



Biotécnicas reprodutivas aplicadas à reprodução de catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) – uma estratégia experimental

*Reproductive biotechniques applied to collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) - an experimental strategy*

Alexandre Rodrigues Silva¹, Livia Batista Campos, Keila Moreira Maia, Alana Azevedo Borges

Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil.

¹Correspondência: legio2000@yahoo.com

Resumo

Frente à importância ecológica, zootécnica e econômica dos catetos ou caititus (*Pecari tajacu*), a presente revisão compila os principais avanços em termos de técnicas de reprodução assistida desenvolvidos para a conservação e multiplicação da espécie nos últimos anos. Em especial, o texto representa um histórico dos esforços empreendidos pela equipe do Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido com este propósito. Tais esforços se refletem no desenvolvimento de metodologias para obtenção de espermatozoides, refrigeração e congelamento de sêmen, métodos de monitoramento e controle de ciclo estral associados à inseminação artificial, e protocolos de criopreservação e cultivo de tecido testicular, ovariano e somático.

Palavras-chave: biodiversidade, criopreservação, mamíferos silvestres.

Abstract

*Due the ecological, zootechnical and economical importance of the collared peccaries (*Pecari tajacu*), this review brings the main advances related to assisted reproductive techniques developed for the conservation and multiplication of the species in last years. Specially, the text represents a historic of the effort conducted by the Laboratory on Animal Germplasm Conservation team of the Federal University of Semiarid in this purpose. Such efforts are reflected in the development of methodologies for sperm recovery, semen chilling and freezing, methods for estrus cycle monitoring and control associated to artificial insemination, and protocols for the cryopreservation and culture of testicular, ovarian and somatic tissues.*

Keywords: biodiversity, cryopreservation, wild mammals.

Introdução

O cateto ou caititu (*Pecari tajacu*) é um mamífero da família Tayassuidae pertencente à ordem Artiodactyla (Carter et al., 2005), os quais são atualmente classificados como uma população estável (IUCN, 2017), embora em declínio em alguns biomas como a Caatinga e a Mata Atlântica (Gongora et al., 2017). Esta espécie apresenta um grande potencial para criação em cativeiro com fins econômicos, devido ao interesse mercadológico por sua carne e seu couro (Garcia et al., 2015). Adicionalmente, esses animais podem servir de modelo experimental para outros taiassuídeos ameaçados de extinção como o Taguá (*Catagonus wagneri*) (IUCN, 2017) e ainda desempenham importante função ecológica no equilíbrio e na composição de cadeias alimentares, participando da cadeia trófica como parte da dieta de grandes felinos (Garla, 1998).

Diante do exposto, faz-se necessário à aplicação de programas de reprodução em cativeiro com o uso de biotécnicas de reprodução assistida como ferramentas para garantir a conservação do material genético, pelo estabelecimento de bancos de germoplasma, bem como, para à otimização do desempenho zootécnico destes animais (Silva et al., 2012). Neste sentido, o presente trabalho compila os principais avanços em termos de técnicas de reprodução assistida desenvolvidos para a conservação e multiplicação dos catetos nos últimos anos, em especial, representando um histórico dos esforços empreendidos pela equipe do Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido com este propósito.

Biotécnicas reprodutivas aplicadas ao macho cateto

Obtenção de espermatozoides

Por se tratar de uma espécie silvestre, a coleta de sêmen é realizada pela eletroejaculação, visto a dificuldade e os riscos que envolvem o manejo destes animais. Em vista de diversas variáveis que podem interferir na eletroejaculação (Castelo et al., 2014), uma das primeiras etapas consiste no estabelecimento de um



protocolo anestésico que não interfira na eficiência da coleta ou na qualidade do sêmen. Neste sentido, Souza et al. (2009) compararam o uso do propofol com a tiletamina-zolazepam, e verificaram que o Propofol proporciona tanto uma melhor eficiência de coleta (80%) quanto um melhor bem-estar dos animais, por permitir uma rápida e tranquila recuperação em até 15 minutos. Posteriormente, Paiva et al. (2014) demonstraram que o uso do Propofol para a eletroejaculação inclusive dispensa a necessidade de administração de medicamentos pré-anestésicos como o atipamezole ou a medetomidina.

