejaculado, a amostra foi imediatamente encaminhada ao laboratório para análises. O sêmen foi imediatamente avaliado, os ejaculados foram acondicionados em banho-maria à 37°C e submetidos ao exame dos aspectos físicos e morfológicos, no que se refere ao volume (mL), coloração, consistência, odor, pH, concentração espermática por mL mensurada pela contagem em câmara de Neubauer, segundo os padrões preconizados pelo CBRA (2013).

8.4.7 Avaliação da cinética espermática

Avaliação da cinética espermática foi realizada por meio de análise computadorizada de sêmen (SCA®, Sperm Class Analyzer®, v.5.2.01, Microptic S.L., Barcelona, Espanha). Foi utilizada a configuração do software para suíno: área da partícula entre 10 e 80 μm^2 ; VCL: lento > 10 $\mu\text{m/s}$ e < 25 $\mu\text{m/s}$, médio >25 $\mu\text{m/s}$ e < 45 $\mu\text{m/s}$ e Rápido > 45 $\mu\text{m/s}$; progressivo > 45% de retilinearidade; circular < 50% de linearidade. Uma gota de 5 μL de sêmen era colocada entre lâmina e lamínula, previamente aquecida, sendo a cinética espermática avaliada após análise de cinco imagens digitalizadas consecutivas obtidas de diferentes campos. Os parâmetros mensurados foram: motilidade total (MT-%); motilidade progressiva (MP-%); velocidade curvilínea (VCL- $\mu\text{m/s}$); velocidade linear progressiva (VSL- $\mu\text{m/s}$); velocidade média do trajeto (VAP- $\mu\text{m/s}$); percentual de espermatozoides rápidos; médios; lentos; linearidade (LIN-%); retilinearidade (STR -%); index de oscilação (WOB -%); amplitude do deslocamento lateral de cabeça (ALH- μm); frequência de batimento de cauda (BCF-Hz) e Hiperativos (%).

8.4.8 Análise estatística

A normalidade dos dados da biometria dos testículos foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk, utilizou-se o procedimento PROC UNIVARIANTE do SAS (9.3). As análises descritivas foram realizadas por meio do mesmo procedimento no qual foram determinadas as médias, valores máximo e mínimo, além dos coeficientes de variação de cada medida. Em seguida, para verificar a simetria entre os testículos, bem como as médias dos dados biométricos, foram comparadas por meio do teste ANOVA univariada usando o procedimento PROC MIXED do SAS (9.3). Posteriormente, foram feitas análises de correlação de Pearson no qual utilizou-se o procedimento PROC CORR do SAS (9.3). Para os dados referentes as características seminais, verificou-se a variabilidade dos atributos, baseada na estatística descritiva dos dados de cinética espermática, obtendo-se: média, desvio padrão, coeficiente de variação, máximo e mínimo. As análises de estatística descritiva destas variáveis foram realizadas através do procedimento UNIVARIATE (SAS, 2003). Por fim, foi empregado o teste de correlação de Spearman para verificar se há correlação entre os valores biométricos testiculares e cinética espermática, usando o programa Statistica (versão 7.0, Stat Soft, Tulsa, OK, EUA). Para todas as análises, considerou-se o nível de significância de $P < 0,05$.

8.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De forma geral, houve simetria entre testículo direito e esquerdo nos animais estudados (Tabela 1), estes achados estão de acordo com os descritos de Sonner et al. (2004). Verificou-se que queixadas apresentam os testículos situados em posição perineal, em uma localização intermediária entre o ânus e a região inguinal, mais ventralmente quando comparados aos testículos dos suínos, com formato ovalado e alongado cranioventralmente, achatados laterolateralmente semelhante aos testículos de catetos, em concordância com as descrições gerais feitas por Dyce et al. (1997) e Sonner et al. (2004). Adicionalmente, os queixadas apresentaram testículos com presença de mobilidade dentro do escroto e consistência tensoelástica (Figura 1), corroborando os achados para catetos, de Kahwage et al. (2010).

Tabela 1. Médias dos parâmetros de biometria testicular de queixadas (n=16).

Parâmetros (cm)	Direito	Esquerdo	<i>P</i>	CV (%)*
Comprimento	5,92	6,50	0,06	16,35
Largura	4,57	4,56	0,98	18,54
Altura	4,60	4,75	0,60	16,23
Volume	62,65	70,30	0,54	37,31
Consistência	2,55	2,53	0,65	3,03

*C.V.: coeficiente de variação.

Os queixadas apresentaram valores médios para comprimento $6,21 \pm 1,05$ cm, largura $4,56 \pm 0,98$ cm, altura $4,67 \pm 0,86$ cm dos testículos e largura escrotal total “LET” $8,78 \pm 17,05$ superiores às médias descritas por Sonner et al. (2004). Isso pode ser explicado pela diferença de idade dos animais em ambos os estudos. Sonner et al. (2004) coletaram dados de animais destinados ao abate, provavelmente entre 10 meses e 1,5 ano de idade, portanto, mais jovens do que os utilizados no presente estudo. Os dados obtidos para os parâmetros de biometria testicular no presente estudo foram superiores aos descritos por Kahwage et al. (2010), ao descreverem valores para comprimento e largura do testículo esquerdo de $3,8 \pm 0,4$ cm e $2,6 \pm 0,3$ cm, e comprimento e largura do testículo direito com $3,8 \pm 0,5$ cm e $2,7 \pm 0,3$ cm, respectivamente.

A consistência tensoelástica determinada para queixadas no presente estudo é considerada de valor intermediário $2,54 \pm 0,07$, assim corresponde ao padrão encontrado para suínos e descrito como ideal para machos em reprodução (ALTHOUSE, 2014). De forma geral, não foi constatada assimetria entre os testículos direito e esquerdo, apenas uma discreta superioridade das medidas de comprimento e altura obtidas. A partir da compreensão de que o desenvolvimento fisiológico das gônadas ocorre de maneira equivalente, preservando o formato testicular fusiforme e, portanto, mantendo a simetria entre estes, pode-se considerar essa característica como essencial para a manutenção de uma boa atividade espermatogênica para machos reprodutores (REGÉ et al., 2000).

Quanto às características relacionadas à cinética espermática, os espermatozoides de queixadas apresentaram valores médios para motilidade total de $75,4 \pm 16,2$, motilidade progressiva de $34,7 \pm 15,6$, VCL de $43,0 \pm 11,6 \mu\text{m/s}$, a VSL de $14,98 \pm 6,42 \mu\text{m/s}$, e a VAP de $25,33 \pm 10,66 \mu\text{m/s}$. O percentual de linearidade e retilinearidade média dos espermatozoides foi de $34,89 \pm 12,10$ e $58,64 \pm 11,36$, respectivamente. Velocidade média do trajeto de $25,33 \pm 10,66 \mu\text{m/s}$, Index de oscilação médio de $58,03\% \pm 12,95$, amplitude do deslocamento lateral de cabeça de $2,43 \pm 0,41$ e frequência de batimento flagelar cruzado de $5,78 \pm 1,50 \text{ Hz}$, conforme observado na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros de viabilidade espermática do sêmen de queixadas (*Tayassu pecari*) submetidos à coleta de sêmen por eletroejaculação.

	Média	Desvio padrão	CV (%)	Máximo	Mínimo
MT (%)	75,49	16,29	21,57	99,0	40,1
MP (%)	34,77	15,60	44,88	59,5	7,1
Rápido (%)	33,27	19,45	58,46	70,9	3,7
Médio (%)	20,48	7,25	35,41	34,3	10,8
Lento (%)	21,74	8,30	38,16	32,2	7,2
Hiperativo (%)	4,45	4,09	91,96	13,4	0,2
VCL (mm/s)	43,01	11,64	27,06	64,7	24,3
VSL (mm/s)	14,98	6,42	42,85	24,8	4,2
VAP (mm/s)	25,33	10,66	42,08	50,9	11,7
LIN (%)	34,89	12,10	34,69	57,0	10,5
STR (%)	58,64	11,36	19,37	80,0	36,1
WOB (%)	58,03	12,95	22,32	78,6	29,2
ALH (mm)	2,43	0,41	17,06	3,2	1,8
BCF (Hz)	5,78	1,50	25,97	8,7	3,4

Motilidade total (MT); Motilidade Progressiva (MP); Velocidade Curvilínea (VCL); Velocidade Linear Progressiva (VSL), Velocidade Média do Trajeto (VAP); Linearidade (LIN); Retilinearidade (STR); Índice de Oscilação (WOB); Amplitude do Deslocamento Lateral da Cabeça (ALH), Frequência do Batimento Flagelar Cruzado (BCF).

Pôde-se constatar que os espermatozoides de queixada se mostraram viáveis e aptos à aplicação de reprodução assistida para esta espécie. Contudo, o conhecimento acerca da biologia reprodutiva de uma determinada espécie configura

o primeiro requisito para sua reprodução em cativeiro (ANDRABI; MAXWELL 2007; MAYOR et al., 2007).

Kahwage et al. (2010) analisando sêmen de caititus, espécie filogeneticamente mais próxima dos queixadas, relataram motilidade espermática média de $52,8 \pm 29,1\%$, bem como, Lochmiller et al. (1985), ao avaliar esta mesma espécie descreveram valores médios de $49,5 \pm 15,8\%$, corroborando Costa e Paula (2005), que detectaram motilidade de $48,7 \pm 31,5\%$ em caititus. Já Souza et al. (2009) encontraram $85 \pm 8,0\%$ de motilidade. Castelo et al. (2010), observaram valores relativamente inferiores para motilidade total e progressiva: $34,2 \pm 4,8$; $11,6 \pm 2,3$, respectivamente. Finalmente Kahwage et al. (2010) descreveram valores médios para vigor espermático em caititus de $2,1 \pm 0,8$, similar ao encontrado por Costa e Paula (2005), que verificaram vigor de $2,1 \pm 1,4$. Valores estes inferiores aos observados para os queixadas, o que demonstra a aptidão reprodutiva destes animais, e o favorecimento da aplicação de biotécnicas reprodutivas para sua conservação.



Figura 1. Manejo reprodutivo de queixadas em cativeiro: **(A)** animais soltos no piquete, **(B)** animais na baia experimental, **(C)** mensuração dos parâmetros testiculares, **(D)** fixação do pênis para coleta de sêmen, **(E)** aspecto do ejaculado e **(F)** célula espermática de queixada.

No presente estudo o volume testicular apresentou forte correlação positiva com motilidade total, motilidade progressiva e espermatozoides hiperativos (Tabela 3). Sabe-se, no entanto, que a motilidade total e progressiva são parâmetros de

extrema importância na indicação de fertilidade de machos. A correlação entre os dados de cinética e volume testicular sugere que queixadas com maiores dimensões de seus testículos possuem maior aptidão reprodutiva.

Tabela 3. Correlação entre as características biométricas testiculares com a qualidade do sêmen de queixadas (*Tayassu pecari*).

Parâmetros*	r_s
Volume test. total	1,00
MT (%)	0,96 0,011
MP (%)	0,80 0,102
Rápido (%)	0,48 0,417
Médio (%)	0,49 0,398
Lento (%)	0,42 0,478
Hiperativo (%)	0,78 0,117
VCL (mm/s)	0,69 0,200

Motilidade total (MT); Motilidade Progressiva (MP); Velocidade Curvilinear (VCL).

* Valores destacados em negrito foram estatisticamente significativos ($P < 0,05$).

O exame andrológico avalia todos os fatores que influenciam as funções reprodutiva do macho, sendo constituído pelo exame clínico, exame genital e principalmente pelas características espermáticas, sendo a motilidade uma característica avaliada classicamente nas amostras de sêmen, fator este imprescindível para aplicação de biotécnicas reprodutivas (CBRA, 2013), sobretudo tratando-se animais silvestres, que na maioria das vezes possuem sua biologia reprodutiva ainda desconhecida, a exemplo dos queixadas. A avaliação da motilidade e hiperatividade espermática possibilita diferenciar sêmen de baixa e alta qualidade. A avaliação automatizada da motilidade dos espermatozoides é

importante devido ao fato da cinética espermática ter relevância na determinação do potencial de fertilidade dos espermatozoides (MATOS et al., 2008).

Além dos parâmetros espermáticos, a mensuração das características biométricas testiculares como comprimento, largura, altura ou espessura testicular, largura escrotal total, e circunferência escrotal, fazem parte do processo de avaliação e seleção de reprodutores (NOTTER et al., 1981). A inclusão das características biométricas testiculares no processo de seleção de reprodutores se deve principalmente pela sua correlação positiva com a produção espermática diária e conseqüentemente a fertilidade dos machos (REGE et al., 2000). A fim de aumentar a precisão na seleção de reprodutores adicionaram-se outras mensurações tais como o volume testicular (BAILEY et al., 1998; UNANIAN et al., 2000) e forma do testículo (BAILEY et al., 1998; UNANIAN et al., 2000). Além disso, a avaliação da morfologia e morfometria testicular são imprescindíveis para a identificação de patologias e alterações gonadais, as quais podem influenciar diretamente na produção e qualidade seminal e causar impactos negativos sobre a fertilidade do indivíduo (HELLGREN et al., 1989; SONNER et al., 2004).

Os achados neste estudo evidenciam que queixadas com maior volume testicular possuem maior fertilidade, pode favorecer um sistema de criação destes animais, seja para fins conservacionistas como soltura em locais onde ocorreu a extinção da espécie ou ainda para criação comercial. Em concordância Moraes (2012) estudando bovinos observou correlação positiva entre volume testicular e motilidade espermática, bem como, Pastore et al. (2008) que encontraram correlação positiva nos parâmetros de volume testicular e motilidade espermática também para bovinos.

8.6 CONCLUSÃO

Em queixadas o volume testicular está diretamente relacionado com motilidade total e motilidade progressiva, portanto, queixadas com maiores dimensões de seus testículos possuem maior aptidão reprodutiva, podendo propiciar o desempenho reprodutivo de machos cativos. A seleção de animais com tais características poderá favorecer um sistema de criação de queixadas em cativeiro

por meio da otimização do manejo reprodutivo, contribuindo para a sua produção e conservação.