Para a eletroejaculação, Castelo et al. (2010ab) propuseram um protocolo utilizando eletrodos longitudinais e uma corrente senoidal que consiste em estímulos contínuos iniciando-se com dez repetições de 5 V, com a intensidade aumentada em 1 V, até atingir 12 V, durante 10 minutos. Utilizando este protocolo, Peixoto et al. (2012) obtiveram um total de 52 ejaculados de catetos, e demonstraram que a biometria testicular não apresenta relação com os parâmetros seminais da espécie. Os autores também estabeleceram valores de referência para os referidos parâmetros seminais, demonstrando existir uma ampla variação individual na espécie.

No intuito de recuperar germoplasma de indivíduos de alto valor ecológico ou zootécnico acidentalmente mortos, é possível a recuperação de espermatozoides epididimários. Neste sentido, Bezerra et al. (2014) demonstraram que espermatozoides poderiam ser recuperados eficientemente da cauda do epidídimo de cateto por meio das técnicas de lavagem retrógrada ou flutuação. Além disso, os autores não recomendam o uso da centrifugação para separação dos espermatozoides, haja vista que a mesma promove danos mecânicos às células espermáticas. Por isso, para posterior processamento, a lavagem retrógrada seria mais indicada quando realizada já com o diluente, haja visto promover uma menor contaminação com células sanguíneas e debris.

Avaliação espermática

Várias pesquisas foram realizadas na otimização de métodos específicos para a avaliação do sêmen dos catetos. Em 2014, Silva et al. tentaram estabelecer o uso da espectrofotometria utilizando diferentes comprimentos de onda para a determinação da concentração espermática na espécie, porém, verificaram que a câmara hematimétrica de Neubauer é, de fato, o método mais confiável para o referido propósito.

No tocante à análise da membrana plasmática dos espermatozoides de catetos, Santos et al. (2013) compararam a água destilada (0 mOsm) com soluções à base de frutose com diferentes osmolaridades (50, 100, 150 e 200mOsm/L) para a análise funcional por meio do teste hiposmótico, determinando a melhor eficiência da água destilada. Em termos de análise da integridade da membrana plasmática, Souza et al. (2014) validaram o uso da associação dos fluoróforos Iodeto de Propídio (IP) com o Diacetato de Carboxifluoresceína (CFDA) para a espécie.

O detalhamento da morfologia e morfometria do espermatozoide de catetos foi demonstrado por meio da comparação de diferentes métodos de coloração (Rosa de Bengala, Azul de Bromofenol e Eosina-Nigrosina), dos quais o corante Rosa de Bengala proporcionou uma melhor qualidade tintorial (Souza et al., 2013). Em adição, determinou-se que os catetos apresentam um mínimo de 80% de espermatozoides morfológicamente normais no ejaculado, sendo a cabeça destacada e a cauda enrolada os defeitos mais predominantes. Foi ainda demonstrado que o espermatozoide de catetos, cuja cabeça apresenta uma média de 6 µm de comprimento, é bem menor que o do suíno doméstico (~9 µm).

No âmbito da biologia molecular, Santos et al. (2014) realizaram espectrometria de massas e caracterizaram as principais proteínas do plasma seminal de catetos e estabeleceram o mapa proteômico referente ao seu plasma seminal. Os autores relataram que as proteínas espermedesina (20,9%), clusterina (19,8%) e bodesina 2 (10,2%) foram encontradas em maior abundância.