8.7 REFERÊNCIAS

- AGNARSSON, I.; MAY-COLLADO, L. J. The phylogeny of Cetartiodactyla: the importance of dense taxon sampling, missing data, and the remarkable promise of cytochrome b to provide reliable species-level phylogenies. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 48, p. 964-985, 2008.
- ALTHOUSE, G. C. Applied Andrology in Swine. In CHENOWETH, P. J.; LORTON, S. P. **Animal Andrology: Theories and Applications**, 1. Ed. CAB Internacional. Londres. p. 404-417, 2014.
- ANDRABI, S. M. H.; MAXWELL, W. M. C. A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species. **Anim Reprod Sci**, v. 99, p. 223-243, 2007.
- BAYLEY, T. L. Caliper ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo. **Theriogenology**, v. 49, p. 581-594, 1998.
- CASTELO, T. S., SILVA, A. R. Efeito dos processos de centrifugação, diluição e descongelamento sobre a qualidade do sêmen de catetos (*Tayassu tajacu*, Linnaeus, 1758). **Dissertação**, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - Universidade Federal Rural do Semi-árido, 2010.
- CBRA (Colégio Brasileiro de Reprodução Animal). **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3 ed. Belo Horizonte, 2013. 89p.
- COSTA, D. S.; PAULA, T. A. R. Semen collection and evaluation of the collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Biota Neotropica**, v. 5, n. 2, p. 1-6, 2005.
- DESBIEZ, A. L. J. Avaliação do risco de extinção do cateto *Pecari tajacu* Linnaeus, 1758, no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**. Ano II, v. 3, p. 74-83, 2012.
- DESBIEZ, A. L. J.; KEUROGHLIAN, A. Can bite force be used as a basis for niche separation between native peccaries and introduced feral pigs in the Brazilian Pantanal? **Mammalia**, v. 73, p. 369-372, 2009.
- DYCE, K. M. **Tratado de anatomia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1997.
- FRANCO, S. C.; FONSECA, V. O.; GASTLE, L. Potencial reprodutivo de touros nelore acasalados coletivamente na proporção de um touro para 100 vacas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1156-1161, 2006.

HELLGREN, E. C.; LOCHMILLER, R. L.; AMOSS, M. S. J. R.; SEAGER, S. W.; MAGYAR, S. J.; COSCARELLI, K. P.; GRANT, W. E. Seasonal variation in serum testosterone testicular measurements and semen characteristics in the collared 49 peccary (*Tayassu tajacu*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 85, p. 677-686, 1989.

ISHIKAWA, A.; MATSUI, M.; SAKAMOTO, H.; KATAGIRI, S.; TAKAHASHI, Y. Cryopreservation of the semen collected by eletroejaculation from the Hokkaido brown bear (*Ursus arctos yesoensis*). **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, p. 373-376, 2002.

IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. **Species Range:** *Tayassu pecari*, 2015. Disponível em: <<http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=41778>>. Acesso em: 06 julho de 2020.

KAHWAGE, P. R.; GARCIA, A. R.; GUIMARÃES, D. A. A.; OHASHI, O. M.; LUZ-RAMOS, R. S.; DIAS, H. L. T.; ALBUQUERQUE, N. I.; BARTHA, M. M. P.; Biometria testicular, eletroejaculação e características seminais de caititus *Tayassu tajacu* Linnaeus 1758 (Mammalia, Arctiodactyla, Tayassuidae) mantidos em cativeiro na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, v. 40, p. 771-778, 2010.

KEUROGHLIAN A, DESBIEZ A, REYNA-HURTADO R. *Tayassu pecari*. **IUCN Red List of Threatened Species**. The IUCN Red List of Threatened Species 2013.

LOCHMILLER, R. L.; HELLGREN, E. C.; VARNER, L. W.; GREENE, L. W.; AMOSS, M. S.; SEAGER, S. W. J.; GRANT, W. E. Physiological responses of the adult male collared peccary *Tayasu tajacu* (Tayassuidae), to severe dietary restriction. **Comparative Biochemistry Physiologic**, v. 82, n. 1, p. 49-58, 1985.

LOUVANDINI, H.; MCMANUS, C.; MARTINS, R. D. Características biométricas testiculares em carneiros Santa Inês submetidos a diferentes regimes de suplementação protéica e tratamentos anti-helmínticos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 638-647, 2008.

MATOS, D. L.; ARAÚJO, A. A.; ROBERTO, I. G.; TONIOLLI R. Análise computarizada de espermatozoides: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, p. 225-232, 2008.

MAYOR, P., D. A. A. GUIMARÃES, Y. LE PENDU, J. DA SILVA, F. JORI, AND M. LOPEZ-BEJAR. Reproductive performance of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the eastern Amazon. **Animal Reproduction Science**, v. 102, p. 88-97, 2007.

MORAES, G. P. Puberdade e maturidade sexual de tourinhos Senepol, criados semiextensivamente na região do Triângulo Mineiro-MG: 2012, 56p. **Dissertação** (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; BORGES, R. M. MENDES, A.; DIAS, C. T. S. Nitrogen requirements of white-lipped peccary (Mammalia, Tayassuidae). **Zoo Biology**, v. 33, p. 320-326, 2014.

NOGUEIRA, S. S.; C; NOGUEIRA-FILHO, S. LG. Wildlife farming: an alternative to unsustainable hunting and deforestation in Neotropical forests. **Biodiversity and Conservation**, v. 20, p. 1385-1397, 2011.

PASTORE, A. A.; TONIOLLO, G. H.; LÔBO, R. B.; FERNANDES, M. B.; VOZZI, P. A.; VILA, R. A.; GALERANI, M. A. V.; ELIAS, F. P.; CARDILLI, D. J. Características Biométricas, testiculares, seminais e parâmetros genéticos de touros pertencentes ao programa de melhoramento genético da raça Nelore. **ARS Veterinária**, v.24, n.2, p.134-141, 2008.

PEIXOTO, G. C. V.; SILVA, M. A.; LIMA, G. L.; CAMPOS, L. B.; PAIVA, A. L. C.; PAULA, W.; RICARTE, A. R. F.; SILVA A. R. Use of non-invasive methods for evaluating the testicular biometry in collared peccaries (*Peccari tajacu* Linnaeus, 1758). **Anatomia Histologia Embryologia**, v. 45, p. 60-66, 2016.

REGE, J. E. O.; TOE, F.; MUKASA-MUGERWA, E.; TEMBELY, D.; ANINDO, R. L.; BAKER, A. Reproductive characteristics of Ethiopian highland sheep. II. Genetic parameters of semen characteristics and their relationships with testicular measurements in ram lambs. **Small Ruminant Research**, v. 37, p.173-187, 2000.

SANTOS, D.; MENDES, A.; NOGUEIRA, S. S. C.; NOGUEIRA FILHO S. L. Criação comercial de caetitús (*Pecari tajacu*): uma alternativa para o agronegócio. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, p. 1-10, 2009.

SONNER, J. B.; M. A. MIGLINO, T. C.; SANTOS, R.; CARVALHAL, A. C. A.; NETO, C. E. B.; MOURA, M. F. Aspectos macroscópicos e morfométricos dos testículos em catetos e queixadas. **Biota Neotropica**, v. 4, p. 1-12. 2004.

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. **Animal Reproduction Science**, v. 116, n. 3, p. 370-375, 2009.

UNANIAN, M. M.; FELICIANO SILVA, A. E. D.; McMANUS, C.; CARDOSO, E. P. Características biométricas testiculares para avaliação de touros zebuínos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 136-144, 2000.

9 CAPÍTULO 5 - Interfaces entre pesquisa e ensino: estratégias para sensibilização dos alunos do Ensino Básico para conservação da fauna silvestre, em especial o *Tayassu pecari*

9.1 RESUMO

Dentre as diversas alternativas empregadas na tentativa de solucionar os problemas ambientais, a educação ambiental torna-se uma importante ferramenta de ensino e sensibilização para construir uma nova ética ambiental. Nesta perspectiva, como parte da pesquisa de doutorado realizada com alunos da 3ª série do ensino médio, do Colégio Estadual do Campo de Castro Alves, na cidade de Castro Alves, Bahia, objetivou-se analisar a concepção destes acerca da conservação dos animais silvestres, especialmente, do *Tayassu pecari*, sensibilizando-os quanto à influência das atitudes humanas sobre as relações ecológicas. Foi realizada uma entrevista estruturada por meio da aplicação de questionários, contendo 13 questões, subjetivas e de múltipla escolha, para que se pudesse avaliar a concepção prévia dos alunos. Após a análise dos dados, foi ministrada uma palestra sobre educação ambiental, destacando estratégias para a conservação do queixada, bem como a explicação de dados obtidos no experimento de doutorado, inter-relacionando pesquisa e ensino. Verificou-se que, antes das atividades efetuadas na sala de aula, relativas à educação ambiental, os estudantes detinham um conhecimento básico sobre legislação ambiental e sobre as diferenças entre animais domésticos, silvestres e selvagens. E também não conheciam os queixadas. No entanto, apresentaram relativa preocupação com o bem-estar animal e o cumprimento das leis ambientais, condições fundamentais para construção de uma nova consciência ecológica. A educação ambiental, bem como as inter-relações entre pesquisa e ensino, mostraram-se eficazes para informar e conscientizar sobre questões relacionadas à conservação do meio ambiente, sendo, portanto, um instrumento essencial na mitigação dos problemas ambientais.

PALAVRAS-CHAVE: Animais silvestres, queixadas, conservação, educação ambiental, ensino-pesquisa.

9.2 ABSTRACT

Among the various alternatives used in an attempt to solve environmental problems, environmental education becomes an important teaching and awareness tool to build a new environmental ethics. In this perspective, as part of the doctoral research carried out with students of the 3 series grade of high school, from the Colégio Estadual do Campo de Castro Alves, in the city of Castro Alves, Bahia, the objective was to analyze their conception about the conservation of wild animals, especially, of *Tayassu pecari*, making them aware of the influence of human attitudes on ecological relations. A structured interview was carried out through the application of questionnaires, containing 13 questions, subjective and multiple choice, so that the previous conception of the students could be evaluated. After analyzing the data, a lecture on environmental education was given, highlighting strategies for the conservation of the peccaries, as well as the explanation of data obtained in the doctoral experiment, interrelating research and teaching. It was found that, before the activities carried out in the classroom, related to environmental education, the students had a basic knowledge about environmental legislation and about the differences between domestic, wild and wild animals. Nor did they know the peccaries. However, they were relatively concerned with animal welfare and compliance with environmental laws, fundamental conditions for building a new ecological awareness. Environmental education, as well as the interrelationships between research and teaching, proved to be effective in informing and raising awareness about issues related to environmental conservation, being, therefore, an essential tool in the mitigation of environmental problems.

KEYWORDS: Conservation, environmental education, teaching-research, white-lipped peccaries, wildlife.

9.3 INTRODUÇÃO

A fauna silvestre apresenta-se como de fundamental importância para a manutenção e preservação da biodiversidade, atuando como polinizadores e dispersores de sementes, além de realizar o controle das populações de presas dentro da sua cadeia alimentar (VIEIRA et al., 2019). Dentre os fatores que promovem o declínio nas populações de animais silvestres, a caça merece destaque, tendo em vista que sua prática tem levado à extinção de diversas espécies nativas, afetando o equilíbrio dos ecossistemas naturais (DIAS et al., 2018). Em especial, o queixada (*Tayassu Pecari*), mamífero silvestre pertencente à família Tayassuidae, que encontra-se em declínio ao longo da sua área de ocorrência devido à caça e destruição de seu hábitat (KEUROGHLIAN et al., 2013). Diante da importância da espécie para a manutenção dos ecossistemas, é preciso estabelecer práticas que reduzam seu declínio populacional, fato que levou a espécie a ser classificada como vulnerável pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN) (KEUROGHLIAN et al., 2013).

A partir da compreensão de que os recursos ambientais são esgotáveis e estão sofrendo acelerado declínio, surge a necessidade do uso consciente/racional dos recursos naturais. Desta forma, a perspectiva da sustentabilidade tem se fortalecido e novos modelos de desenvolvimento têm sido propostos, com o objetivo de garantir a manutenção da qualidade ambiental para que assim, esta e as futuras gerações possam continuar a usufruir dos recursos naturais disponíveis. O uso sustentável dos recursos naturais tornou-se, então, uma necessidade e não uma escolha, sendo mais um processo do que um estado. Reconhecido como um tema atual, representa um grande desafio no Antropoceno (ALMEIDA et al., 2018; MOSSI, 2019; MUNIZ; PAZMINO, 2019).

A degradação ambiental surge no contexto do crescimento e da globalização da economia, fenômenos estes característicos da modernidade em função do domínio humano. As reflexões atuais vão além do entendimento da perda da sustentabilidade ecológica em detrimento do processo econômico, compreende-se também a crise de civilização, que questiona a racionalidade do sistema social, os valores, os modos de produção (LEFF, 2001), provocando o surgimento de um paradigma que exige uma nova ética ambiental do ser humano.

A ética ambiental surge com objetivo de combater a ideia do antropocentrismo, na tentativa de retirar o homem do centro do universo, a partir da conscientização de que a seguridade da vida humana depende diretamente da conservação das demais espécies (PELIZZOLI, 2002). O conceito de ética ambiental promove reflexões acerca dos valores relacionados à ética antropocêntrica, na qual o homem, por apresentar consciência de si próprio, se porta com superioridade em relação aos demais animais e, se colocando, portanto, no centro do universo. E é nesse contexto que o interesse capitalista se fundamenta, trazendo grandes transtornos e perdas ao meio ambiente (PELIZZOLI, 2002).

Diversas alternativas têm sido empregadas na tentativa de solucionar problemas ambientais, dentre elas a educação ambiental apresenta-se como uma ferramenta mitigadora, apontada por vários autores como um dos caminhos para minimizar ou até mesmo solucionar os impactos ambientais (ROSÁRIO, 2019). Neste sentido, ensino e aprendizagem sobre as questões ambientais surge como possibilidade de promover transformações no atual quadro de degradação ambiental (MUNIZ; PAZMINO, 2019). Os princípios da educação ambiental baseiam-se na compreensão, conscientização e desenvolvimento de novos padrões de conduta para com o meio ambiente, por meio da utilização racional dos recursos naturais (MUNIZ; PAZMINO, 2019; ROSÁRIO, 2019).