Recentemente, Campos et al. (2017) estimaram a capacidade de ligação dos espermatozoides de catetos a substratos heterólogos. Os autores demonstraram que o referido gameta pode não apenas de se ligar adequadamente a oócitos de suínos domésticos, mas ainda penetrá-los. Além disso, os autores demonstraram a eficiência e praticidade de um teste com base no uso da membrana perivitelina da gema de ovo de galinha para avaliar a capacidade de ligação dos espermatozoides de catetos.

Conservação de Germoplasma masculino

São ainda escassas as informações relativas a refrigeração do sêmen de catetos. Apenas recentemente, Souza et al. (2016) demonstrou a possibilidade de conservação do sêmen desta espécie sob refrigeração a 5°C em diluente contendo gema de ovo ou Aloe vera na concentração de 20% por até 36 horas.

Por outro lado, no tocante à criopreservação, os estudos já se encontram bastante avançados desde os primeiros relatos publicados por Castelo et al. (2010ab). Nestes trabalhos, os autores utilizaram uma curva de congelamento de sêmen de suínos domésticos e demonstraram que o sêmen de catetos poderia ser eficientemente congelado utilizando-se um diluente à base de Tris acrescido de frutose ou glicose, bem como sugeriram a realização da descongelação a 37°C/1 min. Em seguida, Alves et al. (2012) testaram diferentes concentrações de



crioprotetores e sugeriram a suplementação preferencial do diluente Tris com 10% de gema de ovo e 3% de glicerol. Posteriormente, Silva et al. (2013), modificaram a curva de congelamento que demorava em torno de 180 min para uma curva mais rápida de apenas 70 min, conferindo mais praticidade ao procedimento.

Em 2014, Campos et al. demonstraram que o sêmen de catetos apresenta uma baixa longevidade espermática após a descongelamento por apenas 15 minutos, tanto no uso do diluente a base de Tris como na água de coco em pó (ACP). Além disso, também sugeriram que não há necessidade de centrifugação das amostras após a descongelamento para remoção dos diluentes.

Na tentativa da substituição da gema de ovo nos diluentes, demonstrou-se que tanto as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Souza et al., 2015) como o gel de *Aloe vera* (AV) (Souza et al., 2016) poderiam ser utilizados como crioprotetores externos, ambos na concentração de 20%, para a criopreservação do sêmen de catetos. Atualmente, estes resultados tem promovido uma taxa de recuperação de até 50% de espermatozoides móveis após a descongelamento (Souza et al., 2016), valor amplamente aceitável para uso em posteriores inseminações artificiais.

Como outro modo de aproveitamento do germoplasma masculino, em catetos, estudou-se a criopreservação do tecido testicular. Borges et al. (2014) demonstraram esta possibilidade através de um protocolo de vitrificação em superfície sólida testando-se vários crioprotetores, dos quais o etilenoglicol a 3 ou 6 M foi o mais eficiente na preservação do tecido, conservando adequadamente as células germinativas para posterior uso em outras biotécnicas.

Biotécnicas reprodutivas aplicadas à fêmea do cateto

Monitoramento e controle do ciclo estral

O ciclo estral de fêmeas de cateto criadas em cativeiro na região semiárida do nordeste brasileiro foi descrito por Maia et al. (2014a) como tendo duração de $21,0 \pm 5,7$ dias, com fase estrogênica durando aproximadamente 6 dias, e maiores valores de estrógeno plasmático em torno de 55,6 pg/ml. Ainda, os autores descreveram características de estro como edema de lábios vulvares e hiperemia da mucosa vaginal, que coincidiam com o desenvolvimento de folículos ovarianos monitorados por ultrassonografia. Neste mesmo estudo, a fase progesterônica correspondeu ao período médio de 15 dias, com valores elevados de progesterona em torno de 35,3 ng/mL.