Diversas fontes de comunicação que os estudantes frequentemente possuem contato como: televisão, jornal e internet, muitas vezes não estão relacionadas ao ensino formal, e parecem não fornecer informações adequadas sobre a biodiversidade, ao menos no que diz respeito a desenvolver nos discentes uma percepção sensibilizada sobre a conservação das espécies (BIZERRIL et al., 2007). Neste sentido, as escolas são excelentes laboratórios para investigações temáticas como, por exemplo, a conservação da biodiversidade, sobretudo àquelas situadas em ambientes rurais. Os professores possuem um importante papel para a implantação da Educação Ambiental em suas aulas, potencializando o estabelecimento dessas práticas nas instituições de ensino (ALKIMIN et al., 2019; MUNIZ; PAZMINO, 2019).

No entanto, para que a Educação Ambiental seja inserida no ambiente escolar, se faz importante uma reformulação na formação dos docentes, investindo

no seu protagonismo ao abordar temas ambientais como atividade nucleares nas escolas (ALKIMIN et al., 2019). Desta forma, um senso crítico pode ser despertado nos estudantes, sensibilizando-os para as práticas de conservação da conscientização de que dependemos do meio ambiente para sobreviver (CARVALHO et al., 2020).

Desta forma, é de vital importância que sejam reforçadas as inter-relações entre pesquisa e ensino, a fim de desenvolver a consciência ambiental coletiva, mas sobretudo, a investigação científica no ensino básico, despertando nos discentes o interesse para a pesquisa e conservação da biodiversidade. Partindo deste princípio, objetivou-se por meio desta pesquisa qualitativa de campo, investigar e analisar a concepção dos alunos do Ensino Básico do Colégio Estadual do Campo de Castro Alves, acerca da conservação dos animais silvestres, em especial do *T. pecari* e, em contrapartida, conscientizá-los no que diz respeito às relações ecológicas, ressaltando a influência das atitudes humanas sobre estas relações, verificando a importância do estudo sobre a biodiversidade nas escolas.

9.4 MATERIAL E MÉTODOS

9.4.1 Lócus da Pesquisa

A pesquisa foi realizada no Colégio Estadual do Campo de Castro Alves, localizado na cidade Castro Alves, Bahia. Com Latitude: 12° 44' 51" Sul, e Longitude: 39° 25' 52" Oeste. O município conta com remanescentes florestais da Mata Atlântica, dentre estes a Serra da Jiboia, uma Área de Preservação Ambiental (APA), situada na porção sul do Recôncavo Baiano, que abriga uma rica biodiversidade de fauna e flora. Esta serra possui uma área total de aproximadamente 23.000 hectares ainda cobertos por remanescentes de Mata Atlântica, sendo que cerca de 7.000 hectares são considerados Mata Atlântica em estágio avançado de regeneração.

9.4.2 Coleta de Dados

O público-alvo desta pesquisa foram 42 discentes da 3ª série do ensino médio, do turno matutino, composto em sua maioria por alunos de áreas rurais, no período de 16 a 27 de setembro de 2019. Com o intuito de investigar o conhecimento destes alunos a respeito da diversidade e da conservação da fauna, especialmente dos queixadas, objeto do projeto desenvolvido pelos autores. Durante a primeira parte do estudo foi realizada uma entrevista estruturada por meio da aplicação de questionários, contendo 13 questões - subjetivas e de múltipla escolha, para que os alunos tivessem liberdade para expressar seus conhecimentos acerca do tema biodiversidade, conservação de animais silvestres, definições zoológicas, atitudes frente aos animais, percepção ambiental e conhecimento sobre os queixadas. Os alunos que concordaram em responder o questionário tiveram sua identidade preservada, e com consentimento livre e esclarecido para desistir da pesquisa a qualquer momento.

As questões abordadas encontram-se distribuídas no quadro 1.

Quadro 1. Questionário aplicado com os alunos.

1. O que são animais silvestres?
2. Qual a diferença entre animal silvestre, doméstico e animal selvagem? Cite três exemplos (espécies) de cada.
3. Cite 3 espécies de animais da fauna brasileira ameaçadas de extinção.
4. Você costuma caçar animais silvestres? Por quê? () Frequentemente () Raramente () Não.
5. Você possui animais em casa? Quais?
6. Qual sua atitude ao receber/encontrar um animal silvestre? () Criar e cuidar () Acionar o IBAMA () Soltar o animal () Matar () Vender/consumir () outro:_____.
7. Sabe o que é necessário fazer para possuir um animal diferente dos tradicionais em casa? Gostaria de ter um? Qual?
8. Você já ouviu falar sobre tráfico de animais silvestres? O que você entende sobre o assunto? Quais as consequências desse tipo de atividade?
9. Como podemos contribuir para a conservação da biodiversidade?
10. Já trabalhou o assunto conservação da biodiversidade em sala de aula? Em

qual disciplina? Qual a importância desse tema na sua opinião?

11. Você conhece ou já ouviu falar nos queixadas? Sabe o que poderia ser feito para contribuir com a conservação desta espécie?

12. Você acha que a biotecnologia pode auxiliar na conservação das espécies? De que forma?

13. Você considera importante a pesquisa estar relacionada com o ensino? Por quê?

A opção de trabalhar com a 3ª série do Ensino Médio se deu em virtude desse nível de ensino ser considerado, no âmbito da atual Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional e Parâmetros Curriculares Nacionais - PCN (BRASIL, 2000), a etapa final do ensino básico, possibilitando investigar conhecimentos sobre biodiversidade adquiridos nessa etapa de escolarização. Utilizou-se, como instrumento de pesquisa, a entrevista “em profundidade”, que teve como orientação básica um roteiro semiestruturado, contendo 13 questões principais. Além disso, optou-se também por colher e analisar relatos escritos dos discentes após a realização da palestra, na mesa de diálogos, quando expressaram suas opiniões, avaliando o trabalho realizado.

Trata-se de uma pesquisa de campo qualitativa na qual a aplicação de um questionário concedeu a possibilidade de um tratamento interpretativo e estatístico das informações (CRESWELL, 2007). Durante a análise das informações foi relevante interpretar qualitativamente as ideias apresentadas pelos estudantes às questões formuladas. Os dados foram avaliados de maneira geral “como um todo” e posteriormente analisados levando em considerações as seguintes variáveis: Correlação entre o perfil de respostas e o sexo. A frequência de respostas auxiliou na criação das categorias.

9.4.3 Palestra e Mesa de Diálogo

A segunda parte da pesquisa refere-se à produção de um metatexto que combina descrição com interpretação, organizado a partir das categorias construídas ao longo da análise. Após a análise dos dados, foi ministrada uma palestra sobre educação ambiental, destacando estratégias para a conservação do queixada, bem

como a explicação de dados obtidos no experimento de doutorado, considerando a interface ensino e pesquisa na promoção do conhecimento. Por fim, foram esclarecidas as dúvidas presentes no questionário. Após a palestra, os alunos puderam assistir o documentário “Animais seres sencientes”, para auxiliar na sedimentação do conteúdo discutido. Por fim, realizou-se uma mesa de discussão, para que os alunos pudessem explicar seus pontos de vista e relatar (oral e de forma escrita) se houve mudança em sua percepção a respeito da conservação dos animais silvestres, bem como quanto às estratégias de conservação do queixada.

9.4.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados por meio de estatística descritiva, através do cálculo das frequências relativas das respostas fornecidas, com resultados apresentados em porcentagens. A análise dos dados qualitativos foi realizada por meio de análise de Discurso do Sujeito Coletivo-DSC, conforme descrito por Lefevre et al. (2000).

9.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

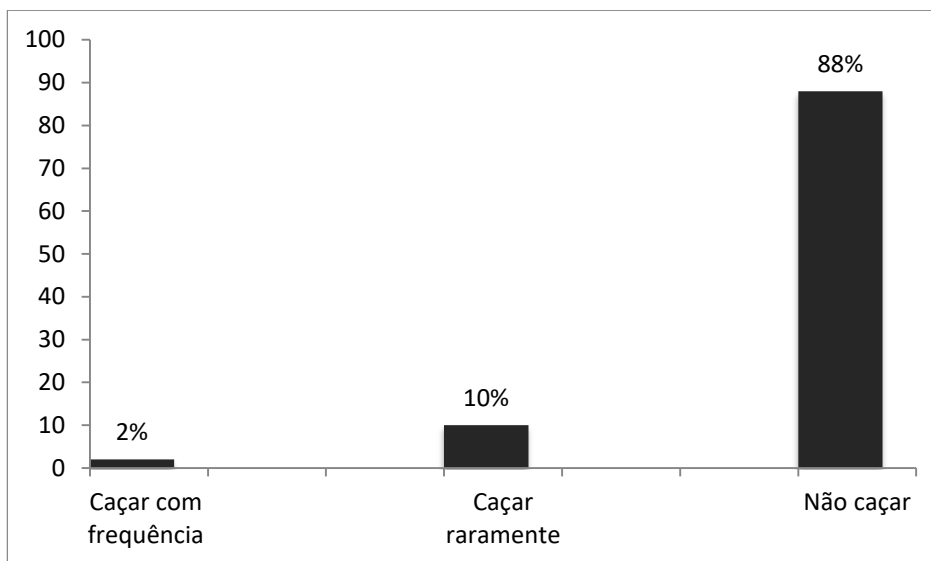
Quando questionados a respeito do que são animais silvestres, o perfil de resposta dos alunos foi de que se trata de animais que vivem na selva, animais criados na natureza ou soltos na natureza ou ainda animais que as pessoas consomem, citando como exemplo os tigres, leões, cobras, girafas, macacos e pássaros.

Quando indagados sobre a diferença entre animal silvestre, selvagem e doméstico, os alunos não souberam responder ao certo. No entanto, associaram os animais domésticos a animais dóceis e que estão acostumados com a presença dos seres humanos, citando como exemplo cães, gatos e galinhas. Para os animais silvestres e selvagens os estudantes os definiram como animais agressivos e que costumam atacar os humanos, sendo necessário, portanto, manter distância, a exemplo dos leões, tigres, onça e cobras peçonhentas. Nesta questão, os alunos apresentaram um conhecimento superficial acerca das diferenças que definem o animal como doméstico, silvestre e selvagem.

Segundo a Portaria/IBAMA nº 93, de 07 de julho de 1998 (BRASIL, 1998), animais domésticos são todos aqueles que através de processos tradicionais e sistematizados de manejo e/ou melhoramento zootécnico tornaram-se domésticos, apresentando características biológicas e comportamentais em estreita dependência do homem. Já os animais silvestres são todos aqueles animais pertencentes às espécies nativas, migratórias e quaisquer outras, aquáticas ou terrestres que tenham seu ciclo de vida ocorrendo dentro dos limites do Território brasileiro ou águas jurisdicionais brasileiras. E por fim, animais selvagens são todos aqueles pertencentes às espécies ou subespécies cuja distribuição geográfica não inclui o Território brasileiro e as espécies ou subespécies introduzidas pelo homem, inclusive domésticas em estado asselvajado.

Na terceira questão, ao pedir que fossem citadas três espécies de animais da fauna brasileira ameaçadas de extinção, os estudantes citaram: arara azul, mico leão dourado, lobo guará, hiena, zebra, elefante, onça pintada, jaguatirica, tigre, tamanduá, macaco aranha, tucano, abelha, boto-cor-de-rosa, leão, leopardo, arara vermelha, tatu, teiú, saguim, tatu bola, tatu canastra, preguiça, papagaio, veado e capivara. As respostas fornecidas pelos alunos nesta questão reforçam o que foi dito anteriormente nas questões 01 e 02, tendo em vista que uma parcela considerável das espécies aqui citadas não se enquadra nas definições de animais silvestres (BRASIL, 1998).

Ao serem questionados a respeito da prática de caça de animais silvestres, 2% dos alunos afirmaram que costumam caçar com frequência, 10% afirmaram caçar raramente, enquanto 88% alegaram não possuir o hábito de caçar animais silvestres (Figura 1).

Figura 1. Percentual de alunos que costumam caçar animais silvestres.

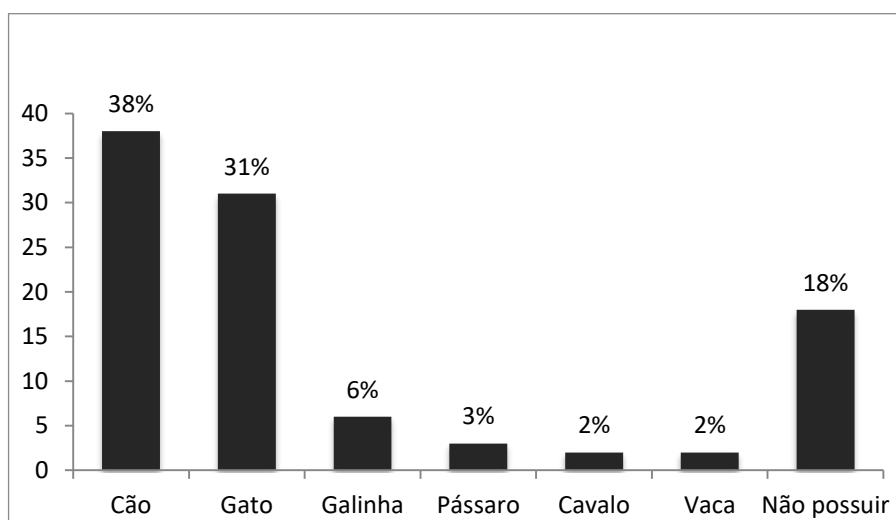
Pode-se notar que a grande maioria dos alunos entrevistados afirmou não possuir o hábito de caçar animais silvestres, estes alunos justificaram que os animais possuem o direito à vida e à liberdade; pelo fato da caça ser contra a lei e para evitar a extinção das espécies. Ressaltaram ainda a importância ecológica destes animais no ambiente onde estão inseridos. Em contrapartida, 12% dos entrevistados, do sexo masculino, afirmaram praticar o hábito de caçar. De acordo com estes alunos, caçar trata-se de uma atividade de lazer ou ainda justificada por se tratar de um costume passado por outras gerações.