Necessário ressaltar as dificuldades no monitoramento do ciclo nesta espécie por meio da citologia vaginal, visto que não ocorrem mudanças significativas na proporção de células epiteliais vaginais ao longo do ciclo estral (Maia et al., 2014a). Adicionalmente, destacam-se também dificuldades quanto ao monitoramento da dinâmica ovariana por meio da ultrassonografia, embora esta tenha sido eficiente na identificação de folículos preovulatórios com diâmetro de $0,23 \pm 0,1$ coincidentes com o pique estrogênico (Maia et al., 2014a).

No intuito de se manipular o ciclo estral dessas fêmeas, Maia et al. (2014b) verificaram a eficiência de um análogo da prostaglandina, o D-cloprostenol 60µg, administrado em duas doses com 9 dias de intervalo. Verificou-se que 80% das fêmeas sincronizaram seus estros, o qual se manifestou tardiamente aos $9,5 \pm 0,5$ dias após a segunda administração da droga. Posteriormente, novos protocolos de sincronização foram testados por Peixoto et al. (2016), os quais elevaram a dose de D-cloprostenol para 120 µg e a compararam com uma dose única de associação de 400 UI de gonadotrofina coriônica equina com 200 UI de gonadotrofina coriônica humana. O aumento da dose da prostaglandina não promoveu incremento quando comparado ao experimento anterior de Maia et al. (2014b), no entanto, a associação de gonadotrofinas promoveu uma eficiência de 100% das fêmeas com estro sincronizado aos 6 dias após aplicação da droga.

O passo seguinte foi a realização da primeira tentativa de sincronização do estro associada à inseminação artificial (IA) em catetos por Peixoto et al. (2017). As fêmeas foram eficientemente sincronizadas utilizando-se a associação de gonadotrofinas, e posteriormente submetidas a duas inseminações artificiais por via intravaginal com 48 h de intervalo, utilizando-se sêmen fresco. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 30 dias após inseminação por ultrassonografia, porém, nenhum embrião foi identificado. Mesmo após 60 dias, nenhuma das fêmeas havia retornado ao cio, sendo verificada a presença de líquidos no interior do útero de duas fêmeas por ultrassonografia e altos níveis de progesterona plasmáticos. Dessa forma, não se pode descartar a ocorrência de fecundação seguida de reabsorção embrionária com persistência de corpo lúteo nestas fêmeas, sendo necessária ainda uma melhor adequação do protocolo de controle hormonal de seu ciclo estral.

Conservação e cultivo de germoplasma feminino

A primeira etapa para a conservação de material genético das fêmeas de cateto consistiu em caracterizar sua população de folículos ovarianos (Lima et al., 2013) Assim, estimou-se que cada ovário nesta espécie abriga uma população em torno de 33 mil folículos ovarianos preantrais, sendo a maioria constituinte do pool de reserva caracterizado como primordial (91,56%).



Visando o transporte de ovários desta espécie, Lima et al. (2014) demonstraram que o uso de solução a base de água de coco (ACP[®]) seria mais eficiente que o PBS (49.4%) em preservar a integridade morfológica de mais de 60% dos folículos ovarianos após 36 h sob refrigeração. Para o armazenamento do germoplasma, Lima. (2015) sugerem o uso da técnica de vitrificação em superfície sólida utilizando DMSO ou EG a 3 M como crioprotetores para o tecido ovariano, os quais possibilitam a recuperação de até 70% de folículos morfológicamente normais e viáveis.

Para o cultivo *in vitro* do tecido ovariano, Lima (2015) sugere que a adição do FSH ao meio TCM-199 possibilita a manutenção da morfologia e viabilidade, bem como a ativação e a atividade proliferativa dos folículos preantrais dos catetos dentro de um curto período de 7 dias. Entretanto, é necessário ainda um longo caminho para se obter sucesso no desenvolvimento do material genético feminino por meios de técnicas *in vitro*.

Estudo e conservação de tecidos somáticos de catetos com objetivos de clonagem

A preservação de amostras somáticas possibilita o emprego de tecidos e células na conservação da biodiversidade, bem como na otimização do manejo reprodutivo desses indivíduos (Costa et al., 2016). Em catetos, o tecido pode ser obtido através do procedimento de manejo de identificação desses animais mantidos em criadouros autorizados. A partir do processamento, ou seja, limpeza, tricotomização e fragmentação deste material, o mesmo pode ser utilizado tanto para a conservação de fragmentos teciduais visando à formação de criobancos (Borges et al., 2017b), como para o cultivo imediato visando à obtenção de células somáticas (Santos et al., 2016).

Como uma etapa inicial, Santos et al. (2016) avaliaram a composição do meio de cultivo mais apropriado para o tecido somático de catetos, objetivando a obtenção de células, e evidenciaram que 20% de soro fetal bovino (SFB) foi uma suplementação adequada para a recuperação de células somáticas em meio essencial mínimo modificado por Dulbecco (DMEM) constituído ainda por 2,2 g/L de bicarbonato de sódio, antibióticos (10 000 U/mL de penicilina G, 10 000 mg/mL de estreptomicina).

Além disso, nas avaliações do cultivo *in vitro* desses fragmentos e células foi possível observar a necessidade de esclarecimentos sobre os componentes estruturais do tecido auricular periférico de catetos, uma vez que tais informações colaborariam para o desenvolvimento adequado de protocolos mais específicos de conservação. Nesse contexto, o tecido tegumentar de catetos foi caracterizado histomorfologicamente por Borges et al. (2017a) que demonstraram que este tecido possui algumas peculiaridades quando comparado aos demais mamíferos domésticos, como número de camadas e espessura da epiderme, quantidade de células epidermais, melanócitos e parâmetros proliferativos.

Posteriormente, técnicas de vitrificação foram avaliadas de acordo com a caracterização morfológica, análise dos dados sofridos, bem como a manutenção da viabilidade tecidual para a obtenção de células (Borges et al., 2017b). Nesse estudo, foi definido que a técnica de vitrificação em superfície sólida (VSS) foi a mais eficiente quando comparada à vitrificação convencional direto em criotubos (Borges et al., 2017b).

Ainda, objetivando a otimização da técnica de VSS como método de conservação de tecido somático de catetos, diferentes crioprotetores foram testados. Assim, crioprotetores intracelulares frequentemente utilizados para a formação de criobancos, etilenoglicol (EG) e o dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 3,0 M, na presença de sacarose a 0,25 M foram avaliados e demonstraram serem eficientes na preservação da integridade tecidual, avaliada por histologia convencional, marcação da atividade proliferativa e atividade metabólica (Borges, 2016). Posteriormente, avaliando esses fragmentos durante o cultivo *in vitro* foi evidenciada a capacidade da sacarose em combinação com EG ou DMSO em manter após vitrificação do tecido a obtenção de células com boas características durante todo o cultivo *in vitro*, evidenciadas pelas análises de viabilidade, atividade proliferativa e perfil metabólico (Borges, 2016).

Em síntese, o desenvolvimento de protocolos adequados para o armazenamento de fragmentos somáticos de catetos, bem como as condições de cultivo para a recuperação de suas células encontram-se estabelecidos. Esses procedimentos permitirão o emprego dessas células de maneira adequada como carioplastos, visando à clonagem nesta espécie e sendo uma ferramenta alternativa na conservação de catetos.

Considerações finais

É necessário salientar que os resultados aqui apresentados são fruto de um trabalho desenvolvido ao longo de dez anos pela equipe do Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal da UFERSA. Entretanto, importantes informações relativas tanto à fisiologia (Mayor et al. 2005; Kahwage et al., 2010; Garcia et al. 2015) como à biotecnologia (Campos-Junior et al. 2014) da reprodução dos catetos têm sido também estabelecidas por outros autores. Assim, a soma destes esforços tem contribuído de sobremaneira para o conhecimento da espécie, o que tem facilitado sua criação em cativeiro. De fato, nos últimos anos, vários criatórios autorizados foram estabelecidos ao no Brasil, os quais podem rapidamente absorver estes conhecimentos, contribuindo assim para a perpetuação e aproveitamento comercial da espécie.