Este discurso corrobora os descritos por Sousa et al. (2020), no qual a caça é uma tradição passada de geração em geração, onde os caçadores apresentam entre si relações de parentesco e amizade, e que este hábito legitima o vínculo entre os membros de uma comunidade. Geralmente, a prática de caçar animais silvestres inicia-se na infância, influenciada pelos pais, sobretudo, envolvendo a avifauna regional. Ainda segundo Sousa et al. (2020), a relação dos pais ou pessoas mais velhas com o meio ambiente são reproduzidas pelas crianças, fazendo com que a caça, a pesca, a colheita de frutos e demais relações homem/meio ambiente sejam imitadas e iniciadas ainda na infância.

No item seguinte, ao serem questionados quanto a possuir animais domésticos, as espécies mais citadas com maior prevalência foram cães e gatos, seguidos por galinhas e pássaros. Os cães foram citados em 38% das respostas, os

gatos em 31%, galinha 6%, pássaro 3%, cavalo 2%, vaca 2%, pássaro 3%, e finalmente 18% dos alunos afirmaram não possuir nenhum animal de estimação, como pode ser observado na Figura 2.

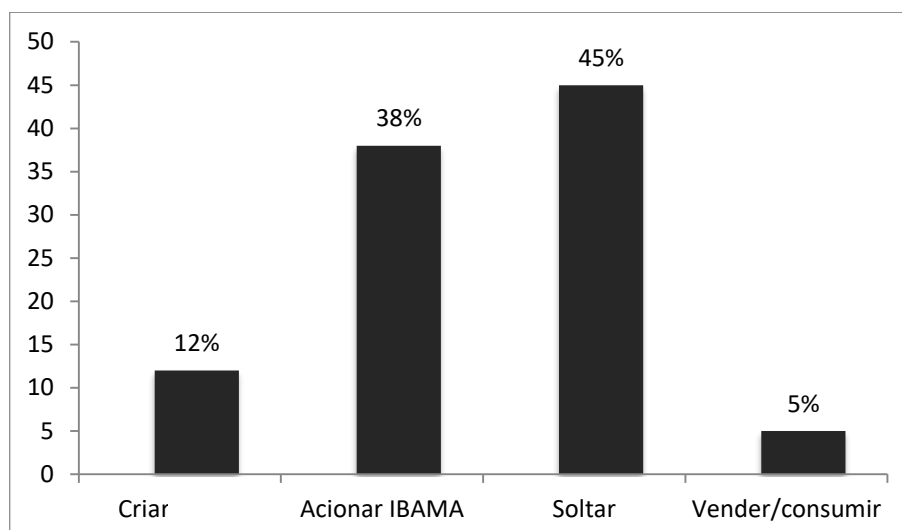
Figura 2. Percentual de alunos que possuíam animais domésticos em casa.



Este perfil de resposta era esperado, tendo em vista que grande parte destes alunos mora em áreas rurais, onde, além de desfrutarem da companhia de cães e gatos, existe também a presença de animais de produção como vacas e galinhas. E, também, por se tratar de um ambiente rural, o qual possui maior disponibilidade de aves silvestres, alguns alunos afirmaram cultivar o hábito de capturá-las e criá-las em gaiolas. Segundo Lopes e Freitas (2017), as aves são as espécies que mais sofrem com a apreensão e o tráfico de animais silvestres.

Na questão 6, ao serem indagados quanto a sua atitude ao receber ou encontrar um animal silvestre, 12% dos alunos responderam que criariam, 38% afirmaram que acionaria o IBAMA, 45% afirmaram que soltariam o animal e, 5% venderiam ou consumiriam este animal (Figura 3).

Figura 3. Atitude tomada pelos estudantes ao receber/encontrar um animal silvestre.



Ao serem questionados sobre o que é preciso fazer para possuir um animal diferente dos tradicionais em casa, 78% dos alunos entrevistados não souberam responder, enquanto 22% afirmaram a necessidade de um cadastro junto ao IBAMA, a fim de legalizar a criação deste animal. Evidenciou-se um alto número de alunos que desconhecem as medidas legais para possuir um animal silvestre. Este fato reforça a importância da educação ambiental como ferramenta educadora e mitigadora, promovendo a conscientização e desenvolvimento de novos padrões de conduta para com o meio ambiente (ALKIMIN et al., 2019; MUNIZ; PAZMINO, 2019; ROSÁRIO, 2019).

Quando questionados acerca do tráfico de animais silvestres e suas consequências, o perfil de respostas dos alunos sobre o tema foi de que o tráfico de animais é um crime com fins lucrativos, passivo de multa e prisão, além de ser responsável por acarretar consequências negativas para os animais, tais como sofrimento e maus tratos. Além disso, a captura e retirada destes animais da natureza desencadeiam um desequilíbrio ambiental e, conseqüentemente, a extinção de espécies. De acordo com os alunos, o tráfico é uma atitude de pessoas que não têm consciência ambiental.

Segundo Costa et al. (2018), em um estudo de meta-análise, constatou-se uma diversidade de espécies animais que sofrem com o contrabando no Brasil, sendo que 82% dos animais contrabandeados são aves, e que, muitas destas, são destinadas à alimentação humana. É importante ressaltar que animais silvestres são

transmissores de diversos patógenos para os seres humanos, e por isso a criação ilegal destes animais em cativeiro, além de representar um problema para a conservação da espécie, representa também um problema para a saúde pública (MORAES; TIMM, 2019).

Segundo Costa et al. (2018), o tráfico internacional de animais silvestres no Brasil movimentava cerca de 10 bilhões de dólares por ano. Assim como no mundo todo, o tráfico de animais representa um sério risco à biodiversidade brasileira, visto a representativa participação do Brasil nesse cenário. Ainda segundo os autores, nota-se uma rota típica no tráfico nacional, onde as regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste abastecem esse mercado ilegal, e as regiões Sudeste e Sul são os principais consumidores desses animais traficados, além de desempenharem o importante papel no tráfico internacional, funcionando como porta de saída de espécies nativas para outros países ao redor do mundo.

Na questão 9 foi indagado aos alunos como podemos contribuir para a conservação da biodiversidade, 19% afirmaram não saber e 79% dos alunos demonstraram notório conhecimento ao responderem que as medidas cabíveis são: não poluir os rios, não desmatar as florestas, não traficar animais, não realizar queimadas, não caçar animais silvestres, realizar campanhas preventivas que conscientizem as pessoas quanto à preservação da natureza, bem como o respeito à fauna e flora, ainda plantar árvores, descartar o lixo corretamente e respeitar as leis ambientais.

Ao serem questionados se o presente tema já foi trabalhado em alguma disciplina e qual a sua importância, os alunos responderam que o assunto foi trabalhado nas aulas de Biologia e que se trata de um tema de grande relevância tendo em vista promover a preservação do meio ambiente. De acordo com Carvalho (2006), o processo educativo funciona como ferramenta promotora de transformações no atual quadro de degradação ambiental. Este processo pode ser construído a partir da aquisição de saberes e consciência, e assim segue subsidiando novos padrões de condutas relacionados à conservação da biodiversidade.

Na questão 11, os alunos foram indagados quanto a seu conhecimento sobre os queixadas, bem como as possíveis formas de conservação. Neste item, os alunos

não souberam identificar a espécie em questão, contudo, no retorno à escola, que marca o momento da palestra, 100% dos alunos afirmaram ter ouvido falar em porcos do mato, embora não soubessem citar quais espécies compunham esta família. Inclusive, relataram práticas de caças a estes animais por parte de seus antepassados. No item 12, quando questionados sobre as contribuições da biotecnologia na conservação das espécies, todos os alunos entrevistados alegaram não saber do que se tratava. Por fim, no item 13, os estudantes foram questionados quanto à importância da relação entre pesquisa e ensino, neste quesito, todos os alunos afirmaram tal importância, ressaltando ser esta uma forma de esclarecimento sobre técnicas que são utilizadas em laboratório.

Em relação aos relatos coletados durante a mesa de diálogos, destacamos alguns pertinentes e que demonstram como a pesquisa e o ensino devem estar presentes no ensino básico, fomentando a iniciação científica, a produção autônoma do conhecimento e o pensamento crítico e reflexivo dos alunos, especialmente para a construção de uma nova ética ambiental:

[...] As respostas que dei no questionário, se pudesse, eu mudaria, pois, depois da palestra e da mesa de diálogos, vi que respondi muita baboseira. Aprendi tanto nestas atividades que me fizeram ver a questão ambiental de outra forma. Também fiquei curiosa quando o professor apresentou o trabalho realizado para a conservação dos queixadas, que conhecia como porco do mato. Interessante saber como a biotecnologia tem ajudado na conservação dos animais [...]. (Aluna 28, 2019)

[...] Já tinha ouvido falar em porco do mato, mas não sabia que tinham várias espécies. Gostei de conhecer a pesquisa desenvolvida para conservação do Queixada. O nome científico eu esqueci. Isso! *Tayassu pecari*. Conhecendo como a pesquisa é feita, a questão da biotecnologia, dá até vontade de fazer Biologia para me tornar um pesquisador e descobrir outras coisas [...]. (Aluno 12, 2019)

[...] Essa questão ambiental é muito importante. A gente ouve falar sempre, seja na escola ou na TV. Porém, acho que a grande diferença nesse trabalho foi a pesquisa que foi apresentada sobre a conservação dos queixadas, pois foi mostrado algo real para a gente ver que estão usando biotecnologia para garantir que essa espécie silvestre não corra o risco de ser extinta. Aprendi que a pesquisa é muito importante. Uma pena que no

ensino médio não seja feita pesquisa, seria melhor para nossa formação. Depois da palestra, eu responderia diferente a pergunta do questionário sobre a pesquisa e o ensino estarem juntos [...]. (Aluna 37, 2019)

[...] Os problemas do meio ambiente só crescem a cada dia. E, muitas vezes, pensamos que nada é feito para mudar essa situação que pode colocar em risco a vida no planeta. Mas hoje vimos como a pesquisa para conservação dos animais, a biotecnologia e a educação ambiental podem sim mudar as coisas, só depende da mudança de mentalidade e de ação de cada um de nós [...]. (Aluno 08, 2019)

Os relatos fornecidos pelos alunos evidenciam o desconhecimento sobre os queixadas, bem como sobre as possíveis formas de conservação desta espécie vulnerável a extinção. Pesquisas como estas se fazem necessárias, sobretudo, tratando-se de alunos moradores da zona rural, os quais possuem contatos diários com os animais. Portanto, pôde-se notar a importância da inter-relação entre pesquisa e ensino, ao passo que os dados da presente pesquisa de doutorado extrapolaram os muros da Universidade, alcançando pessoas em fase de construção de identidade pessoal e profissional, sensibilizando-as para a conservação da fauna silvestre.

9.6 CONCLUSÃO

Verificou-se, antes das atividades de educação ambiental, que os estudantes detinham um conhecimento muito básico sobre as diferenças entre os animais domésticos, silvestres e selvagens, além de pouco conhecimento sobre legislação ambiental. Além disso, não conheciam os queixadas, tampouco as técnicas para conservação desta e de outras espécies. No entanto, estes mesmos alunos apresentaram um importante grau de preocupação com o bem-estar animal, proteção do meio ambiente e o cumprimento das leis ambientais. Estes preceitos são fundamentais para a aquisição de novos conhecimentos ambientais e uma postura ética frente aos desafios ambientais emergentes. Ademais, destacaram a importância da pesquisa no ensino médio, como forma de ampliar e produzir de maneira autônoma o conhecimento. Portanto, a educação ambiental no meio escolar, aliando pesquisa e ensino torna-se uma ferramenta eficaz para informar e

conscientizar sobre questões atuais relacionadas à conservação do meio ambiente, sendo um instrumento essencial na mitigação dos problemas ambientais.

9.7 REFERÊNCIAS

ALKIMIN, G. D.; MATOS, J. P.; QUEIROZ, T. V.; DORNFELD, C. B. A Educação Ambiental Escolar sob a perspectiva dos Professores do Ensino Médio (Ilha Solteira, SP). **Revista Brasileira do Ensino Médio**, v. 2, n. 1, p. 68-83, 2019.

ALMEIDA, S. S.; DIAS, W. S.; MARQUES, J. S. Gestão ambiental: desenvolvimento e práticas sustentáveis. **Revista Científica da Ajes**, v. 7, n. 14, p. 11-19, 2018.

BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Média e Tecnológica. **Parâmetros Curriculares Nacionais - Ensino Médio**. Brasília: MEC, 109p., 2000.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Brasília: IBAMA. **Portaria/IBAMA nº 93, de 07 de Julho de 1998**.

CARVALHO, N. L.; RIBAS, M. A.; CARVALHO, T. G. M. L.; BARCELLOS, A. L. Percepção ambiental de alunos do ensino fundamental no município de Tupanciretã/RS. **Revista Monografias Ambientais**, v. 19, n. 7, p. 1-20, 2020.

COATES, D. J.; BYRNE, M.; MORITZ, C. Genetic Diversity and Conservation Units: Dealing With the Species-Population Continuum in the Age of Genomics. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 165, p. 1-13, 2018.

COSTA, F. J. V.; RIBEIRO, R. E.; SOUZA, C. A.; NAVARRO, R. D. Espécies de Aves Traficadas no Brasil: Uma Meta-Análise com Ênfase nas Espécies Ameaçadas. **Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 7, n. 2, p. 324-346, 2018.

CRESWELL, J. W. **Projeto de pesquisa: métodos qualitativo, quantitativo e misto**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

DIAS, M. A. S.; LIMA, N. B.; ANDRADE, C. A. F. Análise do conhecimento etno-herpetológico dos estudantes no município de Salinas, Minas Gerais, Brasil. **ACTA Biomedica Brasiliensia**, v. 9, n. 1, 2018.