Referências

- Alves HM, Oliveira IRS, Castelo TS, Lima GL, Souza ALP, Moreira MAP, Paula VV, Silva AR. Comparison of different glycerol and egg yolk concentrations added to tris-based extender for the collared peccaries (*Tayassu tajacu*) semen freezing. *Reprod Domest Anim*, v.48, p.506-511, 2012.
- Bezerra JA, Silva AM, Peixoto GC, Silva MA, Oliveira MF, Silva AR. Influence of recovery method and centrifugation on epididymal sperm from collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). *Zoolog Sci*, v.31, p.338-42, 2014.
- Borges AA, Bezerra FVF, Costa FN, Queiroz Neta LB, Santos MVO, Oliveira MF, Silva AR, Pereira AF. Caracterização histomorfológica do sistema tegumentar auricular de cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). *Arq Bras Med Vet Zootec* (no prelo), 2017a.
- Borges AA, Lima GL, Queiroz Neta LB, Santos MVO, Oliveira MF, Silva AR, Pereira AF. Conservation of somatic tissue derived from collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) using different vitrification techniques. *Cytotechnology* (no prelo), 2017b.
- Borges AA. Caracterização histológica e vitrificação de tecido somático de catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró - RN, 2016.
- Borges PAC, Lima GL, Bezerra JAB, Souza ALP, Peixoto GCX, Praxedes ECG, Silva AR. Cryopreservation of testicular tissue: a potential tool for the conservation of male genetic material from collared peccaries (*Pecari tajacu*). In: V International Symposium on Animal Biology of Reproduction, Campinas, 2014.
- Campos Junior PHA, Costa GMJ, Avelar GF, Lacerda SMSN, Costa NN, Ohashi OM, Miranda MS, Barcelos LS, Jorge EC, Guimarães DA, França LR. Derivation of sperm from xenografted testis cells and tissues of the peccary (*Tayassu tajacu*). *Reproduction*, v.147, p.291-299, 2014.
- Campos LB, Peixoto GCXP, Silva AM, Souza ALP, Castelo TS, Maia KM, Pereira AF, Silva AR. Estimating the binding ability of collared peccary (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) sperm using heterologous substrates. *Theriogenology*, v.92, p.57-62, 2017.
- Campos LB, Silva MA, Bezerra JAB, Castelo TS, Peixoto GCXP, Silva AR. Sobrevivência de espermatozoides de catetos (*Pecari tajacu*) após congelação-descongelação no uso de diferentes diluentes. *Acta Sci Vet*, v.42, p.1217, 2014.
- Carter DCP, Andersson S, Jones JK. Orders and families of recent mammals. Wiley, New York, p.549-562, 2005.
- Castelo TS, Bezerra FSB, Lima GL, Alves HM, Oliveira IRS, Santos EAS, Peixoto GCX, Silva AR. Effect of centrifugation and sugar supplementation on the semen cryopreservation of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*). *Cryobiology*, v.61, p.275-279, 2010a.
- Castelo TS, Bezerra FSB, Souza ALP, Moreira MAP, Paula VV, Oliveira MF, Silva AR. Influence of the thawing rate on the cryopreservation of semen from collared peccaries (*Tayassu tajacu*) using Tris-based extenders. *Theriogenology*, v.74, p.1060-1065, 2010b.
- Castelo TS, Silva AR. Eletroejaculação em mamíferos silvestres: principais fatores que afetam sua eficiência. *Rev Bras Reprod Anim*, v.38, p.208-213, 2014.
- Costa CAS, Borges AA, Santos MVO, Queiroz Neta LB, Pereira AF. Ferramentas para a avaliação de células e tecidos somáticos após a criopreservação em mamíferos. Uma Revisão. *Rev Bras Hig Sanid Anim*, v.10, p.820-829, 2016.
- García MV, Sánchez EQ, Aguilera-Reyes U, Monroy-Vilchis O, Mora JMV, Blasio AL, Guadarrama VMF. El aparato urogenital del pecarí de collar (*Pecari tajacu* Chordata:Artiodactyla): un estudio anatómico. *Ciencia ergo-sum*. v.1, p.54-62, 2015.
- Garla R. Ecologia alimentar da Onça Pintada (*Panthera onca*) na Mata Atlântica de Linhares, ES (Carnivora: Felidae). 1998. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 1998.
- Gongora J, Reyna-Hurtado R, Beck H, Taber A, Altrichter M, Keuroghlian A. *Pecari tajacu*. Versão 2013. Disponível em www.iucnredlist.org. Acesso em 06 fev. 2017.
- IUCN, IUCN Red List of Threatened Species. Versão 2013. Disponível em www.iucnredlist.org. Acesso em 06 fev. 2017.
- Kahwage PR, Garcia AR, Guimarães DAA, Ohashi OM, Luz-Ramos RS, Dias HLT, Albuquerque NI, Bartha MMP. Biometria testicular, eletroejaculação e características seminais de caítitus, *Tayassu tajacu* Linnaeus, 1758 (Mammalia, Artiodactyla, Tayassuidae) mantidos em cativeiro na Amazônia Oriental. *Acta amaz*, v.40, p.771-778, 2010.
- Lima GL. Conservação de material genético de espécies silvestres do bioma Caatinga utilizando a manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré antrais (MOIFOPA). 2015. 213f. Tese (Doutorado em Biotecnologia - RENORBIO)-Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 2015.
- Lima GL, Santos EAA, Lima LF, Luz VB, Rodrigues APR, Silva AR. Short-term preservation of *Pecari*



tajacu ovarian preantral follicles using phosphate buffered saline (PBS) or powdered coconut water (ACP®) media. Arq Bras Med Vet Zootec, v.66, p.1623-1630, 2014.

Lima GL, Santos EAA, Luz VB, Rodrigues APR, Silva AR. Morphological Characterization of the Ovarian Preantral Follicle Population of Collared Peccaries (*Tayassu tajacu*, Linnaeus, 1758). Anat Histol Embryol, v.42, p.304-311, 2013.

Maia KM, Peixoto GCX, Campos LB, Bezerra JAB, Ricarte ARF, Moreira N, Oliveira MF, Silva AR. Estrus cycle monitoring of captive collared peccaries (*Pecari tajacu*) in semiarid conditions. Pesq Vet Bras, v.34, p.1115-1120, 2014a.

Maia KM, Peixoto GCX, Campos LB, Silva AM, Castelo TS, Ricarte ARF, Silva AR. Estrous Synchronization in Captive Collared Peccaries (*Pecari tajacu*) using a Prostaglandin F2 α Analog. Zool Soc, v.31, p.836-839, 2014b.

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

Paiva ALC, Nunes TL, Oliveira MGC, Morais AML, Santos EAS, Silva AR, Oliveira MF, Paula VV. Effects of atipamezole and medetomidine administration on seminal variables and functions of erection and ejaculation of the collared peccary (*Tayassu tajacu*) after electroejaculation. BMC Vet Res, v.10, p.170, 2014.

Peixoto GCX, Praxedes ECG, Silva AM, Campos LB, Lago AEA, Bezerra LGP, SSJ Moreira, Apolinário CAC, Brito AB, Domingues SFS, Oliveira MF, Silva AR. Estrous Synchronization Followed by Artificial Insemination in Collared Peccaries (*Pecari tajacu*) - The First Attempt. In: VI International Symposium on Animal Biology of Reproduction, Campos do Jordão, p.148, 2017. Resumo.