FIGUEIREDO, R. A. A.; BARROS, F. B. Sabedorias, cosmologias e estratégias de caçadores numa unidade de conservação da Amazônia. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 36, n. 1, p. 223-237. 2016.

IUCN. International Union for Conservation of Nature. **Guidelines for Applying Protected Area Management Categories**, 143p., 2013.

KEUROGHILIAN, A.; DESBIEZ, A.; REYNA-HURTADO, R.; ALTRICHTER, M.; BECK, H.; TABER, A.; FRAGOSO, J. M. V. 2013. *Tayassu pecari*. IUCN Red List of Threatened Species. **The IUCN Red List of Threatened Species**.

LEFEVRE, F.; LEFEVRE, A. M. C.; TEIXEIRA J. J. V. **O Discurso do Sujeito Coletivo. Uma nova abordagem metodológica em pesquisa qualitativa**. Caxias do Sul: Educs, 2000.

LEFF, E. **Saber Ambiental: sustentabilidade, racionalidade, complexidade, poder**. Petrópolis: Vozes, 2001.

LOPES, A. C. P. A.; FREITAS, M. A. Anomalias cromáticas em aves provenientes do tráfico de animais silvestres em Alagoas, Brasil. **Atualidades Ornitológicas**, v.198, p.42-46, 2017.

MADEIRA, P. A.; COELHO, M. A. P.; LAUREANO, R. C.; CHERIGATI, W. C. A importância da educação ambiental em unidades de conservação para promover a conscientização de turistas. **Revista Mythos**, v. 10, n. 2, p. 24-31, 2018.

MAYR, E. **O desenvolvimento do pensamento biológico: diversidade, evolução e herança**. Brasília: Ed. UnB, 1998.

MIRANDA, S. C.; ABREU, C. R.; DE-CARVALH, P. S. As mudanças climáticas no contexto da Educação Ambiental. In: PORTO, M. D.; SANTOS, M. L.; FERREIRA, J. R. (Org.). **Os desafios do Ensino de Ciências no século XXI e a formação de professores para a Educação Básica**. Curitiba: CRV, p. 123-138, 2016.

MORAES, T. P.; TIMM, C. D. Importância dos animais silvestres como potenciais carreadores de patógenos alimentares. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 13, n. 2, p.143-151, 2019.

MOSSI, F. A responsabilidade civil-ambiental sob o viés do Direito Econômico e o uso consciente dos recursos naturais. In: BÜRING, M. A. (Org.) **Responsabilidade civil-ambiental 2**. Caxias do Sul: Educs, p. 52-63, 2019.

MUNIZ, J. P. S.; PAZMINO, A. V. O design na educação ambiental: requisitos para kit interdisciplinar sobre a perda da biodiversidade no Brasil. **Mix Sustentável**, v. 5, n. 22, p. 55-70, 2019.

NOSS, R. F.; COOPERRIDER, A. Y. **Saving nature's legacy: protecting and restoring biodiversity**. Washington DC: Island Press, 2004.

PASSOS, V. T. R.; SILVA, H. A.; COSTA, M. M. Capacidade de dispersão e autopropagação de espécies arbóreas cultivadas no Parque Zoológico da Universidade Federal do Acre. **Scientia Naturalis**, v. 2, n. 2, p. 455-468, 2020.

PELIZZOLI, M. L. **Correntes da Ética Ambiental**. Petrópolis: Editora Vozes, 2002.

ROSÁRIO, C. S. Educação ambiental e atividades lúdicas para a identificação da importância das distintas formas de vida (fauna e flora). **Revbea**, v. 14, n. 3, p. 155-168, 2019.

SANTANA, A. C.; SANTANA, A. L.; OLIVEIRA, G. M. T. S.; SANTANA, A. L.; QUARESMA, J. L. A importância dos serviços ecossistêmicos para o desenvolvimento econômico e o bem-estar social na percepção da população: o caso da Floresta Nacional de Carajás. **Nativa**, v. 6, n. especial, p. 689-698, 2018.

SANTOS, G. R.; FONSECA, R. S.; GONÇALVES, C. B. Arborização urbana em Jequiá - MG: atributos funcionais e diversidade. **REVSBAU**, v. 14, n. 1, p. 01-13, 2019.

SOUSA, J. V. O.; FIGUEIRÊDO, L. S.; VIEIRA, F. J.; MACEDO, E. M.; ARAGÃO, J. A. A caça de animais na Comunidade Quilombola Custaneira, em Paquetá do Piauí: entre mitos e crenças. **MARUPIARA**, v. 5, n. 6, p. 17-38, 2020.

TOMAS, W. M.; MAGNUSSON, W. E.; MOURÃO, G.; BERGALLO, H. G.; LINARES, F. S. T. P.; CRAWSHAW JR, P. G.; CAMPOS, Z; CAMILO, A. R.; VERDADE, L. M.; TORTATO, F. R.; PERES, C. A. Meio Século da Proibição da Caça no Brasil: Consequências de uma Política Inadequada de Gestão de Vida Selvagem. **Biodiversidade Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 75-81, 2018.

VIEIRA, R. L. A.; BENTO, H. J.; SOUZA, H. R.; COSTA, C. M.; ANDREA, M. V. Avifauna do Campus da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz Das Almas - BA. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 1901-1910, 2019.

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos queixadas do presente estudo, o uso da associação acepromazina e cetamina promoveu melhor grau de tranquilização, qualidade e recuperação da anestesia, e melhores indicadores comportamentais de bem-estar durante o período anestésico e pós-anestésico em comparação ao protocolo xilazina e cetamina visando a coleta de sêmen em queixadas por eletroejaculação. O protocolo acepromazina e cetamina associado ao estímulo crescente (5 a 12V) proporcionou maior índice de sucesso na obtenção de ejaculados, quando comparado aos demais protocolos.

Observou-se que os parâmetros espermáticos de queixada estão dentro dos padrões desejáveis, pois permitiram considerá-los como potencialmente férteis, e com competência para o uso de técnicas de reprodução assistida. Os testes utilizados possibilitaram uma análise detalhada das características seminais da espécie, aspectos estes ainda inéditos na literatura. Observou-se ainda que em queixadas o volume testicular está diretamente relacionado com motilidade total e motilidade progressiva, portanto, queixadas com maiores dimensões de seus testículos possuem maior aptidão reprodutiva, podendo propiciar o desempenho reprodutivo de machos em cativeiro.

A educação ambiental mostrou-se uma ferramenta eficaz para sensibilização dos alunos do ensino básico para conservação dos queixadas.

Este estudo pode contribuir como base para o desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas, que possam auxiliar na conservação desta espécie classificada como vulnerável a extinção.

11 REFERÊNCIAS

- ABBOTT, B.; VAN KOOTEN, G. C. Can domestication of wildlife lead to conservation? The economics of tiger farming in China. **Ecological Economics**, v. 70, n. 4, p. 721-728, 2011.
- AGNARSSON, I.; MAY-COLLADO, L. J. The phylogeny of Cetartiodactyla: the importance of dense taxon sampling, missing data, and the remarkable promise of cytochrome b to provide reliable species-level phylogenies. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 48, n. 3, p. 964-985, 2008.
- ALBUQUERQUE, N. I.; OHASHI O. M.; GUIMARÃES, D. A.; PENDU, Y. L.; DIAS, H. **Alternativas de sistemas de produção de caititu (*Tayassu tajacu*) para pequena agricultura na Amazônia**. Manaus Embrapa Amazônia Oriental. Disponível em: <HTTP://ftp.mct.gov.br/prog/ppg7/pdf/livro107.pdf>.
- ALTMANN, J. Observational study of Behaviour: sampling methods. **Behaviour**, v. 49, p. 223-265, 1974.
- ALTRICHTER, M.; TABER, A.; BECK, H.; REYNA-HURTADO, R.; LIZARRAGA, L.; KEUROGHLIAN, A. ERIC W. SANDERSON, E.W. Might the white-lipped peccary become ecologically extinct?: A report of range-wide declines for a critical Neotropical ecosystem architect. **Oryx**, v. 46, p. 87-98, 2012.
- ALVES, K. S.; CARVALHO, F. F. R.; VÉRAS, A. S. C. et al. Níveis de energia em dietas para ovinos Santa Inês: desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p.1937-1944, 2003.
- AMANN, R. P.; GRAHAM, J. K. Spermatozoal function. In: McKinnon A. O.; VOSS, J. L. **Equine reproduction**. 1.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap. 80, p. 715-745.
- ANDRABI, S. M. H.; MAXWELL, W. M. C. A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species. **Animal Reproduction Science**, v. 99, n. 3-4, p. 223-243, 2007.
- ANDRIOLO, A. Desafios para a conservação da fauna. In: CUBAS, Z.S., SILVA J.C.R.; CATÃO-DIAS J.L. (Eds.) **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca. 2007, p. 19-25.
- ASHDOWN, R. R.; HANCOCK, J. L. (1988) Anatomia funcional da reprodução masculina. **Reprodução Animal**. 4. ed. São Paulo, Manole, cap. 2, 7-31.
- AURELI, F., CORDS, M.; VAN SCHAIK, C. P. Conflict resolution following aggression in gregarious animals: a predictive framework. **Animal Behavior**, v. 64, 325-343, 2002.
- AZEVEDO, F. C. C.; CONFORTI, V. C. Decline of peccaries in a protected subtropical forest of Brazil: toward conservation issues. **Mammalia**, v. 72, n. 2, p. 82-88, 2008.

- BAILEY, T. L.; MONKE, D.; HUDSON, R. S. et al. Testicular shape and its relationship to sperm production in mature Holstein bulls. **Theriogenology**, v. 46, p. 681-887, 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 mathematical formula for determining testicular volume and weight *in vivo*. **Theriogenology**, v. 49, p. 581-594, 1998.
- BAILEY, T. L.; BILODEAU, J. F.; CORMIER, N. Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. **Journal of Andrology**, v. 24, n. 1, p.1-7, 2000.
- BALL, L. Electroejaculation. In: Klemm WR (Ed). **Applied electronics for veterinary medicine and animal physiology**. Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1986. p. 395-441.
- BANHOS, A. Genética, **Distribuição e Conservação do gavião-real (*Harpia harpyja*) no Brasil**. Manaus, 2009. 47p. Tese (Doutorado em Genética) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas.
- BATISTA, J. S.; BEZERRA, F. S. B.; LIRA, R. A.; ORPINELLI, S. R. T.; DIAS, C. E. V.; OLIVEIRA A. F. Síndrome do estresse em catetos (*Tayassu tajacu*) submetidos à captura e contenção em diferentes horários da manhã em Mossoró, RN. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 170-176, 2008.
- BERNDTSON, W. E.; IGBOELI, G. Spermatogenesis, sperm output and seminal quality of holstein bulls electroejaculated after administration of oxytocin. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 82, p. 467-475, 1998.
- BISSONETTE, J. A. **Ecology and Social Behavior of the Collared Peccary in Big Bend National Park**. Washington, DC: US Dept of the Interior, 1982.
- BODMER, R. E. Ungulate biomass in relation to feeding strategy within Amazonian forests. **Ecologia**, v. 81, p. 547-550, 1989.
- BODMER, R. E.; PUERTAS, P.; AQUINO, R.; REYES, C.; FANG, T.; GOTTDENKER, N. Manejo y uso sustentable de pecaríes em La Amazonia Peruana. **Occasional Paper of the IUCN. Species Survival Commission**, n. 18, 1997.
- BOZKURT, T.; TURK, G.; GUR, S. Effects of exogenous oxytocin on serologic and seminal steroids and semen characteristics in rams. Turk. J. **Veterinary and Animal Science**, v. 31, p. 303-309, 2007.
- CALLE, P. P.; MORRIS, P. J. Anesthesia for non-domestic suidae. In: FOWLER, M. E.; MILLER, R. E. **Zoo and wildanimal medicine**. 4. ed. Philadelphia: Saunders, p. 639-649, 1999.

CBRA (Colégio Brasileiro de Reprodução Animal). **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed. Belo Horizonte, 2013. 89 p.

CHARDONNET, P.; CLERS, B.; FISCHER, J. et al. The value of wildlife. **International Office of Epizootics**, v. 21, p.15-51, 2002.

CHENGE, F. P.; WU J. T.; CHAN J. S.; FUNG, H. P.; COLENBRANDER, B.; TUNG, K. C. The effect of different extenders on post-thaw sperm survival, acrosomal integrity and longevity in cryopreserved semen of Formosan Sika deer and Formosan Sambar deer. **Theriogenology**, v. 61, p. 1605-1616, 2004.

CONRADT, L.; ROPER, T. J. Consensus decision making in animals. **Trends in Ecology & Coevolution**, v. 20, n. 8, p. 449-456, 2005.

COOPER, J. E. Wildlife species for sustainable food production. **Biodiversity and Conservation**, v. 4, p. 215-219, 1995.

COSTA, D. S.; PAULA, T. A. R. Coleta e avaliação do sêmen de cateto (*Tayassu tajacu*). **Biota Neotropica**, v. 5, n. 2, p. 131-36, 2005.

COTORPASSI, S. R. G.; FANTONI, D. T. **Anestesia em cães e gatos**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2009. Cap.13 p. 222-223.

CULLEN JR, L. **Hunting and biodiversity in Atlantic forest fragments, São Paulo, Brazil**. M.S. thesis, University of Florida, Gainesville, Flórida, 134 p, 1997.

DE VRIES, H. Finding a dominance order most consistent with a linear hierarchy: a new procedure and review. **Animal Behaviour**, v. 55, p. 827-843, 1998.

DERIVAUX, J. **Reprodução dos animais domésticos**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1980, 446 p.

DESBIEZ, A. L. J. Avaliação do risco de extinção do cateto *Pecari tajacu* Linnaeus, 1778, no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**. Ano II, n. 3, p. 74-83, 2012.

DESBIEZ, A. L. J.; KEUROGHLIAN, A. Can bite force be used as a basis for niche separation between native peccaries and introduced feral pigs in the Brazilian Pantanal? **Mammalia**, v. 73, p. 369-372, 2009.

DEUTSCH, L. A.; PUGLIA, L. R. R. **Os animais silvestres: proteção, doenças e manejo**. Rio de Janeiro: Editora Globo, p.191,1988.

DEUTSCH, L. A.; PUGLIA, L. R. **Os animais silvestres: proteção, doenças e manejo**. 2. ed. São Paulo: Globo, p.191, 1990.

DREWS, C. The concept and definition of dominance in animal behaviour. **Behaviour**, v. 125, n. 3, p. 283-313, 1993.

DUBOST, G. Comparison of the social behavior of captive sympatric peccary species (genus *Tayassu*); correlations with their ecological characteristics. **Mammalian Biology**, v. 66, n. 2, p. 65-83, 2001.

EBSTEIN, R. P.; KNAFO, A.; MANKUTA, D.; CHEW, S. H.; LAI, P. S. The contributions of oxytocin and vasopressin pathway genes to human behavior. **Hormones e Behavior**, v. 61, n. 3, p. 359-379, 2012.

EDDY, E. M.; O' BRIEN, D. A. **The spermatozoon**. In: KNOBIL, E.; NEIL, J. D. The physiology of reproduction. Cap. 2, p. 29-77. New York: Raven Press. 1994.

EURIDES, D.; RAISER, A.G.; FIALHO, S.A.G. Efeitos do maleato de acepromazina, em doses elevadas, na tranquilização de cães. **Ciência Rural**, v. 1, n. 2-3, p.105-110, 1987.

FAHRIG, B. M.; MITCHELL, M. A. EILTS, B. E.; PACCAMONTI, D. L. Characterization and cooled storage of semen from corn snakes (*Elaphe guttata*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 38, p. 7-12, 2007.

FAHRING, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v. 34, p. 487-515, 2003.

FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em Cães e Gatos**. São Paulo: Roca, 2002. 389 p.

FILIPPI, S.; VANNELLI, G. B.; GRANCHI, S.; LUCONI, M.; CRESCIOLI, C., MANCINA, R.; NATALI, A.; BROCCHI, S.; VIGNOZZI, L.; BENCINI, E.; NOCI, I.; LEDDA, F.; FORTI, G.; MAGGI, M. Identification localization and functional activity of oxytocin receptors in epididymis. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 19, p. 89-100, 2002.

FONSECA, V. O.; VALE FILHO, N. R.; MIES FILHO, A. ABREU, J. J. Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. Belo Horizonte: Colégio **Brasileiro de Reprodução Animal**, p. 79, 1992.

FONSECA, J. F.; TORRES, C. A. A.; SANTOS, A.D.F.; ROVAY, H. Hypoosmotic swelling test in goat spermatozoa. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, p. 436-438, 2001.

FORNI, S.; ALBUQUERQUE, L. G. Avaliação das características biométricas de testículos de bovinos Nelore. Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 5. **Anais**, Pirassununga, SP. 2004.

FRAGOSO, J. M. V. Home range and movement patterns of white lipped peccary (*Tayassu pecari*) herds in the Northern Brazilian Amazon. **Biotropica**, v. 30, p. 458-469, 1998.

FRANÇA, L. R.; RUSSEL, L. D. The testis of domestic animals. **In: Male Reproduction. A Multidisciplinary Overview**. Lstedn (editores Martinez F, Regadera J), 1998. p. 197-219, Madrid: Churchill Livingstone.

FRANCO, M. F.; LOURENÇO, M. L. G.; BECHARA, J. N.; BALIEIRO, J. C. C.; HENTZ, A.; LOPES, P. R. Efeitos da acepromazina no eletrocardiograma em cães clinicamente saudáveis. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 9, n. 1, p. 295-297, 2002.

FRANCO, S. C.; FONSECA, V. O.; GASTLE, L. Potencial reprodutivo de touros nelore acasalados coletivamente na proporção de um touro para 100 vacas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1156-1161, 2006.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Conservation Genetics**. Cambridge University Press: Cambridge UK. 2002. p. 617.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Editora SBG, Ribeirão Preto, SP, 2008.

GARCIA, A. R. D.; PORTELLA A. S.; JUÁREZ, K. M. Enriquecimento ambiental com chimpanzés (*Pan troglodytes*) no Zoológico de Brasília". In **Universitárias-Biociências**, v. 2, p. 15-22, 2001.

GARCIA, G. The Collard peccary/ Javelina/ Sajino/ Poco do Monte/ Wild Hog/ Pakira/ Patira/ Taitetu/ Catete/ CAtto/ Quenk (*Tayassu tajacu*, *Pecari tajacu*) Booklet and Producers Manual. **Caribbean Journal of Science**, Trinidad and Tobago, v. 44, p. 272-272, 2005.

GARNER, D. L. Assessment of spermatozoa function using dual fluorescent staining and flow cytometric analyses. **Biology of reproduction**, New York, v. 34, n. 1, p. 127-138, 1986.

GARNER, D. L.; HAFEZ, E. S. E. Espermatozoides e plasma seminal. In: HAFEZ, E. S.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7° ed. Barueri: Manole 2004, cap. 7, p. 97-110.

GEISER, D. R. Chemical restraint and analgesia in the horse. **Veterinary clinics of North American: Equine Practice**, v. 6, n. 3, p. 495-512, 1990.

GIER, H. T.; MARIONS, G. B. Development of mammalian testis. In: Johnson AD, Gomes W R, Van Der Mark NL (Editors). *The Testis*. Londres: **Academic Press**, 1990. 2-45 p.

GIULIANO, S.; DIRECTOR, A.; GAMBAROTTA, M.; TRASORRAS V, MIRAGAYA M. Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Llama glama*). **Animal Reproduction Science**, v. 104, p. 354-358, 2008.

GLANZ, W. E. Neotropical mammal densities: How unusual is the community on Barro Colorado Island, Panama? In: **Alwyn H. Gentry, ed. Four neotropical rainforests**. Yale University Press, New Haven, p. 287-313, 1990.

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

GOTTDENKER, N.; BODMER, R.E. Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. **Journal of Zoology**, Lond. 245, p. 423-430, 1998.

GUIMARÃES, D. A. D. L.; CARDOSO, M. A. P.; FERREIRA, N. I. Puberty in male collared peccary (*Pecari tajacu*) determined by quantitative analysis of spermatogenic cells. **Acta Amazon**, v. 43, p. 99-104, 2013.

GUIMARÃES, J. D.; **Maximização do uso de touros a campo**. I Simpósio de produção de Gado de Corte-Viçosa-MG, v. 1, p. 279-291, 1999.

GUNZEL-APEL AR, GUNTHER C, TERHAER P, BADER H. Computer-assisted analysis of motility, velocity and linearity of dog spermatozoa. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 47, p. 271-278, 1993.

HELÇGREN, E. C.; LOCHMILLER, R. L.; AMOSS, M. S. J. R.; SEAGER, S. W.; 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*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 85, n.1, p. 677-686, 1989.

HEMPELMANN, G.; KUHN, D. F. M. The clinical significance of S-(+)-Ketamine. **Aneesthesist**, v. 46, n. S3-S7, 1997.

HORI, T.; ICHIKAWA, M.; KAWAKAMI, E.; TSUTSUI T. Artificial insemination of frozen epididymal sperm in beagle dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 66, p. 37-41, 2004.

HORN, M. M.; MORAES, J. C. F.; EDEL WEISS, M. I. A.; Quantificação dos estádios do ciclo espermatogênico em touros de raças sintéticas com e sem qualidade de sêmen. **Ciência Rural**, v. 33, n. 6, p.1111-1115, 2003.

HOWARD, J.; DONOGHUE, A. M.; BARONE, M. A.; GOODROWE, K. L.; BLUMER, E. S.; SNODGRASS, K.; STARNES, D.; TUCKER, M.; BUSH, M.; WILDT, D. E., Successful Induction of Ovarian Activity and Laparoscopic Intrauterine Artificial Insemination in the Cheetah (*Acynonyx jubatus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 23, n. 3, p. 288-300,1992.

HUBBELL, J. A. E. Horses. In: TRANQUILLI, W.J.; THURMON, J. C.; GRIM, K. A. LUMB & JONES Veterinary Anesthesia and Analgesia, Iowa: **Blackwell Publishing**, v. 4, p. 717-729, 2007.

IBAMA (Instituto Brasileiro de Recursos Naturais Renováveis e do Meio Ambiente). **Lista oficial de animais ameaçados de extinção**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/>>. Acesso em: 23 de Junho de 2020.

IBAMA (Instituto Brasileiro de Recursos Naturais Renováveis e do Meio Ambiente). PORTARIA N.º 117 DE 15 DE OUTUBRO DE 1997. Disponível em: <<http://www.ibamapr.hpg.ig.com.br/Prt117-97.htm>>. Acesso em: 12 de Junho de 2020.

IGUER-OUADA, M.; VERSTEGEN, J. Validation of sperm quality analyser (SQA) for dog semen analysis. **Theriogenology**, v. 55, p. 1143-58, 2001.

IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. **Species Range: *Tayassu pecari***, 2015.

IVANOVA-KICHEVA, M. G.; BOBADOV, N. D.; SOMLEV, B. Cryopreservation of canine semen in pellets and in 5-mL aluminum tubes using three extenders. **Theriogenology**, v. 48, p. 1343-1349, 1997.

JANSON, C.H.; EMMONS, L. H. Ecological structure of the nonflying mammal community at Cocha Cashu Biological Station, Manu National Park, Peru. **Alwyn H. Gentry**, ed. Four neotropical rainforests. Yale University Press, New Haven, p. 314-338, 1990.

JAYAPRAKASH, D.; PATIL, S. B.; KUMAR, M. N.; MAJUMDAR, K. C.; SHIVAJI, S. Semen characteristics of the captive Indian Leopard, *Panthera pardus*. **Journal of Andrology**, v. 22, p. 25-33, 2001.

JOHNSON, L. A.; WELCH, G. R.; Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the-art. **Animal Reproduction**, v. 60, p. 93-107, 2000.

JOHNSTON E.; KAMILARIS, T.; CHROUSOS, G.; GOLD, P. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 16, p. 115-130, 1992.

JORI, F.; MENSAH, G. A.; ADJANOHOON, E. Grasscutter production-an example of rational exploitation of wildlife. **Biodiversity and Conservation**, v. 4, p. 257-265, 1995.

KAWAGWA, P. R.; GARCIA, A. R.; BARTHA, M. P. P.; GUIMARAES, D. A. A.; LUZRAMOS, R. S.; OHASHI, O. M. Eletroejaculação e Características Seminais em Caititus (*Tayassu tajacu*) - Resultados parciais IN: REUNIÃO REGIONAL FESBE, III, 2008, Fortaleza, **resumo 31.006**: 2008.

KAHWAGE, P. R. Development of protocol for sedation and analgesia in peccaries (*Tayassu tajacu*) to collect semen by electroejaculation. **Anais... 35º Congresso Nacional de Medicina Veterinária. Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul**. Gramado-RS. Online. 2008

KAHWAGE, P. R.; GARCIA, A. R.; GUIMARÃES, D. A. A.; OHASHI, O. M.; LUZRAMOS, R. S.; DIAS, H. L. T.; ALBUQUERQUE, N. I.; BARTHA, M. M. P.; Biometria testicular, eletroejaculação e características seminais de caititus *Tayassu tajacu* Linnaeus 1758 (Mammalia, Arctiodactyla, Tayassuidae) mantidos em cativeiro na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, v. 40, p. 771-778, 2010.

KASTELIC, J. P.; COOK, R. B.; COULTER, G. H. Scrotal/testicular thermoregulation and the effect of increased testicular temperature in the buul. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.13, n. 3, p. 271-282, 1997.

KEUROGHLIAN, A.; ANDRADE, S. M. C.; EATON, D. P. The effects of deforestation on white-lipped peccary (*Tayassu pecari*) home range in the outhern Pantanal. **Mammalia**, v. 79, n. 4, p. 491-497, 2015.

KEUROGHLIAN A, DESBIEZ A, REYNA-HURTADO R. *Tayassu pecari*. **IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2013.1 ed: IUCN.

KENAGY, G. D.; TROMBULAK, S. C. (1986) Size and function of mammalian testis in relation to body size. **Journal of Mammalogy**, v. 67, 1-22.

KEUROGHLIAN, A. Avaliação do risco de extinção do queixada *Tayassu pecari* Link, 1795, no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, Ano II, n. 3, p. 84-102, 2012.

KEUROGHLIAN, A.; EATON, D. P. Fruit availability in an peccary frugivory in an isolated Atlantic Forest fragment: effects on peccary ranging behavior and habitat use. **Biotropia**, v. 40, p. 62-70, 2008.

KEUROGHLIAN, A.; EATON, D. P. Removal of palm fruits and ecosystem engineering in palm stands by white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*) and other frugivores in an isolated Atlantic Forest fragment. **Biodiversity and Conservation**, v.18, n. 7, p. 1733-1750, 2009.

KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 677p.

KILTIE, R. A. Stomach contents of rain forest peccaries (*Tayassu tajacu* and *T. pecari*). **Biotropica**, v. 13, p. 234-236, 1981.

KILTIE, R. A.; TERBORGH, J. Observation on the behavior of rainforest peccaries in Peru: why do white-lipped peccaries form herds? **Zeitschrift für Tierpsychologie**, v. 62, p. 241- 255, 1983.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of veterinary science**, v. 13, n. 1, p. 1-12, 2008.

KLIDE A. M.; CALDERWOOD H. W.; SOMA L. R. Cardiopulmonary effects of xylazine in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 36, n. 8, p. 931-935, 1975.

LEAKEY, R.; LEWIN R. The Sixth Extinction: Patterns of Life and the Future of Humankind. **Doubleday and Company**, 1996.

LE PENDU, Y. GUIMARÃES, D. A., LINHARES, A. Estado da arte sobre a criação comercial da fauna silvestre brasileira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p. 52-59, 2011.

LEE, H. J.; MACBETH, A. H.; PAGANI, J. H.; YOUNG, W. S., 3RD. Oxitocin: the great facilitator of life. **Progress in Neurobiology**, v. 88, n. 2, p. 127-151, 2009.