Peixoto GCX. Aplicação de biotécnicas para monitoramento e controle do ciclo estral de espécies silvestres do bioma Caatinga. 2016. 141f. Tese (Doutorado em Biotecnologia - RENORBIO) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal - RN, 2016.

Peixoto GCX, Silva MA, Castelo TS, Silva AM, Bezerra JAB, Souza ALP, Oliveira MF, Silva AR. Individual variation related to testicular biometry and sêmen characteristics in collared peccaries (*Tayassu tajacu* Linnaeus, 1758). Anim Reprod Sci, v.134, p.191-196, 2012.

Santos EAA, Sousa PC, Martins JAM, Moreira RA, Monteiro-Moreira ACO, Moreno FBMB, Oliveira MF, Moura AA, Silva AR. Protein profile of the seminal plasma of collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Reproduction, v.147, p.1-13, 2014.

Santos EAA, Sousa PC, Peixoto GCX, Simão BR, Oliveira MF, Silva AR. Establishing the hypoosmotic swelling test for sperm analysis in collared peccaries (*Pecari tajacu*). Arq Bras Med Vet Zootec, v.65, p.1257-1260, 2013.

Santos MLT, Borges AA, Queiroz Neta LB, Santos MVO, Oliveira MF, Silva AR, Pereira AR. *In vitro* culture of somatic cells derived from ear tissue of collared peccary (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) in medium with different requirements. Pesq Vet Bras (no prelo), 2016.

Silva AM, Peixoto GCX, Bezerra JAB, Castelo TS, Santos EAA, Silva AR. Relações entre a câmara de Neubauer a espectrofotometria utilizadas para a determinação da concentração espermática de catetos (*Pecari tajacu*). Ciênc Rural, v.44, p.1494-1498, 2014.

Silva MA, Peixoto GCX, Castelo TS, Lima GL, Silva AM, Oliveira MF, Silva AR. Cryopreservation of collared peccary (*Pecari tajacu*) semen using different freezing curves, straw sizes, and thawing rates. Cryobiology, v.67, p.50-55, 2013.

Silva AR, Souza ALP, Santos EAA, Lima GL, Peixoto GCX, Sousa PC, Castelo TS. Formação de bancos de germoplasma e sua contribuição para a conservação de espécies silvestres no Brasil. Ciênc Anim, v.22, p.219-234, 2012.

Sousa PC, Santos EAA, Souza ALP, Lima GL, Barros FFPC, Oliveira MF, Silva AR. Sperm morphological and morphometric evaluation in captive collared peccaries (*Pecari tajacu*). Pesq Vet Bras, v.33, p.924-930, 2013.

Souza ALP, Castelo TS, Queiroz JPAF, Barros IO, Paula VV. Evaluation of anesthetic protocol for the collection of semen from captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) by electroejaculation. Anim Reprod Sci, v.116, p.370-375, 2009.

Souza ALP, Lima GL, Peixoto GCX, Bezerra JAB, Silva AM, Oliveira MF, Silva AR. Innovative use of *Aloe vera* as a cryoprotectant for the collared peccaries (*Pecari tajacu*) semen freezing. In: VI International Symposium on Animal Biology of Reproduction, Campinas, p.8-11, 2014.

Souza ALP, Lima GL, Peixoto GCX, Castelo TS, Oliveira MGC, Paula VV, Silva AR. Sperm characteristics following freezing in extenders supplemented with whole egg yolk and different concentrations of low-density lipoproteins in the collared peccary (*Pecari tajacu*). Reprod Biol, v.15, p.223-228, 2015.

Souza ALP, Lima GL, Peixoto GCX, Silva AM, Oliveira MF, Silva AR. Use of Aloe Vera-based extender for chilling and freezing collared peccary (*Pecari tajacu*) semen. Theriogenology, v.85, p.1432-1438, 2016.