LEIGH JR, E. G. WRIGHT, S. J. Barro Colorado Island and tropical biology. In: in Alwyn H. Gentry, ed. Four neotropical rainforests. Yale University Press, **New Haven**, p. 28-47, 1990.

LIN, H. C. **Dissociative anesthetics**. In: Tranquilli, W. J.; Thurmon, J. C.; Grimm, K. A. *Veterinary Anesthesia*, 2007, Iowa: Blackwell, Cap. 12, p. 301-354.

MARTIN, I. C. A. The principles and practice of electroejaculation of mammals. **Symposium of Zoological Society of London**, n. 43, p. 127-52, 1978.

MARTÍNEZ-GARCIA, F.; REGADERA, J.; **Male Reproduction: a multidisciplinary overview**. Churchill Communications, Espanha, 1998.

MASSONE, F. A Ética e a Moral em Anestesiologia Veterinária. **Continuous Education Journal**, CRMV-SP, v. 5, p. 124-133, 2002.

MASSONE, F. **Anestesiologia Veterinária - Farmacologia e Técnicas**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 572p.

MAYOR, P. D. A. A.; GUIMARÃES, Y.; LE PENDU, J.; SILVA, F.; LOPEZ-BEJAR, M. Reproductive performance of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the eastern Amazon. **Animal Reproduction Science**. v. 102, n. 88-97, 2007.

MATTSON, K. J.; VRIES, A. D.; MCGUIRE, S. M.; KREBS, J.; LOUIS, E. E.; LOSKUTOFF, N. M. Success ful artificial insemination in the corn snake (*Elaphe gutatta*), using fresh and cooled semen. **Zoo Biology**, v. 26, p. 363-369, 2007.

McKELVEY, D.; HOLLINGSHEAD, W. K. **Small Animal Anesthesia and Analgesia**. 2. ed. Estados Unidos - Ohio: Elsevier, p. 252-300, 1998.

MELTZER, D. G. A.; VAN, V. M.; BORNEAN, M. S. The suppression of electroejaculation in the chacma baboon (*Papio ursinus*) by azaperone. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 59, p. 53, 1988.

MOLLINEAU, W. M.; ADOGWA AO, GARCIA GWA. preliminary technique for electro-ejaculation of agouti (*Dasyprocta leporina*). **Animal Reproduction Science**, v. 108, p. 92-97, 2008.

MORAES, E. A.; GRAHAM, J. K.; TORRES, C. A. A. Delivering cholesterol or cholestanol to bull sperm membranes improves cryosurvival. **Animal Reproduction Science**, v.118, p.148-154, 2010.

MORATO, R. D.; GUIMARÃES, M. A. B. V.; NUNES, A. L. V.; CARCIOFI, A. C.; FERREIRA, F.; BARNABE, V. H.; BARNABE, R. C.; Colheita e avaliação de sêmen em onça pintada (*Panthera onca*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v, 35, n. 4, p. 178-181, 1998.

MOREIRA, N.; ERDMANN, R. H.; DELGADO, L. E. S.; PACHALY, J. R.; CIFFOMI, E. M.; HATAMOTO, L. K. Coleta de sêmen e avaliação andrológica de queixada (*Tayassu pecari*). **Anais... IX CONGRESSO E XIV ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO**

BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SILVESTRES (ABRAVAS). Centro Universitário Rio Preto (UNIRP). São José do Rio Preto-SP, 26 a 30 de julho, 2005, p. 67.

MORTIMER, S. T.; SCEVAERT, D.; SWAN, M. A., MORTIMER, D. Quantitative observations of flagellar motility of capacitating human spermatozoa. **Human Reproduction**, v. 12, p. 1006-1012, 1997.

MUIR III, W. W. et al. **Manual de anestesiologia veterinária**. 3. Ed. Porto Alegre: Arimed, 2001. 432 p.

MUIR III, W. W. Fisiopatologia da dor. In: GAYNOR, J.S; MUIR III, W.W. **Manual de controle da dor em medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Med. Vet, cap. 2, p. 13-41, 2009.

MUIR, W. W.; HUBBELL, J. A. E. **Handbook of veterinary anesthesia**. 2. ed. Missouri: Mosby, 1995. 15-35 p.

MUIR, W.W.; MASON, D.E. Effects os diazepam, acepromazine, detomidine and xylazine on thiamilal anesthesia in horses. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 203, n.7, p. 1031-1038, 1993.

NISSEN, H. P.; KREYSEL, H. W. Polyunsaturated fatty acids in relation to sperm motility. **Andrology**, v.15, p. 264-269, 1983.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; A. LAVORENTI. **O manejo do caititu (*Tayassu tajacu*) e do queixada (*T. pecari*) em cativeiro**. In: Pádua, C. V., R. E. Bodmer, L. Cullen-Junior (eds.). Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil. CNPq/Sociedade Civil Mamirauá, Brasília, Belém, Brazil. p. 106-115. 1997.

NOGUEIRA, S. S. C. The defensive behavioral patterns of captive white lipped and collared peccary (Mammalia, Tayassuidae): an approach for conservation of the species. **Acta Ethologica**, p. 1-10, 2017.

NOGUEIRA, S. S. C.; ABREU, S.; SILVA, H.P.A.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G. The effects of feeding unpredictability and classical conditioning on pre-release training of white-lipped peccary (Mammalia, Tayassuidae). **Plos One**, v. 9, 2014.

NOGUEIRA, S. S. C; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G. Wildlife farming: an alternative to unsustainable hunting and deforestation in Neotropical forests?. **Biodiversity and Conservation**, v. 20, n. 7, p. 1385-1397, 2011.

NOGUEIRA, S.; S. C. The Role of Grunt Calls in the Social Dominance Hierarchy of the White-Lipped Peccary (Mammalia, Tayassuidae). **PloS one**, v. 11, n. 7, 2016.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; BORGES, R. M.; MENDES, A.;DIAS, C. T. S. Nitrogen requirements of white-lipped peccary (Mammalia, Tayassuidae). **Zoo Biology**, v. 33, p. 320-326, 2014.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; CUNHA-NOGUEIRA, S. S.; TAKECHI, S. A. Estrutura social dos pecaris (Mammalia, Tayassuidae) em cativeiro. **Revista de etologia**, v. 1, n. 89-98, 1999.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; **Manual de Criação de Cateto e Queixada**. 1. ed. Viçosa - MG: Centro de Produções Técnicas, 1999. v. 1, p. 50.

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

OETTLÉ, E. E. Sperm morphology and fertility in the dog. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 47, p.257-60, 1993.

OJASTI, J. Human exploitation of capybara. In: Robinson, J. G. Redford, K. H. (Orgs.) **Neotropical wildlife use and conservation**. University of Chicago Press, Chicago, p. 252-336, 1991.

OLIVER, W. R. L. Introduction. In: OLIVER, W. L. R. (org) **Pigs, peccaries and hippos**. Gland, Switzerland: IUNC, 1993. p.3-10.

PADDLEFORD, R. R. **Manual de Anestesia em Pequenos Animais**. 2ed. São Paulo: Roca, 2001.

PAINTER, L. R. E. Gardeners of the forest: Plant-animal interactions in a Neotropical forest ungulate community. **Dissertation** (Ph. D.). University of Liverpool, Liverpool, UK.1998.

PAVAN, C.; BARROS, M. B. **A experiência Brasileira em Biotecnologia. Biotecnologia e Desenvolvimento Nacional**. São Paulo: Secretaria da indústria, comércio e tecnologia. 1986. 328p.

PEÑA-MARTINEZ, I. Canine fresh and cryopreserved semen evaluation. **Animal Reproduction Science**, v. 82- 83, p. 209-224, 2004.

PEREIRA-NETO, J. **Estudo Comparado do Repertório Acústico de Pecaris: cateto (*Pecari tajacu*) e queixada (*Tayassu pecari*)**. Dissertação apresentada ao PPGZOO da Universidade Estadual de Santa Cruz, 2015.

PERES, C. A. Why we need mega-reserves in Amazonian forests. **Conservation Biology**, v. 19, p. 728-733, 2005.

PLATZ, S. W.; SEAGER, C. C. Collection and evaluation of canine semen. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 7, n. 4, p.765-773, 1977.

POPE, C. E.; Zhang, Y. Z.; Dresser, B. L. A simple attaining method for evaluating acrosomal status of cat spermatozoa. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 22, n. 1, p. 87-95, 1991.

POULOS, A.; DARIN-BENNETT, A.; WHITE, I. G. The phospholipid-bound fatty acids and aldehydes of mammalian spermatozoa. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 46, p. 541-549, 1973.

PREUSCHOFT, S.; SCHAIK, C. P. Dominance, social relationships and conflict management. In: Aureli F, De Waal FB, eds. **Natural Conflict Resolution**. Berkley: California University Press. 2000. 77-105 p.

PUKKAZHENTHI, B.; WILDT, D. E. Which reproduction technologies are most relevant to studying, managing and conserving wildlife. **Reproduction Fertility and Development**, v.16, p.33-46, 2004.

PURDY, P. H. A review on goat sperm cryopreservation. **Small Rumin Res**, v. 63, p. 215-225, 2006.

QUEIROZ, V. S. **Estudo do efeito das condições de manipulação do sêmen de jaguatiricas (*Leopardus pardalis* Linnaeus, 1758) sobre a capacitação e a integridade morfológica e funcional dos espermatozoides**. 2003. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

REGE, J.E.O.; TOE, F.; MUKASA-MUGERWA, E.; TEMBELY, D.; ANINDO, R.L.; BAKER, A. Reproductive characteristics of Ethiopian highland sheep. II. Genetic parameters of semen characteristics and their relationships with testicular measurements in ram lambs. **Small Ruminant Research**, v. 37, p.173-187, 2000.

REVELL, S. G.; MRODE, R. A. An osmotic resistance test for bovine semen. **Animal Reproduction Science**, v. 36, p. 77-86, 1994.

RIEBOLD, T. W. Ruminants. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIM, K. A. **LUMB & JONES Veterinary Anesthesia and Analgesia**. 4. ed. Iowa: Blackwell Publishing, p. 731-746, 2007.

ROE, D. Trading Nature. A report, with case studies, on the contribution of wildlife trade management to sustainable livelihoods and the Millennium Development Goals. **TRAFFIC International and WWF International**, Cambridge, UK and Gland, Switzerland, 2008.

ROSS, R. A, MARZEC, G. Reproductive husbandry of pythons and boas. **Stanford: Institute for Herpetological Research**, 1990.

SANTOS, A. **Características reprodutivas e congelabilidade do sêmen de reprodutores das raças Alpina e Saanen submetidos ao manejo de fotoperíodo**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 73p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.

SANTOS, D.; MENDES, A.; NOGUEIRA, S. S. C.; NOGUEIRA FILHO S. L. Criação comercial de caititu (*Pecari tajacu*): uma alternativa para o agronegócio. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 1. p. 1-10, 2009.

SANTOS, P. S. P. Anestesia intravenosa (ATI) para herniorrafias umbilicais em bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 17, p. 54-61, 2010.

SCHRADIN, C.; PILLAY, N. Intraspecific variation in the spatial and social organization of the African striped mouse. **Journal of Mammalogy**, v. 86, n. 1, p. 99-107, 2005.

SEAGER, S. W. J. Artificial insemination in dogs. In: Burke, T.J. (Ed). **Small Animal Reproduction and Infertility: A Clinical Approach to Diagnosis and Treatment**. Philadelphia: Lea & Febiger, cap. 2. p. 207-217, 1986.

SEAGER, S. W. J.; FLETCHER, W. S. Collection, storage and insemination of canine semen. **Laboratory Animal Science**, v. 22, p. 177-182, 1972.

SETCHELL, B. P. Male reproductive organs and semen In: Reproduction of domestic animals. **Academic Press**, CPT (Ed), New York, 221-249, 1991.

SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M.; CORDEIRO, C. M. T.; et al., Relação da circunferência escrotal e parâmetros de qualidade do sêmen em touros da raça Nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1157-1165, 2002.

SILVA, A. R.; CARDOSO, R. C. S.; UCHOA, D. C.; SILVA, L. D. M. Quality of canine semen submitted to single or fractionated glycerol addition during the freezing process. **Theriogenology**, v. 59, p. 821-829, 2003.

SILVA, A. R.; MORATO, R. G.; SILVA, L. D. M. The potential of gamete recovery from non-domestic canids and felids. **Animal Reproduction Science**, v. 81, p. 159-175, 2004.

SILVA, O. C. **Analgesia peridural em bovinos através do emprego da associação de morfina e lidocaína**. 1997. 65f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SILVA, R. W. **Avaliação da variabilidade genética em Tayassutajacu (cateto) e Tayassu pecari (queixada) por meio da utilização de marcadores microssatélites**. 2006. Disponível em: <<http://genetica.bio.ufpr.br/posgraduacao/teses/roxane.pdf>>. Acesso em: 10 junho 2020.

SILVEIRA, L. F.; OLMOS, F. Quantas espécies de aves existem no Brasil? Conceitos de espécie, conservação e o que falta descobrir. Ararajuba, **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 15, p. 289-96, 2007.

SMITH, L. J.; YU, J. K.; BJORLING, D. E. Effects of hydromorphone or oxymorphone, with or without acepromazina, on preanesthetic sedation, physiologic values and histamine release in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, p. 1101-1105, 2001.

SONNER, J. B.; MIGLINO, M. A.; SANTOS, T. C.; CARVALHAL, R.; NETO, A. C. A.; MOURA, C. E. B.; OLIVEIRA, M. F. Aspectos macroscópicos e morfométricos dos testículos em catetos e queixadas. **Biota Neotropica**, v. 4, n. 2, p. 1-12, 2004.

SOUSA, J.P.F.; BARBAS, J.P.; FERREIRA, G.M.B.C. et al. Variação anual das características seminais em bodes da raça Serrana. In: CONGRESSO DE ZOOTECNIA "PROGRESSOS ZOOTÉCNICOS NOS PAÍSES DE LÍNGUA PORTUGUESA", 10., 2000, Vale de Santarém. **Anais...** Vale de Santarém: 2000. p.87.

SOUZA, A. L. P.; PAULA, V. V.; CAVALCANTE, P. H., OLIVEIRA, M. F. Efeito da pré-medicação com acepromazina ou xilazina na indução da anestesia dissociativa com cetamina e diazepam em catetos (*Tayassu tajacu*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1114-1120, 2008.

SOWLS, L. K. **Javelinas and Other Peccaries: their Biology, Management, and Use**. 2. ed. Texas, USA: Texas A&M University Press, 418 p, 1997.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 752 p.

SPINOSA, H. S.; GORNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. Tranquilizantes e Relaxantes Musculares de Ação Central. In: **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. Cap.14, p.131-139.

SWANSON, W. Application of assisted reproduction for population management in felids: the potential and reality for conservation of small cats. **Theriogenology**, v.66, p.49-58, 2006.

THACKARE, H.; NICHOLSON, H. D.; WHITTINGTON, K. Oxitocin its role in male reproduction and new potential therapeutic uses. **Human Reproduction Update**, v. 12, n. 4, p 437-448, 2006.

UNANIAN, M. M.; FELICIANO, S. A. E. D.; McMANUS, C.; CARDOSO, E. P. Características biométricas testiculares para avaliação de touros zebuínos da raça Nelore. Revista **Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 136-144, 2000.

VECCHIA, A. C. D. **Variação genética de *Tayassu pecari* (Link, 1795) e em *Pecari tajacu* (Linnaeus, 1798): Uma contribuição para a conservação dessas espécies**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, 2011.

VEERAMACHANENI, D. N. R.; OTT, R. S.; HEATH, E. H. et al. Pathophysiology of small testes in beef bulls: Relationship between scrotal circumference, histopatologic features of the testes and epididymides, seminal characteristics, and endocrine profiles. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, p. 1989-1999, 1986.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. Computer assisted semenanalyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, v. 57, p. 149-179, 2002.

VICENTE NETO, J.; BRESSAN, M. C.; RODRIGUES, E. C.; KLOSTER, M. A.; SANTANA, M. T. A. Avaliação físico química da carne de jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare* Daudin 1802) de idades diferentes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.5, Lavras, 2007.

VIEIRA, R. L. A.; **Biometria testicular e hierarquia de dominância do queixada (*Tayassu pecari*)**. 53 p. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Ilhéus: UESC, 2018.

VILLAR, N.; SIQUEIRA, T.; ZIPPARRO, V.; FARAH, F.; SCHMAEDECKE, G., HORTENCI, L.; GALETTI, M. The cryptic regulation of diversity by functionally complementary large tropical forest herbivores. **Journal of Ecology**, v. 108, p. 279-290, 2019.

VINCE, G. An epoch debate **Science**, v. 334, n. 6052, p. 32-37, out, 2011.

VRIES, A. G.; SOSNICKI, A.; GARNIER, J. P.; PLASTOW, G. S. The role of major genes and DNA technology in selection for meat quality in pigs. **Meat Science**, v.49, 1998. Supplementum 1 S245-S255.

WHITEHEAD, H. SOCPROG programs: analyzing animal social structures. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 63, p. 765-778, 2009.

WHITTEN, A.; BOESCH, C. "The Cultures of Chimpanzees". In: **Scientific American**, v. 284, p. 48-55, 2001.

WHITTINGTON, K.; ASSINDER, S.J.; PARKINSON, T.; LAPWOOD, K.R.; NICHOLSON, H.D. Function and localization of oxytocin receptors in the reproductive tissue of rams. **Reproduction**, v. 122, p. 317-325, 2001.

WILDT, D. E.; PUKAZHENTHI, B.; BROWN J, MONFORT, S.; HOWARD, J. G.; ROTH, T. Spermatology for understanding, managing and conserving rare species. **Reproduction, Fertility, and Development**, v. 7, p. 811-824, 1995.

WILSON, D. E. Mammals of La Selva, Costa Rica. Alwyn H. Gentry, ed. Four neotropical rainforests. **Yale University Press, New Haven**, p. 273-286, 1990.

WILSON, E. O. **Biodiversidade**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 657p.

WU, J. Landscape sustainability science: ecosystem services and human well-being in changing landscapes. **Landscape Ecology**, v. 28, p.999-1023, 2013.

YAMAGUCHI, R. T.; CARDOSO, M. M. S. C.; TORRES, M. L. A. Ocitocina em cesarianas: qual a melhor maneira de utilizá-la? **Revista brasileira de Anesesiologia**, v. 57, p. 324-350, 2007.

ANEXO 1 - Artigos publicados



Acta Scientiarum Veterinariae, 2021, 49: 1802.

RESEARCH ARTICLE
Pub. 1802

ISSN 1679-9216

Protocolos para contenção química e eletroejaculação para coleta de sêmen de queixadas (*Tayassu pecari*)

Chemical Restraining and Electroejaculation Protocols for Semen Collection in White-Lipped Peccary (*Tayassu pecari*)

Renan Luiz Albuquerque Vieira¹, Celso Henrique Souza Costa Barros², Thaise da Silva Oliveira Costa², Marcus Antônio Rossi Feliciano^{3,4} & Sérgio Luiz Gama Nogueira-Filho²

ABSTRACT

Background: In order to reverse the White-lipped peccary decline, besides protecting its habitat and controlling hunting, it is necessary a captive breeding program. There are reports, however, on the low fertility of white-lipped peccary, making it difficult its reproduction in captivity, making artificial insemination one of the main tools to prevent the loss of genetic diversity of species kept in captivity. Information on safe methods of anesthesia and the collection of semen should be investigated. Therefore, we aimed to compare the effects of the anesthetic protocols acepromazine/ketamine and xylazine/ketamine, as well as electroejaculation protocols, for semen collection in white-lipped peccary (*Tayassu pecari*).

Materials, Methods & Results: Twelve adult male white-lipped peccaries were submitted both to the xylazine/ketamine and acepromazine/ketamine anesthetic protocols. The anesthetic induction time and duration, the degree of muscle relaxation, the time for anesthetic recovery and the quality of the animals' recovery were evaluated. Additionally, the quality of the sedation was evaluated based on the animal's behavior. We also evaluated the effect of drugs on erectile functions as well as the efficiency of 3 electroejaculation protocols with increasing or fixed voltages (2 to 4 V; 5 to 12 V; 12 V). The acepromazine/ketamine combination promotes shorter induction time, duration and recovery from anesthesia than the xylazine/ketamine association. There were no differences, however, between the tested anesthetic protocols in relation to heart rate, respiratory rate and temperature. Ejaculate was obtained from only 2 animals when using the xylazine/ketamine protocol and adoption of stimuli between 5 and 12 V, with 10 stimuli at each voltage. In turn, ejaculate was obtained from 4 animals submitted to the acepromazine/ketamine protocol, 3 of them with the adoption of stimuli between 5 and 12 V and one with the adoption of fixed 12 V stimuli, with 45 stimuli at this single voltage.

Discussion: The animals presented less deep anesthesia and, consequently, worse indicators of well-being during and after the collection procedures when submitted to the xylazine/ketamine protocol compared to the acepromazine/ketamine protocol. When submitted to the acepromazine/ketamine protocol, the animals allowed the observer to approach and handle them, facilitating handling and collection of semen, in addition to promoting better indicators of animal welfare. Also, with this aforementioned protocol, the animals showed better anesthetic return. For both anesthetic protocols, the protocol of increasing stimuli from 5 to 12 V, with 10 stimuli at each voltage, resulted in penile erection and in obtaining ejaculate in a greater number of animals in relation to the other electroejaculation protocols. In turn, the use of the growing protocol 2 V to 4 V did not even cause an erection in any of the 12 animals. From the ejaculates collected from the white-lipped peccary, volumes (0.2 to 1.0 mL) and average sperm concentration (379.1×10^6 sperm/mL) were comparatively higher than those from *Pecari tajacu*. The white-lipped peccary (*Tayassu pecari*) is considered an aggressive animal, and this characteristic can explain the relatively low success in obtaining ejaculates, as aggressiveness is directly related to stress, which is an antagonist of ejaculation. Thus, we proposed to test chemical restraint with the aid of a blowgun in future studies.

Keywords: conservation of natural resources, endangered species, reproduction, semen analysis, Mammalia, Tayassuidae.

Descritores: análise do sêmen, conservação dos recursos naturais, espécies em perigo de extinção, reprodução, Mammalia, Tayassuidae.

DOI: 10.22456/1679-9216.111743

Received: 10 November 2020

Accepted: 8 March 2021

Published: 16 April 2021

¹Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brazil. ²Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, BA. ³Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brazil. CORRESPONDENCE: S.L.G. Nogueira-Filho [slgnogue@uesc.br]. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA) - UESC. Rod. Jorge Amado km 16. CEP 45.662-900 Ilhéus, BA, Brazil.



**INTERFACES ENTRE PESQUISA E ENSINO: ESTRATÉGIAS PARA
SENSIBILIZAÇÃO DOS ALUNOS DO ENSINO BÁSICO PARA CONSERVAÇÃO DA
FAUNA SILVESTRE, EM ESPECIAL O TAYASSU PECARI**

Renan Luiz Albuquerque Vieira¹, Hamilton Ribeiro de Souza², Heitor José Bento³,
Thaise da Silva Oliveira Costa⁴, Marcus Antônio Rossi Feliciano¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, Universidade Federal da Bahia, campus Ondina, Avenida Adhemar de Barros, nº 500, Salvador, Bahia, Brasil - (renan.albuquerque@hotmail.com).

²Docente, Universidade do Estado da Bahia, campus V, Loteamento Jardim Bahia, s/nº, Santo Antônio de Jesus, Bahia, Brasil.

³Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Correa da Costa, nº 2.367, bairro Boa Esperança, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

⁴Docente, Faculdade de Ciências Sociais Aplicadas, BR 101, Km 808, nº 1130, Itamaraju, Bahia, Brasil.

**Recebido em: 15/02/2021 – Aprovado em: 15/03/2021 – Publicado em: 30/03/2021
DOI: 10.18677/EnciBio_2021A9**

RESUMO

Dentre as diversas alternativas empregadas na tentativa de solucionar os problemas ambientais, a educação ambiental torna-se uma importante ferramenta de ensino e sensibilização para construir uma nova ética ambiental. Nesta perspectiva, como parte da pesquisa de doutorado, realizada com alunos da 3ª série do ensino médio, do Colégio Estadual do Campo de Castro Alves, na cidade de Castro Alves, Bahia, objetivou-se analisar a concepção destes acerca da conservação dos animais silvestres, especialmente do *Tayassu pecari*, sensibilizando-os quanto à influência das atitudes humanas sobre as relações ecológicas. Foi realizada uma entrevista estruturada por meio da aplicação de questionários, contendo 13 questões, subjetivas e de múltipla escolha, para que se pudesse avaliar a concepção prévia dos alunos. Após a análise dos dados, foi ministrada uma palestra sobre educação ambiental, destacando estratégias para a conservação do queixada, bem como a explicação de dados obtidos no experimento de doutorado, inter-relacionando pesquisa e ensino. Verificou-se que, antes das atividades efetuadas na sala de aula, relativas à educação ambiental, os estudantes detinham um conhecimento básico sobre legislação ambiental e sobre as diferenças entre animais domésticos, silvestres e selvagens. E também não conheciam os queixadas. No entanto, apresentaram relativa preocupação com o bem estar animal e o cumprimento das leis ambientais, condições fundamentais para construção de uma nova consciência ecológica. A educação ambiental, bem como as inter-relações entre pesquisa e ensino, mostraram-se eficazes para informar e conscientizar sobre questões relacionadas à conservação do meio ambiente, sendo, portanto, um instrumento essencial na mitigação dos problemas ambientais.

PALAVRAS-CHAVE: Animais silvestres, conservação, ensino-pesquisa. Queixadas.

ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer – Jandaia-GO, v.18 n.35; p. 113 2021

Anexo 2 - Ata de defesa de Tese de Doutorado



PPG-CAT

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia
Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos

Av. Adhemar de Barros, 500 - Ondina - Salvador/Bahia CEP: 40170-110 Telefone: (71)3283-6707 E-mail: posvetu@ufba.br

ATA 95 - REUNIÃO DE BANCA EXAMINADORA PARA DISCUSSÃO E JULGAMENTO DE TESE DE DOUTORADO.

Aos dezesseis dias do mês de junho de dois mil e vinte e um, às 13h00min, por meio de videoconferência devido às restrições impostas pela pandemia COVID-19, reuniu-se a banca examinadora composta pelos professores: Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano (presidente), Dra. Cristiane Silva Aguiar, Dra. Thaise da Silva Oliveira Costa, Dra. Maria Vanderly Andrea e a Dra. Sílvia Lima Costa, com a finalidade de discutir, avaliar e julgar a tese intitulada: "Avaliação de protocolos para contenção química, eletroejaculação e caracterização seminal de queixada (*Tayassu pecari*)", de autoria do doutorando **Renan Luiz Albuquerque Vieira**, orientando do professor Marcus Antônio Rossi Feliciano. Após a apresentação do trabalho por parte do doutorando, foram feitos os questionamentos e comentários pelos examinadores e cumpridas as exigências regulamentares à defesa de tese. O doutorando fez a exposição oral de sua aula durante 50 minutos e em seguida foi arguido por todos os membros. A Banca Examinadora concluiu que o doutorando teve sua defesa pública de Tese de Doutorado **APROVADA**. Contudo, tal aprovação e a diplomação estão condicionadas à entrega da versão final da tese e entrega do comprovante de envio dos artigos científicos oriundos da mesma. Tais documentos devem ser apresentados na Coordenação do Programa no prazo de sessenta dias corridos a partir desta data. Após os sessenta dias, o não cumprimento dos prazos resultará na solicitação do desligamento do aluno junto ao NAREP. Nada mais havendo a ser tratado, foram encerrados os trabalhos, sendo a seguir lavrada a presente ata, que após lida e achada conforme, foi assinada pelo presidente da banca examinadora, em substituição às assinaturas dos demais membros, pelo doutorando e pelo coordenador do programa. Salvador, 16 de junho de 2021.

Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano
Presidente da banca

Renan Luiz Albuquerque Vieira

Dr. Luís Fernando Pita Gondim
Coordenador